

Determinación de las claves volátiles que le permiten a *Diceraeus* (ex *Dichelops*) *furcatus* orientarse hacia las plántulas de maíz y la vegetación espontánea acompañante

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

Vanesa G. Jacobi

Licenciada en Genética - Universidad Nacional de Misiones - 2014

Lugar de trabajo: Cátedra de Bioquímica (FAUBA); Cátedra de Biomoléculas (FAUBA); Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (CONICET - FAUBA)



Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Jorge A. Zavala

Ing. Agr. (Universidad de Buenos Aires)
Dr. Rerum Naturalis (Friedrich Schiller Universität)

Co-directora

Patricia C. Fernández

Lic. en Cs. Biológicas (Universidad de Buenos Aires)
Dra. en Cs. Biológicas (Universidad de Buenos Aires)

JURADO DE TESIS

JURADO

Eduardo Virla

Lic. En Biología (Universidad Nacional de La Plata)
Dr. en Cs. Naturales (Universidad Nacional de La Plata)

JURADO

Marcela Inés Schneider

Ing. Agr. (Universidad Nacional de Cuyo)
Dr. en Cs. Agronómicas. (Universidad Politécnica de Madrid)

JURADO

Raúl Alberto Laumann

Lic. En Cs. Biológicas (Universidad Nacional del Sur)
Dr. en Cs. Biológicas (Universidad Nacional del Sur)

Fecha de defensa de la tesis: 09 de Mayo de 2022

DEDICATORIA

*A mi familia, tanto la biológica y como de la vida...
...por acompañarme en cada paso del camino*

AGRADECIMIENTOS

A los Drs. **Jorge Zavala y Patricia Fernández**, por darme la oportunidad y las herramientas para completar este doctorado. Gracias por gestionar los recursos para que no falte ningún insumo para completar los experimentos. Gracias por su tiempo, sus consejos y su paciencia. Gracias por creer en mí.

A los Drs. **Marina Ciancia y Eduardo Pagano** por abrirme las puertas de las cátedras de Biomoléculas y Bioquímica. Gracias por permitirme usar las instalaciones, llegué a sentirme como en casa ahí. A los miembros de las **cátedras de Bioquímica y Biomoléculas**, gracias por su ayuda, compañerismo y generosidad a la hora de compartir su experiencia.

Al Dr. **Gustavo Schrauf** y a los miembros de la **cátedra de Genética**, por permitirme sumarme como docente, y descubrir esa vocación que no sabía que tenía.

Al **INBA-CONICET** y a la **FAUBA** por aceptarme como becaria y permitirme crecer académicamente.

A todos aquellos que me abrieron las tranqueras de sus campos para realizar los muestreos (**Papá, Sergio, Ricardo, Mario, Javier**, solo para nombrar algunos). No hubiera podido realizar esta tesis sin su ayuda. Un agradecimiento especial a **Javier Vazquez**, por compartir toda su experiencia con chinches, y a los técnicos de INTA **Adriana Saluso, Ignacio Vicentín y Fernando Flores**.

Al grupo de “**Chinchudes**” (**Marian, Broono, Lucía, Gera, Chile, Vir y Fran**), esos incansables compañeros de aventuras... Gracias por las charlas existenciales, por los mates (pre-pandemia), la música y las bromas que hacían más llevaderos todos los viajes de muestreo, el mantenimiento de la colonia en el labo, y las temporadas de verano en el “campito”.

A mi **Mamá**, por acompañarme a los viajes de muestreo cuando nadie más podía. Por pasar tardes enteras conmigo recolectando insectos. Por aprender a distinguir las distintas especies de chinches con sus distintos estadíos, solo para darme una mano.

Al **Chanchi**, ese gold trend que se autopercibe pick up 4x4. Nos llevó y trajo de vuelta en casi todos los viajes de muestreo.

A **Lucía Barriga, Marilia Almeida Trapp y Axel Mithöfer**, por las mediciones de los niveles de fitohormonas.

A los Drs. **Victoria Coll Aráoz y Gustavo Maddonni**, por compartir las semillas que usé para los experimentos.

A la Dr. **Virginia Medina**, gracias por los consejos que siempre llegaron en el momento justo. Gracias por todas las discusiones sobre los experimentos, y por enseñarme la importancia de tener en claro las preguntas a contestar y el hilo conductor de la historia que contar.

A **Mariana Manetti**, por su ayuda incondicional, su buena predisposición para trabajar y su paciencia para lavar miles de macetas... para después volver a sembrarlas. Gracias por acompañarme a hacer cosas tan locas como poner a punto la extracción sistemática de saliva de chinche...

A **Berenice Romero**, por su fuerza y empuje. Por contagiar su pasión por la ciencia, por las tardes tratando de hacer correr scripts de R, por las charlas sobre experimentos y porque por coditos cómo para pagar reuniones y seminarios terminamos armando un proyecto como **Arthropodata** (aprovecho a pasar el chivo: pueden encontrar toda la info en nuestra página web arthropodata.ca).

A **Emily Jacobi** (alias Sis, Enana, Super Hermana) por ayudarme con la parte gráfica de la tesis. Gracias por usar tus herramientas y tu experiencia en diseño y comunicación para hacer esta tesis más clara y armoniosa.

A **Andrés Peton**, el mejor compañero de escritorio (por medio). Por hacer del centro del laboratorio el lugar de encuentro de todos los integrantes del labo.

A **Camila Dávila**, con quien compartí estándares, ecuaciones, soluciones, eluciones, solventes, protocolos, rotámetros, mangueras de teflón, bombas de aire, el cauartucho de colecta de volátiles y hasta el comité consejero... y siempre con la mejor buena onda y predisposición.

A **Vane, Alberto y Lali**, gracias por estar siempre ahí acupándose de que todo funcione de la mejor manera.

A las chicas de atrás (**Vero, Alina, Silvina y Lucía**), las de adelante (**Nati, Jesi, Dani, Jose, Flor, Eliana, Romi**) y también a los del medio (**Albertina, Guille, Fran y Mariano**) por dar vida al laboratorio.

A **Bere, Mariano, Mariana, Franco y Bruno**, porque nunca nos faltaron planes para salir a girar por la city. Por las cenas de los viernes, los findes XL y por los juegos de cartas de Holalá.

A “las tipas”, **Silvi¹, Silvi², Eve, Emi, Chela y Jose**, por su amistad y apoyo.

A mis vecinos por siempre **Vicky, Juani, Cata y Benja**.

A mis hermanas del alma, **Josefina Suils, Marilyn Silva y Lucía Fazzi**. A **Romi y Yaddy**, gracias por su amistad incondicional.

A mi familia, **Silvia, Cali, Lea, Emi, Eve, Noah y las dos Emmas**. Gracias por su apoyo en todo este proceso. Gracias por llenar mi vida de luz. Los Amo!!!

DECLARACIÓN

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en esta u otra institución.

PUBLICACIONES DERIVADAS DE ESTA TESIS:

Parte de los **Capítulos 1 y 5** dieron lugar a la siguiente publicación:

Jacobi, V. G., Fernandez, P. C. & Zavala, J. A. (2022). The stink bug *Dichelops furcatus*: a new pest of corn that emerges from soybean stubble. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.6821>

Parte del **Capítulo 2** dio lugar a la siguiente publicación:

Jacobi, V. G., Fernandez, P. C., Barriga, L. G., Almeida Trapp, M., Mithöfer, A., & Zavala, J. A. (2021). Plant volatiles guide the new pest *Dichelops furcatus* to feed on corn seedlings. *Pest Management Science*, 77(5), 2444–2453. <https://doi.org/10.1002/ps.6273>

ÍNDICE GENERAL

CARÁTULA.....	I
COMITÉ CONSEJERO.....	II
DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
DECLARACIÓN.....	VI
PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS.....	VII
ÍNDICE GENERAL	VIII
ÍNDICE DE CUADROS.....	XIV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XV
ABREVIATURAS.....	XIX
RESUMEN.....	XX
ABSTRACT.....	XXII
CAPÍTULO 1: <i>Diceraeus furcatus</i>: un problema creciente que va desde el rastrojo de soja a la implantación del maíz.....	1
1.1 Introducción.....	2
1.2 Distribución geográfica.....	4
1.3 Biología	6
1.4 Plantas hospederas.....	8

1.5 De plaga secundaria de soja a nueva plaga de maíz.....	10
1.6 Estrategias de manejo.....	16
1.7 Interacción entre <i>D. furcatus</i> y las plántulas de maíz.....	18
1.8 Efecto de la competencia intraespecífica de las plantas en la distribución de recursos y en la interacción con los herbívoros	20
1.9 Interacción entre <i>D. furcatus</i> y la vegetación espontánea (malezas).....	26
1.10 Objetivos.....	28
1.11 Hipótesis.....	28
CAPÍTULO 2: Interacción entre los adultos de <i>Diceraeus furcatus</i> y las plántulas de maíz.....	31
2.1 Introducción.....	32
2.2 Objetivos e hipótesis.....	35
2.3 Materiales y métodos.....	36
2.3.1 Material botánico.....	36
2.3.2 Material animal.....	36
2.3.3 Tratamientos aplicados a las plántulas.....	37
2.3.4 Preferencia de alimentación en condiciones de libre elección.....	38
2.3.5 Orientación en olfatómetro.....	38
2.3.6 Colección y análisis químico de volátiles.....	39

2.3.7 Determinación de fitohormonas.....	40
2.3.8 Orientación en olfatómetro usando linalool.....	41
2.3.9 Análisis estadístico.....	42
2.4 Resultados.....	43
2.4.1 Libre elección entre plántulas sin inducción.....	43
2.4.2 Orientación en olfatómetro y patrones de emisión de volátiles.....	43
+ Plántulas sin inducción.....	43
+ Plántulas inducidas por herbivoría.....	45
+ Plántulas inducidas por daño mecánico.....	47
+ Plántulas inducidas por MeJA.....	49
+ Plántulas inducidas por SA.....	51
+ Plántulas inducidas por ACC.....	53
2.4.3 Determinación de fitohormonas.....	56
2.4.4 Orientación hacia linalool.....	56
2.5 Discusión.....	60
CAPÍTULO 3: Efecto del sombreado en la emisión de volátiles constitutivos e inducidos por herbivoría en plántulas de maíz y su efecto sobre la preferencia de <i>Diceraeus furcatus</i>.....	67
3.1 Introducción.....	68
3.2 Objetivos e hipótesis.....	70

3.3 Materiales y métodos.....	71
3.3.1 Material botánico.....	71
3.3.2 Material entomológico.....	72
3.3.3 Tratamientos aplicados a las plántulas.....	72
3.3.4 Orientación en olfatómetro.....	72
3.3.5 Colección y análisis química de COVs.....	72
3.3.6 Análisis estadístico.....	73
3.4 Resultados.....	74
3.4.1 Orientación en olfatómetro.....	74
3.4.2 Patrón de emisión de volátiles constitutivos.....	74
3.4.3 Patrón de emisión de volátiles en respuesta a la herbivoría.....	76
3.4.4 Patrón de emisión de volátiles en respuesta al daño mecánico.....	78
3.5 Discusión.....	82
CAPÍTULO 4: Orientación hacia hospederos alternativos.....	87
4.1 Introducción.....	88
4.2 Objetivos e hipótesis.....	90
4.3 Materiales y métodos.....	91
4.3.1 Muestreos a campo.....	91

4.3.2 Toma de los datos.....	91
4.3.3 Identificación de especies vegetales.....	93
4.3.4 Orientación en olfatómetro.....	93
4.3.5 Análisis estadístico.....	94
4.4 Resultados.....	96
4.4.1 Especies vegetales identificadas.....	96
4.4.2 Número de individuos recolectados.....	97
4.4.3 Relación entre la estación de muestreo en función de las especies vegetales identificadas y la ubicación de la chinche de los cuernos.....	97
4.4.4 Orientación en olfatómetro.....	99
4.5 Discusión.....	101
CAPÍTULO 5: Discusión general y consideraciones finales.....	106
5.1 Contexto general.....	107
5.2 Contraste de hipótesis.....	108
5.3 Discusión general	109
5.4 Perspectivas y nuevas propuestas de investigación.....	115
5.5 Consideraciones finales.....	117
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	119

ANEXOS:

Anexo 1: Distribución geográfica y disponibilidad de hábitat de <i>D. furcatus</i>	138
Anexo 2: Lista de las especies relacionadas a <i>D. furcatus</i>	141
Anexo 3: Lista de enemigos naturales de <i>D. furcatus</i> reportados en estudios de campo.....	146
Anexo 4: Orientación en olfatómetro de ambiente estacionario (Análisis estadístico).....	156
Anexo 5: Volátiles totales emitidos por las plántulas del híbrido templado y del tropical.....	158
Anexo 6: Representación gráfica de la contribución de cada variable a los componentes principales de cada PCA.....	160
Anexo 7: Comparación de los niveles de fitohormonas en los tejidos foliares de las plántulas de maíz.....	165
Anexo 8: Volátiles totales emitidos por las plántulas de la línea endocriada Paris 2 (WT) y sus mutantes isogénicos para el fitocromo B1 (Phy B1) y B2 (Phy B2).....	166

ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO 1

Tabla 1.1: Especies de plantas asociadas o relacionadas a *Diceraeus furcatus* en la región Neotropical.....9

Tabla 1.2: Ranking de severidad del daño provocado por *D. furcatus* a plántulas de maíz.....16

Tabla1.3: Enemigos naturales de *Diceraeus furcatus* en los diferentes estadios fenológicos.....17

CAPÍTULO 4

Tabla 4.1: Fecha de muestreos.....91

Tabla 4.2: Especies vegetales identificadas en los muestreos a campo.....96

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Fig. 1.1:** Distribución geográfica de *D. furcatus* predicha por el modelo de máxima entropía.....5
- Fig. 1.2:** Representación del ciclo de vida de *Diceraeus furcatus* desde huevo hasta el estadio adulto.....7
- Fig. 1.3:** Vista ventral de adultos de *D. furcatus*.....8
- Fig. 1.4:** Fenología de *Diceraeus furcatus* bajo las prácticas de rotación de cultivos soja-maíz y siembra directa en el núcleo sojero argentino11
- Fig. 1.5:** Daño causado por *D. furcatus* a las plántulas de maíz.....14
- Fig. 1.6:** Diagrama mostrando la influencia de la distribución de recursos en el rendimiento de granos.....20
- Fig. 1.7:** Esquema representando los espectros de absorción de las formas fotoconvertibles de los fitocromos y el espectro de luz durante el día a cielo abierto y debajo del canopeo.....22

CAPÍTULO 2

- Fig. 2.1:** Olfatómetro de ambiente estacionario.....39
- Fig. 2.2:** Preferencia de alimentación de adultos de *Diceraeus furcatus*.....43
- Fig. 2.3:** Orientación hacia COVs constitutivos.....44

Fig. 2.4: Patrón de COVs constitutivos.....	45
Fig. 2.5: Orientación hacia COVs inducidos por herbivoría.....	46
Fig. 2.6: Patrón de COVs inducidos por herbivoría.....	47
Fig. 2.7: Orientación hacia COVs inducidos por daño mecánico.....	48
Fig. 2.8: Patrón de COVs inducidos por daño mecánico.....	49
Fig. 2.9: Orientación hacia COVs inducidos por MeJA.....	50
Fig. 2.10: Patrón de COVs inducidos por MeJA.....	51
Fig. 2.11: Orientación hacia COVs inducidos por SA.....	52
Fig. 2.12: Patrón de COVs inducidos por SA.....	53
Fig. 2.13: Orientación hacia COVs inducidos por ACC.....	54
Fig. 2.14: Patrón de COVs inducidos por ACC.....	55
Fig. 2.15: Niveles de jasmonatos.....	57
Fig. 2.16: Niveles de fitohormonas.....	58
Fig. 2.17: Orientación hacia linalool.....	59

CAPÍTULO 3

Fig. 3.1: Diagrama mostrando los fitocromos activos de las plántulas de maíz empleadas.....	71
Fig. 3.2: Orientación de adultos hacia COVs emitidos por plántulas bajo competencia planta-planta.....	74

Fig. 3.3: Patrón de la mezcla de COVs emitidos constitutivamente por plántulas bajo competencia planta-planta.....	75
Fig. 3.4: Niveles constitutivos (media \pm EE) de volátiles totales, linalool, índole, β -gurjuneno, salicilato de metilo y salicilato de dimetilo.....	76
Fig. 3.5: Patrón de la mezcla de COVs inducidos por herbivoría en plántulas bajo competencia planta-planta.....	77
Fig. 3.6: Nivel de volátiles totales, (E)- β -ocimeno, copaeno, β -sesquifelandreno, β -mirceno, (+)-3-careno, terpeno desconocido (RT13.6), acetato de 3-hexenilo, geranilacetona, β -gurjuneno, TMTT y linalool emitidos luego de 2hs. de herbivoría.....	78
Fig. 3.7: Patrón de la mezcla de COVs inducidos por daño mecánico en plántulas bajo competencia planta-planta.....	79
Fig. 3.8: Nivel de volátiles totales, β -mirceno, limoneno, (E)- β -ocimeno, benzoato de etilo, copaeno, cariofileno, geranilacetona, acetato de 3-hexenilo, MeSA, TMTT y linalool emitidos luego de 2 hs. de daño mecánico.....	80

CAPÍTULO 4

Fig. 4.1: Cuadro utilizado en los muestreos a campo.....	92
Fig. 4.2: Ficha utilizada en los muestreos.....	92
Fig. 4.3: Número de individuos recolectados durante los distintos muestreos.....	97

Fig. 4.4: Agrupamiento de la presencia de individuos de *D. furcatus* en las especies vegetales identificadas en función de las estaciones de muestreo.....98

Fig. 4.5: Orientación hacia COVs emitidos por las malezas.....99

CAPÍTULO 5

Fig. 5.1: Hosederos donde localizar a *D. furcatus* presentes en los agroecosistemas durante el año.....111

ABREVIATURAS

ABA: Ácido abscísico

ACC: Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico

COVs: Compuestos orgánicos volátiles

DMNT: (E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatrieno

ET: Etileno

FR: Rojo lejano

IAA: Ácido indolacético

MIP: Manejo integrado de plagas

JA: Ácido jasmónico

MeJA: Jasmonato de metilo

MeSA: Salicilato de metilo

OPDA: Ácido 12-oxophytodienoico

PCA: Análisis de componentes principales

SA: Ácido salicílico

Pfr: Fitocromo biológicamente activo

Phy B: fitocromo B

Pr: Fitocromo biológicamente inactivo

R: Rojo

TMTT: (3E, 7E)-4,8,12-trimetil-1,3,7,11-dodecatetraeno

VHVs: Volátiles de hoja verde

RESUMEN

La incidencia de *Diceraeus* (ex *Dichelops*) *furcatus* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) ha ido en aumento en las últimas campañas agrícolas. El daño producido por *Diceraeus* no sólo se observó en cultivos de soja, sino que también en el cultivo de maíz, principalmente en condiciones de “siembra directa”. El objetivo de esta tesis fue determinar las claves que permiten a la chinche de los cuernos (*Diceraeus furcatus*) reconocer a las plántulas de maíz (*Zea mays* L.) y a la vegetación arvense asociada como hospederos potenciales. Para ello, se realizaron estudios bioquímicos y de comportamiento, a campo y en el laboratorio. Se evaluó la preferencia tanto de alimentación como olfativa de los adultos de *D. furcatus* frente a germoplasmas contrastantes de maíz. Se estudió la composición química de la mezcla de compuestos orgánicos volátiles (COVs) emitida por las plántulas, tanto los constitutivos, como los inducidos por herbivoría, daño mecánico y aplicación exógena de fitohormonas como ácido jasmónico (JA), ácido salicílico (SA) y ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC, precursor del etileno). Se midió el cambio en los niveles basales de fitohormonas inducido en las plántulas en respuesta a la herbivoría y al daño mecánico. También se estudió la influencia de la competencia intraespecífica de las plántulas de maíz en la emisión de volátiles, así como en la orientación de los adultos de *D. furcatus*. Además, se realizaron muestreos periódicos para identificar los hospederos alternativos de esta chinche, y se evaluó su orientación olfativa hacia los mismos. Se determinó que, para los adultos de *D. furcatus*, las claves olfativas son esenciales para identificar a las plántulas de maíz como un hospedero de alimentación. Estas chinches se ven atraídas por los COVs del maíz, principalmente el monoterpeno linalool. Además, utilizan los COVs para sensor el estatus fisiológico de sus hospederos, prefiriendo las plántulas de maíz que crecen en condiciones de alta competencia lumínica. Las plántulas de maíz responden al ataque de

esta chinche mediante la activación de la vía de JA, y la respuesta depende tanto del genotipo como del estatus fisiológico. Así también, la orientación de los adultos de *D. furcatus* hacia sus hospederos alternativos está determinada por las claves olfativas.

Palabras clave: *Diceraeus furcatus*; chinche; maíz; volátiles; preferencia; ácido jasmónico

ABSTRACT

The impact of *Diceraeus (Dichelops) furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae) on soybean and corn crops has been increasing in recent agricultural seasons. These stink bugs not only feed on soybean pods and seeds but also, they feed on corn seedlings sown under a no tillage system. The objective of this thesis is to establish the volatile cues that allow *D. furcatus* to orientate themselves toward the corn seedlings and the associated weeds by recognizing them as potential hosts. Biochemical and behavioral bioassays were performed under both natural and laboratory conditions. Stink bug' feeding preference and olfactory orientation were evaluated. Constitutive and treated corn seedlings volatiles mixtures were analyzed and quantified. Treatments performed were feeding damaged, mechanical damaged, and spray of phytohormones as jasmonic acid (JA), salicylic acid (SA) and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC, an ethylene precursor). Constitutive and both feeding and mechanical damaged levels of phytohormones were measured in corn seedlings tissues. Furthermore, the effect of plant-plant competition on the composition of corn seedlings volatile blend was measured, as well as its influence on the host preference of *D. furcatus* adults. In addition, seasonal field surveys were performed to identify *D. furcatus* alternative hosts. Olfactory bioassays toward the potential alternative hosts were developed. This thesis results have shown that plant volatiles are the main cues exploit by *D. furcatus* adults to recognize corn seedlings as feeding hosts. These stink bugs are attracted to the monoterpene linalool, which is a key component in the volatile blend of corn seedlings. Light competition has been shown to alter the composition of the volatiles emitted by corn seedlings. Corn seedlings respond to *D. furcatus* attack by increasing the JA levels. Besides, stink bugs can sense the corn seedling light physiological status, by sensing its volatiles blend. Moreover, the

distribution of *D. furcatus* in the agroecosystem landscape appeared to depend on the volatiles emitted by its alternative hosts.

Keywords: *Diceraeus furcatus*; stink bug; corn; volatiles; preference; jasmonic acid

CAPÍTULO 1:

***Diceraeus furcatus*: un problema creciente que va desde el rastrojo de soja a la implantación del maíz**

1.1 INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L. (Poales: Poaceae)) y la soja (*Glycine max* L. Merr. (Fabales: Fabaceae)) son dos de las especies vegetales de mayor explotación agrícola a nivel mundial. Argentina y Brasil se encuentran entre los principales países exportadores de la producción de estos cultivos, destinando más de 75 millones de hectáreas (USDA, 2021), siendo fundamentales para las economías de ambos países (<http://datosestimaciones.magyp.gob.ar>; <https://www.conab.gov.br>). Sin embargo, existen diferentes especies de insectos que atacan estos cultivos, afectando su rendimiento. Tradicionalmente, los principales insectos plaga del maíz corresponden a los órdenes Lepidoptera y Coleoptera. El gusano de la raíz del maíz, *Diabrotica virgifera virgifera* L.C. (Coleoptera: Chrysomelidae), es la principal plaga de este cultivo en el hemisferio norte; mientras que, en Sudamérica, las especies económicamente más relevantes son el barrenador de la caña, *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae) (Id et al., 2019), y el gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (Juárez et al., 2012), dependiendo del área geográfica y las condiciones climáticas preponderantes. En cambio, el cultivo de soja se ve mayormente afectado durante la etapa de formación de vainas y semillas por un complejo de diferentes especies del orden Hemiptera. La composición e importancia de este complejo varía regionalmente dependiendo tanto de las especies presentes como de factores agroecológicos. Entre las especies más estudiadas a nivel mundial están la chinche verde (*Nezara viridula* L. (Hemiptera: Pentatomidae)) (McPherson et al., 1979) y la chinche asiática (*Halyomorpha halys* Stål (Hemiptera: Pentatomidae)) (Abram et al., 2017; Rice et al., 2014). En la región Neotropical, durante la última mitad del siglo XX, las especies más importantes fueron *N. viridula* y la chinche de la alfalfa, *Piezodorus guildinii* (W.) (Hemiptera: Pentatomidae). Estas chinches solían estar acompañadas de

otras especies de importancia secundaria como la chinche marrón, *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae), el alquiche chico, *Edessa meditabunda* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) y las chinches de los cuernos, *Diceraeus furcatus* (F.) y *D. melacanthus* (D.) (Hemiptera: Pentatomidae) (Panizzi, 2015). Estas dos últimas especies han sido renombradas recientemente (Barão et al., 2020), pero son ampliamente conocidas por el género antiguo, *Dichelops* spp.

En las últimas décadas, los productores agrícolas de Argentina y Brasil adoptaron masivamente nuevas tecnologías, como la siembra directa, la rotación de cultivos y el uso de cultivos de cobertura, los cuales favorecen la presencia de los organismos asociados al suelo, debido a la presencia de rastrojos y material vegetal (Chocorosqui, 2001). Estos cambios en las prácticas agrícolas están asociados a una disminución de la abundancia de la población de *N. viridula* y un aumento de la abundancia de otras especies asociadas a los rastrojos como *D. furcatus* (Panizzi & Lucini, 2016). De tal manera, se ha observado que *D. furcatus* ha incrementado paulatinamente su importancia dentro del complejo de chinches fitófagas en la región pampeana, llegando a ser la especie dominante en lotes de soja en numerosas ocasiones (Luna & Iannone, 2013). Además, a partir de la campaña 2001-2002 comenzaron a observarse casos en los que la chinche de los cuernos produjo pérdidas económicas significativas en el cultivo de maíz (de hasta el 30% en algunas localidades de Córdoba), atacando principalmente durante los primeros estadios vegetativos (INTA, 2012). Actualmente, *D. furcatus* representa no solo un problema creciente para el cultivo de soja, sino también para el maíz. Si bien, la información disponible sobre este organismo plaga reside en reportes técnicos desarrollados para productores, el interés por conocer más sobre la biología y la interacción de este insecto con los cultivos está en aumento (Cingolani et al., 2019; Jacobi et al., 2021; Panizzi et al., 2016; Resquín-Romero et al., 2020; Somavilla et al., 2019).

1.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La información disponible sugiere que la población de *D. furcatus* es más abundante en el sur de Brasil, en las regiones de Rio Grande do Sul, Santa Catarina y Paraná (Somavilla et al., 2019); y en Argentina es más frecuente en las regiones templadas con niveles elevados de producción de soja y maíz (Cingolani et al., 2019; Jacobi et al., 2021, 2022), conocida como el “núcleo sojero” que comprende las provincias de Santa Fe, Córdoba y Buenos Aires. Considerando que las variables climáticas se encuentran dentro de los principales factores ecológicos que pueden limitar la distribución de una especie (Peterson et al., 2011), para el estudio de *D. furcatus* se realizó un modelo de su distribución geográfica considerando el nicho potencial ya que los mapas de distribución disponibles no son confiables porque no especifican el origen de los datos ni el método de modelación utilizado (Jacobi et al., 2022). La distribución geográfica potencial fue predicha utilizando el modelo de máxima entropía (Phillips et al., 2006; Phillips & Dudík, 2008), y los resultados mostraron que el rango de distribución se extiende desde el norte de la Patagonia (Argentina) hasta el sur de Brasil, e incluye los países de Argentina, Brasil, Bolivia, Paraguay y Uruguay (Fig. 1.1; Anexo 1; Jacobi et al., 2022). Las variables climáticas que mejor explicaron la distribución de la chinche de los cuernos fueron la isothermalidad (37,8%), la temperatura media del cuartil más frío (21,9%), las precipitaciones por estación (12,7%) y la temperatura máxima del mes más cálido (12,1%) (Anexo 1; Jacobi et al., 2022). En consecuencia, el factor limitante que modela la disponibilidad de hábitat para esta especie de chinche parece ser las fluctuaciones de temperatura. En las regiones más cálidas, como en el Estado de Paraná (Brasil), donde la

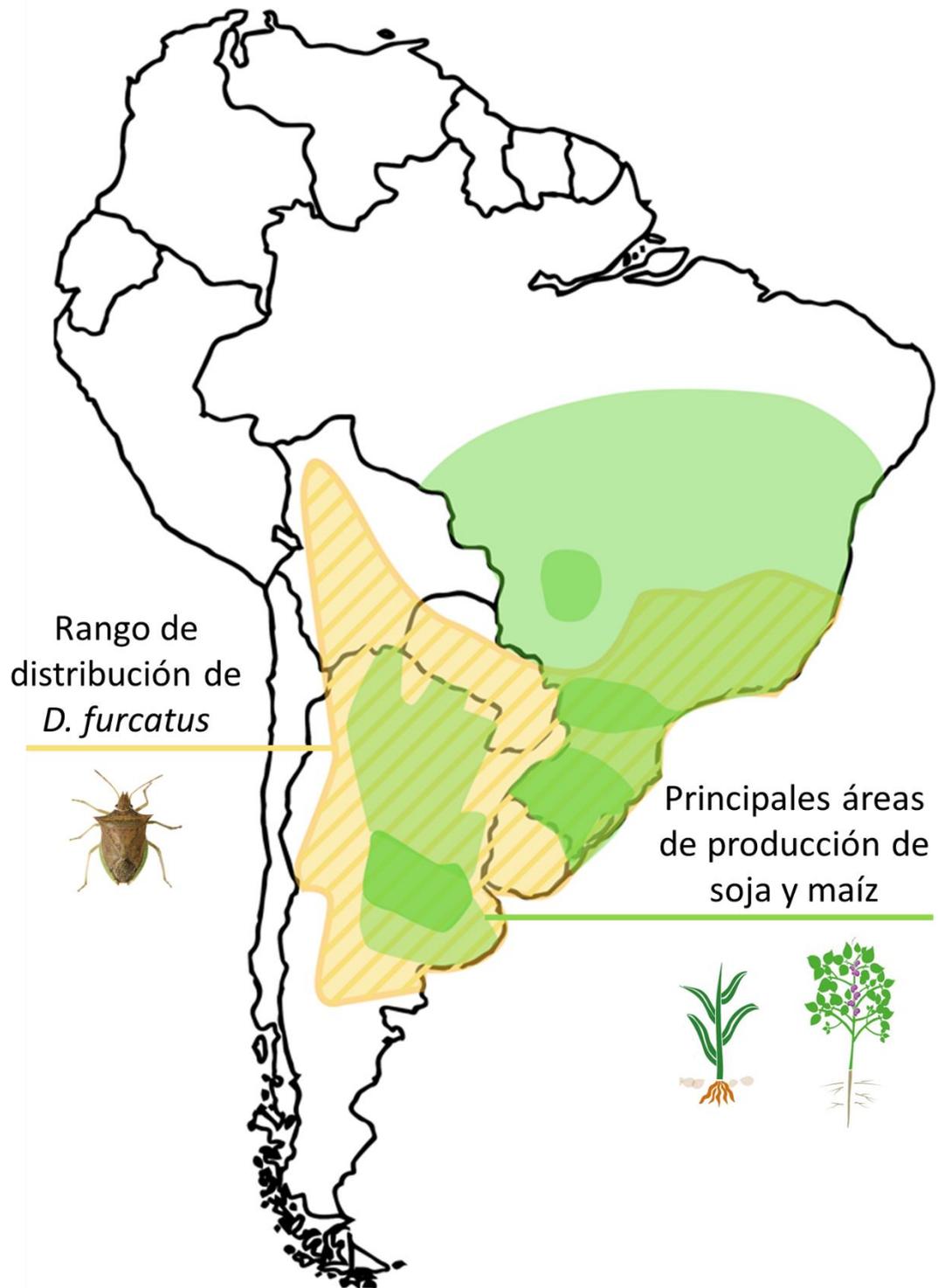


Figura 1.1: Distribución geográfica de *D. furcatus* predicha por el modelo de máxima entropía. El área rayada color amarillo muestra las zonas donde las condiciones son favorables para esta especie (UAC= 0,944; Anexo 1). El área en color verde muestra las zonas de producción de soja y maíz en Argentina (www.bolsadecereales.com) y Brasil (www.conab.gov.br). Las áreas sombreadas con un verde más oscuro muestran las zonas de mayor producción de estos cultivos, donde *D. furcatus* es más abundante y reviste una mayor relevancia económica (Jacobi et al., 2022).

temperatura media ronda los 19°C en el mes julio (<https://es.climate-data.org>), esta especie de chinche puede pasar el invierno alimentándose de diferentes especies de plantas que se encuentran en los lotes. Sin embargo, en las zonas templadas de Argentina, cómo el sur de Córdoba, donde las temperaturas son más bajas en el invierno, mostrando un promedio de 10°C durante el mes de julio (<https://es.climate-data.org>), los individuos presentan diapausa (Jacobi et al., 2022).

1.3 BIOLOGÍA

El ciclo de vida de *D. furcatus* progresa de huevo hasta adulto atravesando cinco estadios ninfales (Fig. 1.2). Las hembras son multivoltinas y típicamente cada ovipostura se compone de un grupo de alrededor de 13 huevos (Fig. 1.2), adheridos sobre las hojas o frutos de las plantas hospederas (La Porta et al., 2013). El tiempo de desarrollo es variable, y depende de diferentes factores como temperatura y calidad nutricional del alimento (Fig. 1.2) (Panizzi et al., 2018; Küng et al., 2018). Los adultos de *D. furcatus* presentan una coloración dorsal ocre, con puntuaciones que van del marrón al negro (Fig. 1.2). El color ventral de los adultos, tanto en machos como hembras, varía dependiendo de las condiciones ambientales, cambiando de verde a marrón-rosáceo en el fenotipo de invierno (Fig. 1.3 C). En el último segmento abdominal, los machos presentan un clasper (Fig. 1.3 A), el cual representa un carácter de importancia taxonómica para la identificación de *D. furcatus* (Grazia, 1978). Si bien esta especie es multivoltina, no se sabe cuántas generaciones tiene al año.

Las chinches tienen un aparato bucal picador – suctor. Los estilestes (formados a partir de las mandíbulas y las maxilas) tienen dos canales, el de la saliva y el de alimentación. En líneas generales, estos insectos se alimentan insertando sus estilestes en el tejido vegetal, volcando saliva a través del canal de la saliva y succionando el tejido

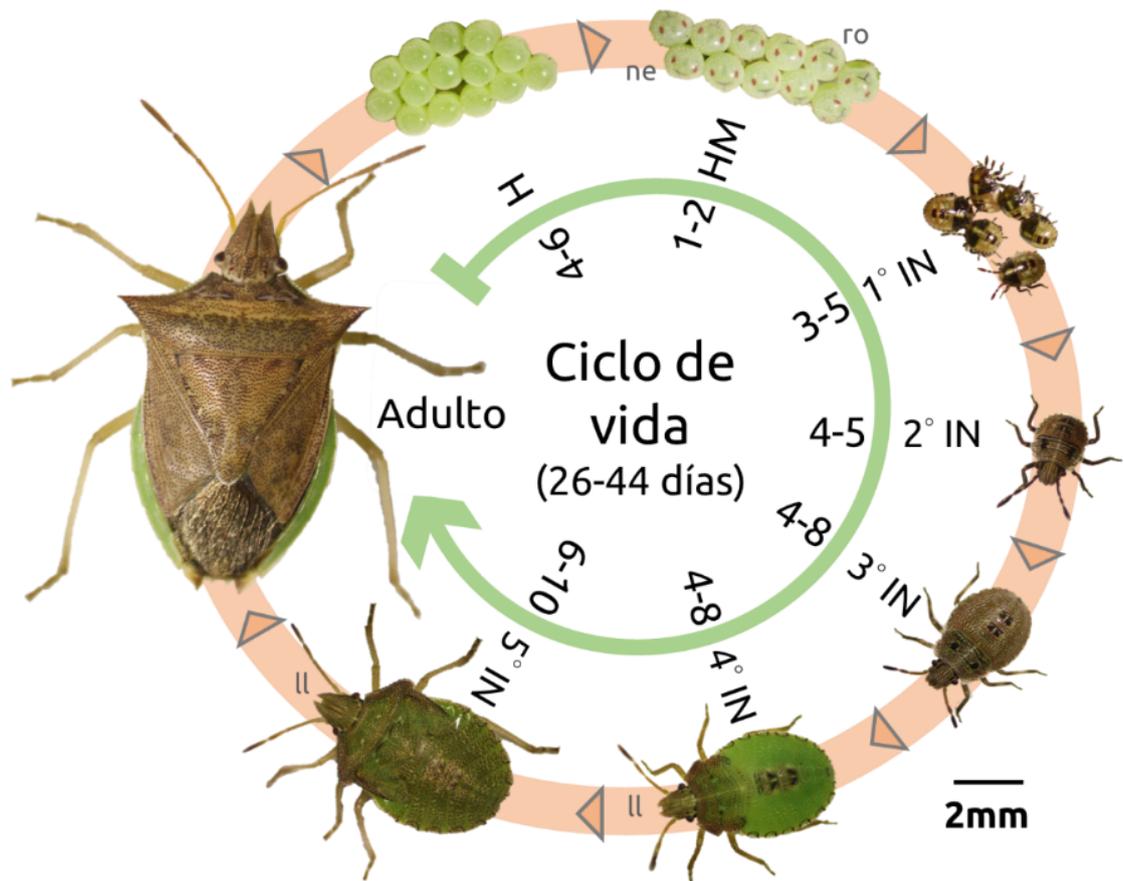


Figura 1.2: Representación del ciclo de vida de *Dicerca furcatus* desde huevo hasta el estadio adulto. El tiempo requerido para atravesar cada estadio está indicado en el lado interno de la flecha verde. H= huevos; HM= huevos maduros; 1° IN= 1° estadio ninfal; 2° IN: 2° estadio ninfal; 3° IN= 3° estadio ninfal; 4° IN= 4° estadio ninfal; 5° IN= 5° estadio ninfal; ro= *ruptusovis*; ne= ojos rojos de las ninfas de primer estadio previo a la eclosión del huevo; ll= lóbulos laterales.

digerido a través del canal de la alimentación (Giacometti et al., 2020). Sin embargo, pueden emplear el estilete tanto para macerar las células como para pasar entre las mismas hasta alcanzar los vasos vasculares de las plantas. Además, poseen diferentes tipos de saliva (saliva fluida, saliva del cono o cucurucho de alimentación y la secreción del reborde) que difieren en composición, densidad y función (Backus et al., 2006; Sharma et al., 2014, McPherson, 2018). Los adultos de *D. furcatus* muestran un comportamiento de alimentación plástico y complejo. Se ha observado que para alimentarse a partir de estructuras reproductivas de trigo utilizan la estrategia de macerar las células vegetales, tanto química como mecánicamente, sin embargo, cuando se alimenta a partir de plántu-

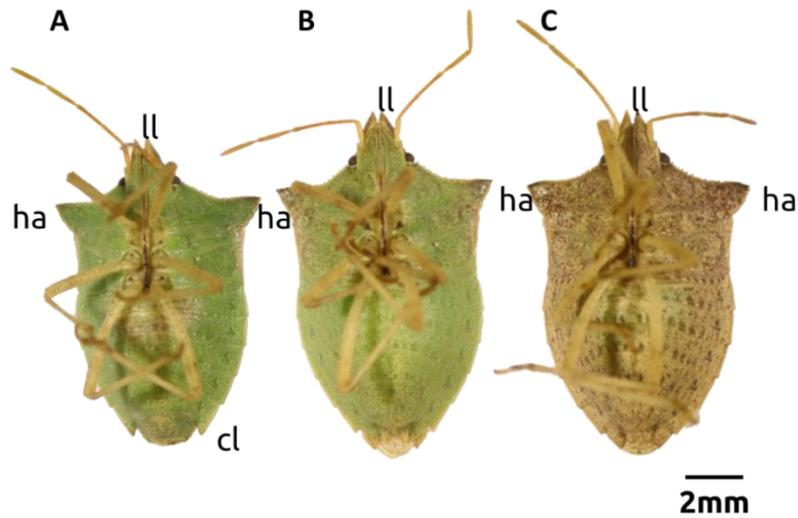


Figura 1.3: Vista ventral de adultos de *D. furcatus*. En la fotografía se observa la vista ventral de un macho (A) y de hembras (B y C) de adultos de la chinche de los cuernos. La hembra de la derecha muestra el color ocre-rosáceo característico del fenotipo de invierno. Cl= aparato reproductor masculino externo (clasper); ha= ángulo humeral; ll= lóbulos laterales.

las, estas chinches utilizan una estrategia diferente, alcanzando con la probóscide los vasos vasculares, alimentándose directamente de ellos (Lucini y Panizzi, 2017).

1.4 PLANTAS HOSPEDERAS

El principal hospedero conocido de *D. furcatus* es la soja durante el desarrollo de vainas y semillas, pero el cultivo de soja está disponible durante un tiempo limitado. El resto del año, *D. furcatus* necesita usar hospederos alternativos para alimentarse y/o reproducirse. Smaniotto & Panizzi (2015) hicieron una revisión bibliográfica y relacionaron a esta chinche con 32 especies vegetales pertenecientes a 13 familias distintas, principalmente en Brasil. Incluyendo la información disponible en Argentina y Uruguay encontramos que hay más de 79 especies vegetales pertenecientes a 18 familias que han sido relacionadas a *D. furcatus* (tabla 1.1; anexo 2). Sin embargo, se desconoce el rol de la mayor parte de las especies registradas en el ciclo de vida de *D. furcatus*.

Tabla 1.1: Especies de plantas asociadas o relacionadas a *Diceraeus furcatus* en la región Neotropical. Las plantas pueden ser utilizadas por los individuos de *D. furcatus* con motivos reproductivos y de alimentación (“Hospederos reproductivos”), de alimentación (“Hospederos de alimentación”), y de hidratación o refugio (“Hospederos ocasionales”). Esta tabla está basada en diferentes estudios detallados en el Anexo 2

Familia	Hospedador ocasional	Hospedador de alimentación	Hospedador reproductivo
Amaranthaceae	<i>Beta vulgaris</i>	<i>Amaranthus quitensis</i> , <i>Chenopodium quinoa</i>	
Anacardiaceae	<i>Schinus terebinthifolius</i>		
Apiaceae	<i>Bowlesia incana</i> , <i>Daucus carota</i>		
Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i> , <i>Carduus nutans</i> , <i>Carthamus tinctorius</i> , <i>Cichorium intybus</i> , <i>Cirsium vulgare</i> , <i>Conyza bonariensis</i> , <i>Gochnatia polymorpha</i> , <i>Lactuca sativa</i> , <i>Stevia rebaudiana</i> , <i>Xanthium cavanillesii</i>	<i>Helianthus annuus</i> , <i>Senecio argentinus</i> , <i>Sonchus oleraceus</i>	
Brassicaceae		<i>Brassica rapa</i>	<i>Brassica napus</i> , <i>Brassica oleracea</i> , <i>Raphanus sativus</i>
Cucurbitaceae	<i>Citrullus lanatus</i> , <i>Cucumis melo</i> , <i>Cucurbita maxima</i>		
Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i>		
Fabaceae	<i>Macroptilium atropurpureum</i> , <i>Melilotus officinalis</i> , <i>Pisum sativum</i> , <i>Rhynchosia corylifolia</i> , <i>Senna occidentalis</i> , <i>Vicia sativa</i>	<i>Arachis hipogea</i> , <i>Avena fatua</i> , <i>Lotus corniculatus</i> , <i>Lupinus albus</i> , <i>Trifolium repens</i> , <i>Vicia faba</i> , <i>Vigna unguiculata</i>	<i>Glycine max</i> , <i>Medicago sativa</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i>
Linaceae	<i>Linum usitatissimum</i> , <i>Origanum vulgare</i>		
Malvaceae	<i>Gossypium hirsutum</i> , <i>Sphaeralcea bonariensis</i>		
Melastomataceae	<i>Miconia cinerascens</i>		
Myrtaceae	<i>Eugenia uniflora</i> , <i>Myrciaria tenella</i>		
Oleaceae	<i>Olea europaea</i>		
Poaceae	<i>Andropogon bicornis</i> , <i>Brachiaria plantaginea</i> , <i>Bromus catharticus</i> , <i>Digitaria sanguinalis</i> , <i>Erianthus angustifolius</i> , <i>Festuca perennis</i> , <i>Oryza sativa</i>	<i>Avena sativa</i> , <i>Digitaria insularis</i> , <i>Eleusine indica</i> , <i>Sorghum halepense</i> , <i>Sorghum cafforum</i> var. <i>bicarinatedum</i> , <i>Zea mays</i>	<i>Hordeum vulgare</i> , <i>Secale cereale</i> , <i>Triticosecale semisecale</i> , <i>Triticum aestivum</i>
Rosaceae	<i>Fragaria sp</i>	<i>Rubus sp</i>	
Scrophulariaceae	<i>Buddleja thyrsoides</i>		
Solanaceae	<i>Cestrum parqui</i> , <i>Nicotiana tabacum</i> , <i>Physalis sp</i> , <i>Solanum granuloso-leprosum</i> , <i>Solanum lycopersicum</i> , <i>Solanum tuberosum</i>		
Urticaceae	<i>Parietaria debilis</i>		

Durante esta tesis se catalogarán como “hospederos ocasionales” a las plantas de refugio o casuales, “hospederos de alimentación” a las plantas que utiliza con fines nutricionales y “hospederos reproductivos” a las plantas donde los adultos pueden alimentarse y oviponer, y las ninfas pueden alimentarse y completar su desarrollo. Los hospederos de alimentación conocidos pueden clasificarse dentro de seis familias vegetales (Amaranthaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Fabaceae, Poaceae y Rosaceae) (tabla 1.1; Anexo 2). El número de hospederos reproductivos es más estrecho e incluye especies pertenecientes a tres familias (Brassicaceae, Fabaceae y Poaceae), las cuales deben contar con estructuras reproductivas (frutos y semillas) para que las ninfas sean capaces de completar su desarrollo (tabla 1.1; Anexo 2).

1.5 DE PLAGA SECUNDARIA EN SOJA A NUEVA PLAGA EN MAÍZ

Durante las últimas 5 décadas *D. furcatus* fue considerada como una plaga secundaria en el cultivo de soja durante la etapa reproductiva (Fig. 1.4: A- Soja) (Panizzi, 2015). Este insecto, al comer de las vainas y semillas, afecta directamente el rendimiento, pero la magnitud del daño depende del estadio fenológico de la soja, siendo los primeros estadios reproductivos los más susceptibles. El daño consecuente de la alimentación de chinches fitófagas en soja puede provocar el aborto de vainas o semillas, la presencia de vainas vanas, un cambio en el contenido de aceites, y la disminución del poder germinativo de las semillas, afectando no sólo el rendimiento sino también la calidad del grano (Dillon et al., 2020; Giacometti et al., 2018, 2020; McPherson et al., 1979; Todd & Turnipseed, 1974; Zavala et al., 2015). Además, el daño físico provocado por la alimentación de las chinches puede contribuir al ingreso de microorganismos infecciosos, como el hongo *Nematospora coryli* Peglion (Nematosporaceae: Hemiascomycetidae)

(Clarke & Wilde, 1970b, 1970a; Medrano et al., 2009; Mitchell, 2004), y al fenómeno de retención foliar (Daugherty et al., 1964; Sosa-Gómez & Moscardi, 1995).

Sin embargo, el daño provocado por las chinches es percibido por las plantas, lo que induce diferentes vías de señalización, las cuales están mediadas por proteínas quinasas activadas por mitógenos (Giacometti et al., 2016, 2020). En condiciones de campo, las semillas de soja que se encuentran en plantas en estadio R5-R6 (según la escala de Fehr & Caviness, 1977) producen compuestos antiherbívoro, cómo los flavonoides y los inhibidores de peptidasas después del ataque de chinches (Dillon et al., 2020; Giacometti et al., 2016; Sabljic et al., 2020; Zavala et al., 2015). Sin embargo, las chinches son capaces de evadir las defensas de las plantas, mediante la inducción de peptidasas insensibles a los inhibidores o por la microbiota alojada en el intestino de las chinches

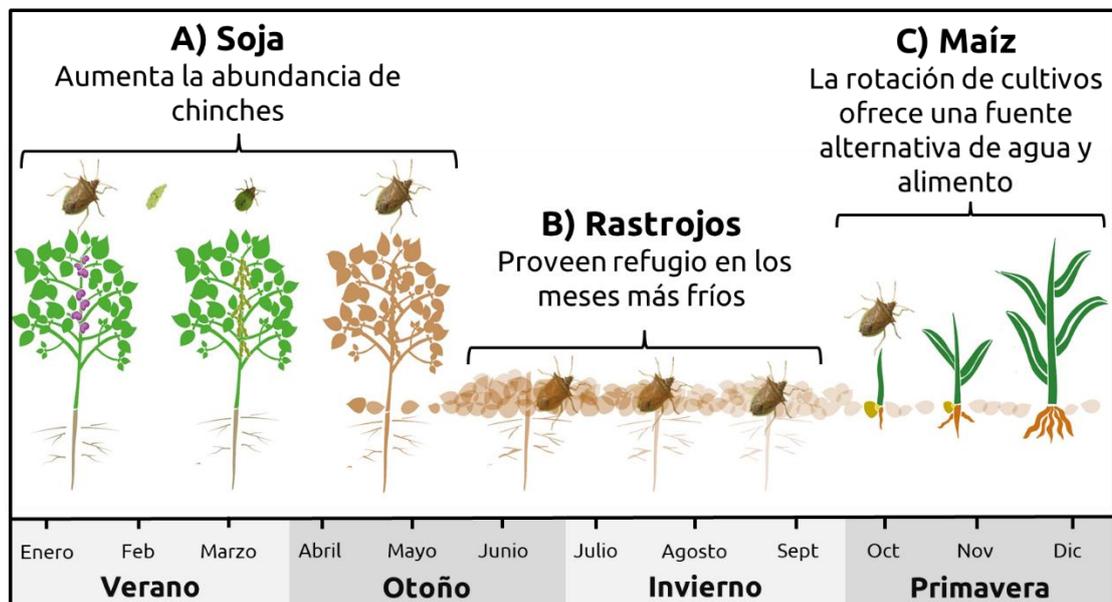


Figura 1.4: Fenología de *Diceraeus furcatus* bajo las prácticas de rotación de cultivos soja-maíz, y siembra directa en el núcleo sojero argentino. **A)** La soja en estadio reproductivo es la principal fuente de alimento disponible para esta chinche durante finales del verano y principios del otoño. En ese momento, los individuos de *D. furcatus* cuentan con las condiciones climáticas y nutricionales óptimas que propician su reproducción y desarrollo. **B)** El rastrojo que queda en los lotes después de la cosecha de soja proporciona a los adultos de *D. furcatus* un refugio donde pasar los meses más fríos en el campo. **C)** En primavera, cuando la temperatura aumenta, los adultos abandonan sus refugios invernales en busca de fuentes de alimento y agua. Ese momento coincide con la etapa de implantación del cultivo de maíz.

capaz de desactivar los inhibidores (Medina et al., 2018; Sardoy et al., 2021). A pesar de que esta especie no es considerada tan perjudicial como otras especies del complejo de hemípteros pentatómidos fitófagos, como *N. viridula* y *P. guildinii*, Luna & Iannone (2013) mostraron que con un rango de infestación de cuatro individuos de *D. furcatus* por metro cuadrado durante el quinto estadio fenológico de la soja (R5, según la escala de Fehr & Caviness, 1977), el 10 % de las semillas habían sido dañadas.

Durante la década de los '90s, los productores agropecuarios argentinos y brasileros adoptaron masivamente los principios de la Agricultura de Conservación, los cuales postulan que, para cuidar el suelo, que es un recurso no renovable, las prácticas agropecuarias deben evitar el disturbio mecánico (arado), mantener el suelo cubierto con materia orgánica (rastrojo) y diversificar la sucesión de especies cultivadas en una misma parcela (FAO, 2019). Estas modificaciones en las prácticas agrícolas transformaron radicalmente el paisaje de los agroecosistemas. Por un lado, bajo este sistema, una de las rotaciones de cultivos más recomendadas en las llanuras argentinas es la de soja- maíz. La presencia de vainas y semillas de soja hacia el final del verano y comienzos del otoño permite que la abundancia de *D. furcatus* aumente (Fig. 1.4 A), al igual que otras especies del complejo de chinches relacionados a la soja. Por otro lado, los rastrosos más las semillas que muchas veces caen al suelo, proveen de refugio y alimento a los organismos asociados con el suelo, como es el caso de *D. furcatus* (INTA, 2002). En las regiones templadas, los adultos de *D. furcatus* han tomado ventaja de estas condiciones y comenzaron a pasar los inviernos en el campo, cobijados debajo de los restos vegetales (Fig. 1.4: B- Rastrosos) (Agostinetto et al., 2018). Esto permite que los adultos de *D. furcatus* puedan atravesar los meses más fríos en los lotes (Fig. 1.4 B), mientras que otras especies de pentatómidos fitófagos como *N. viridula* y *P. guildinii* migran hacia las zonas urbanas o de vegetación, donde usualmente se refugian bajo la corteza de árboles,

especialmente *Eucalyptus* sp. (Todd, 1989; Zerbino et al., 2015). Además, a raíz de ser generalistas, los adultos de *D. furcatus* han sido beneficiados por la rotación de cultivos al poder acceder a cultivos alternativos como fuente de alimento o agua (Cingolani et al., 2019; EMBRAPA, 2006; Jacobi et al., 2022; Panizzi & Lucini, 2016).

Durante la primavera, el metabolismo de los adultos invernantes de *D. furcatus* se activa. En el “núcleo sojero”, así como en otras regiones templadas, sembrar maíz en lotes cubiertos con rastrojos de soja es una práctica común. Cuando las chinches abandonan los refugios invernales, se encuentran principalmente con plántulas de maíz. Entonces, primero la soja aumenta la abundancia de chinches. Después de la cosecha, los adultos de *D. furcatus* se esconden en los rastrojos durante el invierno (Agostinetto et al., 2018). Así, en primavera, cuando las condiciones desfavorables ya pasaron, este herbívoro encuentra otros cultivos en los mismos lotes donde se refugió. Estos cultivos pueden ser cereales de primavera o, en mayor medida, maíz (Fig. 1.4 C: Maíz). Este intenso cambio en las prácticas agrícolas se correlaciona con el incremento progresivo de la abundancia de *D. furcatus* en los últimos años y su cambio en el estatus como organismo plaga de soja y maíz, tanto en Argentina como en Brasil (Instituto Biológico de São Paulo, 2005; INTA, 2009). Esta situación se ha descrito en varios reportes técnicos de compañías internacionales (Pioneer, 2012; Syngenta, 2011). En los últimos años, *D. furcatus* se ha convertido en una de las especies principales del complejo de chinches fitófagas, e incluso ha llegado a ser la más abundante en algunas regiones. Mientras que en el sur de Córdoba menos del 3% del maíz era afectado por *D. furcatus* durante los ‘90s, monitoreos recientes mostraron que el nivel de daño provocado por esta chinche a las plántulas de maíz supera el 30 % en la misma región (Cassano et al., 2019).

En el cultivo de maíz, el ataque de *D. furcatus* ocurre en la etapa de implantación, la cual es crítica para el establecimiento adecuado de las plantas. Esta chinche se alimenta



Figura 1.5: Daño causado por *D. furcatus* a las plántulas de maíz. Las flechas indican la presencia del insecto o las evidencias del daño provocado por estos. **A)** Adulto de *D. furcatus* sobre el coleoptile de una plántula de maíz. **B)** Orificios simétricos sobre una hoja de maíz causado por la alimentación de *D. furcatus* mientras la hoja aún estaba en desarrollo. **C)** Daño provocado por *D. furcatus* en las hojas en desarrollo de una plántula en estadio V2 (dos hojas desarrolladas). **D)** Planta de maíz con las hojas superiores retorcidas como consecuencia del ataque de *D. furcatus*.

de las plántulas, principalmente en la zona cercana al coleóptilo (Fig. 1.5 A). Debido al aparato bucal picador-suctor, este comportamiento provoca que los daños en las plántulas no sean visibles inmediatamente, sino que se observa a medida que el desarrollo de las plantas progresa (Roza- Gomes et al., 2011). El daño más común es la aparición de cuatro o cinco orificios puntiformes perpendiculares a la nervadura de las hojas (Fig. 1.5 B) (EMBRAPA, 1999; Instituto Biológico de São Paulo, 2005). Cuando el daño por la alimentación es mayor, la lesión puede causar el retorcimiento y, por lo tanto, la deformación de las plántulas, la aparición de macollos o el aborto de las plántulas, afectando el rendimiento del maíz (EMBRAPA, 1999; Roza-Gomes et al., 2011). Teniendo en cuenta que el cultivo de maíz es más susceptible desde el primer hasta el tercer estadio vegetativo (V1-V3, según la escala de Ritchie & Hanway, 1966), en 2012 el INTA propuso una escala para cuantificar el daño de *D. furcatus* en el cultivo de maíz con relación a los síntomas observados en plántulas de maíz en el cuarto estadio vegetativo (V4) (Tabla 1.2). Después de alimentarse de plántulas de maíz, los adultos de *D. furcatus* emigran buscando otros hospederos reproductivos y de alimentación. En consecuencia, en el momento en que el daño causado por la chinche de los cuernos resulta visible, estos insectos ya no se encuentran en los lotes. Por este motivo, es imprescindible que los productores agropecuarios monitoreen los lotes para estimar la densidad poblacional de este organismo plaga y en base a esto decidir cuando es necesario el control químico (INTA, 2009).

Así como en Argentina y en el sur de Brasil los adultos de *D. furcatus* atacan las plántulas de maíz, en el norte de Brasil y en Estados Unidos se han reportado ataques de esta índole por parte de adultos de *D. melacanthus* (Roza- Gomes et al., 2011) y *Euschistus servus* Say (Bryant et al., 2021) respectivamente. En los tres casos, los adultos abandonan el cultivo de maíz después de alimentarse de las plántulas. Así mismo, no hay

Tabla 1.2: Ranking de severidad del daño provocado por *D. furcatus* a plántulas de maíz. Flores y colaboradores propusieron un ranking para cuantificar el grado de severidad provocado por adultos de *D. furcatus* a plántulas de maíz en función de los síntomas observados en el cuarto estadio vegetativo (V4) (INTA, 2012).

NIVEL DE SEVERIDAD	SÍNTOMAS EN PLÁNTULAS (V4)	EFFECTOS EN EL DESARROLLO	EFFECTOS EN EL RENDIMIENTO
NS 0	Sin daño	Normal	Ninguno
NS 1	Puntuaciones simétricas en las hojas	Normal	Ninguno
NS 2	Hojas superiores enrolladas	Afecta el crecimiento de las hojas nuevas	Plantas con menor perímetro del tallo y menor número de semillas y de hileras por mazorca.
NS 3	Intensidad alta de daño, plántulas de menor tamaño	Retraso en la fenología de la planta	Plantas con menor perímetro del tallo, menor altura y menor número de semillas y de hileras por mazorca.
NS 4	Plántulas en estado crítico o abortadas	Retraso en la fenología o muerte de las plantas	Muerte del 70% de las plantas. Las que sobreviven presentan menor perímetro del tallo, menor altura y menor número de semillas y de hileras por mazorca.

registro de que estas chinches depositen huevos o que las ninfas puedan completar su desarrollo alimentándose de plántulas de maíz, sugiriendo que esta fuente de alimento no es nutricionalmente adecuada para estas chinches (Jacobi et al., 2022).

1.6 ESTRATEGIAS DE MANEJO

El método más común para controlar la abundancia de *D. furcatus* en plantas cultivadas consiste en la subsecuente aplicación de insecticidas (Anexo 3). El monitoreo de los lotes para estimar la abundancia de este insecto es fundamental para decidir la estrategia de manejo (Anexo 3). Existen diferentes niveles de daño económico dependiendo del cultivo atacado y de su estadio fenológico. Estos parámetros se han establecido para facilitar la decisión de cuando es conveniente (o no) controlar químicamente la densidad poblacional de este organismo plaga (INTA, 2013; Roza-Gomes et al., 2011) (Anexo 3). La aplicación de los insecticidas de amplio espectro

utilizados contra *D. furcatus* puede tener un efecto disruptivo en las poblaciones de sus controladores naturales, tanto parasitoides como depredadores (Tabla 1.3; Anexo 3). Los productores cuentan con diferentes métodos de monitoreo e insecticidas para el control químico, pero hay poca información sobre el nivel de control por parte de los enemigos naturales a través del control biológico para decidir la estrategia más conveniente en el marco de un manejo integrado de plagas (MIP). El desarrollo de programas de manejo racionales en el marco de MIP contra *D. furcatus* permitiría la aplicación de estrategias con bajo impacto ambiental, disminuyendo el uso de insecticidas.

Tabla 1.3: Enemigos naturales de *Diceraeus furcatus* en los diferentes estados del desarrollo. LA “X” marca los estadios del desarrollo de *D. furcatus* (ninfa, adulto y huevo respectivamente) susceptibles a distintas especies de parasitoides y/o depredadores pertenecientes a las familias identificadas en diferentes estudios de campo.

ORDEN	FAMILIA			
<i>Depredadores</i>				
Araneae	Thomisidae	X	X	
	Oxipidae	X	X	
Coleoptera	Coccinellidae	X		
Hemiptera	Athocoridae	X	X	
	Geocoridae	X	X	
	Pentatomidae	X	X	
Hymenoptera	Sphecidae	X	X	
Neuroptera	Chrysopidea	X		
<i>Parasitoides</i>				
Diptera	Tachinidae	X	X	
Hymenoptera	Encyrtidae		X	
	Eupelmidae			X
	Eurytomidae			X
	Platygastridae			X

Esta tabla está basada en diferentes estudios detallados en el Anexo 3

1.7 INTERACCIÓN ENTRE *D. furcatus* Y LAS PLÁNTULAS DE MAÍZ

Muchas familias de plantas comparten un conjunto central de mecanismos de defensa como consecuencia de la conservación filogenética de las vías biosintéticas (Agrawal, 2007; Stotz et al., 1999). Sin embargo, los insectos herbívoros no pueden alimentarse de cualquier especie de planta, sino que las relaciones entre los herbívoros y sus hospederos han coevolucionado por millones de años, desarrollando un amplio espectro de interacciones. El contexto ecológico y evolutivo en el que ocurren estas interacciones es muy dinámico, por lo que, para maximizar su eficacia biológica (o fitness), los insectos herbívoros deben ser capaces de reconocer los patrones y claves relacionados con sus hospederos y evitar aquellos relacionados a las plantas que no lo son (Bruce, 2015). Durante el proceso de reconocimiento de un hospedero por parte de un insecto herbívoro se distinguen diferentes etapas que van desde el reconocimiento del hábitat y la localización de un hospedero, hasta la aceptación (o no) del mismo (Thorsteinson, 1960). Para esto, el sistema nervioso de los insectos se ha adaptado para percibir y procesar diferentes estímulos a nivel espacio-temporal que les permite sentir y reconocer las claves relacionadas al hospedero (Martin et al., 2011). Entre las claves que un insecto puede integrar a la hora de “seleccionar” un hospedero a la distancia se encuentran las claves visuales, como el color la forma y la textura de la planta y las olfativas. En cambio, una vez que el insecto entra en contacto con la planta, se considera que para “aceptar” a la misma como hospedera, las claves que suelen intervenir son las táctiles y gustativas (Bruce et al., 2005).

Las claves olfativas son importantes en el reconocimiento de una planta hospedera. Los herbívoros deben ser capaces de detectar la mezcla de compuestos orgánicos volátiles (COVs) asociada a sus hospederos en un ambiente químico complejo,

el cual está constituido por compuestos volátiles emitidos por diversas especies de plantas, que pueden o no ser hospederos factibles (Bruce et al., 2005). A pesar de la alta diversidad vegetal presente en los ecosistemas, los herbívoros son capaces de reconocer no solo la presencia o ausencia de compuestos específicos, sino también la concentración de COVs comunes a numerosas especies vegetales (Bruce & Pickett, 2011). Los COVs emitidos por las plantas son mezclas complejas de compuestos, integradas por volátiles de hoja verde (VHVs) derivados de ácidos grasos, isoprenoides y fenilpropanoides (Bruce et al., 2005; Dudareva et al., 2006, 2013; Holopainen & Gershenzon, 2010). Los volátiles inducidos en las plántulas de maíz luego de la herbivoría de *D. furcatus* (Jacobi et al., 2021) podrían funcionar como sinomonas al reclutar a los enemigos naturales de esta chinche (Clavijo McCormick et al., 2012). Además, se ha observado que el grado de atracción del parasitoide de huevos *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) hacia los volátiles inducidos en plantas de maíz por el ataque del insecto blanco (*S. frugiperda*) está condicionada por el trasfondo genético de la línea de maíz utilizada, siendo las líneas que responden emitiendo mayores niveles COVs las que reclutan más parasitoides (Michereff et al., 2019). En la región Neotropical, se han identificado numerosas especies de enemigos naturales de los hemípteros pentatómidos fitófagos, tanto de parasitoides como de depredadores (Tabla 1.3 y Anexo 3). Sin embargo, a pesar de que se cuenta con algo de información respecto al impacto de los parasitoides en la población de *D. furcatus* (Agostinetto et al., 2018; Cingolani et al., 2019), no hay estimaciones disponibles sobre el impacto de los depredadores en la abundancia de esta chinche.

1.8 EFECTO DE LA COMPETENCIA INTRAESPECÍFICA DE LAS PLANTAS EN LA DISTRIBUCIÓN DE LOS RECURSOS Y EN LA INTERACCIÓN CON LOS HERBÍVOROS

El crecimiento y producción de biomasa de un cultivo depende de la capacidad de éste para captar la radiación solar incidente y transformarla en fotoasimilados. El rendimiento final de un cultivo es función de la eficiencia de esta conversión energética en las principales funciones vegetales (Fig. 1.6). La capacidad de capturar la energía lumínica está relacionada con la estructura del cultivo y depende tanto de la morfología de las plantas, cómo de su número y su distribución en el espacio (Maddonni et al., 2001).

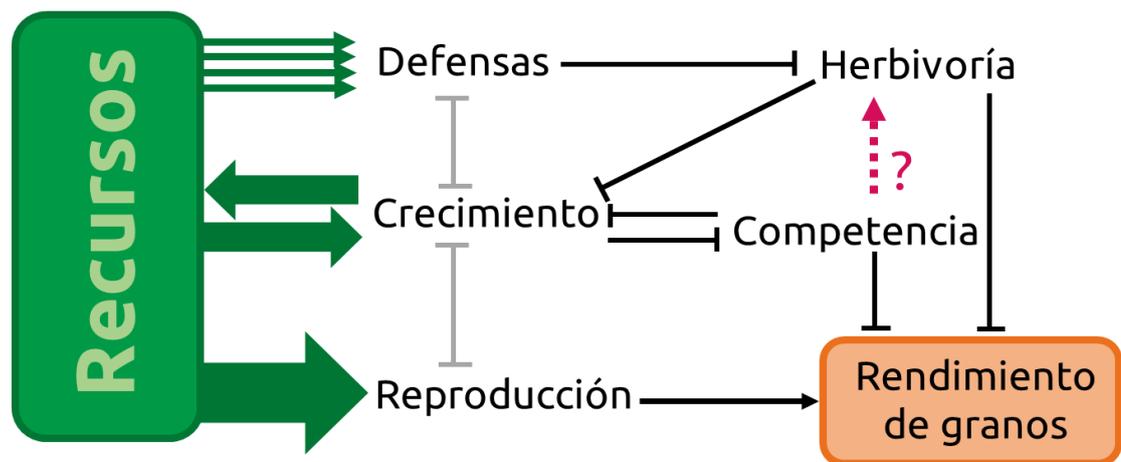


Figura 1.6: Diagrama mostrando la influencia de la distribución de recursos en el rendimiento de granos. Las flechas verdes muestran la distribución de los recursos entre las principales funciones de las plantas, la competencia entre estas funciones se muestra con líneas grises y las interacciones ecológicas se representan con líneas negras. La línea rosa punteada muestra la interacción potencial entre la competencia y la herbivoría. Las flechas indican efectos positivos y las líneas que terminan en barras denotan efectos negativos. Gráfico adaptado de Züst & Agrawal (2017).

La densidad de siembra puede afectar el crecimiento y la biomasa del cultivo ya que las plantas compiten por la luz y otros recursos disponibles (nutrientes, agua) y son capaces de ajustar el patrón de distribución de los fotoasimilados para modificar su morfología (Fig. 1.6) (Markham & Stoltenberg, 2009). Otro factor que puede afectar el rendimiento de un cultivo es el ataque de organismos plaga (Fig. 1.6). Los herbívoros no solo consumen tejidos vegetales, sino que también las plantas deben destinar parte de sus recursos para producir compuestos de defensa (Fig. 1.6) (Züst & Agrawal, 2017), llegando incluso a modificar la estructura de las paredes de sus células (Giacometti et al.,

2016, 2018). Aunque es sabido que existe una competencia entre los recursos que las plantas destinan para crecer y defenderse, poco se sabe de la influencia de la competencia intraespecífica entre plantas de un cultivo sobre la atracción de insectos plaga (Fig. 1.6).

Teniendo en cuenta que las plantas no sólo usan la luz para fijar carbono a través de la fotosíntesis, sino que también la utilizan para sensar señales relacionadas con el espacio y el tiempo, el monitoreo de la calidad lumínica es crucial desde el punto de vista ecológico y permite, por ejemplo, que las plantas sean capaces de determinar el momento del día (Somers et al., 1998), las estaciones (Jackson, 2009; Valverde et al., 2004) y la presencia de otras plantas en su vecindad (Ballaré et al., 1990). Las plantas superiores poseen diferentes familias de fotorreceptores (Ej., fitocromos, criptocromos, fototropinas, etc.) capaces de sensar una variedad de colores que van desde la longitud de onda correspondiente al ultravioleta hasta el infrarrojo (Kami et al., 2010). Estas cromoproteínas actúan tanto independientemente como en conjunto para regular el desarrollo de las plantas (Smith, 2000). Los fitocromos son receptores fotocromáticos que están adaptados para absorber el rango de longitud de onda que va del rojo al rojo-lejano, y pueden estar presentes en dos formas fotoconvertibles (Borthwick et al., 1952; Butler, 1962). Estos fotorreceptores son conjugados de una apoproteína unida covalentemente a un tetrapirrol lineal. Los genes que codifican la apoproteína se encuentran ubicados en el núcleo, mientras que el cromóforo (tetrapirrol lineal) es derivado del grupo hemo y se sintetiza en el cloroplasto (Terry et al., 1993). Las dos partes son ensambladas en el citoplasma para dar lugar a un dímero biológicamente inactivo (Pr), que posee un pico de absorción de 665 nm (rojo o R). Cuando Pr absorbe luz roja cambia a la forma biológicamente activa, denominada Pfr, la cual posee un pico de absorción de 730 nm (rojo lejano o FR). Una parte del pool de Pfr son traslocados al núcleo, donde regulan la expresión de genes al interactuar con factores de transcripción como el factor de

interacción con fotocromos (PIFs) y proteínas similares a PIFs (PILs) (Duek & Fankhauser, 2005). Cuando Pfr absorbe rojo lejano se interconvierte nuevamente a la forma inactiva Pr. Además, ambas formas superponen su espectro de absorción a una longitud de onda de 700 nm (Fig. 1.7), lo que provoca que se establezca un equilibrio dinámico durante el día, donde el balance entre los niveles de la forma Pfr sobre el total de los fitocromos sea de alrededor del 60 % a cielo abierto. Sin embargo, los pigmentos

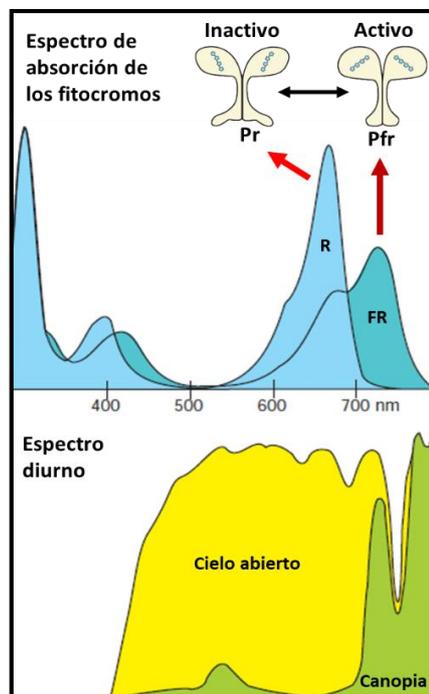


Figura 1.7: Esquema representando los espectros de absorción de las formas fotoconvertibles de los fitocromos y el espectro de luz durante el día a cielo abierto y debajo del canopeo. Fitocromo en estado inactivo (Pr); Fitocromo en estado activo (Pfr); Rojo (R) Rojo lejano (FR) (adaptado de Smith, 2000).

fotosintéticos absorben la luz azul y la roja, pero son indiferentes a la luz verde y al rojo lejano (Kami et al., 2010). Como consecuencia, bajo la canopia, los niveles de rojo lejano son mayores que los del rojo, afectando la proporción de R:FR y por ende el fotoequilibrio de los fitocromos totales (P), el cual puede descender a una proporción de $Pfr/P = 0,1$ provocando cambios fisiológicos y morfológicos que se conocen como el “síndrome de la evasión al sombreado” (Smith, 2000). El fitocromo B (Phy B) interactúa físicamente con numerosos componentes de la cascada de señalización relacionada con la respuesta a la calidad lumínica (Yeom et al., 2014) y su conformación inactiva estimula la acumulación

de factores de transcripción PIFs, los cuales promueven la expresión de genes relacionados con la síntesis de auxinas (Hornitschek et al., 2012). El fenotipo de las plantas que presentan este síndrome se caracteriza por tener los tallos, hipocótilos y pecíolos elongados, reducción del número de hojas y ramas, las hojas curvadas hacia arriba (hiponastia) y en casos extremos puede producirse una floración temprana donde se produce un número bajo y limitado de semillas, acortándose así el ciclo de vida (Chory & Cerda, 2003).

En las dicotiledóneas, cómo por ejemplo la planta modelo *Arabidopsis thaliana* L. Heynh (Brassicales: Brassicaceae), hay cinco subfamilias de genes que conforman la familia de fitocromos, las cuales fueron nombrados desde PHYA a PHYE, pero el número de genes puede variar dependiendo de la especie vegetal que se considere (Casal, 2013). Las monocotiledóneas poseen tres subfamilias de genes que codifican fitocromos (PHYA, PHYB y PHYC) (Mathews & Sharrock, 1997). En el maíz hay 2 genes en cada subfamilia, y las dos variantes de fitocromos B (Phy B1 y Phy B2) son responsables de percibir las claves lumínicas relacionadas con la competencia planta-planta y, en general, tienen funciones redundantes. Sin embargo, Phy B1 se impone sobre Phy B2 en la elongación del mesocotilo durante el desarrollo de la plántula; mientras que Phy B2 se impone sobre Phy B1 en el control de la floración (Sheehan et al., 2007).

En condiciones de baja calidad lumínica, el crecimiento de las plantas debe ser lo suficientemente rápido para evitar la competencia por la luz, lo cual está directamente relacionado a la disponibilidad de recursos. Sin embargo, la concesión de recursos para el crecimiento tiene un costo energético, y puede limitar los recursos disponibles para invertir en defensas contra fuentes de estrés biótico, como los herbívoros y patógenos. Por lo tanto, para maximizar el fitness, y por ende, la producción de semillas, las plantas deben encontrar un balance entre los recursos que destinan para desarrollarse y defenderse

(Züst & Agrawal, 2017). Así como, a través de los fitocromos, las plantas pueden detectar otras plantas en su vecindad, también tienen receptores capaces de detectar el ataque de herbívoros y patógenos y responder en consecuencia, mediante la activación de vías de señalización mediadas por el ácido jasmónico (JA) y/o el ácido salicílico (SA) (Howe & Jander, 2007; Wu & Baldwin, 2010). Sin embargo, la forma inactiva de los fitocromos B aparentemente suprime las respuestas relacionadas con ambas vías de señalización (JA y SA) en *A. thaliana* (Cerrudo et al., 2012; De Wit et al., 2013). Esto conlleva a que, ante un escenario donde ocurren simultáneamente una alta competencia por la luz y el ataque de herbívoros o patógenos, se priorice la evasión al sombreado afectando la producción de defensas, tanto directas (flavonoides, inhibidores de peptidasas, y otros compuestos que afectan el metabolismo del herbívoro) como indirectas (nectarios y compuestos orgánicos volátiles, COVs, que atraen controladores naturales de los herbívoros desencadenando efectos de tipo “Top-Down”) (Ballaré, 2014).

Los COVs no sólo deben ser considerados como una defensa indirecta, sino que sirven de claves olfativas que permiten a los herbívoros reconocer sus hospederos (Coll Aráoz et al., 2019; Jacobi et al., 2021). Así mismo, los volátiles intervienen en las interacciones planta-planta, y sirven tanto para reconocer la presencia de otras plantas en la vecindad como para detectar cuando una de las plantas cercanas está siendo atacada por herbívoros (Baldwin et al., 2006; Matthias Erb et al., 2015; Kegge et al., 2015; Kegge & Pierik, 2010). Además, la mezcla de COVs emitidos por las plántulas de maíz varía cuali y cuantitativamente en función a factores abióticos como la disponibilidad de agua, nutrientes, la temperatura y la calidad lumínica (Gouinguéné & Turlings, 2002). En cebada (*Hordeum vulgare* L. (Poales: Poaceae)) se observó que los cambios en la relación R:FR y por ende, la competencia planta-planta, influyen en la emisión de volátiles constitutivos (Kegge et al., 2015) y de aquellos relacionados con la herbivoría (Kegge &

Pierik, 2010). En maíz se observó que la baja concentración de fotones (0 y 5.000 lm/m²) provoca que las plántulas sometidas a herbivoría emitan cuantitativamente menos volátiles que aquellas que crecen bajo mayores niveles de intensidad lumínica (10.000, 15.000 y 20.000 lm/m²) (Gouinguéné & Turlings, 2002). Además, la alimentación de los herbívoros provoca respuestas características en la emisión de COVs por parte de las plantas atacadas, tanto por el daño mecánico (provocado por el aparato bucal), como químico (por los componentes de la saliva) (Giacometti et al., 2020; Peiffer & Felton, 2014; Schmelz et al., 2009). Sin embargo, no hay datos sobre la influencia que la competencia interespecífica puede provocar en la orientación de los adultos de *D. furcatus* hacia las plántulas de maíz, y sobre la capacidad de las plántulas de maíz con características fenotípicas de sombreado para emitir volátiles en respuesta temprana al daño mecánico y químico provocado por la herbivoría. Por otro lado, la presencia de vegetación espontánea en los agroecosistemas puede concentrar o repeler a los adultos de *D. furcatus*, afectando su interacción con el cultivo de maíz.

1.9 INTERACCIÓN ENTRE *D. furcatus* Y LA VEGETACIÓN ARVENSE

Cuando se estudian insectos plaga para los cultivos, cómo *D. furcatus*, se suele hacer énfasis en la interacción del insecto de interés con el cultivo atacado (Pease & Zalom, 2010), en este caso maíz y/o soja. Sin embargo, estos cultivos están disponibles durante un período de tiempo limitado y el resto del año este insecto multivoltino utiliza hospederos alternativos como sustrato donde poner sus huevos, alimentarse y/o refugiarse (Panizzi, 1997). Considerando que *D. furcatus* es un insecto polífago no hay que subestimar la importancia de la presencia de vegetación espontánea o cultivos alternativos

en su ciclo de vida y fenología. Como he mencionado previamente, la chinche de los cuernos se ha relacionado con más de 70 especies vegetales pertenecientes a 18 familias diferentes, tanto dentro del grupo de mono como de dicotiledóneas (Tabla 1.1; Anexo 2). Además, los individuos de *D. furcatus* pueden incluso alimentarse de plantas en distintos estadios fenológicos y de distintas estructuras vegetales (plántulas, hojas, tallos, frutos o semillas) según sus necesidades y la disponibilidad temporal y/o espacial (Cingolani et al., 2019; Giacometti et al., 2016; Jacobi et al., 2021; Lucini & Panizzi, 2017). Su comportamiento de alimentación es versátil, cambiando o combinando sus estrategias de alimentación según los individuos lo requieran (Lucini & Panizzi, 2017). Las plantas de estos clados presentan una gran diversidad en sus metabolitos secundarios y por ende en las claves y defensas químicas con las que la chinche debe afrontar tanto durante el reconocimiento de un hospedero potencial, como durante la alimentación. Cuando se habla de insectos generalistas, muchas veces se relaciona con la frase: “Jack of all trades, master of none”, que hace referencia a que quien sabe de muchos oficios no es experto en ninguno (Ali & Agrawal, 2012). En el caso de los insectos herbívoros podemos adaptarlo a: “los insectos generalistas pueden interactuar con numerosas defensas químicas de las plantas, pero no están especializados para afrontar ninguna de ellas en particular”. Si bien *D. furcatus* es capaz de explotar un elevado número de hospederos, pertenecientes a grupos taxonómicos diferentes y que se encuentran en distintos estadios fenológicos, la relación que tiene con estos es poco conocida.

Para que un insecto presente una eficacia biológica (fitness) óptima es necesario que posea un *status* nutricional adecuado y, por ende, que cuente con una dieta que sea nutricionalmente balanceada (Schoonhoven et al., 2005). Esta dieta debe contar con las proporciones justas de nutrientes como proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales (Behmer, 2009). Cuando esto no ocurre, los insectos deben hacer frente a dos grandes

desventajas. La primera es que el desbalance en la proporción de nutrientes puede llevar a que un insecto deba ingerir y procesar un exceso de alimento para suplir la cantidad que necesita de un compuesto en particular que se encuentra en muy baja concentración. Algunos nutrientes, en concentraciones elevadas, pueden ser tóxicos o tener efectos deletéreos (Hägele and Rowel-Rahier, 1999; Singer et al., 2002). En segundo lugar, hay algunos casos donde se puede interconvertir un compuesto en otro, pero resulta muy costoso metabólicamente. Además, la presencia de metabolitos secundarios puede interferir en la digestibilidad de los nutrientes (Chapman 1998). Para evitar estos inconvenientes, es menester que los insectos sean capaces de reconocer la presencia y localización de los hospederos disponibles, lo que depende, en gran medida, de su capacidad de procesar las señales olfativas (Bruce et al., 2005).

Durante este trabajo se estudiaron las claves que llevan a los adultos de *D. furcatus* a reconocer a las plántulas de maíz como un hospedero potencial, la respuesta de las plántulas al ataque de este insecto (capítulo 2; objetivos específicos I y II) y cómo factores del agroecosistema, como la competencia planta-planta (capítulo 3; objetivo específico III) y la presencia de vegetación espontánea (capítulo 4; objetivo específico IV) influyen en esta interacción.

1.10 OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar las claves que permiten a la chinche de los cuernos (*Diceraeus furcatus* (F.)) reconocer a las plántulas de maíz (*Zea mays* L.) y a la vegetación arvense asociada como hospederos potenciales.

Objetivos específicos

- I- Determinar si los adultos de *D. furcatus* se orientan hacia las plántulas de maíz a través de claves olfativas.
- II- Caracterizar los cambios en el perfil de COVs inducidos en las plántulas de maíz por la herbivoría de adultos de *D. furcatus*, y las fitohormonas que regulan dicha respuesta.
- III- Determinar el efecto de la competencia intraespecífica del maíz sobre la emisión de COVs, y la orientación de los adultos de *D. furcatus* hacia las plántulas de maíz.
- IV- Caracterizar los hospederos alternativos de *D. furcatus* en las distintas estaciones del año entre la vegetación arvense.

1.11 HIPÓTESIS

Hipótesis General

Las chinches reconocen a las plántulas de maíz como una fuente de alimentación potencial al sensor la composición de los volátiles que estas emiten. Las plántulas reconocen el ataque de las chinches y responden cambiando la mezcla de COVs emitida. Este cambio es mediado por la señalización a través de fitohormonas como el JA. Hay distintos factores del agroecosistema que pueden afectar la interacción de los adultos de *D. furcatus* con las plántulas de maíz, como la densidad de siembra y la presencia de vegetación arvense.

Hipótesis específicas

- Ia- Los adultos de *D. furcatus* se orientan hacia las plántulas de maíz a través de claves olfativas.

- Ib-La mezcla de COVs emitidos constitutivamente por plántulas de maíz varía dependiendo del trasfondo genético de las mismas.
- IIa-El perfil de COVs emitidos por las plántulas de maíz varía en función de la herbivoría de manera genotipo-dependiente, afectando la interacción con las chinches.
- IIb-El cambio en el perfil de COVs en función de la herbivoría es inducido por la vía del JA.
- IIIa-Los adultos de *D. furcatus* se orientan preferencialmente hacia las plántulas de maíz que perciben altos niveles de competencia intraespecífica a través de claves volátiles.
- IIIb-Las plántulas de maíz que perciben altos niveles de competencia intraespecífica disminuyen la emisión constitutiva de COVs.
- IIIc- La competencia intraespecífica altera la respuesta de las plántulas de maíz frente a la herbivoría y al daño mecánico, silenciando la emisión de COVs.
- IVa-*D. furcatus* utiliza diferentes especies vegetales espontáneas como sustrato de alimentación, reproducción o refugio, dependiendo de las estaciones del año y el mosaico de hospederos disponibles.
- IVb-Los adultos de *D. furcatus* se orientan hacia sus hospederos alternativos entre la vegetación arvense mediante claves olfativas.

CAPÍTULO 2:

Interacción entre los adultos de *Diceraeus furcatus* y las plántulas de maíz

2.1 INTRODUCCIÓN

Las plántulas de maíz son capaces de emitir una combinación específica de volátiles dependiendo tanto de factores genéticos (Degan et al., 2004) como ambientales (Gouinguéné & Turlings, 2002). Sin embargo, hay compuestos orgánicos volátiles (COVs) que son comúnmente emitidos por las plántulas de maíz como mircenol, linalool, hexenil-acetato y cariofileno (Degan et al., 2004). Sin embargo, el perfil de volátiles de las plantas es alterado por el ataque de los herbívoros, tanto por la síntesis de nuevos compuestos como por el cambio en la concentración de los COVs constitutivos (Degenhardt & Gershenzon, 2000; Pare & Tumlinson, 1999; Ponzio et al., 2013).

Los volátiles inducidos por herbivoría pueden presentar propiedades tóxicas, repelentes o disuasivas para algunos herbívoros (von Mérey et al., 2013), atraer otros herbívoros (Carroll et al., 2006; von Mérey et al., 2013), atraer enemigos naturales de los herbívoros que actúan como “guardaespaldas” de las plantas que están siendo atacadas (Fontana et al., 2011; Schnee et al., 2006; Turlings & Tumlinson, 1992; Turlings & Erb, 2018b), o intervenir en las comunicaciones inter o intra-planta (Baldwin et al., 2006; Engelberth et al., 2004; Erb et al., 2008; Erb et al., 2015; Gális et al., 2009). En el caso de las chinches fitófagas, el daño de alimentación producido por adultos de *N. viridula* en plántulas de maíz incrementa al doble los niveles constitutivos de linalool, cariofileno, bergamoteno y farneseno, pero no altera los niveles de los VHV's (Williams et al., 2005). La emisión de COVs en respuesta a la herbivoría es regulada por diferentes vías de señalización que le permiten a la planta percibir el daño causado por el insecto, ya que su ataque implica una doble interacción: mecánica y química (Felton & Tumlinson, 2008; Giacometti et al., 2020; Schmelz et al., 2009).

Las plantas atacadas por chinches pueden responder con mecanismos de señalización específicos, desencadenando vías de señalización que se encuentran

finamente reguladas. Semillas en desarrollo de soja cultivada a campo mostraron una respuesta temprana al daño provocado por la herbivoría de adultos de la chinche verde, *N. viridula*. Se observó un aumento simultáneo tanto de ácido jasmónico (JA), ácido salicílico (SA) y etileno (ET) (Giacometti et al., 2016), el cual es mediado por proteínas quinasas mediadas por mitógenos (MAPK) que inducen la producción de defensas químicas contra los herbívoros (Giacometti et al., 2016). Se ha observado que las semillas de soja acumulan isoflavonoides e inhibidores de peptidasas después del ataque de chinches, e incluso se ha observado una reestructuración de las paredes celulares (Dillon et al., 2020; Giacometti et al., 2016, 2018; Zavala et al., 2015). Existen numerosos trabajos donde se utilizan plántulas de maíz para identificar los COVs constitutivos y aquellos liberados luego del daño por herbivoría, así como la interacción de fitohormonas que orquesta este cambio. En general, para estos estudios suelen utilizar insectos masticadores para realizar el daño en las plantas, principalmente larvas de lepidópteros (Alborn et al., 1997; Engelberth et al., 2004; Schmelz et al., 2001; Schnee et al., 2006; Tamiru et al., 2011; Ton et al., 2007; Turlings et al., 1998a; Turlings et al., 1998b). Hay algunos autores que cuantificaron la inducción de COVs en función de la herbivoría de áfidos, los cuales tienen un aparato bucal picador-suctor, pero se alimentan directamente del floema (Bernasconi et al., 1998; Turlingset et al., 1998a). Las estrategias de alimentación de las chinches son distintas a las de los insectos masticadores y a los áfidos. Las chinches usan sus estiletes para inyectar saliva con propiedades digestivas y macerar los tejidos vegetales (Giacometti et al., 2020). Las plántulas de maíz tratadas con regurgitado de lepidópteros incrementan los niveles constitutivos de JA, mientras disminuyen la concentración de SA, desencadenando un aumento en la emisión de COVs (Erb et al., 2015), en tanto que los efectores presentes en la saliva de los áfidos tienen un efecto opuesto, ya que activan la vía del SA y mantienen los COVs en niveles similares

a los constitutivos (Turlings et al., 1998a). Sin embargo, no hay información sobre los cambios en los niveles de fitohormonas relacionados a los daños causados por la herbivoría de la chinche de los cuernos que regulan la mezcla de volátiles inducida en las plántulas de maíz.

2.2 OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.2.1 Objetivo específico I

Determinar si los adultos de *D. furcatus* se orientan hacia las plántulas de maíz a través de claves olfativas.

Hipótesis

I a- Los adultos de *D. furcatus* se orientan hacia las plántulas de maíz a través de claves olfativas.

I b- La mezcla de COVs emitidos constitutivamente por plántulas de maíz varía dependiendo del trasfondo genético de las mismas.

2.2.2 Objetivo específico II

Caracterizar los cambios en el perfil de COVs inducidos en las plántulas de maíz por la herbivoría de adultos de *D. furcatus*, y las fitohormonas que regulan dicha respuesta.

Hipótesis

II a- El perfil de COVs emitidos por las plántulas de maíz varía en función de la herbivoría de manera genotipo-dependiente, afectando la interacción con las chinches.

II b- El cambio en el perfil de COVs en función de la herbivoría es inducido por la vía del JA.

2.3 MATERIALES Y MÉTODOS

2.3.1 Material botánico: Se trabajó con dos variedades comerciales de maíz (Pioneer): 1780YR Mono 8-10 (Templado) y 30B39HR (Tropical). Estos genotipos están adaptados a distintas características ambientales, siendo el primero apto para zonas templadas, y el segundo para zonas más tropicales. Además, ambos mostraron diferencias en la atracción de otras especies de hemípteros como, por ejemplo, la chicharrita *Dalbulus maidis* (De Long) (Cicadellidae: Macrostelini) (Coll Aráoz et al., 2019). Las semillas de maíz fueron sembradas en vasos plásticos de 180 ml usando tierra comercial. Las macetas se colocaron en jaulas recubiertas con una malla plástica y se dejaron al aire libre. Estas fueron regadas día por medio con agua corriente, siempre que fuera necesario, teniendo especial cuidado en que las plántulas tengan igual situación hídrica según se recomienda en Gouinguéné y Turlings (2002). Las plántulas utilizadas en los experimentos tenían aproximadamente 14 días de edad.

2.3.2 Material animal: La colonia de *D. furcatus* se estableció a partir de individuos recolectados en Marcos Juárez, Córdoba, en el campo experimental de la FAUBA, Buenos Aires, y en Villaguay, Entre Ríos. Las chinches se identificaron en el laboratorio teniendo en cuenta las claves descriptas por Grazia (1978) y Pook-Da-Silva et al. (2013). Además, se seleccionaron machos al azar, los cuales fueron disectados para observar la morfología del último segmento abdominal o clasper para confirmar si habían sido correctamente identificados. Las chinches adultas se ubicaron en cajas plásticas (37x28x21 cm), con el techo cubierto con una tela de nylon (tipo voile), bajo condiciones de laboratorio ($24 \pm 2^\circ\text{C}$; $60 \pm 5\%$ HR, 14:10 L:O, $50 \mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-1}$) durante al menos 7 días. Estos adultos fueron alimentados con semillas crudas de maní, *Arachis hipogaea* L. (Fabales: Fabaceae), semillas de soja, *Glycine max*, de girasol, *Helianthus annuus* L. (Asterales: Asteraceae) y vainas frescas de frijoles, *Phaseolus vulgaris* L. (Fabales:

Fabaceae). El agua fue suplementada con un 0,5% p/v de ácido ascórbico. Las jaulas se acondicionaron 3 veces por semana. Como sustrato para oviposición se utilizaron dos bolas de algodón por caja. El mismo número de machos y hembras de *D. furcatus* que habían alcanzado el estado adulto al menos 15 días antes fueron separados de las cajas de cría y hambreados por 48 horas antes de los experimentos.

2.3.3 Tratamientos aplicados a las plántulas: Cada plántula de maíz se ubicó en una caja plástica (25,5 x 13,5 x 37 cm, de polipropileno transparente) con una pared de tela de nylon. Estas cajas fueron usadas como arena para los experimentos de preferencia y se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio (24 ± 2 °C, 60 ± 5 % HR, 14:10 L:D, $350 \mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-1}$). Los distintos tratamientos (sin daño, daño por herbivoría y daño mecánico) fueron asignados al azar en cada unidad experimental. Para el tratamiento de herbivoría, dos insectos por caja se colocaron sobre la plántula de maíz. Las picaduras de alimentación se confirmaron visualmente. Se permitió que los insectos se alimenten por 2 y por 24 horas. Posteriormente, los insectos se removieron para dar comienzo a las mediciones. Para el tratamiento de daño mecánico, se usó una aguja de microdissección para pinchar las plántulas de maíz y así simular el daño del insecto. Para determinar el rol de las fitohormonas JA, SA y etileno en la inducción de volátiles se homogeneizó una solución de agua destilada y EtOH al 0,01% con 1 mM de MeJA, 1,5 mM de SA y 1mM de ACC respectivamente (Yang et al., 2015; Giacometti et al., 2016; Shi et al., 2016; Dillon et al., 2020). Un volumen de 1 ml de una de las soluciones se aplicó sobre la parte aérea de una plántula de maíz mediante el uso de mini perfumeros vaporizadores recargables de un volumen de 5 ml, los cuales permiten generar microgotas que se dispersan de manera uniforme sobre la superficie tratada. Las plántulas intactas (sin daño) se mantuvieron en las mismas condiciones que las tratadas y se les aplicó previamente un spray de la solución de agua y metanol para ser usadas como control. El número de

réplicas fue variable dependiendo de los requerimientos de los distintos experimentos: Experimento de preferencia de libre elección: 20 réplicas; orientación en olfatómetro: entre 20 y 37 réplicas; colección y análisis químico de volátiles: entre 6 y 10 réplicas; determinación de fitohormonas: entre 4 y 5 réplicas; y orientación hacia linalool: 16 réplicas.

2.3.4 Preferencia de alimentación en condiciones de libre elección: Para determinar la preferencia de adultos de *D. furcatus* entre plántulas de maíz, 2 plántulas de 14 días (una perteneciente a cada híbrido) fueron ofrecidas a un individuo adulto de *D. furcatus* en una caja plástica (25,5 x 13,5 x 37 cm). Las plántulas de maíz presentaban 13 cm de separación entre ellas. Se permitió que cada insecto permaneciera en una caja por 24 hs. Se registró la posición de los insectos y el comportamiento de alimentación cada 30 minutos por 7 hs., y al final del experimento (24 hs., 20 réplicas correspondientes a 10 machos y 10 hembras).

2.3.5 Orientación en olfatómetro: La orientación de adultos de *D. furcatus* hacia los COVs emitidos por plántulas de maíz fue evaluado usando un olfatómetro de ambiente estacionario, montado a partir de una caja de polipropileno blanco traslúcido de 25,5 cm de altura, 13,5 cm de profundidad y 37 cm de ancho. El olfatómetro consiste en una cámara central (donde se libera al insecto), la cual está separada de dos cámaras opuestas o de elección (donde se coloca la fuente de los volátiles) por una pared compuesta de una malla plástica y una de tela de voile (que bloqueaba las claves visuales y de contacto, pero permeables a los COVs) (Fig. 2.1). El experimento se llevó a cabo en el laboratorio entre las 10:00 y los 16:00 hs., en las mismas condiciones utilizadas para coleccionar los COVs. En cada repetición se colocó una plántula o maqueta de cartón en cada cámara lateral del olfatómetro y un individuo adulto de *D. furcatus* fue liberado en la cámara central. Los primeros 10 minutos fueron de aclimatación. Se registró como una elección cuando,

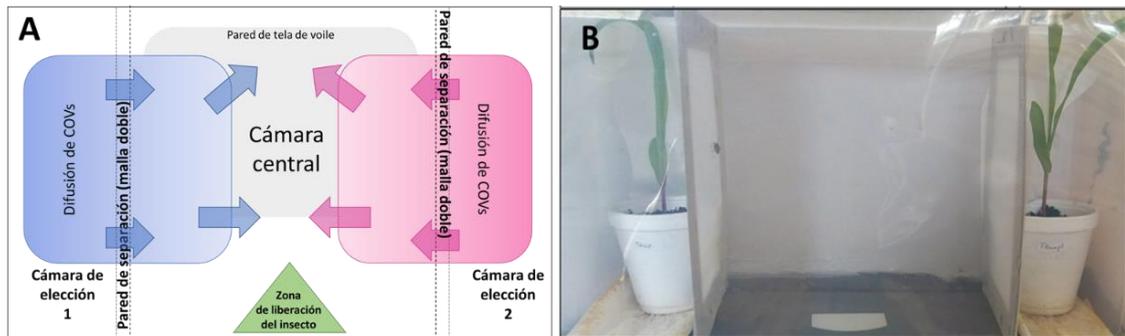


Figura 2.1: Olfatómetro de ambiente estacionario. A) Esquema de un olfatómetro de ambiente estacionario. Las flechas muestran el flujo de los volátiles. B) Fotografía del olfatómetro de ambiente estacionario.

después de 30 minutos, un individuo permaneció al menos 10 minutos sobre una de las paredes divisorias; si esto no ocurría se anotó como “no elección”. Se utilizó etanol para limpiar el olfatómetro entre cada repetición (N= 20-37 réplicas por contraste). El olfatómetro tradicional, o en “Y”, y los protocolos asociados a este no se utilizaron porque no se ajustan a la bioecología y comportamiento de las chinches y no permiten evaluar correctamente la orientación de este organismo.

2.3.6 Colección y análisis químico de volátiles: Para colectar los volátiles se colocaron plántulas de maíz de 3 hojas en un contenedor de vidrio de 2 l en condiciones de laboratorio ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ HR). Las plantas se iluminaron desde arriba con ayuda de lámparas LED rojas y azules y lámparas de haluro metálico, para alcanzar una intensidad de $350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El aire fue limpiado utilizando un filtro de carbón activado. El aire fue bombeado y succionado del contenedor a una velocidad de 500ml min^{-1} . Los volátiles fueron retenidos y concentrados en una trampa de volátiles que contenía 35 mg de HayeSep Q (80-100 mesh) por 6 horas (desde las 10:00 hasta las 16:00 hs.). Después de este período, los volátiles se eluyeron con 150 μl de diclorometano al cual se le adicionó previamente dodecano ($5 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$) como estándar interno, obteniéndose un volumen final de alrededor de 130 μl . Las muestras (N= 10) se analizaron utilizando cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) (en un equipo

Agilent 7890A/ Agilent 5977). Los distintos volátiles se separaron utilizando una columna capilar HP5 (0,25 ml d.i., 0,25 μ de espesor de la película). Se inyectó 1 μ l de la muestra a 240°C en modo “splitless”. Se utilizó helio a una velocidad de 0,75 mL min⁻¹ como gas transportador. La temperatura de la columna se mantuvo a 35°C por 1 min, y la rampa de temperatura consistió en un aumento progresivo de 5°C por minuto hasta alcanzar los 100°C, a partir de ese momento la velocidad cambió a 12°C por minuto. Cuando la temperatura alcanzó los 230°C esta se mantuvo constante por 10 minutos. Los compuestos fueron identificados comparando el espectro de masas con aquellos provistos por NIST (National Institute of Standards and Technology), por comparación de los tiempos de retención a través del índice de tiempos de retención Kovats (utilizando una serie de alcanos, de 8 a 20 carbonos, provisto por Sigma-Aldrich) y comparando con los estándares analíticos disponibles (α -pineno, 98 %; β -pineno, 99 %; óxido de linalool, 97 %; y mezcla de isómeros de farnesenoprovidos por Sigma-Aldrich; 3-hexenil-acetato, 98 %; eucaliptol, 88 %, solución de cis/trans ocimeno; γ -terpineno, 98,5 %; linalool, 99 %; y β -cariofileno provistos por Supelco).

2.3.7 Determinación de fitohormonas: Para medir los niveles de ácido jasmónico (JA), del complejo ácido jasmónico – isoleucina (JA-Ile), del ácido 12-oxophytodienoico (OPDA), el ácido salicílico (SA), ácido absícico (ABA) y el ácido indol acético (IAA) se usaron 10 mg de peso seco por plántula para cada repetición. El material vegetal se agitó a temperatura ambiente por 30 minutos con 1 mL de una solución metanol: agua (7: 3), la cual contenía 20 μ g de los estándares deuterados [²H₄] ácido salicílico (d4-SA) y de [²H₅] ácido indolacético (d5-IAA), 10 μ g de [²H₆] ácido jasmónico (d6-JA) y [²H₆] ácido absícico (d6-ABA), como estándares internos. Las muestras se centrifugaron a 16.000 g a 4°C por 5 minutos. El sobrenadante fue transferido a un tubo Eppendorf de 1,5 ml y evaporado en un programa de vacío rápido a 45°C por 2,5 hs. El extracto seco se disolvió

en 100 μl de una solución metanol: agua (1:1) con 0,05 % de ácido fórmico para luego ser agitado con vortex y centrifugado a 16.000 g a 4°C por 10 minutos. El sobrenadante fue transferido a viales de HPLC debidamente rotulados y almacenados a -20°C hasta el momento de realizar las determinaciones. Se utilizaron entre 4 y 5 réplicas para cada tratamiento. La cuantificación de las fitohormonas se realizó por cromatografía líquida de alta presión acoplada a un doble espectrómetro de masas (HPLC-MS/MS) (HPLC Agilent 1100 - espectrómetro de masas de trampa de iones, Thermo Scientific, Bremen, Alemania), siguiendo los protocolos descritos por Almeida Trapp y colaboradores (2014). El cálculo de la concentración de cada fitohormona se realizó mediante la comparación del área bajo la curva de esta con respecto al área del estándar interno correspondiente de concentración conocida.

2.3.7 Orientación en olfatómetro usando linalool: Para determinar si el linalool es una clave importante en el reconocimiento de un hospedero potencial por parte de adultos de *D. furcatus* se realizaron 3 experimentos utilizando el olfatómetro de fase estacionario (Fig. 2.1). Dado que las plántulas del híbrido templado de 14 días (peso fresco de 87 ± 2 mg) liberan cerca de 60 ng de una mezcla racémica linalool por hora en comparación con el estándar interno dodecano, utilizamos 30 ng en cada experimento. Se preparó una solución madre con 6 μL de estándar sintético de linalool en 1 mL de diclorometano ($5,15 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$). Se tomó 1 μL de la solución madre, el cual se diluyó en 1 mL de diclorometano para preparar la solución de trabajo ($5 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$). Se usaron 6 μL de la solución de trabajo (los cuales corresponden a 30 ng de linalool) para cada repetición o diclorometano solo (cómo control) para aplicar sobre un papel de filtro (1 x 2,5 cm) dispuesto sobre un portaobjetos de vidrio. Los filtros de papel y las plántulas de maíz fueron reemplazados y el olfatómetro limpiado con etanol entre cada repetición (N=16). Un individuo adulto de *D. furcatus* fue liberado en la cámara central del olfatómetro.

Después de transcurridos 30 minutos se anotó cómo “elección” cuando un individuo estuvo en contacto con una de las paredes laterales por al menos 10 minutos. La orientación de los adultos se contrastó en los siguientes experimentos: (i) Linalool vs solvente; (ii) Linalool vs plántulas del híbrido templado + solvente; (iii) Linalool + plántula del híbrido tropical vs plántula del híbrido templado + solvente. El solvente corresponde a los 6 μ L de diclorometano utilizados como control.

2.3.8 *Análisis estadístico:* La orientación de las chinches observada en los experimentos de preferencia de libre elección, de orientación en olfatómetro y de orientación hacia linalool fueron analizados utilizando la prueba Chi-cuadrado (χ^2). Para comparar las mezclas de volátiles de cada tratamiento se utilizó un análisis de componentes principales (PCA), incluyendo todos los compuestos detectados a través del paquete *vegan* de R (Oksanen et al., 2018). Las concentraciones de fitohormonas y los volátiles individuales se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de uno (tratamiento) y dos (genotipo y tratamiento) factores respectivamente. Los valores fueron normalizados mediante una transformación logarítmica cuando el supuesto de normalidad no se cumplía y las comparaciones se realizaron usando el test de Duncan ($P < 0,05$). Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis (H) cuando los supuestos del ANOVA no se cumplieron.

2.4 RESULTADOS

2.4.1 Libre elección entre plántulas sin inducción

Durante las 2 primeras horas del experimento de libre elección un mayor número de adultos de *D. furcatus* prefirió alimentarse de las plántulas del híbrido templado antes que del híbrido tropical (χ^2 ; $P < 0,05$; Fig. 2.2), independientemente del sexo de los insectos. Después de ese período, las chinches permanecieron alejadas de las plántulas durante las observaciones siguientes, hasta 22 horas más tarde.

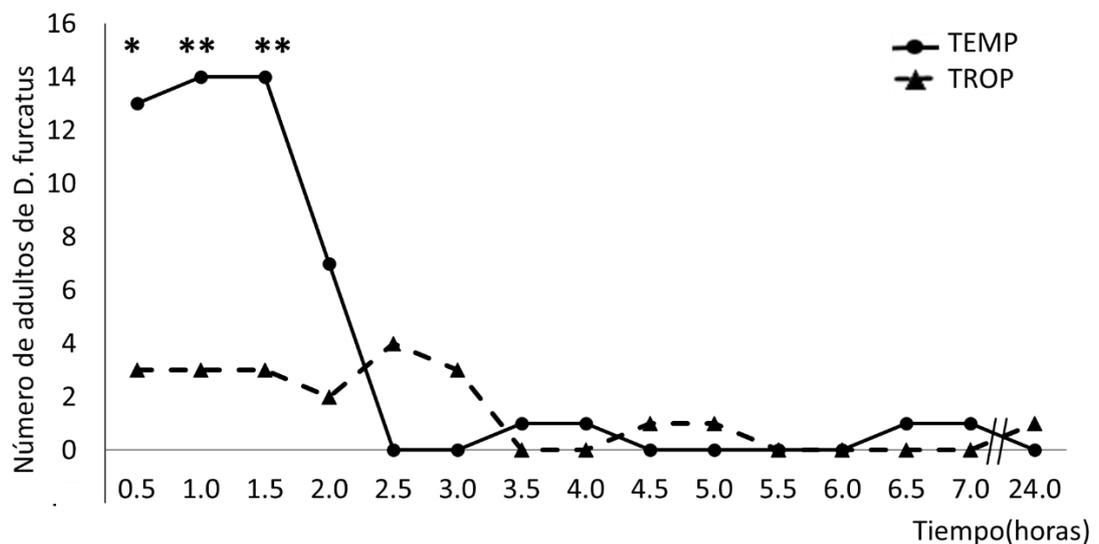


Figura 2.2: Preferencia de alimentación de adultos de *Diceraeus furcatus*. Se realizó entre plántulas del híbrido templado (TEMP) y del tropical (TROP) mediante un test de preferencia de libre elección. La preferencia de alimentación fue registrada cada 30 minutos por 7 hs. y una vez más 24 hs. después del inicio. Las chinches de los cuernos prefirieron alimentarse de las plántulas del híbrido templado durante las primeras 2 hs. (N= 9 hembras + 8 machos; Prueba Chi-cuadrado (X^2); * $X^2= 6,25$ y $P= 0,012$; ** $X^2 = 7,12$ y $P= 0,008$).

2.4.2 Orientación en olfatómetro y determinación de volátiles

+ Plántulas sin inducción

Orientación en el olfatómetro: Una mayor proporción de adultos de *D. furcatus* prefirieron moverse hacia los volátiles emitidos por plántulas de maíz, independientemente del germoplasma del híbrido, cuando se contrastaba con el control (maqueta de cartón) (χ^2 , $P < 0,05$; Fig. 2.3; Anexo 4). Sin embargo, las chinches prefirieron

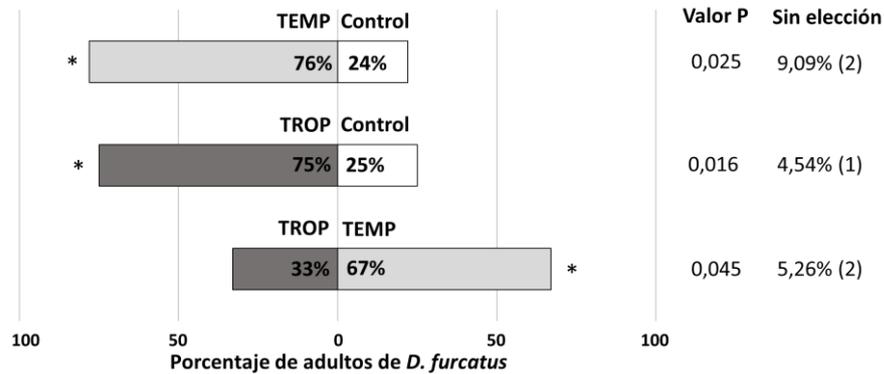


Figura 2.3: Orientación hacia COVs constitutivos. Orientación de adultos de *Diceraeus furcatus* en olfatómetro de ambiente estacionario entre volátiles emitidos por plántulas del híbrido templado (TEMP) versus aire (N = 20 (10 hembras + 10 machos); $X^2 = 5$; P= 0,025); volátiles emitidos por plántulas del híbrido tropical (TROP) versus aire (N = 21 (11 hembras + 10 machos); $X^2 = 5,76$; P = 0,016); y entre volátiles emitidos por plántulas del híbrido TEMP y el TROP (N = 36 (20 hembras + 16 machos); $X^2 = 4$; P= 0,045).

ron significativamente orientarse hacia los COVs emitidos por las plántulas del híbrido templado (67 %) cuando se contrastaba contra los del tropical (33 %) (χ^2 , P < 0,05; Fig. 2.3; Anexo 4).

Análisis y cuantificación de volátiles: Las plántulas de ambos híbridos emiten constitutivamente al menos 8 volátiles diferentes (Anexo 5). Las plántulas del híbrido templado emiten 3 veces más volátiles que las del tropical (ANOVA, P<0,05; Anexo 5). Mientras que las plántulas del híbrido templado emiten elevados niveles de β -pineno, linalool, benzoato de etilo y (E)- β -farneseno, las del híbrido tropical emiten (+) ciclosativeno de manera exclusiva (ANOVA, P < 0,05; Anexo 5). Para visualizar mejor la asociación entre los volátiles emitidos por los híbridos, los datos obtenidos se sometieron a un PCA (Fig. 2.4; Anexo 6). Los dos ejes seleccionados explicaron el 52,7% de la variación total existente entre los volátiles emitidos por los dos híbridos. Las muestras correspondientes a los volátiles emitidos por las plántulas de cada híbrido se agruparon de forma separada, sugiriendo que los dos híbridos analizados liberan mezclas de volátiles diferentes entre sí. Los compuestos que más contribuyeron al primer eje (PC1,

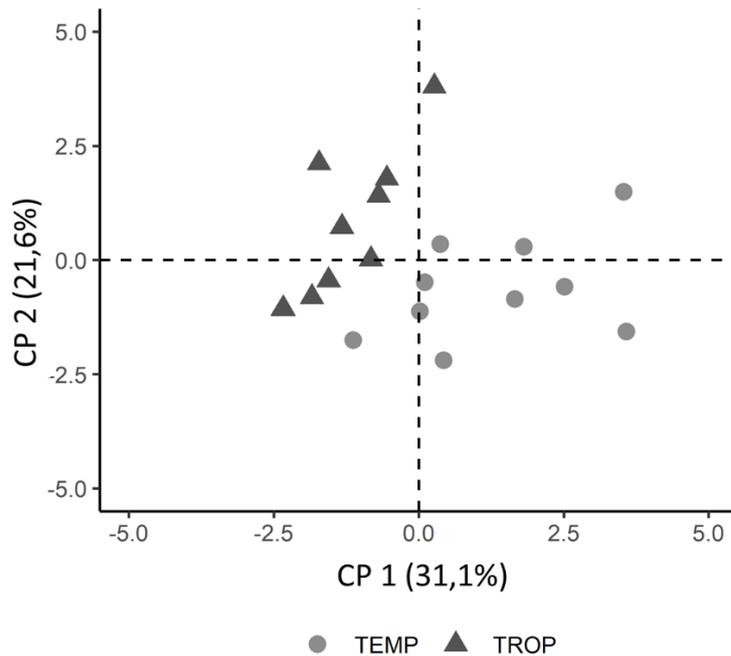


Figura 2.4: Patrón de VOCs constitutivos. Análisis de componentes principales (PCA) representando la asociación de 20 casos pertenecientes a los híbridos comerciales templado (TEMP) y tropical (TROP) considerando las cantidades relativas de VOCs emitidos. Los primeros dos ejes (CP1 y CP2) representan respectivamente el 31,1 % y 21,6 % de la variación total. Las muestras del templado están agrupadas y positivamente correlacionadas a la emisión de terpenos como β -pineno, (\pm)-linalool y (E)- β -farneseno, y el compuesto aromático benzoato de etilo, mientras que las muestras del híbrido tropical están agrupadas y correlacionadas positivamente a la emisión de (+)-ciclosativeno.

eigenvalor 3,11; Anexo 6) fueron linalool, (E)- β -farneseno, benzoato de etilo, nerolidol acetato, β -pineno, (2E, 6E)-farnesil-acetato y salicilato de metilo, mientras que los compuestos que más contribuyeron al segundo eje fueron β -ocimeno y (+) ciclosativeno (PC2, eigenvalor 2,15; Anexo 6).

+ Plántulas inducidas por herbivoría:

Orientación en el olfatómetro: Un porcentaje significativamente mayor de chinches de los cuernos fue atraído por los volátiles liberados constitutivamente por las plántulas del híbrido templado que por los COVs liberados luego de 2 hs. de herbivoría ($P < 0,05$; Fig. 2.5; Anexo 4). Se observó que los insectos tendieron a orientarse hacia los COVs emitidos por las plántulas de maíz luego de 2 hs. de herbivoría, aunque no se detectaron diferencias estadísticamente significativas (Fig. 2.5; Anexo 4). Luego de 24 hs. de daño por parte de adultos de *D. furcatus* no se observaron diferencias en la orientación de las chinches entre los volátiles emitidos constitutivamente y aquellos emitidos luego de la herbivoría, tanto

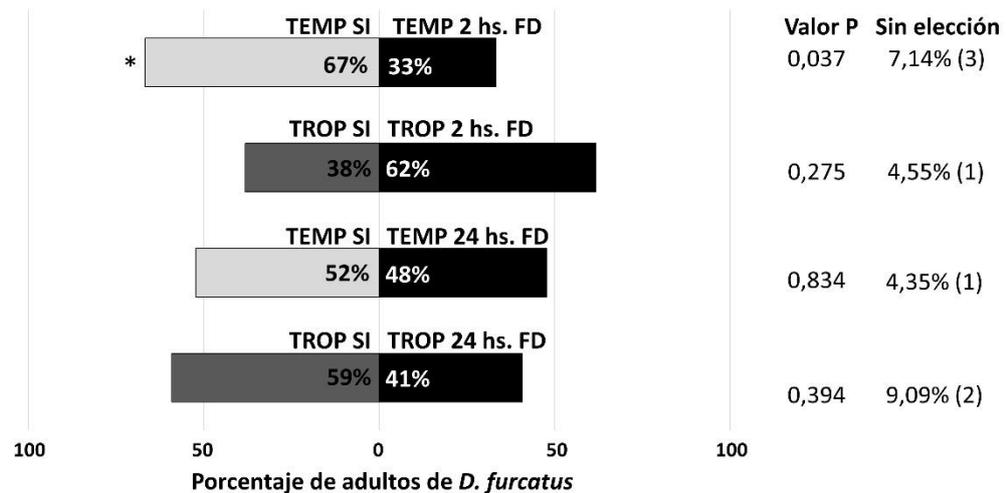


Figura 2.5: Orientación hacia COVs inducidos por herbivoría. Porcentaje de orientación de adultos de *Diceraeus furcatus* en olfatómetro de ambiente estacionario. Los individuos fueron expuestos a los volátiles emitidos constitutivamente por las plántulas (UN) versus los volátiles emitidos por plántulas luego de 2 y 24 hs. después del daño por herbivoría (2 hs. FD y 24 hs. FD respectivamente). Los adultos de *D. furcatus* se orientaron significativamente hacia los volátiles constitutivos del híbrido templado (TEMP UN) cuando se contrasta con los volátiles emitidos por estas plántulas luego de 2 hs. de herbivoría (TEMP 2 hs. HD) (N= 39; 20 hembras + 19 machos; $X^2= 4,33$; $P= 0,037$). En el resto de los contrastes no se observaron diferencias significativas en la orientación de los insectos. *Prueba Chi-cuadrado (X^2), $P < 0,05$.

para las plántulas del híbrido templado cómo del tropical (Fig. 2.5; Anexo 4).

Análisis y cuantificación de volátiles: Después de 2 hs. del daño provocado por la alimentación de adultos de *D. furcatus* se observó un incremento en la emisión de volátiles por parte de las plántulas de ambos híbridos. De un total de 26 COVs identificados, 14 fueron emitidos exclusivamente por las plántulas del híbrido templado después de 2 hs. de herbivoría por parte de *D. furcatus*, como indol, (Z)-3-hexenil-acetato, eucaliptol, γ -terpineno, (E)-geranil-acetato, β -cariofileno, β -sesquifelandreno y homosalato (en todos los casos se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis, $P < 0,05$; Anexo 5). Sin embargo, en las 24 hs. posteriores al daño provocado por adultos de *D. furcatus* los COVs emitidos por plántulas de ambos híbridos regresaron a niveles cercanos a los constitutivos (ANOVA $P < 0,05$; Anexo 5). El PCA explicó el 54 % de la variación total. Solo los volátiles emitidos por plántulas del híbrido templado luego de 2 hs. de daño por

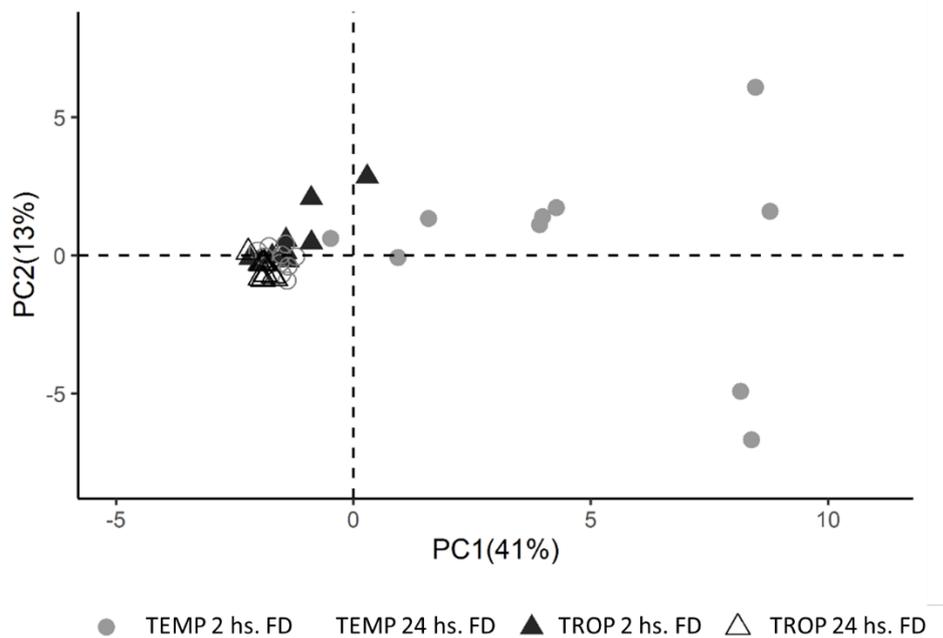


Figura 2.6: Patrón de COVs inducidos por herbivoría. Análisis de componentes principales (PCA) representando la asociación entre 40 casos pertenecientes a los volátiles emitidos por las plántulas del híbrido templado (TEMP) y del tropical (TROP) luego de 2 hs. (2 hs. FD) y de 24 hs. (24 hs. FD) de comenzado el tratamiento de herbivoría por adultos de *Diceraeus furcatus*. El primer componente principal (PC1) explica el 41 % de la variación, mientras que el segundo componente (PC2) explica el 13 % de la variación total (Anexo 6). N= 10 en cada tratamiento.

D. furcatus se separaron del resto, y mostraron un aumento de la variabilidad (Fig. 2.6).

Mientras que algunos compuestos como (Z)-3-hexenil acetato, indol, β -cariofileno, eucaliptol, β -sesquifelandreno y (3E, 7E)-4,8,12-trimetil-1,3,7,11-dodecatetraeno (TMTT) contribuyeron al primer eje (PC1, eigenvalor 10,6), el segundo eje (PC2, eigenvalor 3,4) mostró una relación lineal entre el β -pineno y el (E)- β -ocimeno (Anexo 6).

+ Plántulas inducidas por daño mecánico

Orientación en el olfatómetro: El daño mecánico no afectó la preferencia de los adultos de *D. furcatus* entre los volátiles emitidos constitutivamente por plántulas de maíz y aquellos emitidos después de 2 y 24 hs. de daño mecánico. Se observó una cantidad

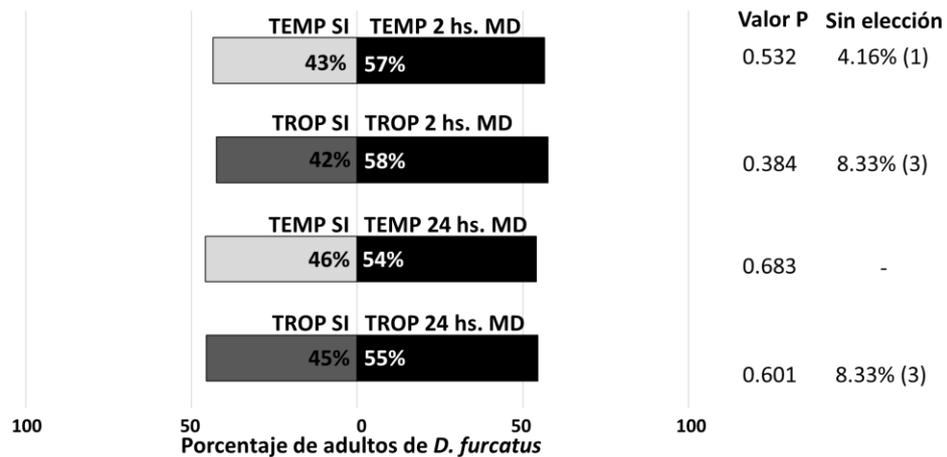


Figura 2.7: Orientación hacia COVs inducidos por daño mecánico (MD). La figura muestra el porcentaje de adultos de *Diceraeus furcatus* que contactaron uno de los lados del olfactómetro cuando se contrastaron los volátiles constitutivos del híbrido templado (TEMP UD) o tropical (TROP UD) versus los volátiles emitidos por el mismo genotipo 2 hs. (2 hs. MD) y 24 hs. (24 hs. MD) luego de infringido el daño mecánico. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la orientación de las chinches de los cuernos en ninguno de los contrastes. * Prueba Chi-cuadrado (X^2), $P < 0,05$.

similar de individuos orientarse hacia cada uno de los lados del olfactómetro cuando se ofrecieron los COVs de plántulas sin daño versus aquellas dañadas mecánicamente (Fig. 2.7; Anexo 4).

Análisis y cuantificación de volátiles: Las plántulas de los dos híbridos emitieron diferentes mezclas de volátiles luego de 2 y 24 hs. de ser dañadas mecánicamente (Fig. 2.8). Además, los dos híbridos emitieron similares mezclas de volátiles (tanto en cantidad como en composición) luego del daño mecánico. De los 20 compuestos identificados, la mayoría fueron liberado exclusivamente luego de 2 hs. de provocado el daño (γ -terpineno, ylangeno, β -cariofileno, β -gurjuneno, α -amorfenol, α -farneseno y β -sesquifelandreno) (Fig. 2.8; Anexo 5). El PCA explicó el 54 % de la variación total y mostró que la mezcla de volátiles liberados 2 hs. después de provocado el daño mecánico fue más variable que después de transcurridas 24 hs. (Fig. 2.8). Mientras que el primer eje (PC1, eigenvalor 7,73; 37 %) se correlacionó positivamente con benzoato de etilo, salicilato de metilo, β -

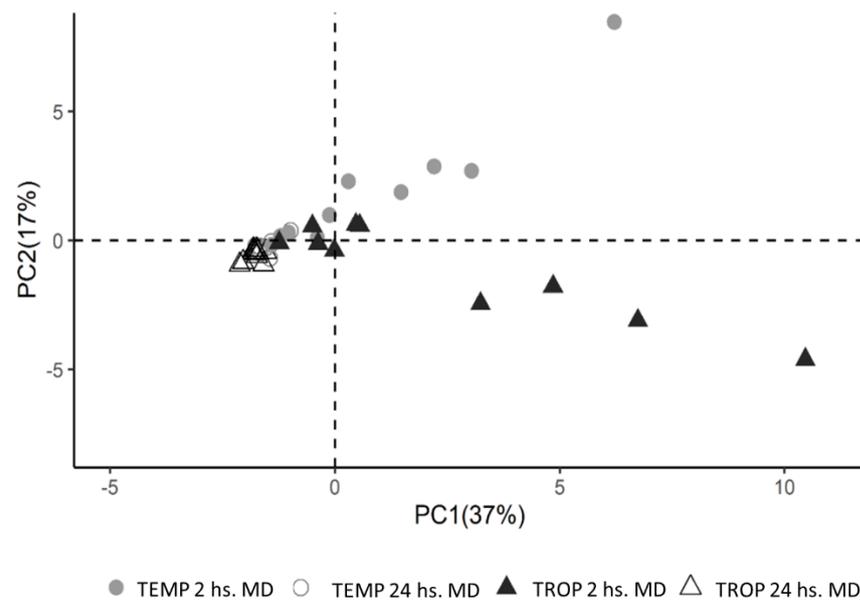


Figura 2.8: Patrón de COVs inducidos por daño mecánico. Análisis de componentes principales (PCA) mostrando la asociación de 40 casos correspondientes a los volátiles emitidos por plántulas del híbrido templado (TEMP) y del tropical (TROP) luego de 2 hs. (2 hs. MD) y 24 hs. (24 hs. MD) de daño mecánico. El primer componente principal (PC1) explica el 37 % de la variación total, mientras que el segundo componente principal (PC2) explica el 17 % de la variación total (Anexo 6). N= 10 para cada tratamiento.

gurjuneno, α -amorfeno, α -farneseno y TMTT; el segundo eje (PC2, eigenvalor 3,61; 17%) se correlacionó con (+) ciclosativeno y calamaneno (Anexo 6).

+ Plántulas inducidas por MeJA

Orientación en el olfatómetro: Los adultos de *D. furcatus* se orientaron hacia los COVs emitidos por las plántulas 2 hs. después de haber recibido el tratamiento de MeJA en comparación con los COVs emitidos constitutivamente por las plántulas, independientemente del híbrido ($P < 0,05$; Fig. 2.9). Sin embargo, cuando comparamos la orientación de los adultos de *D. furcatus* hacia los volátiles emitidos después de 24 hs. del tratamiento con MeJA observamos una diferencia entre los híbridos. En el caso del híbrido templado los insectos prefirieron los COVs constitutivos ($P < 0,05$; Fig. 2.9) mientras que en el tropical los individuos se orientaron equitativamente hacia cada lado del olfatómetro, independientemente del tratamiento (Fig. 2.9).

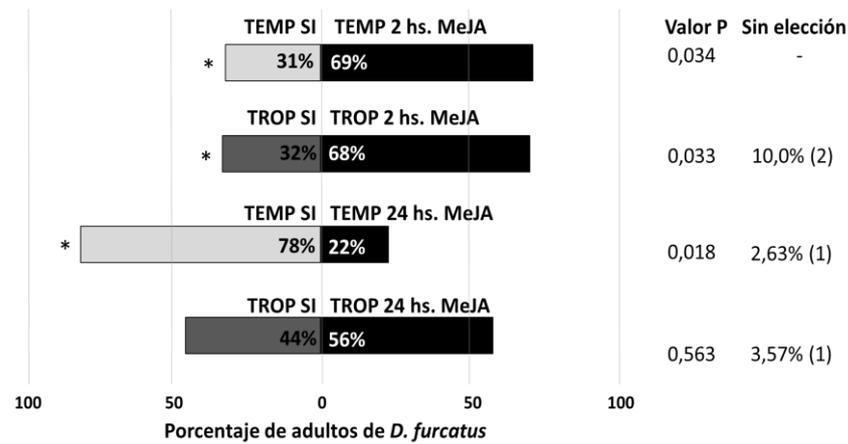


Figura 2.9: Orientación hacia COVs inducidos por jasmonato de metilo (MeJA). Orientación olfativa de adultos de *Diceraeus furcatus* a los volátiles emitidos por las plántulas de maíz luego de la inducción con MeJA. La figura muestra el porcentaje de individuos que contactaron uno de los lados del olfatómetro cuando se contrastaron los volátiles constitutivos del híbrido templado (TEMP UD) o tropical (TROP UD) versus los volátiles emitidos por el mismo genotipo 2 hs. (2 hs. MeJA) y 24 hs. (24 hs. MeJA) luego de aplicar un spray con MeJA. Las chinches se orientaron hacia los volátiles emitidos por las plántulas de los dos híbridos 2 hs. después de la inducción y por los volátiles constitutivos en las plántulas del híbrido templado después de 24 hs. de inducción ($P < 0,05$). * Prueba Chi-cuadrado (X^2), $P < 0,05$.

Análisis y cuantificación de volátiles: Las plántulas de ambos híbridos emitieron diferentes mezclas de volátiles después de 2 y 24 hs. de la aplicación de MeJA. Se identificaron 36 volátiles diferentes (Anexo 5). Después de 2 hs., los niveles de volátiles totales fueron similares entre los dos genotipos (ns, Anexo 5), y se mantuvieron elevados 24 hs. después ($224 \pm 31 \text{ ng h}^{-1}$ el híbrido templado y $134 \pm 30 \text{ ng h}^{-1}$ el híbrido tropical), a diferencia de lo que se observa cuando las plántulas recibían el daño por herbivoría o el mecánico (Anexo 5). Los dos primeros ejes del PCA explicaron el 35,4 % del total de la variabilidad (Fig. 2.10). El primer eje (PC1; 20,4 %, eigenvalor 12) está correlacionado positivamente con los niveles de α -copaeno, (2E, 6E)-farnesil acetato y homosalato; y negativamente con 6-metil-5-hepten-2-one, β -farneseno, D germacreno y el compuesto desconocido con tiempo de retención 18,73. El segundo eje (PC2; 25 %; eigenvalor 10)

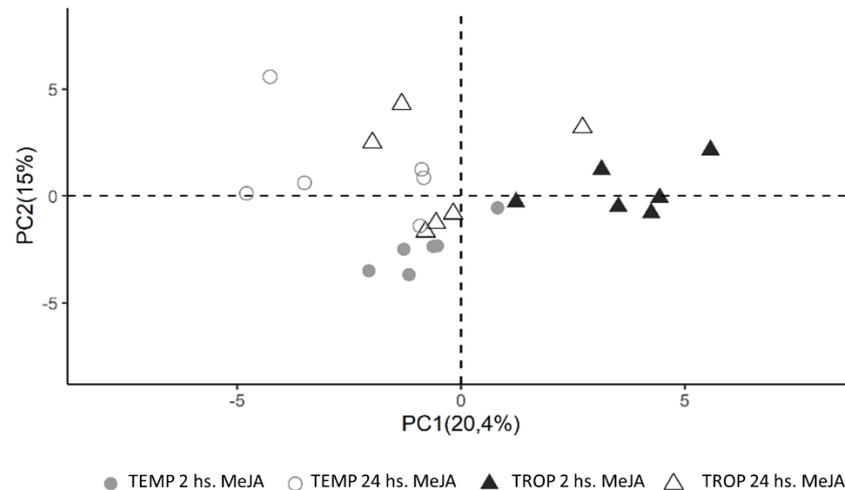


Figura 2.10: Patrón de COVs inducidos por jasmonato de metilo (MeJA). Análisis de componentes principales (PCA) mostrando la asociación de 24 casos correspondientes a los volátiles emitidos por plántulas del híbrido templado (TEMP) y del tropical (TROP) luego de 2 hs. (2 hs. MeJA) y 24 hs. (24 hs. MeJA) de inducción con jasmonato de metilo (MeJA). El primer componente principal (PC1) explica el 20,4 % de la variación total, mientras que el segundo componente principal (PC2) explica el 15 % de la variación total. N= 6 para cada tratamiento.

está correlacionado positivamente con los niveles de eucaliptol, pulegono, calamaneno y TMTT (Anexo 6). La mezcla de volátiles fue más diversa a las 24 que a las 2 hs. después de la inducción, observándose una elevada emisión de sesquiterpenos como β -cariofileno, D germacreno, α -amorfeno, α -farneseno, β -gurjuneno, β -sesquifelandreno, calamaneno, α -cadineno, nerolidol acetato y (2E,6E)-farnesil acetato ($P < 0,05$, Anexo 5). Sin embargo, el linalool y el (E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatrieno (DMNT) fueron los compuestos mayoritarios en todos los casos (Anexo 5).

+ Plántulas inducidas por SA

Orientación en el olfatómetro: Los adultos de *D. furcatus* se orientaron mayormente hacia los volátiles emitidos constitutivamente por las plántulas en contraposición a los emitidos por las plántulas después de 2 hs. de recibir el tratamiento con SA; siendo esta preferencia estadísticamente significativa en el caso del híbrido

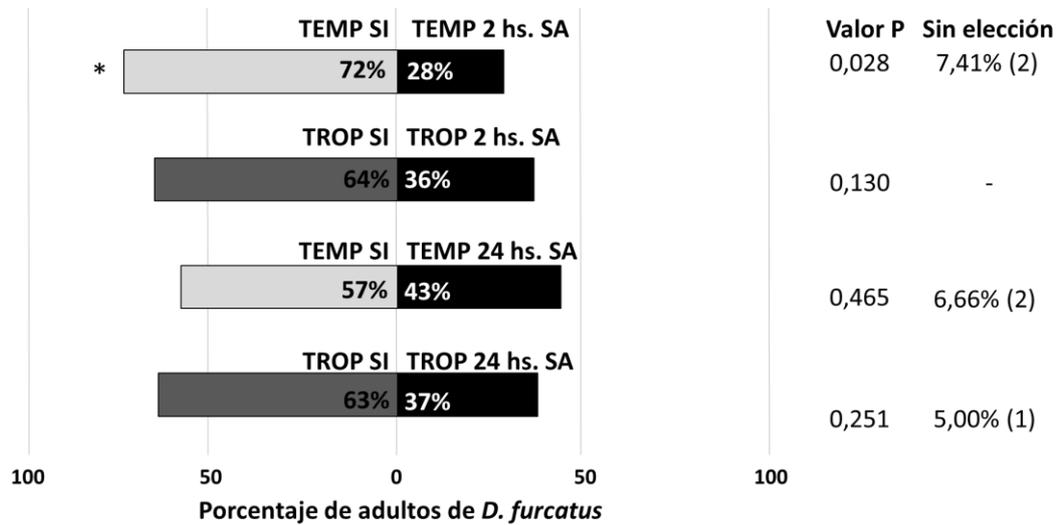


Figura 2.11: Orientación hacia COVs inducidos por ácido salicílico (SA). Orientación olfativa de adultos de *Diceraeus furcatus* a los volátiles emitidos por las plántulas de maíz luego de la inducción con SA. La figura muestra el porcentaje de individuos que contactaron uno de los lados del olfatómetro cuando se contrastaron los volátiles constitutivos del híbrido templado (TEMP UD) o tropical (TROP UD) versus los volátiles emitidos por el mismo genotipo 2 hs. (2 hs. SA) y 24 hs. (24 hs. SA) luego de aplicar un spray con SA. Las chinches se orientaron hacia los volátiles emitidos por las plántulas del híbrido TEMP 2 hs. después de la inducción ($P > 0,05$). * Prueba Chi-cuadrado (X^2), $P < 0,05$.

templado ($P < 0,05$; Fig. 2.11; Anexo 4). Después de 24 hs. de haber recibido el tratamiento con SA, los volátiles emitidos por las plántulas de ambos híbridos no mostraron influencias significativas en la orientación de los insectos (ns, Fig. 2.11; Anexo 4).

Análisis y cuantificación de volátiles: Se identificaron 32 COVs diferentes después del tratamiento de las plántulas con SA. Estos fueron principalmente mono y sesquiterpenos (Anexo 5). El volumen total de volátiles emitidos alcanzó un promedio de 238 ± 28 y 156 ± 27 ng h⁻¹ en las plántulas del híbrido templado y del tropical respectivamente después de 2 hs. de la aplicación del spray con SA (Anexo 5). Después de 24 hs. el volumen total emitido de volátiles se mantuvo elevado en ambos genotipos ($P < 0,05$; Anexo 5). Los compuestos cuantitativamente más importantes fueron linalool y DMNT (Anexo 5). Con todos los datos se realizó un PCA cuyos dos primeros ejes

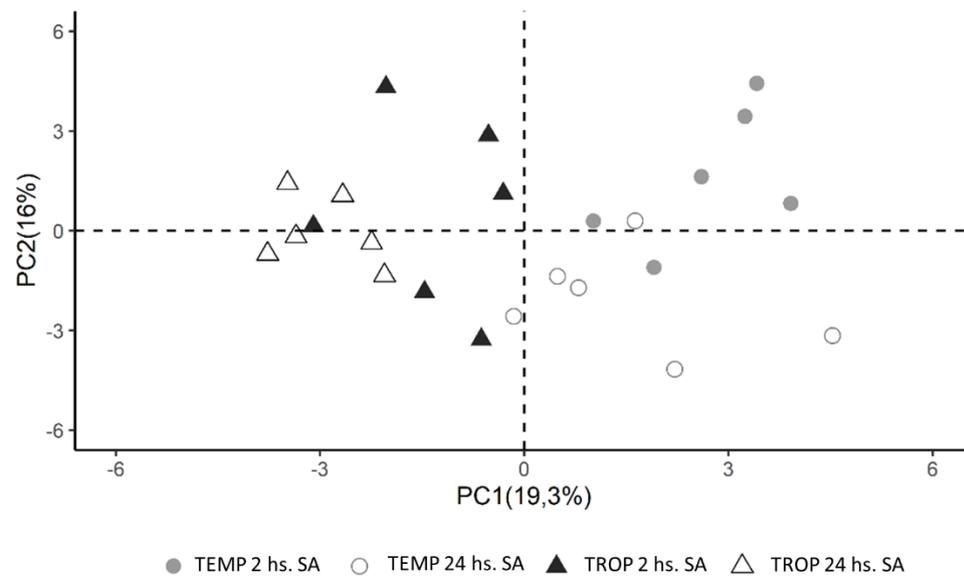


Figura 2.12: Patrón de COVs inducidos por ácido salicílico (SA). Análisis de componentes principales (PCA) mostrando la asociación de 24 casos correspondientes a los volátiles emitidos por plántulas del híbrido templado (TEMP) y del tropical (TROP) luego de 2 hs. (2 hs. SA) y 24 hs. (24 hs. SA) de inducción con ácido salicílico. El primer componente principal (PC1) explica el 19,3 % de la variación total, mientras que el segundo componente principal (PC2) explica el 16 % de la variación total. N= 6 para cada tratamiento.

explicaron el 35,4 % de la variación total (Fig. 2.12). Los compuestos que más contribuyeron al primer eje (PC1; 19,3 %; eigenvalor 10) fueron α -pineno, γ -terpineno, (E)-geranil-acetato, β -cariofileno y α -amorfeno (Anexo 6). Los principales compuestos que contribuyen al segundo eje (PC2; 16 %; eigenvalor 10) son β -ocimene, DMNT, (+) ciclosativeno, ylangeno, β -gurjuneno y α -farneseno (Anexo 6). El tratamiento con SA mostró que las plántulas emiten mezclas de COVs diferentes teniendo en cuenta el genotipo (híbrido templado y tropical) (Fig 2.12).

+ Plántulas inducidas por ACC

Orientación en el olfatómetro: La aplicación de ACC parece no influir en la orientación de los adultos de *D. furcatus*. Los insectos se orientaron al azar hacia uno de

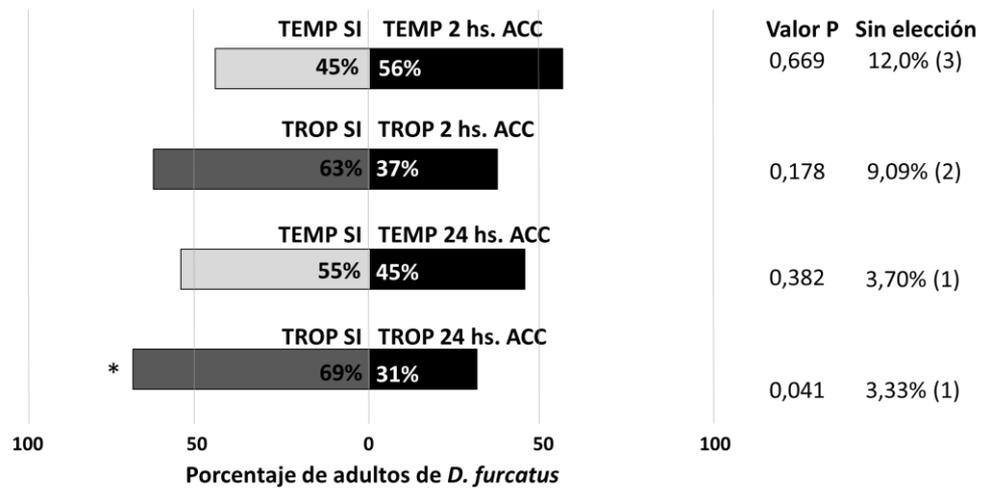
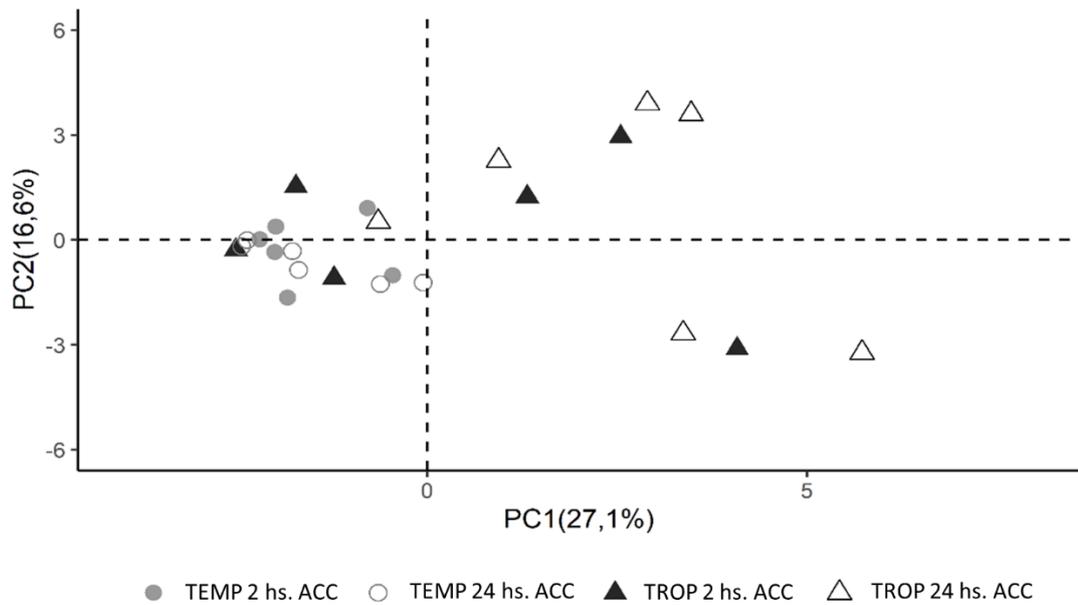


Figura 2.13: Orientación hacia COVs inducidos por ácido 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC). Orientación olfativa de adultos de *Diceraeus furcatus* a los volátiles emitidos por las plántulas de maíz luego de la inducción ACC. La figura muestra el porcentaje de individuos que contactaron uno de los lados del olfatómetro cuando se contrastaron los volátiles constitutivos del híbrido templado (TEMP UD) o tropical (TROP UD) versus los volátiles emitidos por el mismo genotipo 2 hs. (2 h ACC) y 24 hs. (24 h ACC) luego de aplicar un spray con ACC. Las chinches se orientaron hacia los volátiles emitidos constitutivamente por las plántulas del híbrido tropical cuando se contrastó con los volátiles emitidos por esas plántulas luego de 24 hs. del tratamiento con ACC ($P > 0,05$). * Prueba Chi-cuadrado (X^2), $P < 0,05$.

Los lados del olfatómetro, independientemente de si los volátiles ofrecidos provenían de plántulas tratadas o no, excepto en el caso de los volátiles emitidos por las plántulas de maíz del híbrido tropical después de 24 hs. de haber recibido el tratamiento con ACC, los cuales resultaron ser menos atractivos para los insectos ($P < 0,05$; Fig. 2.13).

Análisis y cuantificación de volátiles: Se identificaron 21 COVs emitidos por las plántulas después del tratamiento con ACC. La mezcla de volátiles emitidos por las plántulas del híbrido templado fue cualitativamente más variada que la emitida por las plántulas del híbrido tropical (Anexo 4). Sin embargo, las plántulas del híbrido tropical emitieron un mayor volumen total de volátiles después de 2 y 24 hs. (194 ± 67 y 151 ± 31 ng h⁻¹ respectivamente) de la inducción con ACC que las plántulas del híbrido templado (89 ± 16 y 65 ± 20 ng h⁻¹ respectivamente) ($p < 0,05$; Anexo 4). Los dos prime-



Figuras 2.14: Patrón de COVs inducidos por ácido 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC). Análisis de componentes principales (PCA) mostrando la asociación de 24 casos correspondientes a los volátiles emitidos por plántulas del híbrido templado (TEMP) y del tropical (TROP) luego de 2 hs. (2 hs. ACC) y 24 hs. (24 hs. ACC) de inducción con ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC). El primer componente principal (PC1) explica el 27,1 % de la variación total, mientras que el segundo componente principal (PC2) explica el 16,6 % de la variación total. N = 6 para cada tratamiento.

ros ejes del PCA explicaron el 43 % de la variación total (Fig. 2.14). El primer eje representa el 27 % de la variación total (PC1; eigenvalor 10). Los principales compuestos que contribuyen a este eje son β -cariofileno, D germacreno, α -amorfenol, benzoato de etilo, (+) ciclosativeno e ylangeno (Anexo 6). El segundo eje explica el 16 % de la variación total (PC2; eigenvalor 10). Los principales COVs que componen este eje son 6-metil-5-hepten-2-ono, DMNT y β -gurjuneno (Anexo 6). Se observa que la respuesta de las plántulas del híbrido tropical es más variada que las del híbrido templado. Además, las muestras que representan a las plántulas del híbrido templado después de 2 y 24 hs. del tratamiento con ACC se superponen a las del híbrido tropical después de 2 hs., mostrando que las mezclas de volátiles de estos tratamientos tienen patrones similares (Fig. 2.14).

2.4.3 Determinación de fitohormonas

Después de 2 y 24 hs. de producido el daño mecánico o la herbivoría de las plántulas del híbrido templado los niveles de JA y de JA-Ile se incrementaron significativamente (ANOVA, $P < 0,05$; Fig. 2.15 A y C; Anexo 7). En el caso del híbrido tropical se observó un incremento de estas fitohormonas, pero este no fue estadísticamente significativo (ns, Fig. 2.15 B y D, Anexo 7), excepto después de 2 hs. del daño mecánico en el caso del JA y JA-Ile, y después de 24 hs. del daño provocado por el insecto para el JA-Ile (ANOVA, $P < 0,05$; Fig. 2.15 B y D; Anexo 7). En el caso del OPDA (ácido 12-oxophytodienoico), un bioprecursor de los jasmonatos, se observó una inducción después de 2 hs. de inducción (tanto mecánica, cómo por herbivoría) en el híbrido templado, pero no en el híbrido tropical (ANOVA, $P < 0,05$; Fig. 2.15 E y F; Anexo 7). Los niveles de SA disminuyeron en los dos híbridos, después de 2 hs. de daño mecánico o por herbivoría (ANOVA, $P < 0,05$; Fig. 2.16 A y B; Anexo 7). Los niveles de ABA aumentaron en las plántulas de los dos híbridos después de 2 hs. de daño mecánico y en el híbrido templado después de 24 hs. de daño mecánico (ANOVA, $P < 0,05$; Fig. 2.16 C y D; Anexo 7). En ambos híbridos se observó un aumento en los niveles de IAA después de someter a las plántulas al daño provocado por los adultos de *D. furcatus* (ANOVA, $P < 0,05$; Fig. 2.16 E y F; Anexo 7).

2.4.4 Orientación hacia linalool

Una proporción mayor de adultos de *D. furcatus* fue atraído hacia el lado del olfatómetro que contenía el papel absorbente impregnado con linalool en comparación al lado del olfatómetro que contenía el papel absorbente con solvente ($P < 0,05$; Fig. 2.17;

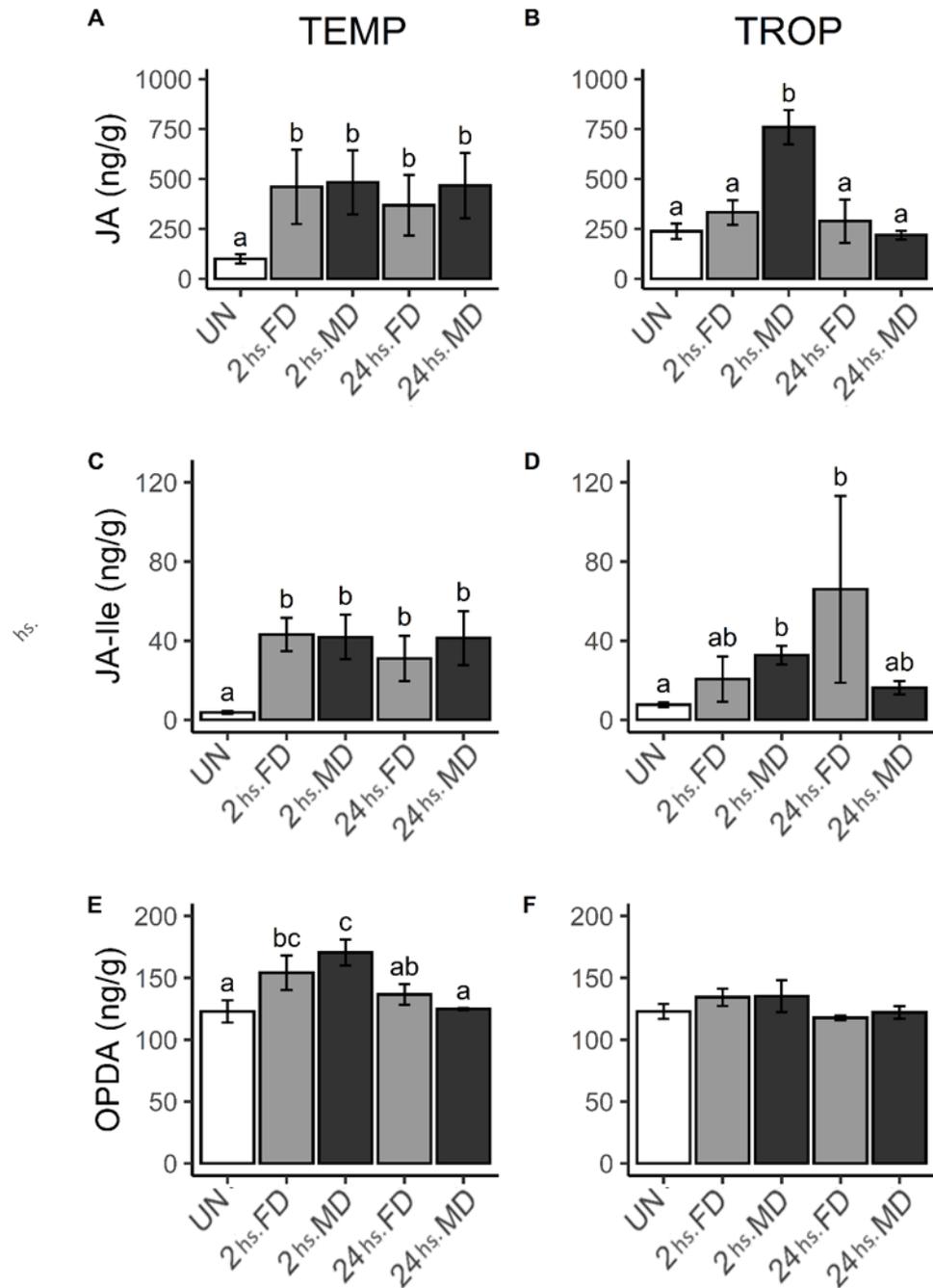


Figura 2.15: Niveles de jasmonatos en las plántulas de los híbridos templado (TEMP) y tropical (TROP). Niveles de ácido jasmónico (JA) para híbrido TEMP (A) y TROP (B), ácido jasmónico-isoleucina (JA-Ile) para híbrido TEMP (C) y TROP (D) y ácido 12-oxo-fitodienoico (OPDA) en plántulas del híbrido TEMP (E) y del híbrido TROP (F). Se compararon los niveles constitutivos (UN) y luego de 2 hs. y 24 hs. de la inducción por herbivoría (2 hs. FD y 24 hs. FD) y por daño mecánico (2 hs. MD y 24 hs. MD). Los datos fueron expresados como medias \pm error estándar. Letras diferentes en la parte superior del gráfico representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$; ANOVA). En el híbrido templado se incrementaron los niveles de los jasmonatos luego de la inducción tanto mecánica como por herbivoría. En el caso del híbrido tropical, la respuesta no fue tan marcada.

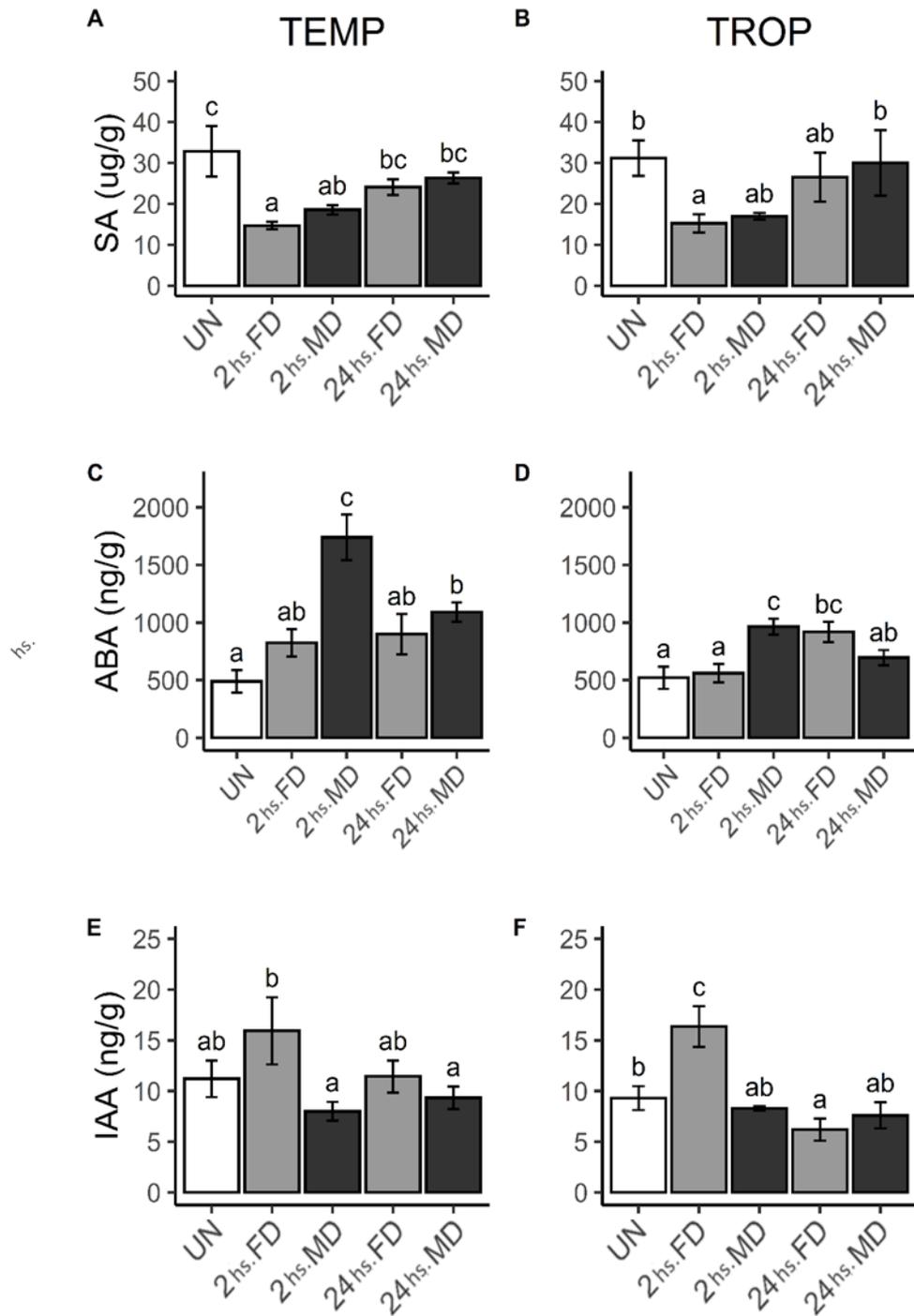


Fig. 2.16: Niveles de fitohormonas en plántulas del híbrido templado (TEMP) y del tropical (TROP). Se midieron los niveles de ácido salicílico (SA) en los híbridos TEMP (A) y TROP (B), ácido abscísico (ABA) en híbrido TEMP (C) y TROP (D) y ácido índoleacético (IAA) en híbrido TEMP (E) y TROP (F). Se compararon los niveles constitutivos (UN) y luego de 2hs. y 24 hs. de la inducción por herbivoría (2 hs. FD y 24 hs. FD) y por daño mecánico (2 hs. MD y 24 hs. MD). Los datos fueron expresados como medias \pm error estándar. Letras diferentes en la parte superior del gráfico representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$; ANOVA). Los niveles de SA disminuyeron en todos los tratamientos, los de ABA se incrementaron después de 2 hs. del daño mecánico y los de IAA se incrementaron 2 hs. después del daño por herbivoría en los dos híbridos.

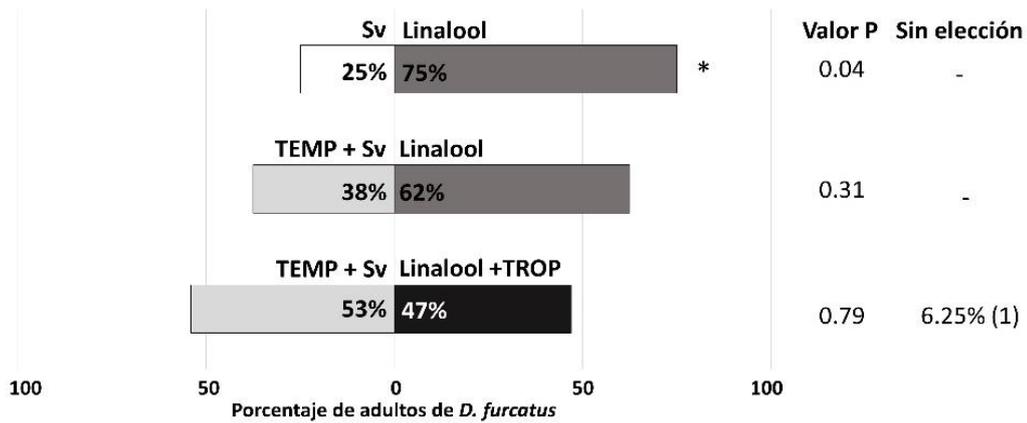


Figura 2.17: Orientación hacia linalool. La figura muestra el porcentaje de adultos de *D. furcatus* que contactaron uno de los lados del olfatómetro cuando se contrastó el compuesto linalool (Linalool) versus el solvente (Sv) y los volátiles constitutivos del híbrido templado más el solvente (TEMP + Sv) versus linalool o los volátiles constitutivos del híbrido tropical más linalool (Linalool + TROP). Las chinches se orientaron hacia los ($P > 0,05$). * Prueba Chi-cuadrado (X^2), $P < 0,05$.

Anexo 4). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se comparó la preferencia de los adultos de *D. furcatus* entre los volátiles emitidos por una plántula templada más solvente y el linalool obtenido comercialmente (Fig. 2.17; Anexo 4). Además, los volátiles emitidos por el híbrido menos atractivo (tropical) resultaron igualmente atractivos que los del híbrido preferido (templado) cuando las plántulas del híbrido tropical fueron suplementadas con linalool, respaldando el rol de este compuesto como un attractante (Fig. 2.17; Anexo 4).

2.5 DISCUSIÓN

Entender las claves que guían a los adultos de *D. furcatus* a reconocer al maíz cómo una fuente de alimentación durante la primavera puede ayudar a desarrollar estrategias para manipular el comportamiento de este insecto, y así disminuir el daño y las pérdidas económicas que provoca. La detección de una mezcla particular de COVs asociados a los hospederos permite al insecto discriminar las plantas hospederas en un trasfondo complejo repleto de volátiles emitidos por otras plantas (Bruce et al., 2005). En este trabajo, los experimentos desarrollados con el olfatómetro demostraron que el linalool por si mismo es un attractante para los adultos de *D. furcatus* (Fig. 2.17), y sugieren que estos insectos se orientan hacia las plántulas de maíz a través de una mezcla de volátiles asociada a sus hospederos compuesta principalmente por linalool, tal como se planteó en la hipótesis Ia. Además, las plántulas de maíz emitieron diferentes mezclas de COVs dependiendo de su trasfondo genético (Fig. 2.4, Anexo 5), confirmando la hipótesis Ib. Los volátiles inducidos en el híbrido templado luego de 2 hs., de comenzado el ataque de las chinches no fueron atractivos para las chinches, a pesar de que el linalool fue el compuesto más importante desde el punto de vista cuantitativo, según se plantea en la hipótesis IIa. Además, se observó que, si bien la inducción por la aplicación en spray de fitohormonas a las plántulas de los dos híbridos, como MeJA, SA y el precursor del etileno ACC, y por el daño mecánico, desencadenan la emisión de volátiles, ninguno de los patrones observados se corresponde al observado en el inducido en las plántulas por la herbivoría (Figuras 2.6, 2.8, 2.10, 2.12 y 2.14). Cuando se midieron los niveles de fitohormonas en las plántulas de maíz, se observó que el ataque de estas chinches incrementó los niveles de JA, JA-Ile, ABA e IAA, mientras que disminuyó la concentración de SA, desencadenando la emisión de COVs que disuaden al insecto de alimentarse de las plántulas del híbrido templado (Figuras 2.2, 2.3, 2.15 y 2.16 y Anexo

4 y 6), respondiendo la hipótesis IIb. Previo a este resultado, ningún estudio previo había mostrado el perfil completo de las fitohormonas relacionadas a los mecanismos de defensas inducidas por la alimentación de adultos de *D. furcatus*. Así como tampoco, la mezcla de volátiles de las plántulas de maíz que modulan el comportamiento y la preferencia de alimentación de estos insectos.

A pesar de que algunos estudios han mostrado la importancia de los COVs emitidos por las plantas como consecuencia de la herbivoría de chinches en las interacciones tritróficas (Colazza et al., 2004), poco se sabe de la importancia de los COVs emitidos por las plantas luego del ataque de chinches. Estudios previos sugieren que las especies polífagas, como es el caso de *D. furcatus*, suelen ser atraídas por los VHV. Estos compuestos son cosmopolitas y suelen ser liberados por diferentes taxones de plantas (Schoonhoven et al., 2005). Sin embargo, los resultados de esta tesis sugieren que son algunos terpenoides los compuestos involucrados en la atracción de los adultos de *D. furcatus* hacia las plántulas de maíz. Los compuestos que explicaron la mayor variación entre la mezcla de volátiles emitida constitutivamente por los híbridos templado y tropical fueron el linalool, β -farneseno, benzoato de etilo, nerolidol acetato, β -pineno, (2E, 6E)-farnesil acetato, salicilato de metilo, β -ocimeno y (+) ciclosativeno (PCA, Fig. 2.4; Anexo 5 y 6). Las plántulas de los dos híbridos emitieron constitutivamente al menos 10 COVs distintos. Además, las plántulas del híbrido templado emitieron al menos 3 veces más volátiles que las del híbrido tropical (Anexo 5). Trabajos previos demostraron que la composición (cuali y cuantitativa) de la mezcla de volátiles emitida por las plántulas de maíz está determinada genéticamente (Degan et al., 2004). Los cultivares de maíz de alto rendimiento suelen presentar un trasfondo genético acotado, como consecuencia de la aplicación sistemática de programas de mejoramiento (Dávila-Flores et al., 2013). Además, la mezcla de volátiles emitida por cada híbrido depende de los

alelos recibidos a través de las líneas parentales para los genes que codifican o regulan las enzimas involucradas en la biosíntesis de cada compuesto.

Sin embargo, hay compuestos como el linalool que son emitidos constitutivamente por plántulas de maíz de un amplio rango de germoplasmas (Degan et al., 2004). Estos compuestos pueden ser usados por los herbívoros como una clave para localizar a las plantas hospederas (Tamiru et al., 2011), como en el caso de las orugas del lepidóptero generalista *Spodoptera frugiperda* (Carroll et al., 2006) y la chicharrita especialista de maíz *D. maidis* (Coll Aráoz et al., 2019). El linalool resultó ser un compuesto clave en la orientación de los adultos hacia las plántulas de maíz (Fig. 2.17), demostrando ser un attractante para estos insectos generalistas.

En esta tesis se observó que la atracción y la preferencia de alimentación de la chinche de los cuernos por las plántulas del híbrido templado (sin inducción), en combinación con los experimentos realizados en el olfatómetro sugieren, que el linalool puede ser usado como una de las principales claves olfativas en la orientación hacia las plántulas de maíz en condiciones constitutivas. Los volátiles liberados en respuesta al daño o a la aplicación de fitohormonas pueden resultar repelentes para los herbívoros y/o attractantes para sus enemigos naturales. En este trabajo se observó que el ataque por parte de *D. furcatus* incrementa la emisión de volátiles en las plántulas del híbrido templado, provocando una disuasión en la alimentación del insecto (Figs. 2.2, 2.3, 2.4, Anexo 5). A pesar de que el linalool es el componente más abundante de la mezcla de los volátiles de los dos híbridos, otros compuestos inducidos en los distintos tratamientos podrían tener efectos potencialmente repelentes (Figs. 2.5; 2.9; 2.19; 2.13; Anexo 5), sin embargo, hacen falta nuevos estudios para poder confirmarlo. Entre los terpenos inducidos se destacan compuestos con características disuasorias para los herbívoros como el TMTT y el cariofileno. Además, las plántulas del híbrido templado emiten otros compuestos

defensivos como el benzoato de etilo y el DMNT, así como mayores niveles cuantitativos de volátiles que las plántulas del híbrido tropical. De manera similar, los volátiles inducidos en plántulas de maíz por la herbivoría resultaron repelentes para los áfidos alados de la especie *Rhopalosiphum maidis* Fitch (Hemiptera: Aphididae) (Bernasconi et al., 1998). Por otra parte, las plántulas de maíz del híbrido templado atacadas por las chinches emitieron otros volátiles que están relacionados típicamente al daño por herbivoría y la atracción de parasitoides generalistas (Clavijo McCormick et al., 2012). Las plántulas del híbrido templado respondieron al ataque de las chinches emitiendo más mono, homo y sesquiterpenos, VHV's (como (Z)-3-hexenil acetato), y compuestos aromáticos (como el indol) que las plántulas del híbrido tropical. Sin embargo, el daño mecánico indujo la emisión de una mezcla diferente de volátiles en los dos híbridos cuando los comparamos con los patrones de volátiles inducidos por la herbivoría (Figuras 2.6, 2.8 y Anexos 6 y 7).

Los resultados de esta tesis demostraron que el daño mecánico no produjo un efecto disuasorio en el insecto en el caso del híbrido templado (Figuras 2.7 y 2.8), sugiriendo la participación de la saliva de *D. furcatus* en la modulación de la emisión de los volátiles. La saliva de los herbívoros puede modular la emisión de COVs de manera intraespecífica, que puede depender del trasfondo genético de los híbridos de maíz (Schmelz et al., 2009). La saliva acuosa de los hemípteros pentatómidos fitófagos es uno de los primeros fluidos que entra en contacto con los tejidos internos de la planta durante la herbivoría, y los compuestos candidatos de desencadenar la respuesta hormonal defensiva en las plantas están bajo estudio (Giacometti et al., 2016, 2020; Peiffer & Felton, 2014).

Las defensas inducidas por la vía del SA usualmente median el ataque de patógenos biotróficos (Pieterse et al., 2009; Spoel et al., 2007; Thaler et al., 2010, 2012;

Wei et al., 2014) e insectos picadores-suctores, mientras que la vía del JA/ET está asociada al ataque de patógenos necrotróficos e insectos masticadores (Kessler & Baldwin, 2002; Pieterse et al., 2009; Schmelz, Engelberth, et al., 2003; Thaler et al., 2012; Wei et al., 2014). El reconocimiento del daño provocado por las chinches desencadena en las plantas la transcripción y activación de la vía de señalización de las MAPK, las cuales inducen las vías de defensa reguladas por JA/ET y SA (Giacometti et al., 2016, 2020). A pesar de que es bien conocido que el JA induce la emisión de COVs (Howe & Jander, 2008), el rol de otras fitohormonas en la regulación final de la emisión de volátiles no está completamente dilucidada. Observamos que el spray de una solución acuosa de MeJA (una forma volátil del JA), SA o de ACC (precursor del etileno) sobre la superficie de plántulas de maíz provocaron la emisión de volátiles (Figuras 2.10, 2.12, 2.14, Anexo 5 y 6). La mezcla de volátiles inducidos por la aplicación de estas fitohormonas y el efecto sobre la orientación olfativa de las chinches parece ser genotipo-dependiente, y ninguna de las fitohormonas aplicadas por si sola explica completamente los resultados observados en la inducción por herbivoría (Figuras 2.5, 2.9, 2.11, 2.13, Anexo 4 y 5). Estos resultados sugieren que la emisión de los COVs como consecuencia de la herbivoría podría estar regulada por la interacción de dos o más fitohormonas, cómo en el caso de las plantas de la judía de Lima (*Phaseolus lunatus* L. (Fabales: Fabaceae)) cuando son infectadas por el ácaro *Tetranychus urticae* Koch (Trombidiformes: Tetranychidae) (Ozawa et al., 2000).

Cuando comparamos los niveles de fitohormonas en las plántulas de maíz, observamos que tanto el daño mecánico cómo la herbivoría incrementaron los niveles de JA y JA-Ile y disminuyeron los niveles de SA, tanto en las plántulas del híbrido templado como en el tropical (Figuras 2.15, 2.16 y Anexo 7). Las vías del JA y del SA son a menudo antagonistas, de tal manera que la activación de la vía del JA puede reprimir las respuestas

de defensa de la vía del SA, y viceversa (Zavala et al., 2008). El ET es una hormona volátil que modula las respuestas de defensa de las plantas (Kahl et al., 2000), afectando el antagonismo entre el JA y el SA. A pesar de que los volátiles inducidos en las plántulas del híbrido tropical luego de 2 hs. de herbivoría fueron similares a los emitidos luego de 2 hs. del spray con la solución de ACC, no se pudieron detectar niveles de esta fitohormona en ninguno de los tratamientos (datos no mostrados). Estos resultados sugieren que el ET puede estar involucrado en la modulación de los COVs. Mientras que la inducción de los jasmonatos y del OPDA después de 2 hs. de herbivoría en las plántulas del híbrido templado puede explicar en parte la mayor inducción de los volátiles (Figuras 2.5 y 4.14), el daño mecánico induce concomitantemente los niveles de JA y de ABA, y un patrón particular de COVs emitidos por los dos híbridos (Figuras 2.7, 2.15 y 2.16). La interacción entre JA y ABA está relacionada con la activación de las defensas antiherbívoro y al daño mecánico, además el ABA es un antagonista del ET y suprime las defensas dependientes del SA (Pieterse et al., 2012). Por otro lado, las auxinas, relacionadas con numerosos procesos fisiológicos de las plantas, también podrían intervenir en las estrategias de defensa contra herbívoros específicos. Mientras que se ha observado que las hojas de tabaco (*Nicotiana attenuata* Steud (Solanales: Solanaceae)) presenta mayores niveles de IAA luego de ser atacadas por larvas de *Manduca sexta* L. (Lepidoptera: Sphingidae) (Machado et al., 2016), en maíz se redujeron los niveles de IAA luego del ataque de larvas de *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) (Schmelz et al., 2003). Los niveles de IAA fueron inducidos en los dos híbridos de mis experimentos después de 2 hs. de herbivoría (Fig. 2.16). Sin embargo, el indol, descrito como un precursor de la biosíntesis del IAA en *A. thaliana* (Ljung et al., 2002), y responsable de la inducción temprana de las defensas antiherbívoro en las plántulas de maíz (Erb et al., 2015), sólo fue identificado como componente de la mezcla de COVs

del híbrido templado (Anexo 5 y 6). Mis resultados sugieren que la regulación hormonal de la emisión de COVs está limitada por el trasfondo genético de los híbridos de maíz.

Capítulo 3:

**Efecto del sombreado en la emisión de volátiles
constitutivos e inducidos por herbivoría en
plántulas de maíz y su efecto sobre la preferencia
de *Diceraeus furcatus***

3.1 INTRODUCCIÓN

En condiciones de baja calidad lumínica, el crecimiento de las plantas debe ser lo suficientemente rápido para evitar la competencia por la luz, lo cual está directamente relacionado a la disponibilidad de recursos. Sin embargo, la concesión de recursos para el crecimiento tiene un costo energético, y puede limitar los recursos disponibles para invertir en defensas contra fuentes de estrés biótico, como los herbívoros y patógenos. Por lo tanto, para maximizar el fitness, y por ende, la producción de semillas, las plantas deben encontrar un balance entre los recursos que destinan para desarrollarse y defenderse (Züst & Agrawal, 2017). Así como, a través de los fitocromos, las plantas pueden detectar otras plantas en su vecindad, también tienen receptores capaces de detectar el ataque de herbívoros y patógenos y responder en consecuencia, mediante la activación de vías de señalización mediadas por el ácido jasmónico (JA) y/o el ácido salicílico (SA) (Howe & Jander, 2007; Wu & Baldwin, 2010). Sin embargo, la forma inactiva de los fitocromos B aparentemente suprime las respuestas relacionadas con ambas vías de señalización (JA y SA) en *A. thaliana* (Cerrudo et al., 2012; De Wit et al., 2013). Esto conlleva a que, ante un escenario donde ocurren simultáneamente una alta competencia por la luz y el ataque de herbívoros o patógenos, se priorice la evasión al sombreado afectando la producción de defensas, tanto directas (flavonoides, inhibidores de peptidasas, y otros compuestos que afectan el metabolismo del herbívoro) como indirectas (nectarios y compuestos orgánicos volátiles (COVs) que atraen controladores naturales de los herbívoros) (Ballaré, 2014).

Los COVs no sólo deben ser considerados como una defensa indirecta, sino que sirven de claves olfativas que permiten a los herbívoros reconocer sus hospederos (Coll Aráoz et al., 2019; Jacobi et al., 2021). Así mismo, los volátiles intervienen en las interacciones planta-planta, y sirven tanto para reconocer la presencia de otras plantas en la vecindad como para detectar cuando una de las plantas cercanas está siendo atacada

por herbívoros (Baldwin et al., 2006; Erb et al., 2015; Kegge et al., 2015; Kegge & Pierik, 2010). Además, los compuestos que componen la mezcla de volátiles emitida por las plántulas de maíz varía cuali y cuantitativamente en función de factores abióticos como la disponibilidad de agua, nutrientes, la temperatura y la calidad lumínica (Gouinguéné & Turlings, 2002). En cebada (*Hordeum vulgare*) se observó que los cambios en la relación rojo:rojo lejano (R:FR) originados por la competencia planta-planta, influyen en la emisión de volátiles constitutivos (Kegge et al., 2015) y de aquellos relacionados con la herbivoría (Kegge & Pierik, 2010). En maíz se observó que la baja concentración de fotones (0 y 5.000 lm/m²) provoca que las plántulas sometidas a herbivoría emitan cuantitativamente menos volátiles que aquellas que crecen bajo mayores niveles de intensidad lumínica (10.000, 15.000 y 20.000 lm/m²) (Gouinguéné & Turlings, 2002). Además, la alimentación de los herbívoros provoca respuestas características en la emisión de COVs por parte de las plantas atacadas, tanto por el daño mecánico (provocado por el aparato bucal), como químico (por los componentes de la saliva) (Giacometti et al., 2020; Peiffer & Felton, 2014; Schmelz et al., 2009). Sin embargo, no hay datos sobre la influencia que la competencia por la luz puede provocar en la orientación de los adultos de *D. furcatus* hacia las plántulas de maíz, y sobre la capacidad de estas plántulas de maíz para emitir volátiles en respuesta al daño (mecánico y químico) provocado por la herbivoría.

Los COVs emitidos por las plántulas de maíz contienen claves olfativas utilizadas por los adultos de *D. furcatus* para identificarlas como fuente de alimentación (Jacobi et al., 2021). Sin embargo, los volátiles emitidos constitutivamente podrían variar en función de la competencia intraespecífica afectando la interacción de las plántulas de maíz con esta chinche.

3.2 OBJETIVO E HIPÓTESIS

3.2.1 Objetivo específico III:

Determinar el efecto de la competencia intraespecífica en la interacción entre los adultos de *D. furcatus* y las plántulas de maíz.

Hipótesis:

III a- Los adultos de *D. furcatus* se orientan preferencialmente hacia las plántulas de maíz que perciben altos niveles de competencia intraespecífica a través de claves volátiles

III b- La competencia intraespecífica de plántulas de maíz altera la emisión constitutiva de COVs.

III c- La competencia intraespecífica altera la respuesta de las plántulas de maíz frente a la herbivoría y al daño mecánico, silenciando la emisión de COVs.

3.3 Materiales y Métodos

3.3.1 Material botánico: Los experimentos se llevaron a cabo con líneas endocriadas de maíz, “Paris 2” (WT) y 2 líneas isogénicas con los fitocromos B mutados, una línea en que el fitocromo B1 (Phy B1) está mutado y otra en que el fitocromo B2 (Phy B2) está mutado (Fig. 3.1). Debido a la mutación de los fitocromos B, estos mutantes presentan características de evasión al sombreado aunque crezcan en condiciones de baja densidad de siembra (Sheehan et al., 2007; Wies et al., 2019; Wies & Maddonni, 2020). Mientras que el fitocromo B1 se expresa en estadio de plántula, el fitocromo B2 se encuentra activo en un estadio fenológico mas avanzado, a partir de floración (Sheehan et al., 2007). Las semillas de maíz fueron sembradas en vasos plásticos de 180 cc con tierra comercial como sustrato. Estos fueron colocados dentro de una jaula recubierta con una malla plástica transparente (tipo mosquitero) en las inmediaciones del pabellón de Bioquímica en FAUBA, en condiciones naturales de luz y temperatura. Se regaron día por medio con agua corriente, siempre que fuera necesario. Las plántulas se utilizaron cuando alcanzaron los 14 días aproximadamente.

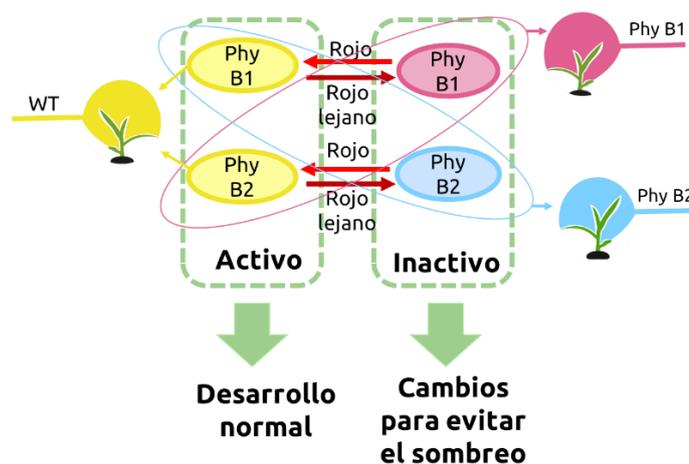


Figura 3.1: Diagrama mostrando los fitocromos activos de las plántulas de maíz empleadas. Estas son la línea endocriada “Paris 2” (WT) y las líneas isogénicas con los fitocromos B1 (Phy B1) y B2 (Phy B2) mutados.

3.3.2 Material entomológico: Se utilizaron individuos adultos extraídos de la colonia establecida en la cátedra de bioquímica de FAUBA descripta en materiales y métodos del capítulo 2 (sección 2.2.1). El mismo número de machos y hembras de *D. furcatus* fueron separados y hambreados por 48 hs. antes de ser utilizados en los experimentos.

3.3.4 Tratamientos aplicados a las plántulas: Las plántulas de maíz de 14 días se colocaron individualmente en cajas plásticas (25,5 x 13,5 x 37 cm, de polipropileno transparente) con una pared de tela de voile. Estas se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio (24 ± 2 °C, 60 ± 5 % HR, 14:10 L:D, $350 \mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-1}$). Los tratamientos aplicados fueron 2 hs. de herbivoría, 2 hs. de daño mecánico (aguja de microdissección) y como control se contó con plántulas sin inducción. Estos tratamientos se aplicaron de la manera descripta en la sección de materiales y métodos del capítulo 2 (sección 2.2.3). Los tratamientos aplicados a cada unidad experimental fueron asignados al azar.

3.3.5 Orientación en olfatómetro: La orientación de adultos de *D. furcatus* hacia los COVs emitidos constitutivamente por plántulas de maíz fue evaluado usando un olfatómetro de ambiente estacionario (ver sección 2.2.5 y Fig. 2.1). Se realizaron entre 21 y 30 réplicas por contraste.

3.3.6 Colección y análisis químico de volátiles: Los volátiles emitidos por las plántulas de maíz se colectaron y se analizaron utilizando un cromatógrafo gaseoso acoplado a espectrometría de masas (GC/MS). Los mismos se identificaron teniendo en cuenta el tiempo de retención de cada compuesto, el índice de Kovats y por comparación con estándares comerciales. Se utilizó la metodología descripta en la sección de materiales y métodos en el capítulo 2 (sección 2.2.6). Se realizaron al menos 6 repeticiones por tratamiento.

3.3.7 Análisis estadístico: La orientación de las chinches observada en los experimentos de orientación en olfatómetro fue analizada utilizando Chi-cuadrado (χ^2 , goodness-of-fit test; $P < 0,05$). Para comparar las mezclas de volátiles de cada tratamiento se utilizó un análisis de componentes principales (PCA), a través del paquete Vegan de la plataforma R (Oksanen et al., 2018) incluyendo todos los compuestos detectados en el análisis químico. Los niveles de los volátiles individuales se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de un factor. Los valores fueron normalizados mediante una transformación logarítmica y las comparaciones se realizaron usando el test de Duncan ($P < 0,05$). Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis (H) cuando los supuestos del ANOVA no se cumplieron.

3.4 Resultados

3.4.1 Orientación en olfatómetro

Los adultos de *D. furcatus* prefirieron orientarse hacia los volátiles emitidos constitutivamente por los mutantes de Phy B1 cuando se contrastaron con los volátiles emitidos tanto por las plántulas WT (N= 22; $\chi^2= 4,54$; P= 0,033) como por las Phy B2 (N= 30; $\chi^2= 4,8$; P= 0,028) (Fig. 3.2). Cuando se contrastaron los volátiles constitutivos de las plántulas WT versus los emitidos por las plántulas Phy B2 no se observaron diferencias en la orientación de los adultos de *D. furcatus* (N= 21; $\chi^2= 0,05$; P= 0,827) (Fig. 3.2).

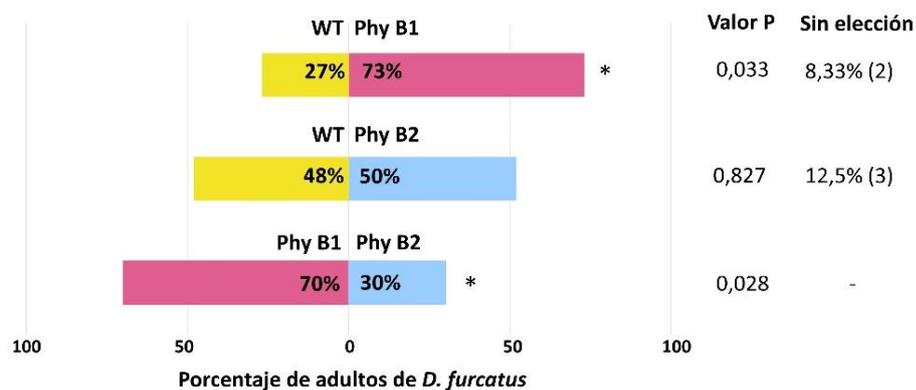


Figura 3.2: Orientación de adultos de *Diceraeus furcatus* hacia COVs emitidos por plántulas de maíz con diferente percepción de la competencia planta-planta. Orientación de adultos de *D. furcatus* en olfatómetro de ambiente estacionario entre los volátiles emitidos constitutivamente por plántulas de la línea endocriada Paris 2 (WT) y su mutante isogénico para el fitocromo B1 (Phy B1); entre los volátiles emitidos por las plántulas WT versus los emitidos por plántulas del mutante isogénico para el fitocromo B2 (Phy B2); y entre los emitidos por plántulas Phy B1 versus Phy B2. * P < 0,05; χ^2 , goodness-of-fit test. El número de insectos que no eligieron (Sin elección) se puso entre paréntesis.

3.4.2 Patrón de emisión de volátiles constitutivos

Se identificaron once COVs diferentes emitidos constitutivamente por las tres líneas (WT, Phy B1 y Phy B2) (Anexo 8). Para visualizar la variabilidad entre los tratamientos, se realizó un PCA con los datos obtenidos al reducir las dimensiones comparadas (Fig. 3.3; Anexo 6). Los dos primeros componentes (PC1 y PC2) explicaron

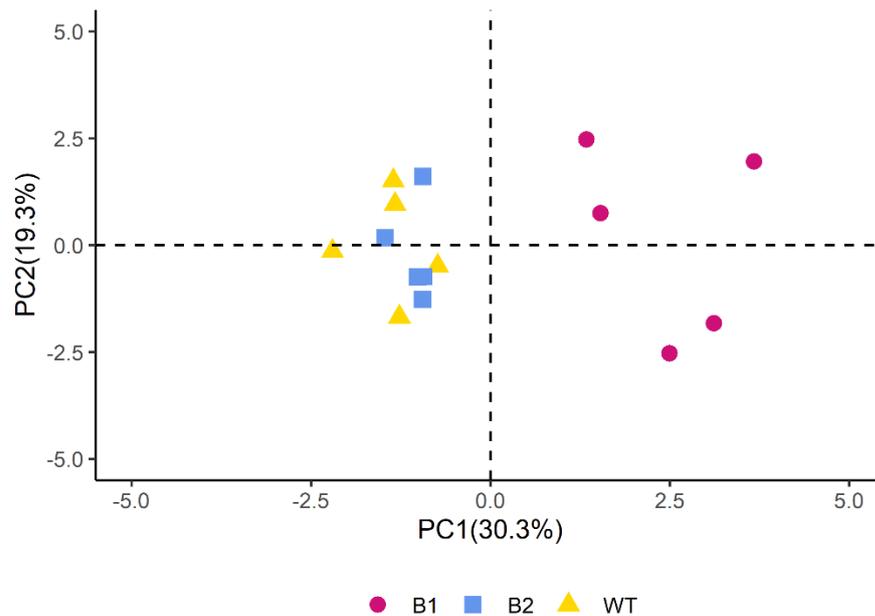


Figura 3.3: Patrón de la mezcla de COVs emitidos constitutivamente por plántulas bajo competencia planta-planta. Análisis de componentes principales (PCA) representando la asociación de 15 casos pertenecientes a la línea endocriada Paris 2 (WT, N=5) y sus líneas isogénicas mutantes para los fitocromos B1 (Phy B1, N=5) y B2 (Phy B2, N=5) considerando las cantidades relativas de COVs emitidos. Los primeros dos ejes (PC1 y PC2) representan respectivamente el 30,3 % y 19,3 % de la variación total (Anexo 6).

el 49,6% de la variación. La mezcla de COVs emitidos por las plántulas de la línea mutante Phy B1 se agruparon de forma separada a las del WT y el Phy B2. Esto sugiere que la mezcla de COVs emitidos por las plántulas del WT y del mutante Phy B2 son similares entre sí, pero difieren de los COVs emitidos por las plántulas del mutante Phy B1, los cuales, a su vez, presentan mayor variabilidad (Fig. 3.3). Los compuestos que más contribuyeron al primer eje (PC1, eigenvalor 3,32; Anexo 6) fueron β -gurjeneno, salicilato de metilo (MeSA), indol y salicilato de dimetilo. Estos compuestos presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las líneas (Fig. 3.4; Anexo 8). Los compuestos que más contribuyeron al segundo eje (PC2, eigenvalor 2,12; Anexo 6) fueron el benzoato de etilo y el linalool. Al comparar los niveles de emisión de volátiles observamos que las plántulas de la línea mutante Phy B1 emiten constitutivamente dos veces más volátiles que las plántulas de las líneas WT y Phy B2 (Fig. 3.4, ANOVA, $P <$

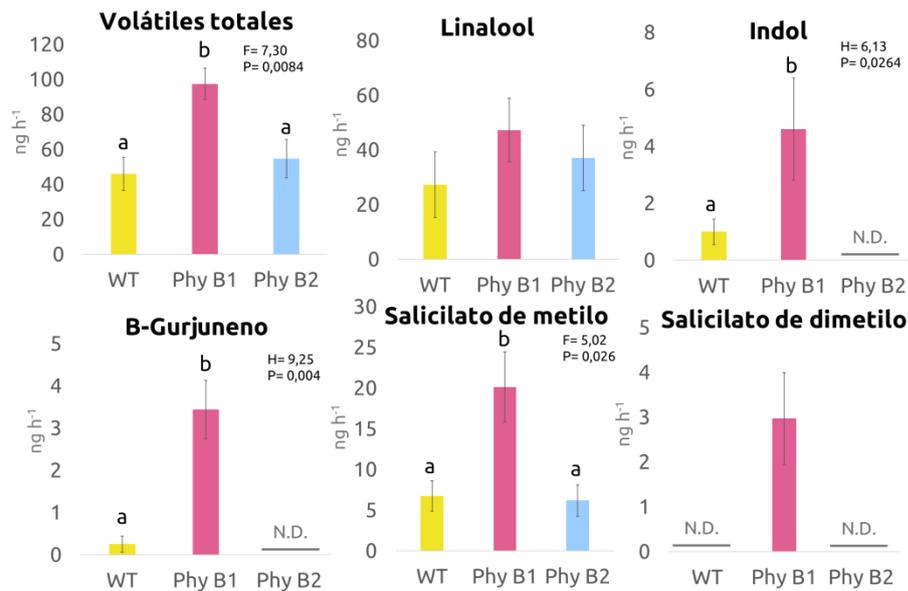


Figura 3.4: Niveles constitutivos (media \pm EE) de volátiles totales, linalool, índol, β -gurjuneno, MeSA y salicilato de dimetilo. Estos fueron emitidos por las plántulas de la línea endocriada Paris 2 (WT) y de los mutantes isogénicos para fitocromo B1 (Phy B1) y B2 (Phy B2) expresados en ng h⁻¹ (Anexo 8). Letras diferentes sobre las barras denotan diferencias estadísticamente significativas (ANOVA, $P < 0,05$).

0,05; Anexo 8). El linalool fue el componente mayoritario en la mezcla de COVs emitidas por las tres líneas, representando el 59, 48 y 68% del volumen total de COVs recolectados a partir de plántulas WT, PhyB1 y Phy B2 respectivamente. Sin embargo, no mostró diferencias estadísticamente significativas (Fig. 3.4).

3.4.3 Patrón de emisión de volátiles en respuesta a la herbivoría

Se identificaron 20 COVs diferentes emitidos por las plántulas de las tres líneas luego de la inducción por herbivoría (Anexo 8). Con los datos obtenidos se redujo el número de dimensiones para comparar la variabilidad en la emisión de volátiles en respuesta a la herbivoría, tanto del WT cómo de los mutantes Phy B1 y Phy B2, mediante un PCA (Fig. 3.5; Anexo 6). Las primeras dos dimensiones (PC1 y PC 2) explicaron casi el 54 % de la variación total. Las muestras correspondientes a la mezcla de volátiles emitidos por las plántulas de las líneas isogénicas mutantes de Paris 2 (Phy B1 y Phy B2)

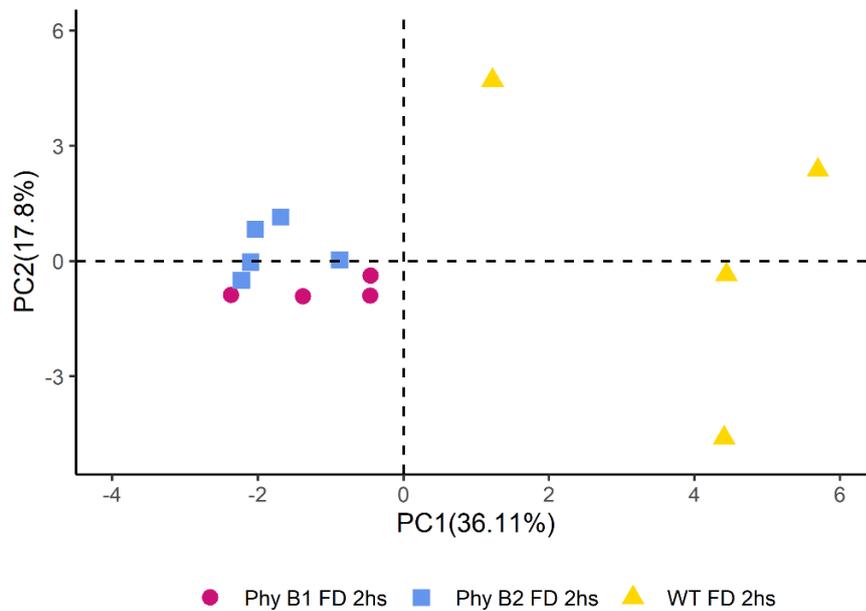


Figura 3.5: Patrón de la mezcla de COVs inducidos por herbivoría en plántulas bajo competencia planta-planta. Análisis de componentes principales (PCA) representando la asociación de 14 casos pertenecientes a la línea endocriada Paris 2 (WT; N= 4) y sus líneas isogénicas mutantes para los fitocromos B1 (Phy B1; N= 5) y B2 (Phy B2; N= 5) considerando las cantidades relativas de COVs emitidos luego de 2 hs. de herbivoría de adultos de *Diceraeus furcatus* (FD 2 hs.). Los primeros dos ejes (PC1 y PC2) representan respectivamente el 36,11 % y 17,8 % de la variación total (Anexo 6).

se agruparon y mostraron menor variabilidad que las muestras correspondientes a las plántulas WT (Fig. 3.5). Los compuestos que contribuyeron en mayor medida al primer eje (PC1, Eigenvalor 7,35; Anexo 6) fueron (E)- β -ocimeno, copaeno, β -sesquifelandreno, β -mirceno, (+)-3-careno, terpeno desconocido (RT 13.6), geranilacetona, β -gurjuneno, TMTT; mientras que el linalool y el acetato de 3-hexenilo contribuyeron en mayor medida al segundo eje (PC2; eigenvalor 3,86; Anexo 6). Todos estos compuestos fueron emitidos en mayor medida o exclusivamente por las plántulas WT (Fig. 3.6; Anexo 8). Las plántulas WT emitieron un mayor volumen de COVs totales (Fig. 3.6). El linalool dejó de ser el componente mayoritario en la mezcla de COVs emitidos por las tres líneas, y en las plántulas Phy B2 este compuesto no se detectó con la metodología empleada (Fig. 3.6).

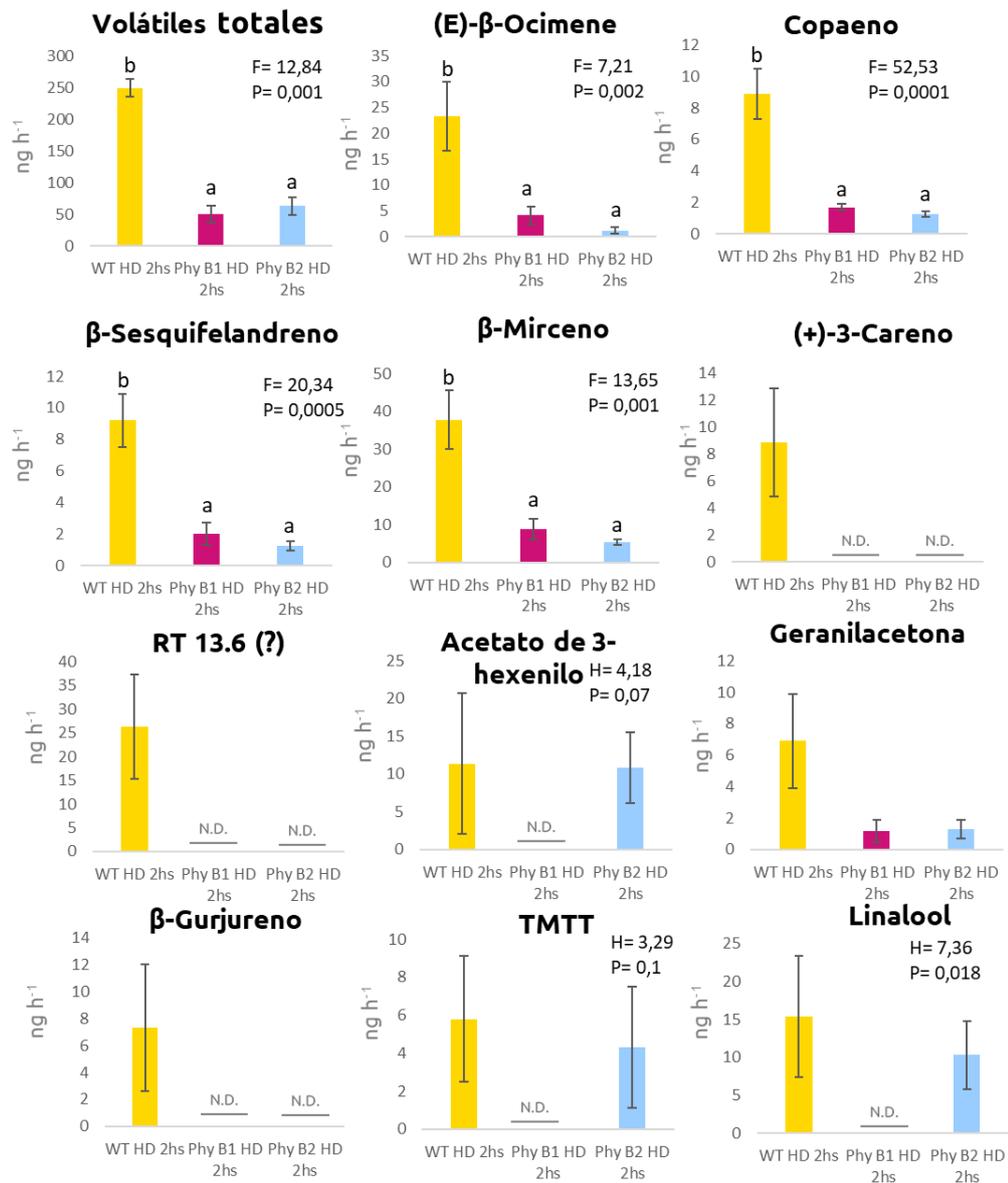


Figura 3.6: Nivel de volátiles totales, (E)-β-ocimene, copaeno, β-sesquifelandreno, β-mirceno, (+)-3-careno, terpeno desconocido (RT 13.6), acetato de 3-hexenilo, geranilacetona, β-gurjureneno, TMTT y linalool emitidos luego de 2 hs. de herbivoría. Se compararon los niveles emitidos por las plántulas de la línea endocriada Paris 2 (WT FD 2 hs.) y de los mutantes isogénicos para fitocromo B1 (Phy B1 FD 2 hs.) y B2 (Phy B2 FD 2 hs.) expresados en ng h⁻¹ (Media ± EE) (Anexo 8). Letras diferentes sobre las barras denotan diferencias estadísticamente significativas (ANOVA, P < 0,05).

3.4.5 Patrón de emisión de volátiles en respuesta al daño mecánico

Se identificaron 14 volátiles en total. De ellos, 4 fueron identificados exclusivamente en la mezcla de COVs emitidos por las plántulas de la línea endocriada Paris 2 (WT CM 2 hs.) (Anexo 8). Para analizar los patrones de emisión de volátiles

inducidos por daño mecánico (2 hs. MD) de las plántulas WT y de las líneas isogénicas mutantes Phy B1 y Phy B2, se realizó un PCA (Figura 3.7; Anexo 6). Las dos primeras dimensiones (PC1 y PC2) explicaron el 64% de la variación total. La línea que mostró mayor variabilidad en la mezcla de volátiles emitidos luego del daño mecánico fue el WT (WT MD 2 hs.). Las muestras correspondientes a la mezcla de volátiles de los mutantes (Phy B1 MD 2 hs. y Phy B2 MD 2 hs.) no muestran diferencias entre sí (Figura 3.7). El eje PC1 está explicado principalmente por los compuestos β -mirceno, limoneno, (E)- β -ocimeno, benzoato de etilo, copaeno, cariofileno y geranilacetona; mientras que el eje PC2 por acetato de 3-hexenilo, MeSA, TMTT y linalool (Anexo 6). Las plántulas WT emitieron hasta 3 veces más volátiles totales que las plántulas de las líneas mutantes Phy

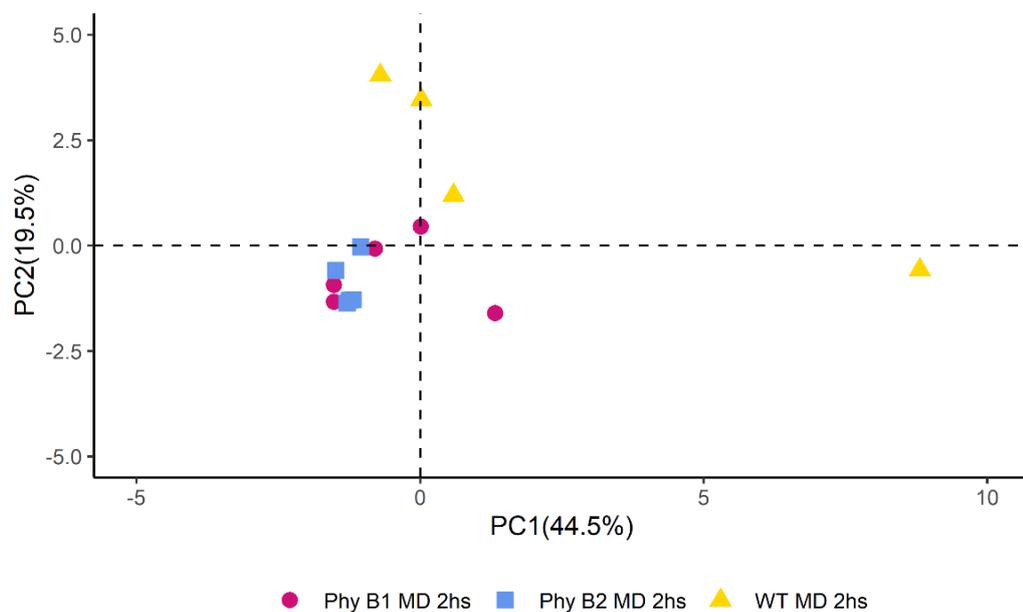


Figura 3.7: Patrón de la mezcla de COVs inducidos por daño mecánico en plántulas bajo competencia planta-planta. Análisis de componentes principales (PCA) representando la asociación de 14 casos pertenecientes a la línea endocriada Paris 2 (WT; N= 4) y sus líneas isogénicas mutantes para los fitocromos B1 (Phy B1; N= 5) y B2 (Phy B2; N= 5) considerando las cantidades relativas de COVs emitidos 2 hs. después de la inducción por daño mecánico (2 hs. MD). Los primeros dos ejes (PC1 y PC2) representan respectivamente el 44,5% y 19,5% de la variación total (Anexo 6).

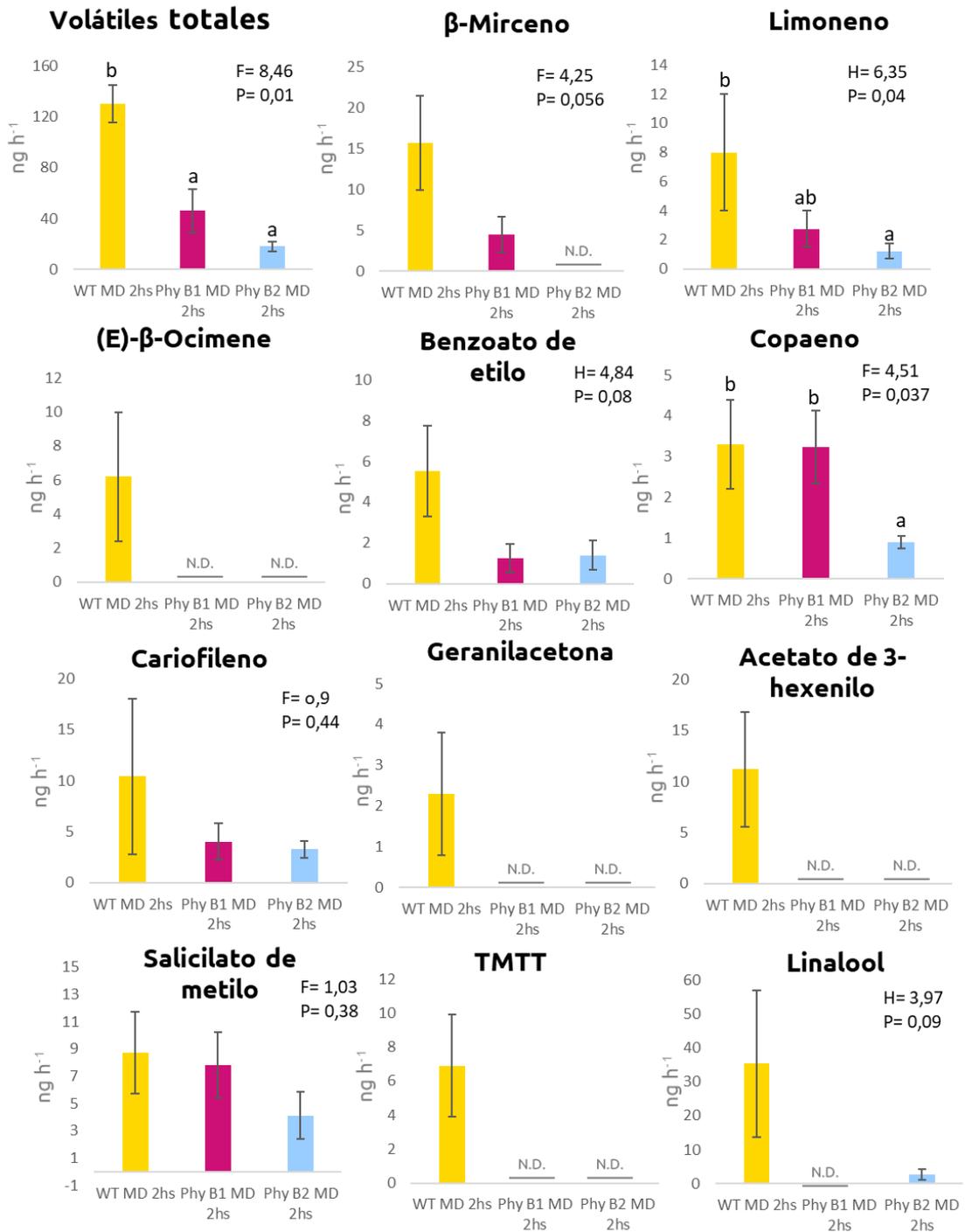


Figura 3.8: Nivel de volátiles totales, β -mirceno, limoneno, (E)- β -ocimene, benzoato de etilo, copaeno, cariofileno, geranilacetona, acetato de 3-hexenilo, MeSA, TMTT y linalool emitidos luego de 2 hs. de daño mecánico. Se compararon los niveles emitidos por las plántulas de la línea endocriada Paris 2 (WT MD 2hs.) y de los mutantes isogénicos para fitocromo B1 (Phy B1 MD 2hs.) y B2 (Phy B2 MD 2hs.) expresados en ng h⁻¹ (Media \pm EE) (Anexo 8). Letras diferentes sobre las barras denotan diferencias estadísticamente significativas (ANOVA, P < 0,05).

B1 y Phy B1 luego del daño mecánico (ANOVA, $P < 0,05$; Fig. 3.8 A, Anexo 8). Muchos de los volátiles que explicaron en mayor medida los ejes correspondientes al PC1 y PC2 y, por ende, la mayor parte de la variabilidad entre las muestras, no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las líneas (Ej. β -mirceno, benzoato de etilo, cariofileno, MeSA y linalool). Sin embargo, otros de estos COVs fueron detectados exclusivamente en las plántulas WT (Ej.(E)- β -ocimeno, geranilacetona, acetato de 3-hexenilo y TMTT) (Fig. 3.8 y Anexo 8).

3.5 DISCUSIÓN

Caracterizar la influencia del síndrome de evasión al sombreado en la emisión de volátiles de plántulas de maíz y cómo afecta su interacción con los adultos de *D. furcatus* permitirá desarrollar estrategias de manejo en las regiones de mayor incidencia de esta especie de chinche. Los experimentos con olfatómetro (Fig. 3.2; Anexo 4) demostraron que las chinches prefirieron los volátiles emitidos por las plántulas de maíz con el fitocromo B1 inactivo, confirmando la hipótesis IIIa. Los volátiles emitidos por estas plántulas (Phy B1) difirieron cuali y cuantitativamente en comparación a los emitidos constitutivamente tanto por las plántulas WT como por las Phy B2 (Figuras 3.3 y 3.4; Anexo 8), de acuerdo con la hipótesis IIIb. Cuando se comparó la emisión de volátiles emitidos en función de la herbivoría temprana por adultos de *D. furcatus* se observó que las plántulas WT respondieron liberando una mezcla de volátiles más diversa y abundante que las emitidas por las plántulas mutantes (Phy B1 y Phy B2), presentando patrones muy diferentes (Figuras 3.5 y 3.6; Anexo 8), confirmando la primera parte de la hipótesis IIIc. Sin embargo, a pesar de que las plántulas de maíz WT emitieron más volátiles que las líneas isogénicas mutantes (Phy B1 y B2) en respuesta al daño mecánico, el patrón de emisión no fue tan claro cómo el mostrado por el daño por herbivoría (Figuras 3.7 y 3.8; Anexo 8), confirmando parcialmente la segunda parte de la hipótesis IIIc. Estos experimentos muestran resultados sin precedentes sobre la influencia que tienen los fitocromos B1 y B2 en la emisión de volátiles constitutivos en plántulas de maíz que condicionan la preferencia de los adultos de *D. furcatus*. Además, muestran que las plántulas con los fitocromos B1 y B2 fotoinactivados, es decir, que sensan continuamente altos niveles de competencia planta-planta, presentan una capacidad reducida de responder a la herbivoría al emitir un nivel menor de COVs que las plántulas WT.

Los insectos han desarrollado un sistema de detección de señales olfativas adaptado a detectar los volátiles relevantes con una alta resolución espacio-temporal, pero a la vez, este sistema es lo suficientemente plástico como para reconocer los cambios que pueden producirse en la mezcla de volátiles asociados a los hospederos (Bruce & Pickett, 2011). Por ende, los COVs son una fuente de información constante tanto de la identidad, como de las condiciones fisiológicas de las plantas (Ninkovic et al., 2019). Si tenemos en cuenta que durante el estadio de plántula del maíz el principal fitocromo B activo es el B1, entonces, las plántulas mutantes que tienen este fitocromo inactivo (Phy B1) presentan el síndrome de evasión al sombreado (Sheehan et al., 2007; Wies et al., 2019; Wies & Maddonni, 2020). Entre los cambios fisiológicos que se asocian a este síndrome está una mayor producción de auxinas, las cuales antagonizan con las principales fitohormonas de defensa (JA y SA), aumentando la susceptibilidad hacia los herbívoros (Ballaré, 2014). En tomate, las plantas mutantes con los fitocromos B1 y B2 inactivos presentaron menores niveles de defensas directas y un mayor nivel de daño frente al ataque de las larvas de *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae), en comparación a las plantas que tenían los fitocromos activos (Cortés et al., 2016). Los resultados de esta tesis sugieren que las chinches serían capaces de sentir el estado fisiológico de las plántulas de maíz a través de los COVs al orientarse hacia la mezcla emitida por las plántulas de la línea con el fitocromo B1 inactivo (Fig. 3.2).

Los niveles basales de COVs emitidos por las plántulas PhyB1 constituyen una mezcla cuali y cuantitativamente más abundante que los emitidos por las plántulas WT y las mutantes para el fitocromo B2 (Phy B2) (Fig. 3.3 y 3.4; Anexo 8). Las líneas de maíz que fueron modificadas genéticamente para emitir una mayor proporción de volátiles mostraron ser más atractivas y recibieron una mayor proporción de daño por parte de las larvas del lepidóptero generalista *S. frugiperda* que las mismas líneas sin modificar

(Robert et al., 2013). Por otro lado, en el capítulo anterior, mostramos que los adultos de *D. furcatus* prefirieron las plántulas del híbrido que emitía constitutivamente una mezcla más variada y abundante de volátiles y presentaba menores niveles basales de JA (Capítulo 2; Jacobi et. al 2021). Uno de los volátiles emitidos en mayor medida por las plántulas Phy B1 es el indol (Fig. 3.4). Este compuesto volátil es uno de los precursores de la hormona auxina ácido indol-acético (IAA) (Erb, 2018), funciona como “priming” en plántulas de maíz, disminuyendo el tiempo de inducción de compuestos antiherbívoro y en condiciones de buena calidad lumínica potencia la vía del JA en respuesta a la herbivoría (Erb et al., 2015). El efecto del indol en la vía del JA parecería ser contexto-dependiente, ya que en otras especies vegetales, este volátil demostró suprimir indirectamente la vía de señalización del JA (Erb, 2018). El MeSA es una forma volátil de la fitohormona SA, y puede ser un precursor de la misma (y viceversa) (Dempsey et al., 2011). El MeSA demostró ser una defensa indirecta al atraer al depredador *Chrysopa nigricornis* Burmeister (Neuroptera: Chrysopidae) hacia trampas ubicadas en distintos campos experimentales (James, 2003). Sin embargo, la combinación de MeSA y linalool mostró actuar sinérgicamente en la atracción de los coleópteros *Diabrotica virgifera virgifera* y *D. barberi* R. Smith & Lawrence (Coleoptera: Chrysomelidae) al aumentar el número de individuos capturados en trampas ubicadas en campos de maíz. Además, cuando a esta mezcla se le adicionó indol resultó ser aún más atractiva para las hembras de *D. virgifera virgifera* (Hammack, 2001). Estos tres compuestos están en mayor volumen en la mezcla de volátiles de las plántulas de la línea Phy B1 (Figuras 3.4), por lo que son buenos candidatos para explicar la atracción de los adultos de *D. furcatus* (Fig. 3.3), además del linalool sugerido en el Capítulo 2.

Si bien hay numerosos trabajos sobre el efecto de la competencia planta-planta en la inducción de defensas directas (Ballaré, 2014), poco se sabe sobre su influencia en la

inducción de defensas indirectas por el ataque de herbívoros. En condiciones naturales de luz, las plántulas de maíz responden tempranamente tanto a la herbivoría por *D. furcatus*, cómo al daño mecánico mediante la activación de la vía del JA, la cual es modulada por el IAA y por el ácido abscísico respectivamente (Capítulo 2). En ambos casos se induce la emisión de volátiles y la mezcla es más abundante y compleja, aumentando, principalmente, los mono y sesquiterpenos (Capítulo 2; Jacobi et al., 2021). Los resultados de este estudio muestran que la inactivación tanto del fitocromo B1 cómo del B2 altera la mezcla de volátiles emitidos por las plántulas de maíz en respuesta a la herbivoría (Figuras 3.6, 3.7 y Anexo 8) y al daño mecánico (Figuras 3.8, 3.9 y Anexo 8). En ambos casos las plántulas WT emitieron entre tres y siete veces más volátiles totales que las plántulas con uno de los fitocromos B fotoinactivados (Figuras 3.6 y 3.8). Además, el patrón de emisión de volátiles en respuesta a la herbivoría fue distinto al observado frente al daño mecánico (Figuras 3.5, 3.7 y Anexo 8). Hay que tener en cuenta que la alimentación de las chinches implica una doble fuente de daño, por un lado el mecánico, al introducir el estilete en el tejido vegetal, y por otro lado, el químico por la inyección de saliva (Giacometti et al., 2020; Peiffer & Felton, 2014). Teniendo en cuenta que la saliva de las chinches está implicada en la emisión de COVs en razas locales (Schmelz et al., 2009) y en híbridos comerciales de maíz (Jacobi et al., 2021), los resultados de esta tesis sugieren que las plántulas de maíz son capaces de reconocer inductores y/o represores químicos presentes en la saliva de las chinches y responder en consecuencia. Entre los COVs que mostraron mayor diferencia entre las líneas de maíz sometidas a herbivoría se destacan el derivado de ácidos grasos acetato de 3-hexenilo y el terpeno (E)- β -ocimeno (Fig. 3.6). El acetato de 3-hexenilo es un volátil de hoja verde (VHV) liberado cómo consecuencia del daño mecánico, mientras que el (E)- β -ocimeno está relacionado al daño por herbivoría. Ambos compuestos actúan en la comunicación

planta-planta cómo “priming” de las defensas de plantas en la vecindad e intervienen en la vía del JA (Engelberth et al., 2004; Fäldt et al., 2003; Frost et al., 2008; Menzel et al., 2014; Xu et al., 2005). Además, hay numerosos trabajos que demuestran que estos compuestos son importantes en las interacciones tritróficas, ya que son atrayentes de parasitoides de huevos de chinches del género *Lygus* spp., como *Anaphes iole* Girault (Hymenoptera: Mymaridae) (Williams et al., 2008), de endoparasitoides de orugas, cómo *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) (Ngi-Song et al., 2000) y *Campoletis chlorideae* Uchida (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Yan & Wang, 2006), y parasitoides de áfidos, como *Aphidius rhopalosiphi* De Stefani-Perez (Hymenoptera: Braconidae) (Wickremasinghe & Emden, 1992). Estos resultados sugieren que la inactivación de los fitocromos B y, por ende, el síndrome de evasión al sombreado puede afectar la interacción planta-planta y la inducción de defensas indirectas en las plántulas de maíz, es decir, las interacciones tritróficas.

CAPÍTULO 4:

Orientación hacia hospederos alternativos

4.1 INTRODUCCIÓN

Debido a que las claves volátiles emitidas por los hospederos representan una fracción de los compuestos orgánicos volátiles (COVs) presentes en un ecosistema, y que hay una gran cantidad de COVs, como linalool, limoneno, β -ocimeno y β -mirceno, que son emitidos por diferentes familias de plantas, otras especies de plantas con sus aromas pueden interferir en el proceso de selección de un hospedero (Conchou et al., 2019). Además, se ha observado que muy pocos insectos responden a los COVs emitidos exclusivamente por determinados grupos taxonómicos, sino que la gran mayoría son atraídos por compuestos que son comunes en el reino vegetal (Birkett et al., 2004; Bruce et al., 2005; Campbell et al., 1993; Coll Aráoz et al., 2019; Jacobi et al., 2021). Sin embargo, los insectos presentan adaptaciones para sensar las claves químicas que brindan los COVs, tanto para identificar las plantas en sí, como sus estadios fenológicos y su nivel de defensas (Bruce & Pickett, 2011). Los receptores encargados de reconocer las moléculas odorantes están presentes en las neuronas receptoras olfativas que se encuentran dentro de estructuras especializadas denominadas sensilias. Los receptores olfativos están codificados por una de las mayores familias de genes en insectos y muestran una elevada tasa de evolución entre los distintos taxa (De Bruyne & Baker, 2008). Los distintos receptores olfativos varían tanto en su especificidad (capacidad de detectar uno o muchos compuestos) como en su sensibilidad (concentración a la que generan una respuesta), desencadenando respuestas excitatorias o inhibitorias, dependiendo de la interacción con el ligando, incluso en la misma neurona (Voelckel & Jander, 2014). Por ende, la capacidad de los insectos de sensar el paisaje químico que los rodea depende de los receptores olfativos codificados en su genoma que están expresando en un momento particular en las distintas neuronas receptoras olfativas (Conchou et al., 2019). Toda la información química sensada por los insectos es finalmente integrada en

el sistema nervioso central, lo que puede desencadenar tanto la atracción hacia un hospedero como la evasión de los no-hospederos (Voelckel & Jander, 2014).

Considerando que la vegetación arvense puede ser utilizada por las poblaciones de *D. furcatus* como hospederos de alimentación, reproducción y/o refugio (Smaniotto & Panizzi, 2015) que influyen en su estatus nutricional, ciclo de vida, densidad poblacional (Jacobi et al., 2022) y en la interacción con las poblaciones de depredadores y parasitoides (Agostinetto et al., 2018; Zerbino & Panizzi, 2019), conocer la sucesión de potenciales hospederos alternativos presentes en el agroecosistema y su influencia en la población de este insecto plaga es muy importante a la hora de desarrollar estrategias de manejo más amigables con el medio ambiente.

4.2 OBJETIVO E HIPÓTESIS

4.2.1 Objetivo particular IV

Caracterizar la alternancia de hospederos de *D. furcatus* en las distintas estaciones del año.

Hipótesis

IV a- *D. furcatus* utiliza diferentes especies vegetales espontáneas como sustrato de alimentación, reproducción o refugio, dependiendo de las estaciones del año y el mosaico de hospederos disponibles.

IV b- Los adultos de *D. furcatus* se orientan hacia sus hospederos alternativos entre la vegetación arvense mediante claves olfativas.

4.3 Materiales y métodos

4.3.1 Muestreos a campo

Se realizaron muestreos periódicos en zonas agrícolas de producción de soja y maíz en el sureste de Córdoba, en las inmediaciones de la localidad de Marcos Juárez ($32^{\circ}39'12.3''S$ $62^{\circ}08'58.9''W$ aproximadamente). Se eligió esta localidad porque está en el centro de distribución de la especie en nuestro país y es una de las zonas donde este insecto plaga es económicamente más relevante (Fig. 1.1). Se ejecutaron al menos cuatro muestreos al año, a mediados de febrero, mayo, agosto y noviembre, por cuatro años (que comprendió desde fines de 2015 hasta principios de 2019), excepto en el año 2017 donde solo se realizaron los muestreos de verano y otoño. Cada viaje se organizó entre el 10 y el 28 del mes correspondiente, dependiendo de las condiciones ambientales, excepto cuando hubo razones logísticas que escaparon a nuestro control (Tabla 4.1).

Tabla 4.1 Fecha en que se realizó cada muestreo a fin de detectar la presencia y abundancia de *Diceraeus furcatus* en diferentes plantas hospederas en Marcos Juárez, Córdoba

Período	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
1	28/04/15	24/08/15	16/10/15	13/02/16
2	16/04/16	08/09/16	11/10/16	05/02/17
3	25/03/17	-	-	07/03/18
4	14/04/18	18/08/18	10/10/18	12/02/19

4.3.2 Toma de datos

Se seleccionaron lotes bajo el criterio de alternancia regular soja – maíz. Para los muestreos se utilizó un marco de 50 x 50 cm de lado (Fig. 4.1), el cual se dispuso al azar al menos 20 veces dentro del lote seleccionado en cada fecha de muestreo (sin considerar los márgenes de los mismos) y se completó una ficha en cada caso (Fig. 4.2). Se caracterizó tanto la vegetación en pie como la presencia de rastrojo, y se registró el



Figura 4.1: Cuadro utilizado en los muestreos a campo. El cuadro de 50 x 50 cm se colocaba al azar en por lo menos 20 puntos del lote durante cada fecha de muestreo.

Ficha de campo n°: Foto n°:

Fecha: Hora: Temperatura:

Ubicación del lote: Ubicación de la parcela en el lote:

Rastrojo: Profundidad del rastreojo:

Cultivo actual: Estado fenológico:

Historia del lote:

Observaciones:

Diagrama:

Malezas:

<p>1-</p> <p>2-</p> <p>3-</p> <p>4-</p> <p>5-</p> <p>6-</p> <p>7-</p> <p>8-</p> <p>9-</p> <p>10-</p>	<p style="text-align: center;"><i>X_A</i> - <i>Dichelops furcatus</i></p> <p><i>X_{B1-5}</i> - <i>D. furcatus</i> (Huevos a N 5)</p> <p><i>X₆</i> - <i>D. furcatus</i> parasitado</p> <p>O - Malezas (prop a la sup que ocupa)</p> <p>M - Mommia x Henschelida</p>
--	---

Figura 4.2 Ficha utilizada en los muestreos. Se completó una por cada marco ubicado al azar en los lotes visitados en Marcos Juárez, Córdoba. En esta se precisaron la ubicación de las plantas y los individuos de *D. furcatus*.

número de chinches, el estado del desarrollo o el estadio ninfal en que se encontraban y la ubicación de estas en la vegetación.

4.3.3 Identificación de especies vegetales

En cada muestreo se catalogaron las distintas especies presentes a través del ‘Manual de reconocimiento y manejo de malezas’ (UNR, 2018) y ‘No malezas’ (Syngenta, 2014). Se colectaron individuos de cada especie vegetal, los cuales fueron trasladados hasta el laboratorio donde se identificaron utilizando las claves suministradas por el ‘Atlas de reconocimiento de malezas’ de INTA (<http://rian.inta.gov.ar/atlasmalezas/atlasmalezasportal/>). Cuando la maleza no se pudo identificar por los medios especificados se consultó con la cátedra de Botánica Agrícola de FAUBA.

4.3.4 Orientación en olfatómetro

Para determinar si las chinches se orientan hacia las malezas usando los COVs emitidos por estas como clave para seleccionar hospederos, se realizaron ensayos de preferencia utilizando el olfatómetro de ambiente estacionario descrito en la sección 2.2.5 (Fig. 2.1), ofreciendo exclusivamente claves olfativas. Para esto se contrastaron las especies vegetales de interés (seleccionándose aquellas especies donde más frecuentemente se encontraron chinches y aquellas donde nunca se encontraron individuos) versus plántulas del híbrido de maíz 1780YR Mono 8-10 (Templado), el cual posee una mezcla de COVs atractivo para los adultos de *D. furcatus* (Fig. 2.3, sección 2.3.2). Las distintas malezas y las plántulas de maíz crecieron en condiciones naturales en el campo experimental de FAUBA. Como las distintas plantas difieren en tamaño y morfología, se separó una sección del tallo con tijeras previamente desinfectadas, tomando como referencia el tamaño de las plántulas de maíz (90 ± 3 mg de peso y 14 cm

de altura), las cuales recibieron el mismo tratamiento que las malezas. El material vegetal se colocó en tubos Falcon de 15 ml con agua filtrada y la superficie de los mismos se cubrió con Parafilm. En cada olfatómetro se colocó alternativamente un tubo con una de las malezas en una de las cámaras laterales y la plántula de maíz en la otra. El insecto se colocó en el medio de la cámara central, y después de 15 minutos se observó la ubicación del insecto. Si después de 30 minutos el individuo no estaba sobre una de las paredes laterales se registró como no elección. Se contó con al menos 5 olfatómetros que se utilizaron simultáneamente y se realizaron al menos 20 repeticiones para cada contraste. Para controlar que el daño mecánico hecho por el corte en las plántulas de maíz no alteró la preferencia de los adultos de *D. furcatus* por los COVs emitidos por las mismas se contrastó la preferencia de las chinches por plántulas de maíz sanas versus plántulas cortadas (en las condiciones descritas previamente). Las especies de malezas utilizadas fueron yuyo colorado (*Amaranthus quitensis* Kunth (Caryophyllales: Amaranthaceae)), trébol (*Trifolium repens* L. (Fabales: Fabaceae)), sorgo de alepo (*Sorghum halepense* (L.) Pers. (Poales: Poaceae)), cebadilla criolla (*Bromus catharticus* Vahl (Poales: Poaceae)), cerraja pegajosa (*Picris echioides* L. (Asterales: Asteraceae)), santa lucía (*Commelina erecta* L. (Commelinales: Commelinaceae)), cerraja (*Sonchus oleraceus* L. (Asterales: Asteraceae)), petunia (*Petunia axillaris* (Lam.) B. (Solanales: Solanaceae)) y pata de gallina (*Eleusine indica* L. (Poales: Poaceae)).

4.3.5 Análisis estadístico

Para contrastar la relación de *D. furcatus* con las distintas especies vegetales presentes en el agroecosistema en cada fecha de muestreo se realizó un ordenamiento de clusters de dos vías. Para armar la matriz se tomó como variable las especies vegetales presentes en el agroecosistema. Se le asignó un valor de 0,5 a cada especie vegetal presente en un muestreo, a la cual se le sumó el valor de 0,5 si estaba relacionada a

individuos de *D. furcatus*. Para el ordenamiento se utilizó el software PCORD 6, especialmente diseñado para el análisis multivariado de datos provenientes de estudios ecológicos. Se tomó en cuenta la distancia euclídea y el método de distancia máxima. El número de individuos recolectados por estación se comparó aplicando un análisis de varianza (ANOVA) de un factor, luego de confirmarse que los datos cumplen con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. Las comparaciones se realizaron usando el test de Duncan ($P < 0,05$). Para evaluar la orientación en olfatómetro se utilizó la prueba de Chi Cuadrado (X^2).

4.4 Resultados

4.4.1 Especies vegetales identificadas

En los distintos muestreos se identificaron 19 especies vegetales, las cuales pertenecen a las familias Amarantaceae (*A. quitensis*), Apiaceae (*Bowlesia incana* Ruiz & Pav.), Asteraceae (*Conyza bonariensis* L., *Pi. echioides*; *Senecio argentinus* Baker; *Son. oleraceus*), Brassicaceae (*Capsella bursa-pastoris* L.), Commelinaceae (*Co. erecta*), Fabaceae (*Glycine max*, *T. repens*), Poaceae (*Br catharticus*, *Digitaria insularis* (L.) Mez ex Ekman, *Echinochloa colona* (L.) Link; *E. indica*, *S. haepense*, *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) Clayton, *Z. mays*), Solanaceae (*P. axilaris*); Urticaceae (*Parietaria debilis* (L.) G. Forst. (Rosales: Urticaceae)) (Tabla 4.2). La mayor parte de estas son especies exóticas (63%), presentan un ciclo anual (84%) y se caracterizan por emergencia otoñal, vegetación invernal y floración primaveral (47%) (Tabla 4.2).

Tabla 4.2 Especies vegetales observadas en los muestreos a campo. Se identificaron 19 especies pertenecientes a 9 familias. El degradé de color gris muestra el ciclo (presencia) de cada especie vegetal en el agroecosistema durante el año.

	Familia	Especie	Nombre vulgar	Ciclo	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
	Amaranthaceae	<i>Amaranthus quitensis</i> †	Yuyo colorado	Anual				
	Apiaceae	<i>Bowlesia incana</i> †	Perejilillo	Anual				
		<i>Conyza bonariensis</i> †	Rama negra	Anual				
	Asteraceae	<i>Picris echioides</i> ‡	Pega-pega	Anual				
		<i>Senecio argentinus</i> †	Senecio	Anual				
		<i>Sonchus oleraceus</i> ‡	Cerraja	Anual				
	Brassicaceae	<i>Capsella bursa-pastoris</i> ‡	Bolsa de pastor	Anual				
	Commelinaceae	<i>Commelina erecta</i> †	Flor de Santa Lucía	Perenne				
Malezas	Fabaceae	<i>Trifolium repens</i> ‡	Trébol blanco	Perenne				
		<i>Bromus catharticus</i> †	Cebadilla criolla	Anual				
		<i>Digitaria insularis</i> ‡	Pasto amargo	Anual				
	Poaceae	<i>Echinochloa colona</i> ‡	Pasto colorado	Anual				
		<i>Eleusine indica</i> ‡	Pata de gallina	Anual				
		<i>Sorghum halepense</i> ‡	Sorgo de alepo	Perenne				
		<i>Rottboellia cochinchinensis</i> ‡	Caminadora	Anual				
	Solanaceae	<i>Petunia axillaris</i> †	Coroyuyo	Anual				
	Urticaceae	<i>Parietaria debilis</i> ‡	Yuyo de la pared	Anual				
Cultivos	Fabaceae	<i>Glycine max</i>	Soja	Anual				
	Poaceae	<i>Zea mays</i> L.	Maíz	Anual				

‡ Especies exóticas † Especies nativas.

4.4.2 Número de individuos recolectados

El número de chinches recolectadas varió entre las distintas estaciones. La estación en donde se encontró un mayor número total de individuos fue el otoño (63 ± 6 individuos), mientras que en el verano se colectó el menor número de individuos (5 ± 1 individuos) (ANOVA, $F= 22,7$; $P= 0,0001$; Fig. 4.3). Sólo se encontraron ninfas durante el otoño, en el resto de las estaciones sólo se colectaron adultos.

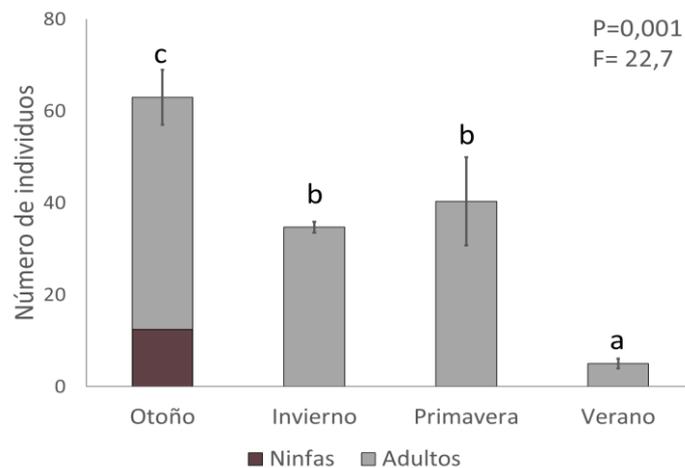


Fig. 4.3 Número de individuos (media \pm error estándar) recolectados durante los distintos muestreos. En gris oscuro se muestra la proporción de ninfas y en gris claro de adultos. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas (ANOVA, $P < 0,05$).

4.4.3 Relación entre la estación de muestreo en función de las especies vegetales identificadas y la ubicación de la chinche de los cuernos

A través del ordenamiento de clusters de dos vías (Fig. 4.4) se pudo observar que los muestreos se ordenan por estación en función de las especies vegetales presentes y la ubicación de las chinches, independiente del año en que se realizaron. La vegetación presente en verano fue más parecida a la del otoño. Los muestreos realizados en primavera fueron los que mostraron mayor diferencia con respecto a los realizados en las otras estaciones en función de las especies vegetales presentes. En cuanto a la ubicación de las chinches, vemos que durante el verano la mayor parte de los individuos se encontraron

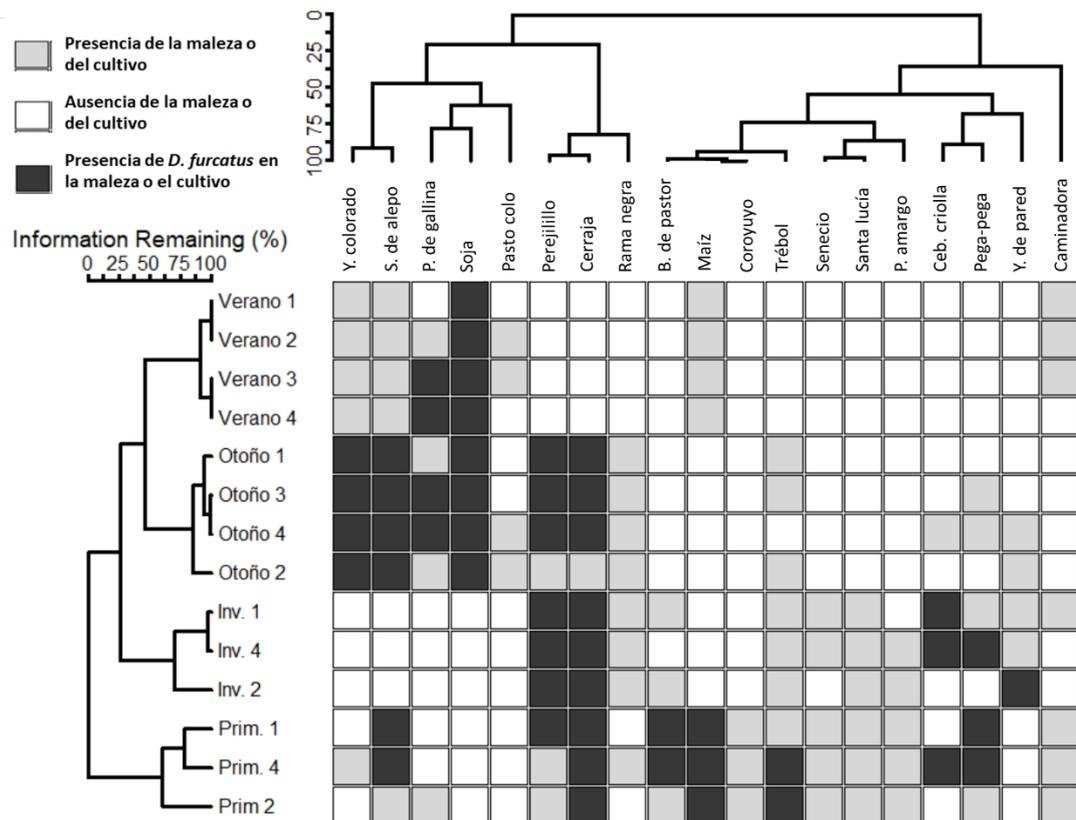


Figura 4.4: Agrupamiento de la presencia de individuos de *Diceraeus furcatus* en las especies vegetales identificadas en función de las estaciones de muestreo. Se realizó un cluster de 2 vías mostrando la relación entre la estación de muestreo, las especies vegetales presentes (cuadro pintado de gris claro) y las malezas presentes donde se encontraron individuos de *D. furcatus* (cuadro pintado de gris oscuro). Y. colorado= *A. quitensis*; S. de alepo= *S. halepense*; P. de gallina= *E. indica*; Soja= *G. max*; Pasto colo= *Ech. colona*; Perejilillo= *B. incana*; Cerraja= *Son. oleraceus*; Rama negra= *C. bonariensis*; B. de pastor= *Ca. bursa-pastoris*; Maíz= *Z. mays*; Coroyuyo= *P. axillaris*; Trébol= *T. repens*; Senecio= *Se. argentinus*; Santa lucía= *Co. erecta*; P. amargo= *Di. insularis*; Ceb. criolla= *Br. catharticus*; Pega-pega= *Pi. echinoides*; Y. de pared= *Pa. debilis*; Caminadora= *R. cochinchinensis*.

en soja. Durante las otras estaciones, las chinches se encontraron en un mayor número de especies, principalmente malezas. Durante el otoño estaban agrupadas alrededor de yuyo colorado, sorgo de alepo, pata de gallina, perejilillo y cerraja. En el invierno se refugiaron en las inmediaciones de perejilillo, cerraja, cebadilla criolla pega-pega y yuyo de pared. En primavera se encontraron individuos asociados a un mayor número de especies, como sorgo de alepo, perejilillo, cerraja, bolsa de pastor, maíz, trébol blanco, cebadilla criolla y pega-pega (Fig. 4.4).

4.4.4 Orientación en el olfatómetro

Los resultados de los experimentos de preferencia realizados con el olfatómetro de ambiente estacionario, donde sólo se ofrecieron claves olfativas, muestran que las chinches se orientaron hacia los volátiles emitidos por las especies pertenecientes a la

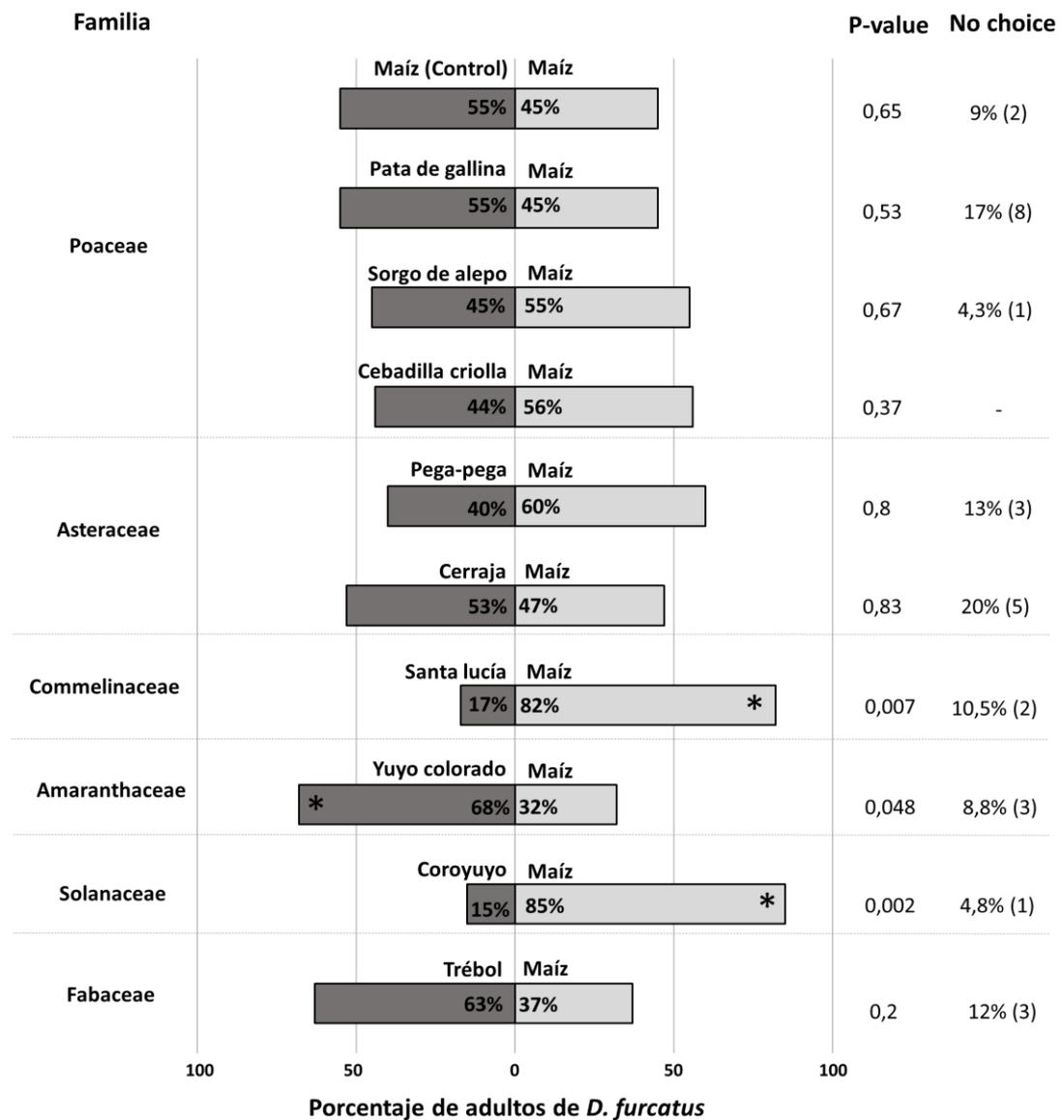


Figura 4.5: Orientación hacia COVs emitidos por las malezas. Estas fueron contrastadas con los volátiles de plántulas de maíz utilizando el olfatómetro de ambiente estacionario. Se seleccionó, por lo menos, una de las especies identificadas en los muestreos a campo por familia. Estas fueron plántulas de maíz, *Z. mays* (Maíz), *E. indica* (Pata de gallina), *S. halepense* (Sorgo de alepo), *Br. catharticus* (Cebadilla criolla), *Pi. echinoides* (Pega-pega), *Son. oleraceus* (Cerraja), *Co. erecta* (Santa lucía), *A. quitensis* (Yuyo colorado), *P. axillaris* (Coroyuyo o petunia) y *T. repens* (Trébol). *Diferencias estadísticamente significativas, $p < 0.05$, test de X^2 .

familia Poaceae (pata de gallina, sorgo de alepo y cebadilla criolla) en la misma proporción que hacia los COVs emitidos por las plántulas de maíz (Fig. 4.5; Anexo 4). Cuando se contrastaron los COVs emitidos por las plántulas de maíz versus los emitidos por las malezas pega-pega y cerraja (familia Asteraceae) no hubo diferencia en la orientación de los adultos de *D. furcatus* ($P > 0,05$; Fig. 4.5; Anexo 4). Las chinches se orientaron hacia los COVs emitidos por las plántulas de maíz cuando se contrastaron con las mezclas de volátiles emitidos por santa lucía (familia Commelinaceae) y coroyuyo (familia Solanaceae) ($p < 0,05$; $X^2 = 7,11$ y $9,8$ respectivamente; Fig. 4.5; Anexo 4). Las chinches se orientaron hacia los COVs emitidos por el yuyo colorado (familia Amaranthaceae) ($P < 0,05$; $X^2 = 3,9$; Fig. 4.5; Anexo 4) y hacia los emitidos por trébol blanco (familia Fabaceae) ($P > 0,05$; $X^2 = 1,63$; Fig. 4.5; Anexo 4); sin embargo, en este último caso, no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

4.5 Discusión

Caracterizar la interacción de *D. furcatus* con los cultivos y la vegetación espontánea acompañante es esencial para desarrollar recomendaciones de monitoreo más eficientes y para la identificación de especies candidatas para diseñar franjas trampas que atraigan a los insectos para controlarlos localmente o estrategias del tipo “push–pull”. Los subsecuentes muestreos a campo en un ambiente óptimo para esta chinche (en los alrededores de Marcos Juárez, Córdoba), demostraron que la población de *D. furcatus* suele estar más dispersa durante el verano, cuando la soja se encuentra en las etapas de desarrollo del fruto y las semillas, y es más abundante durante el otoño, cuando la soja está siendo cosechada (Fig. 4.3). Además, se observó que los individuos de *D. furcatus* están asociados a algunas especies de malezas, cómo yuyo colorado y pata de gallina, mientras que hay otras especies, como santa lucía o coroyuyo, donde nunca se encontraron estas chinches (Fig. 4.4). El cultivo de maíz es uno de los múltiples hospederos alternativos de esta especie de chinche durante la primavera, período donde presenta la mayor diversidad de hospederos (Fig. 4.4). Estos resultados confirman la hipótesis IVa. Además, mediante los experimentos con olfatómetro, se determinó que la orientación de los insectos depende de las claves volátiles emitidas por las especies contrastadas (Fig. 4.5; Anexo 4), según se plantea en la hipótesis IVb.

Los patrones de selección de hospederos de alimentación reproducción y/o refugio, así como el mosaico dinámico de cultivos y vegetación espontánea presentes en los agroecosistemas, influyen en la dinámica poblacional de los artrópodos plaga, cómo *D. furcatus* (Trumper & Edelstein, 2007). Cómo herbívoro generalista, las especies que utiliza *D. furcatus* como hospederos para alimentación y/o reproducción pueden no ser nutricionalmente óptimas. Sin embargo, las características nutricionales pueden afectar la fecundidad de los adultos o el tiempo de desarrollo de las ninfas. Las chinches son

sinovigénicas, es decir que las hembras llegan al estadio adulto sin tener los huevos desarrollados, sino que estos van madurando progresivamente hasta que están listos para ser fertilizados (Fortes et al., 2011). Hay numerosos ejemplos del efecto de la dieta en la fecundidad de chinches como *E. heros*, *Loxa deducta* Walker (Hemiptera: Pentatomidae), *N. viridula*, y *P. guildinii*, donde la supervivencia de los adultos y la capacidad de las hembras de poner huevos se vio reducido o potenciado cuando se alimentaron de determinadas malezas, en comparación a la performance que mostraron al alimentarse exclusivamente de vainas y semillas de soja (Panizzi, 1997). En *D. furcatus* también se registró que la capacidad de las hembras de poner huevos y la viabilidad de los mismos están afectadas por la dieta (Possebom et al., 2020; Smaniotto, 2015), siendo las hembras incapaces de oviponer cuando se alimentaron exclusivamente con plántulas de soja, trigo o maíz (Smaniotto, 2015). Así mismo, se considera que las ninfas son monófagas ya que, en general, solo se alimentan de las plantas que la madre seleccionó para oviponer (Trumper & Edelstein, 2007). Dentro del marco de la teoría de la oviposición óptima, se considera que, si la hembra no selecciona un hospedero de alimentación óptimo para las ninfas, estas pueden presentar complicaciones durante el desarrollo hacia el estadio adulto, afectando la eficacia biológica absoluta o “fitness” de la hembra (Jaenike, 1978; Scheirs & Bruyn, 2002). Así mismo, las ninfas criadas en estructuras reproductivas de gramíneas (triticale, trigo, avena, cebada y centeno) necesitaron hasta 10 días más para completar su desarrollo que aquellas criadas en estructuras reproductivas soja (vainas y semillas) (Panizzi et al., 2018), lo que en condiciones naturales supondría un mayor tiempo de exposición de los estadios más vulnerables al ataque de depredadores y parasitoides. Sin embargo, la diversificación de la dieta mostró efectos positivos en la supervivencia y el tiempo de desarrollo de ninfas y en la longevidad y la eficacia biológica de adultos de *Chinavia impicticornis* Stål

(Hemiptera: Pentatomidae) (Da Silva et al., 2018). Por ende, la sucesión de hospederos de un organismo plaga presente en los agroecosistemas está directamente relacionado con su densidad poblacional y dinámica estacional.

El hospedero predilecto de estas chinches es la soja (Panizzi et al., 2018). En los muestreos realizados se observó que cuando hay soja presente las chinches se encuentran en este cultivo, principalmente en verano durante el estadio reproductivo (Fig. 4.4). Sin embargo, en esta etapa, las chinches se encuentran muy dispersas y son muy difíciles de encontrar (Fig. 4.3), de la misma manera que se registró en muestreos a campo en Passo Fundo, Brasil (Agostinetto et al., 2018). En otoño, el cultivo de soja está maduro, y está siendo cosechado. En este período, se colectó el mayor número de individuos (Fig. 4.3) y, se observó que la chinche de los cuernos empieza a diversificar los hospederos y se la encuentra en malezas como yuyo colorado, perejilillo, pata de gallina, sorgo de alepo y cerraja (Fig. 4.4). Lo más frecuente es encontrarla como adulto entre el rastrojo alrededor de las malezas antes mencionadas o de plantas de soja aun no cosechadas. En invierno, los adultos se refugiaron en los rastrojos alrededor de plantas de perejilillo y pata de gallina, y eventualmente de yuyo de pared y cebadilla criolla (Fig. 4.4). Considerando que el control de la vegetación espontánea que explotan los insectos cuando los cultivos no están presentes pueden interrumpir su ciclo de vida (Norris & Kogan, 2000), remover los hospederos de *D. furcatus* sería una práctica recomendable para controlar la densidad poblacional de esta chinche. En primavera, los individuos se encuentran más dispersos nuevamente. Se pueden localizar asociados a perejilillo, sorgo de alepo, cerraja, cebadilla criolla, trébol blanco, y maíz (Fig. 4.4). Cuando el cultivo está presente, la presencia de hospederos más atractivos puede ayudar a prevenir el ingreso del artrópodo plaga en el cultivo, concentrar a los individuos para focalizar la aplicación de insecticidas o para que estén más expuestos a depredadores o parasitoides (Hokkanen, 1991; Shelton & Badenes-

Perez, 2006). Por ende, manipular el mosaico de plantas hospederas y no-hospederas presentes en los agroecosistemas pueden ayudar a mantener la población de chinches por debajo del umbral de daño económico. Sin embargo, hay especies de plantas como petunia, caminadora, rama negra, santa lucía y pasto amargo, que estaban presentes en los lotes durante los muestreos, pero en las que nunca se observaron chinches (Fig.4.4). Esto sugiere que la chinche de los cuernos es capaz de discriminar sus hospederos potenciales entre la totalidad de la vegetación presente en los agroecosistemas.

Las señales olfativas son una de las principales claves que utilizan los insectos herbívoros para seleccionar a sus hospederos y discriminar a sus no-hospederos (Bruce et al., 2005). La composición de los infoquímicos presentes en el ambiente puede ser una fuente de información o representar una interferencia. Se estima que los organismos capaces de responder a estas señales han evolucionado para discriminar las señales en sí de otros infoquímicos presentes en el ecosistema (Dicke, 2000). Los adultos de *D. furcatus* son capaces de diferenciar plántulas de maíz tanto con germoplasmas contrastantes como sometidas a distintos tipos de estrés, al sensor las claves volátiles que emiten (Capítulos 2 y 3). Además, los experimentos de orientación en olfatómetro mostraron que las claves olfativas son importantes en la selección de hospederos reproductivos, de alimentación y/o refugio por parte de los adultos de *D. furcatus*. Las chinches fueron atraídas hacia los volátiles emitidos por las malezas en las que fueron recolectados individuos durante los muestreos a campo (Fig. 4.4) en igual o mayor medida que a plántulas de maíz (Fig. 4.5; Anexo 4). Por otro lado, los adultos de *D. furcatus* no se vieron atraídos por los COVs emitidos por malezas que, si bien, estaban presentes en los lotes muestreados, nunca se encontraron asociadas a la presencia de chinches (Tabla 4.2; Figuras 4.4 y 4.5; Anexo 4). Tanto las plantas que atraen a los adultos de *D. furcatus* como las que no lo hacen (o lo hacen en menor medida) son buenas candidatas para

identificar los semioquímicos que sensan estas chinches y para utilizar en trampas o estrategias de manejo del tipo push-pull. Considerando que algunas de las malezas atractivas para *D. furcatus*, como sorgo de alepo y yuyo colorado, muestran poblaciones resistentes a herbicidas (INTA, 2008, 2016), estas especies quedan descartadas para ser usadas en trampas. Además, si estas poblaciones resistentes se extienden dentro del área de distribución de *D. furcatus*, pueden llegar a favorecer a este organismo plaga. Por ende, futuras investigaciones deben ser enfocadas en identificar los aleloquímicos que atraen y repelen a los adultos de *D. furcatus*, considerando, además las preferencias de refugio de estos insectos, que tienden a esconderse en el rastrojo, para desarrollar estrategias de manejo más amigables con el medio ambiente.

CAPÍTULO 5:

Discusión general y consideraciones finales

5.1 CONTEXTO GENERAL

Durante esta tesis se buscó caracterizar las señales químicas que permiten a la chinche de los cuernos (*Diceraeus furcatus*) localizar y aceptar al maíz (*Zea mays*) como uno de sus hospederos de alimentación. Para seleccionar el mejor enfoque para abordar esta problemática se realizó una revisión exhaustiva de la bibliografía disponible haciendo especial énfasis en la información disponible sobre la interacción de *D. furcatus* con las plántulas de maíz (**Capítulo 1**). A partir de esa información se consideró que, en primer lugar, la chinche debe reconocer al cultivo de maíz como un hospedero y para probar esto caracterizamos la interacción química entre los adultos de *D. furcatus* y las plántulas de maíz en función tanto de las claves olfativas emitidas por las plántulas, como los cambios en los niveles basales de las fitohormonas de las plántulas relacionadas a los mecanismos de defensa (**Capítulo 2**). En segundo lugar, se tuvo en cuenta que las condiciones de siembra pueden afectar el estatus fisiológico de las plántulas de maíz, y probamos que la percepción de competencia planta-planta altera la composición de la mezcla de compuestos orgánicos volátiles (COVs) emitidas por las plántulas y, por ende, las claves que utilizan las chinches para orientarse hacia las mismas, afectando esta interacción (**Capítulo 3**). Por último, se consideró que la dinámica poblacional y la alternancia de hospederos son cruciales para entender la interacción de las plántulas de maíz con los adultos de *D. furcatus* en los agroecosistemas, por lo que se realizaron muestreos periódicos y se describió como cambia el mosaico de hospederos a lo largo del año en un ambiente predilecto para esta chinche. Se observó que la preferencia varía estacionalmente y que cuando el cultivo de soja está presente, este es prácticamente su único hospedero, mientras que, en primavera cuando esta chinche se encuentra con las plántulas de maíz el patrón de hospederos es más complejo (**Capítulo 4**).

5.2 CONTRASTE DE HIPÓTESIS

Las hipótesis derivadas de los Objetivos específicos I y II (Hipótesis I a, I b, II a y II b) se aceptan a partir de los resultados del capítulo 2. A través de los experimentos de libre elección y en olfatómetro se demostró que los adultos de *D. furcatus* reconocen a las plántulas de maíz a través de claves volátiles (Fig. 2.1 y 2.2; Anexo 5), e incluso responden al estándar comercial del terpeno linalool (Fig. 2.16; Anexo 5). La colección y posterior análisis químico de los volátiles emitidos por las plántulas de maíz mostraron que los patrones de COVs constitutivos difieren en función del genotipo (Fig. 2.3; Anexos 6 y 7), la herbivoría (Fig. 2.5; Anexos 6 y 7), el daño mecánico (Fig. 2.7; Anexos 6 y 7), y la inducción por la aplicación exógena de fitohormonas como MeJA (Fig. 2.9; Anexos 6 y 7), SA (Fig. 2.11; Anexos 6 y 7) y el precursor del etileno ACC (Fig. 2.13; Anexos 6 y 7). Además, a partir de ensayos en olfatómetro, se pudo demostrar que estos cambios en la composición de la mezcla de COVs emitidos por las plántulas puede afectar la preferencia de las chinches, resultando estos insectos repelidos por los COVs inducidos (Fig. 2.4, 2.8 y 2.10; Anexo 5), atraídos por estos (Fig. 2.8 y 2.12; Anexo 5) o indiferentes a los mismos (Fig. 2.4, 2.6, 2.8, 2.10 y 2.12; Anexo 5). Si bien la aplicación exógena de fitohormonas no reprodujo el patrón de COVs emitidos en respuesta a la herbivoría, al analizar los niveles de estas en el tejido aéreo de las plántulas se demostró que estas responden al ataque de las chinches a través de la inducción de la vía del JA (Fig. 2.13; Anexo 8), y que está modulada por el IAA (Fig. 2.14; Anexo 8).

De igual manera, teniendo en cuenta los resultados del capítulo 3, se aceptan las hipótesis derivadas del Objetivo específico III (Hipótesis III a, III b y III c). A partir de los experimentos con olfatómetro se demostró que los adultos de *D. furcatus* se ven atraídos por los COVs emitidos por las plántulas de maíz bajo competencia intraespecífica (Fig. 3.4; Anexo 5). La colección y posterior análisis químico de los volátiles emitidos

por las plántulas de maíz mostraron que la competencia intraespecífica altera los blends de COVs emitidos constitutivamente (Fig. 3.5 y 3.6; Anexo 9), y silencia tanto los COVs inducidos en respuesta a la herbivoría (Fig. 3.7 y 3.8; Anexo 9), como al daño mecánico (Fig. 3.9 y 3.10; Anexo 9).

Los resultados del capítulo 4 permiten aceptar las hipótesis derivadas del Objetivo específico IV (Hipótesis IV a y IV b). En los reiterados muestreos se observó que la abundancia poblacional de *D. furcatus* varía durante el año, siendo más abundante hacia finales del otoño (Fig. 4.3), durante la última parte del ciclo del cultivo de soja, y que los individuos de *D. furcatus* se mueven entre distintos hospederos de alimentación, reproductivos o refugio, según la disponibilidad de hospederos presentes en el agroecosistema (Tabla 4.2; Fig. 4.4). Sin embargo, hay especies vegetales presentes en el agroecosistema donde nunca se encontraron chinches, como coroyuyo (*Petunia axillaris*) y santa lucía (*Commelina erecta*) (Tabla 4.2; Fig. 4.4). Los experimentos en olfatómetro confirmaron que los adultos de *D. furcatus* se orientan hacia sus hospederos mediante claves volátiles y que las mezclas de COVs emitidas por los no-hospederos pueden ser menos atractivas para este insecto (Fig. 4.5; Anexo 5).

5.3 DISCUSIÓN GENERAL

El problema creciente que representa *D. furcatus* en el sur de Brasil y en el núcleo sojero en Argentina parece ser consecuencia de múltiples factores (Panizzi, 2015). Los cambios en las prácticas agrícolas, como la adopción de la Siembra Directa, provocan alteraciones en la entomofauna asociada a los cultivos, favoreciendo insectos polífagos que pasan parte de su vida bajo los rastrojos, como es el caso de la chinche de los cuernos (INTA, 2002). La preferencia de alimentación de los insectos fitófagos está en general limitada a un rango particular de especies hospederas, el cual puede estar limitado por la

distancia filogenética de estas (especificidad filogenética), estar restringida a ciertos órganos o estadios fenológicos de las plantas (especificidad fenológica), o puede estar influenciado por las especies vegetales presentes en ambientes u hábitat específicos (especificidad geográfica) (Barrett & Heil, 2012). Considerando los distintos niveles de especificidad, se puede considerar que *D. furcatus* es una especie polífaga a nivel filogenético, fenológico y también geográfico. Esto se debe a que, como se señaló previamente, estas chinches no solo se alimentan de numerosas especies de angiospermas filogenéticamente distantes, tanto cultivadas como espontáneas (Tabla 1.1; Anexo 2), sino que también explotan diferentes órganos o estadios fenológicos (Cingolani et al., 2019; Jacobi et al., 2021; Lucini & Panizzi, 2017), dependiendo de la disponibilidad estacional o espacial de los hospederos (Tabla 4.2; Fig. 4.4). Considerando que las prácticas de siembra directa no solo le proveen un refugio invernal a este herbívoro sin alterar mecánicamente el suelo, sino que también le brinda una fuente continua de alimento por la rotación de cultivos y la vegetación espontánea presentes (Fig. 5.1), el nivel de generalismo desplegado por *D. furcatus* es un factor clave en la colonización de nuevos nichos por parte de esta especie, y explica parcialmente el incremento de su abundancia poblacional en los últimos años.

Durante el desarrollo de esta tesis se ha demostrado que las claves olfativas juegan un rol fundamental en la orientación de los adultos de *D. furcatus* hacia sus hospederos (Figuras 2.1, 2.2, 2.4, 2.6, 2.8, 2.10, 2.12, 3.4 y 4.5; Anexo 5). Estos insectos son capaces de identificar una mezcla particular de volátiles entre todos los infoquímicos presentes en el agroecosistema y utilizarlo como una clave para localizar los hospederos potenciales como, por ejemplo, las plántulas de maíz. Incluso son atraídos por el estándar comercial del linalool (Fig. 2.16), el cual es un componente común en la mezcla de COVs del maíz y de numerosas especies de plantas (Aharoni et al., 2006; Carroll et al., 2006; Hammack,

2001; Jacobi et al., 2021; Turlings & Tumlinson, 1992). Sin embargo, hay otras claves volátiles que pueden resultar no atractivas para estas chinches (Figuras 2.4, 2.8, 2.10, 2.14 y 4.5; Anexo 5). Identificar los aleloquímicos que atraen o repelen a los adultos de *D. furcatus* son fundamentales para desarrollar nuevas estrategias de manejo que manipulen el comportamiento de las chinches para focalizar su control.

Si tomamos en cuenta que no existen métodos culturales para controlar la abundancia de *D. furcatus* en la región Neotropical, es importante explorar un enfoque agroecológico que combine eficientemente el uso de insecticidas y el conocimiento existente sobre la biología de *D. furcatus*. La última generación estival de *D. furcatus* nace y se desarrolla en el cultivo de soja. Esta generación no sólo ataca al cultivo de soja en sus últimos estadios reproductivos, sino también al cultivo de maíz en sus primeros estadios vegetativos en la primavera. En invierno estos individuos se encuentran refugia-

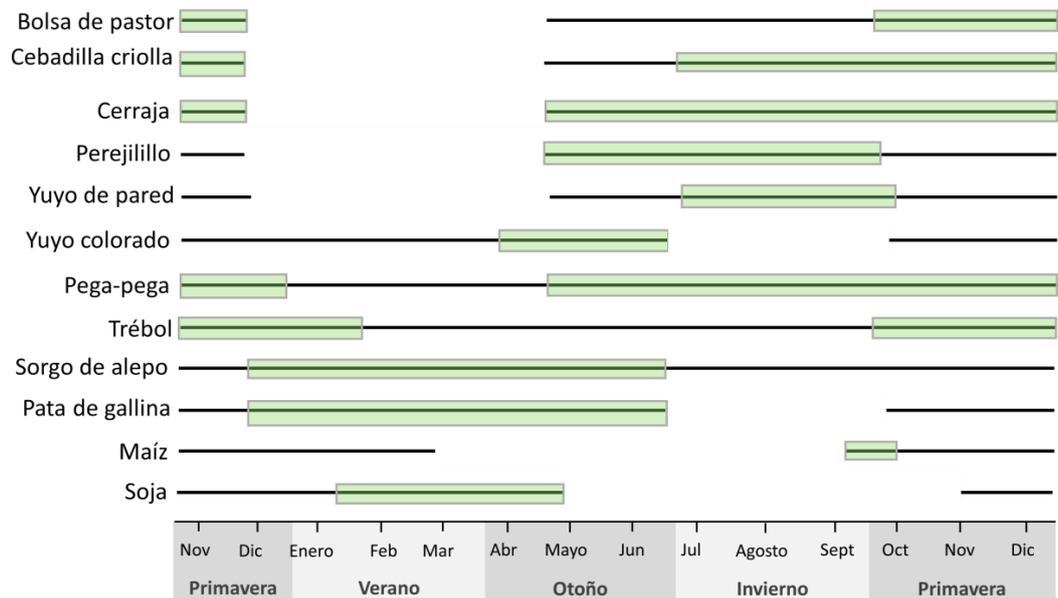


Figura 5.1: Hospederos donde localizar a *Diceraeus furcatus* presentes en los agroecosistemas del centro de Argentina durante el año. El diagrama remarca (recuadro con transparencia verde) las épocas del año en que se encontraron estas chinches (Fig. 4.5) en los hospederos tanto cultivados (soja, *G. max*; maíz, *Z. mays*) como espontáneos (Bolsa de pastor, *Ca. bursa-pastoris*; Cebadilla criolla, *Br. catharticus*; cerraja, *Son. oleraceus*; perejilillo, *B. incana*; yuyo de pared, *Pa. debilis*; yuyo colorado, *A. quitensis*; pega-pega, *Pi. echioides*; trébol, *T. repens*; sorgo de alepo, *S. halepense*; pata de gallina, *E. indica*) agroecosistemas del centro de distribución de esta chinche en Argentina. La línea negra representa la presencia de las especies vegetales en los lotes durante el año (Tabla 4.2).

dos en los rastrojos que los protegen del contacto con insecticidas. Además, cuando llega la primavera, la ventana de tiempo en que abandonan los rastrojos es muy estrecha lo que imposibilita su control. En consecuencia, el mejor momento para reducir la densidad poblacional de *D. furcatus* es durante la etapa de formación y maduración de las semillas de soja (R3-R8). Para esto habría que redefinir los niveles de daño económico estimados para *D. furcatus* en el cultivo de soja si en el próximo ciclo agrícola se va a sembrar maíz en ese mismo lote. Controlar la densidad poblacional de chinches de los cuernos antes de que se muden al rastrojo puede reducir el ataque posterior a las plántulas de maíz y permitir a los enemigos naturales (por ej., estadios larvales de moscas taquínidas y avispa encírtida) alimentarse de los adultos remanentes y de los huevos que estos ovipongan, reduciendo aún más la población de la chinche. Agentes de control, como las avispas platigástridas (Foerster & Doetzer, 2006) y los hongos entomopatógenos (por ej., las cepas comerciales altamente virulentas de *Metarhizium brunneum*) (Resquín-Romero et al., 2020) han mostrado propiedades ovicidas prometedoras. Matar los clústeres de huevos y las ninfas emergentes en el cultivo de soja es una buena estrategia que se podría considerar para reducir la generación invernal de chinche de los cuernos.

En los Estados Unidos y en Brasil se han desarrollado trampas de feromonas que atraen a los adultos de las chinches *H. halys* (Leskey et al., 2015) y *Euchistus heros* (Borges et al., 2011) respectivamente. Aunque no existe información específica sobre *D. furcatus*, se conoce que los machos de numerosas especies de chinches emiten feromonas sexuales (que actúan también como feromonas de agregación) como en el caso de *Edessa meditabunda* (Zarbin et al., 2012), *Piezodorus guildinii* (Borges et al., 2007), y *N. viridula*, entre otras (Millar, 2005). Esta información alienta a enfocar los esfuerzos para explotar las señales volátiles para controlar la densidad poblacional de *D. furcatus*. Considerando que la generación diapausante de *D. furcatus* usa los restos vegetales

acumulados alrededor de la vegetación espontánea como refugio, el desarrollo de trampas que atraigan y retengan a los adultos después de la cosecha de soja puede concentrarlos en locaciones estratégicas, facilitando así el monitoreo y el control químico o natural. Otra herramienta potencial para controlar a esta chinche plaga es el uso de las estrategias “push – pull”, que han sido adoptadas por decenas de miles de productores de maíz en el África sub-sahariana (Pickett et al., 2014). Este sistema estímulo – disuasorio consiste en el acompañamiento del cultivo por especies que producen un estímulo repelente (empujando a los insectos fuera del cultivo, proveyendo el “push”) y especies que produzcan un estímulo atrayente (concentrando a los insectos, proveyendo el “pull”). Una vez concentrados los insectos en puntos estratégicos, el control puede ser químico, mediante la aplicación de insecticidas (Anexo 3), mecánico, con trampas que atrapen a los insectos, o natural, al reclutar parasitoides y depredadores (Midega et al., 2018; Pickett et al., 2014; Sobhy et al., 2014). Sin embargo, poco se sabe de la influencia de los parasitoides y depredadores (listados en la tabla 1.2 y en el Anexo 3) en el ciclo de vida de *D. furcatus*, así como de los infoquímicos que les permiten localizar a estas chinches.

Por otro lado, los resultados de esta tesis demuestran que las plántulas de maíz responden de manera diferente al daño provocado por *D. furcatus* que al daño mecánico (Figuras 2.5, 2.7, 3.7, 3.8, 3.9 y 3.10; Anexos 6, 7 y 9), sugiriendo que las plántulas son capaces de detectar compuestos inductores presentes en la saliva de estas chinches y responder en consecuencia, cambiando la mezcla de COVs emitidos. Si bien no hay información disponible sobre la composición de la saliva de *D. furcatus*, hay algunos estudios sobre la composición de la saliva de otros pentatómidos como *Nezara viridula* (Depieri & Panizzi, 2010; Giacometti et al., 2020) y *Halyomorpha halys* (Peiffer & Felton, 2014). Sin embargo, no se conoce la identidad de los inductores químicos presentes en la saliva de las chinches que desencadenan las respuestas de las plantas,

como ocurre con la volicitina, brunchin o caeliferina, que son inductores de las defensas de las plantas característicos de los lepidópteros (Felton & Tumlinson, 2008). Futuros estudios tendrían que enfocarse en dilucidar la composición de las secreciones salivales de *D. furcatus* e identificar los inductores que provocan la respuesta en las plántulas.

Además, la intensidad de la respuesta de las plántulas al ataque de los adultos de *D. furcatus* al considerar la emisión de COVs depende tanto del trasfondo genético (Figuras 2.5 y 2.7; Anexos 6 y 7) como del estatus fisiológico de las plántulas (Figuras 3.7, 3.8, 3.9 y 3.10; Anexo 7 y 9). Si bien, hay numerosos estudios que se enfocan en la emisión de COVs inducidos por herbivoría, la gran mayoría emplean insectos masticadores (de Lange et al., 2016; Erb et al., 2015; Fontana et al., 2011; Pinto-Zevallos et al., 2016; Schnee et al., 2002; Ton et al., 2007; von Mérey et al., 2013). Cuando se inició esta tesis había solo unos pocos estudios que se centraban en la inducción de COVs por parte de herbívoros picadores-suctores (Turlings et al., 1998; Williams et al., 2005). Por ende, esta tesis muestra resultados sin precedentes sobre la inducción de COVs por parte de las plántulas de maíz en respuesta a insectos picadores-suctores en general y a *D. furcatus* en particular.

Además, se caracterizaron los cambios que se producen en los niveles basales de fitohormonas relacionados a los mecanismos de defensas en las plántulas de maíz en función a la herbivoría por adultos de *D. furcatus* y al daño mecánico. Hasta el desarrollo de esta tesis, la regulación hormonal de la respuesta de las plántulas de maíz a la herbivoría se centraba en estudios con lepidópteros (Bosak et al., 2013; Erb et al., 2016; Schmelz et al., 2003; Turlings et al., 2013; Tzin et al., 2017) y unos pocos se enfocaban en áfidos (Louis et al., 2015; Pingault et al., 2021; Tzin et al., 2015). Los resultados de esta tesis muestran que en las plántulas de maíz se inducen tempranamente los jasmonatos, mientras que decrecen los niveles de SA (Figuras 2.14 y 2.15; Anexo 8). Esto

ocurre frente a ambos tipos de daño, mecánico y de alimentación. Sin embargo, la mayor diferencia que se observa entre estos reside en que frente al daño mecánico se verifica un aumento en los niveles de ABA, mientras que frente al ataque de las chinches se incrementan los niveles de la auxina IAA (Fig. 2.15; Anexo 8). A pesar de los avances que representan estos resultados para dilucidar la interacción entre las plántulas de maíz y el ataque de los adultos de *D. furcatus*, futuras investigaciones tienen que centrarse en analizar cómo la densidad de siembra (competencia intraespecífica) pueden afectar los niveles basales de fitohormonas y cómo afectan la capacidad de respuesta en función del ataque de estas chinches.

5.4 PERSPECTIVAS Y NUEVAS PROPUESTAS DE INVESTIGACIÓN

Si bien, los resultados de esta tesis representan un gran avance en la comprensión de la interacción de *D. furcatus* y el cultivo de maíz, también ha puesto de manifiesto un número mayor de interrogantes. Se postulan a continuación algunos de los aspectos en los que habría que enfocar futuras investigaciones:

- Todavía no se conoce cuál es el rol de la mayor proporción de especies vegetales relacionadas a *D. furcatus* en su ciclo de vida y su abundancia poblacional. Es necesario realizar muestreos a campo en zonas estratégicas dentro de toda el área de distribución de esta chinche para conocer en profundidad cual es la dinámica de este organismo plaga. Asimismo, hace falta describir el número de generaciones al año y los factores que lo modifican.
- Las claves volátiles mostraron ser fundamentales en la elección de hospedero de los adultos de *D. furcatus*. Identificar los aleloquímicos que atraen y que repelen a estas chinches, así como la caracterización de las distintas feromonas que estas

chinchas emiten (sexuales, de agregación y de alarma), así como su influencia en el comportamiento de los individuos es fundamental para desarrollar estrategias de manejo que manipulen el comportamiento de las chinchas para controlar su densidad poblacional.

- No hay información disponible sobre el tipo y la disposición de los receptores olfativos que les permiten a la chinche sensor tanto la presencia de composición de COVs presentes en el ambiente y discriminar aquellos que pertenecen a un hospedero de los que no lo son.
- A pesar de que se han descrito numerosas especies de agentes biológicos como parasitoides y depredadores, poco se sabe sobre su ciclo de vida, las claves que utilizan para identificar a *D. furcatus* como una presa u hospedero y su influencia en la densidad poblacional de esta chinche. Futuros estudios deberían centrarse en dilucidar estos interrogantes para plantear un manejo integral efectivo de este organismo plaga de soja y maíz.
- Cuando el insecto se alimenta, no sólo provoca un daño mecánico sino también químico al entrar la saliva en contacto con el tejido vegetal. En el caso de los insectos picadores-suctores como las chinchas, los componentes de la saliva son cruciales para digerir parcialmente los tejidos. Además, como se demostró en los capítulos 2 y 3, hay componentes de la saliva o productos de la degradación de los tejidos vegetales que actúan como inductores de las defensas de las plántulas de maíz. Hasta el momento no hay ninguna caracterización realizada de los componentes de la saliva de *D. furcatus*. Tampoco se conocen los receptores de las plántulas de maíz que desencadenan la respuesta frente a la herbivoría de esta chinche.
- Cuando un herbívoro entra en contacto con un hospedero y quiere empezar el

proceso de alimentación, debe enfrentarse a sus defensas directas. Entre las principales defensas directas de las plántulas de maíz se encuentran las barreras físicas (como el contenido de lignina) y las defensas químicas como los inhibidores de peptidasas, los flavonoides (como maizina), y los benzoxazinoides (como 2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona o DIMBOA) (Erb & Reymond, 2019). Es menester caracterizar el efecto de las defensas directas de las plántulas de maíz (y puede ser también de otras especies vegetales hospederas y no hospederas) tanto en la supervivencia y el tiempo de desarrollo de las ninfas como en la supervivencia y fecundidad de los adultos; y como estas defensas directas cambian en respuesta a la herbivoría por esta chinche.

- Si bien se ha caracterizado el cambio en los niveles basales de las principales fitohormonas relacionadas con las defensas de las plántulas de maíz (JA, JA-Ile, OPDA, SA, IAA y ABA) frente al daño de alimentación de *D. furcatus*, aun no se conoce cómo la densidad de siembra y la competencia por la luz pueden alterar los niveles de estas fitohormonas y los cambios en las mismas en respuesta a la herbivoría.

5.4 CONSIDERACIONES FINALES

Conocer la biología y la ecología de los insectos plagas, así como de los infoquímicos que median las interacciones con sus hospederos es primordial para desarrollar estrategias de manejo eficaces y sustentables que puedan aplicarse en programas de MIP. Los resultados obtenidos a partir de todos los experimentos planteados en esta tesis representan un gran avance en el conocimiento sobre la interacción de *D. furcatus* con las plántulas de maíz y algunos de sus hospederos ocasionales, principalmente en su percepción de las claves volátiles emitidas por las plantas. Sin

embargo, esto representa sólo una pequeña parte de la interacción de esta chinche con sus hospederos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abram, P. K., Hoelmer, K. A., Acebes-Doria, A., Andrews, H., Beers, E. H., Bergh, J. C., Bessin, R., Biddinger, D., Botch, P., Buffington, M. L., Cornelius, M. L., Costi, E., Delfosse, E. S., Dieckhoff, C., Dobson, R., Donais, Z., Grieshop, M., Hamilton, G., Haye, T., ... Wiman, N. G. (2017). Indigenous arthropod natural enemies of the invasive brown marmorated stink bug in North America and Europe. *Journal of Pest Science*, *90*(4), 1009–1020. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0891-7>
- Agostinetto, A., Panizzi, A. R., & Lucini, T. (2018). Monthly parasitism rate by Tachinid flies and egg allocation on the body of *Dichelops furcatus*. *Florida Entomologist*, *101*(1), 91–96. <https://doi.org/10.1653/024.101.0116>
- Agrawal, A. A. (2007). Macroevolution of plant defense strategies. *Trends in Ecology and Evolution*, *22*(2), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.10.012>
- Aharoni, A., Jongsma, M. a., Kim, T. Y., Ri, M. B., Giri, A. P., Verstappen, F. W. a., Schwab, W., & Bouwmeester, H. J. (2006). Metabolic engineering of terpenoid biosynthesis in plants. *Phytochemistry Reviews*, *5*(1), 49–58. <https://doi.org/10.1007/s11101-005-3747-3>
- Alborn, H. T., Turlings, T. C. J., Jones, T. H., Stenhagen, G., Loughrin, J. H., & Tumlinson, J. H. (1997). An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. *Science*, *276*(5314), 945–949. <https://doi.org/10.1126/science.276.5314.945>
- Ali, J. G., & Agrawal, A. A. (2012). Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends in Plant Science*, *17*(5), 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.02.006>
- Almeida Trapp, M., De Souza, G. D., Rodrigues-Filho, E., Boland, W., & Mithöfer, A. (2014). Validated method for phytohormone quantification in plants. *Frontiers in Plant Science*, *5*(AUG), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00417>
- Baldwin, I. T., Halitschke, R., Paschold, A., von Dahl, C. C., & Preston, C. a. (2006). Volatile signaling in plant-plant interactions: “talking trees” in the genomics era. *Science (New York, N.Y.)*, *311*(5762), 812–815. <https://doi.org/10.1126/science.1118446>
- Ballaré, C. L. (2014). Light regulation of plant defense. *Annual Review of Plant Biology*, *65*, 335–363. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040145>
- Ballaré, C. L., Scopel, A. L., & Sánchez, R. A. (1990). Far-red radiation reflected from adjacent leaves: An early signal of competition in plant canopies. *Science*, *247*(4940), 329–332. <https://doi.org/10.1126/science.247.4940.329>
- Backus, E. A., Habibi, J., Yan, F., & Ellersieck, M. (2006). Stylet Penetration by adult *Homalodisca coagulata* on grape: Electrical penetration graph waveform characterization, tissue correlation, and possible implications for transmission of *Xylella fastidiosa*. *Annals of the Entomological Society of America*, *98*(6), 787–813. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2005\)098\[0787:spbahc\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2005)098[0787:spbahc]2.0.co;2)

- Barrett, L. G., & Heil, M. (2012). Unifying concepts and mechanisms in the specificity of plant-enemy interactions. *Trends in Plant Science*, *17*(5), 282–292. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.02.009>
- Behmer, S. T. (2009). Insect herbivore nutrient regulation. *Annual Review of Entomology*, *54*, 165–187. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.54.110807.090537>
- Bernasconi, M. L., Turlings, T. C. J., Ambrosetti, L., Bassetti, P., & Dorn, S. (1998). Herbivore-induced emissions of maize volatiles repel the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *87*(2), 133–142. <https://doi.org/10.1023/A:1003200108763>
- Birkett, M. A., Bruce, T. J. A., Martin, J. L., Smart, L. E., Oakley, J., & Wadhams, L. J. (2004). Responses of female orange wheat blossom midge, *Sitodiplosis mosellana*, to wheat panicle volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, *30*(7), 1319–1328. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000037742.05022.9f>
- Borges, M., Moraes, M. C. B., Peixoto, M. F., Pires, C. S. S., Sujii, E. R., & Laumann, R. A. (2011). Monitoring the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) with pheromone-baited traps in soybean fields. *Journal of Applied Entomology*, *135*(1–2), 68–80. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2010.01507.x>
- Borges, Miguel, Millar, J. G., Laumann, R. a., & Moraes, M. C. B. (2007). A male-produced sex pheromone from the neotropical redbanded stink bug, *Piezodorus guildinii* (W.). *Journal of Chemical Ecology*, *33*(6), 1235–1248. <https://doi.org/10.1007/s10886-007-9294-1>
- Borthwick, H. A., Hendricks, S. B., Parker, M. W., Toole, E. H., & Toole, V. K. (1952). A reversible photoreaction controlling seed germination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *38*(8), 662–666. <https://doi.org/10.1073/pnas.38.8.662>
- Bosak, E. J., Seidl-Adams, I. H., Zhu, J., & Tumlinson, J. H. (2013). Maize developmental stage affects indirect and direct defense expression. *Environmental Entomology*, *42*(6), 1309–1321. <https://doi.org/10.1603/EN13079>
- Bruce, T. J. a., & Pickett, J. a. (2011). Perception of plant volatile blends by herbivorous insects - Finding the right mix. *Phytochemistry*, *72*(13), 1605–1611. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.04.011>
- Bruce, T., Wadhams, L. J., & Woodcock, C. M. (2005). Insect host location: A volatile situation. *Trends in Plant Science*, *10*(6), 269–274. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.04.003>
- Bruce, T. (2015). Interplay between insects and plants: dynamic and complex interactions that have coevolved over millions of years but act in milliseconds. *Journal of Experimental Botany* *66*(2): 455 - 465.
- Bryant, T. B., Babu, A., & Reisig, D. D. (2021). Brown stink bug (Hemiptera: Pentatomidae) damage to seedling corn and impact on grain yield. *Journal of Insect*

Science, 21(2), 1–9. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieab012>

- Butler, W. L. (1962). Effects of red and far-red light on the fluorescence yield of chlorophyll in vivo. *BBA - Biochimica et Biophysica Acta*, 64(2), 309–317. [https://doi.org/10.1016/0006-3002\(62\)90739-4](https://doi.org/10.1016/0006-3002(62)90739-4)
- Campbell, C. A. M., Pettersson, J., Pickett, J. A., Wadhams, L. J., & Woodcock, C. M. (1993). Spring migration of damson-hop aphid, *Phorodon humuli* (Homoptera, Aphididae), and summer host plant-derived semiochemicals released on feeding. *Journal of Chemical Ecology*, 19(7), 1569–1576. <https://doi.org/10.1007/BF00984897>
- Carroll, M. J., Schmelz, E. a., Meagher, R. L., & Teal, P. E. a. (2006). Attraction of *Spodoptera frugiperda* larvae to volatiles from herbivore-damaged maize seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 32(9), 1911–1924. <https://doi.org/10.1007/s10886-006-9117-9>
- Casal, J. J. (2013). Canopy light signals and crop yield in sickness and in health. *ISRN Agronomy*, 2013(Figure 1), 1–16. <https://doi.org/10.1155/2013/650439>
- Cassano, C., Crenna, C., Ferrari, S., Giuggia, J., Giovanini, U. G., & Oddino, C. (2019). Importancia del daño producido por *Dichelops furcatus* (Hemiptera : Pentatomidae) en el cultivo de maíz en el sur de Córdoba. *Revista Científica FAV-UNRC Ab Intus*, 3(2), 31–40.
- Cerrudo, I., Keller, M. M., Cargnel, M. D., Demkura, P. V., de Wit, M., Patitucci, M. S., Pierik, R., Pieterse, C. M. J., & Ballaré, C. L. (2012). Low red/far-red ratios reduce arabidopsis resistance to *Botrytis cinerea* and jasmonate responses via a COI1-JAZ10-dependent, salicylic acid-independent mechanism. *Plant Physiology*, 158(4), 2042–2052. <https://doi.org/10.1104/pp.112.193359>
- Chocorosqui, V. R. (2001). Bioecology of *Dichelops (Diceræus) melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae), damage and control in soybean, corn and wheat in North Paraná region, Brazil. PhD Dissertation, Federal University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil. 158p.
- Chory, J., & Cerda, P. D. (2003). Regulation of owering time by light quality. *Nature*, 689(1972), 881–885.
- Cingolani, M. F., Roggiro, M. F., Barakat, M. C., & Liljeström, G. G. (2019). Polyandry and trade-off between fecundity and longevity in female *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Bulletin of Entomological Research*, 1–6. <https://doi.org/10.1017/S0007485319000427>
- Clarke, R. G., & Wilde, G. E. (1970a). Association of the green stink bug and the yeast-spot disease organism of soybeans. 1. Length of retention, effect of molting, isolation from feces and saliva. *Journal of Economic Entomology*, 63(2), 355–357. <https://doi.org/10.1093/jee/63.2.355>
- Clavijo McCormick, A., Unsicker, S. B., & Gershenson, J. (2012). The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends in Plant Science*, 17(5), 303–310. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.03.012>

- Colazza, S., Fucarino, A., Peri, E., Salerno, G., Conti, E., & Bin, F. (2004). Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. *The Journal of Experimental Biology*, 207(Pt 1), 47–53. <https://doi.org/10.1242/jeb.00732>
- Coll Aráoz, M. V., Jacobi, V. G., Fernandez, P. C., Luft Albarracin, E., Virla, E. G., Hill, J. G., & Catalán, C. A. N. (2019). Volatiles mediate host-selection in the corn hoppers *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) and *Peregrinus maidis* (Hemiptera: Delphacidae). *Bulletin of Entomological Research*, 1–10. <https://doi.org/10.1017/s000748531900004x>
- Conchou, L., Lucas, P., Meslin, C., Proffit, M., Staudt, M., & Renou, M. (2019). Insect odorscapes: From plant volatiles to natural olfactory scenes. *Frontiers in Physiology*, 10(JUL). <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00972>
- Cortés, L. E., Weldegergis, B. T., Boccalandro, H. E., Dicke, M., & Ballaré, C. L. (2016). Trading direct for indirect defense? Phytochrome B inactivation in tomato attenuates direct anti-herbivore defenses whilst enhancing volatile-mediated attraction of predators. *New Phytologist*, 212(4), 1057–1071. <https://doi.org/10.1111/nph.14210>
- Da Silva, C. C. A., Blassioli-Moraes, M. C., Borges, M., & Laumann, R. A. (2018). Food diversity with associated plants increases the performance of the Neotropical stink bug, *Chinavia impicticornis* (Hemiptera: Pentatomidae). *Arthropod-plant interactions*, 13(3), 423–429. <https://doi.org/10.1007/s11829-018-9637-6>
- Daugherty, M. D., Neustadt, M. H., Gehrke, L. E., Cavanah, L. E., Williams, L. F., & Green, D. E. (1964). An evaluation of damage to soybeans by brown and green stink bugs. *Journal of Economic Entomology*, 57(5), 719–722.
- Dávila-Flores, A. M., DeWitt, T. J., & Bernal, J. S. (2013). Facilitated by nature and agriculture: Performance of a specialist herbivore improves with host-plant life history evolution, domestication, and breeding. *Oecologia*, 173(4), 1425–1437. <https://doi.org/10.1007/s00442-013-2728-2>
- De Bruyne, M., & Baker, T. C. (2008). Odor detection in insects: Volatile codes. *Journal of Chemical Ecology*, 34(7), 882–897. <https://doi.org/10.1007/s10886-008-9485-4>
- de Lange, E. S., Farnier, K., Gaudillat, B., & Turlings, T. C. J. (2016). Comparing the attraction of two parasitoids to herbivore-induced volatiles of maize and its wild ancestors, the teosintes. *Chemoecology*, 26(1), 33–44. <https://doi.org/10.1007/s00049-015-0205-6>
- De Wit, M., Spoel, S. H., Sanchez-Perez, G. F., Gommers, C. M. M., Pieterse, C. M. J., Voosenek, L. A. C. J., & Pierik, R. (2013). Perception of low red: Far-red ratio compromises both salicylic acid- and jasmonic acid-dependent pathogen defences in *Arabidopsis*. *Plant Journal*, 75(1), 90–103. <https://doi.org/10.1111/tpj.12203>
- Degan, T., Dillmann, C., Marion-Poll, F., & Turlings, T. C. J. (2004). High genetic variability of herbivore-induced volatile emissions within a broad range of maize inbred lines. *Plant Physiology*, 135, 1928–1938. <https://doi.org/10.1104/pp.104.039891>

- Degenhardt, J., & Gershenzon, J. (2000). Demonstration and characterization of (E)-nerolidol synthase from maize: A herbivore-inducible terpene synthase participating in (3E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene biosynthesis. *Planta*, *210*, 815–822. <https://doi.org/10.1007/s004250050684>
- Dempsey, D. A., Vlot, A. C., Wildermuth, M. C., & Klessig, D. F. (2011). Salicylic acid biosynthesis and metabolism. *The Arabidopsis Book*, *9*, e0156. <https://doi.org/10.1199/tab.0156>
- Depieri, R. a., & Panizzi, A. R. (2010). Rostrum length, mandible serration, and food and salivary canals areas of selected species of stink bugs (Heteroptera, Pentatomidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, *54*(4), 584–587. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262010000400008>
- Dicke, M. (2000). Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods : a multitrophic perspective. *Biochemical Systematics and Ecology*, *28*, 601–617.
- Dillon, F. M., Chludil, H. D., Mithöfer, A., & Zavala, J. A. (2020). Solar UVB-inducible ethylene alone induced isoflavonoids in pods of field-grown soybean, an important defense against stink bugs. *Environmental and Experimental Botany*, *178*(June), 104167. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104167>
- Dudareva, N., Klempien, A., Muhlemann, J. K., & Kaplan, I. (2013). Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytologist*, *198*(1), 16–32. <https://doi.org/10.1111/nph.12145>
- Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D. A., & Orlova, I. (2006). Plant volatiles: Recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *25*(5), 417–440. <https://doi.org/10.1080/07352680600899973>
- Duek, P. D., & Fankhauser, C. (2005). bHLH class transcription factors take centre stage in phytochrome signalling. *Trends in Plant Science*, *10*(2): 51-54. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.12.005>
- EMBRAPA, (Empresa Brasileira de Investigación Agropecuaria). (2006). Reporte técnico: Efeito do tratamento de sementes com inseticidas químicos sobre danos de percevejos fitófagos e sobre a lagarta do cartucho no milho.
- EMBRAPA, (Empresa Brasileira de Investigación Agropecuaria). (1999). Reporte técnico: Percevejos atacando plantulas de trigo, milho e soja. Por Domit L. A. y Crepaldi L. M.
- Engelberth, J., Alborn, H. T., Schmelz, E. a, & Tumlinson, J. H. (2004). Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(6), 1781–1785. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308037100>
- Erb, M., Ton, J., Degenhardt, J., & Turlings, T. C. J. (2008). Interactions between arthropod-induced aboveground and belowground defenses in plants. *Plant Physiology*, *146*(3), 867–874. <https://doi.org/10.1104/pp.107.112169>
- Erb, M. (2018). Volatiles as inducers and suppressors of plant defense and immunity —

- origins, specificity, perception and signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, *44*, 117–121. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.03.008>
- Erb, M., & Reymond, P. (2019). Molecular interactions between plants and insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, *70*, 527–557. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-095910>
- Erb, M., Veyrat, N., Robert, C. a. M., Xu, H., Frey, M., Ton, J., & Turlings, T. C. J. (2015). Indole is an essential herbivore-induced volatile priming signal in maize. *Nature Communications*, *6*, 6273. <https://doi.org/10.1038/ncomms7273>
- Fäldt, J., Arimura, G. I., Gershenzon, J., Takabayashi, J., & Bohlmann, J. (2003). Functional identification of AtTPS03 as (E)- β -ocimene synthase: A monoterpene synthase catalyzing jasmonate- and wound-induced volatile formation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, *216*(5), 745–751. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0924-0>
- FAO, (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2019). Conservation Agriculture. <http://www.fao.org/conservation-agriculture/en/>
- Fehr, W. R., & Caviness, C. E. (1977). Stages of soybean development recommended citation. *Special Report*, *87*. <http://lib.dr.iastate.edu/specialreports/87>
- Felton, G. W., & Tumlinson, J. H. (2008). Plant-insect dialogs: complex interactions at the plant-insect interface. *Current Opinion in Plant Biology*, *11*(4), 457–463. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.07.001>
- Foerster, L. A., & Doetzer, A. K. (2006). Cold storage of the egg parasitoids *Trissolcus basalis* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Biological Control*, *36*(2), 232–237. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.10.004>
- Fontana, A., Held, M., Fantaye, C. A., Turlings, T. C., Degenhardt, J., & Gershenzon, J. (2011). Attractiveness of constitutive and herbivore-induced sesquiterpene blends of maize to the parasitic wasp *Cotesia marginiventris* (Cresson). *Journal of Chemical Ecology*, *37*(6), 582–591. <https://doi.org/10.1007/s10886-011-9967-7>
- Fortes, P., Salvador, G., & Cônsoli, F. L. (2011). Ovary development and maturation in *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Neotropical Entomology*, *40*(1), 89–96. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2011000100013>
- Frost, C. J., Mescher, M. C., Dervinis, C., Davis, J. M., Carlson, J. E., & De Moraes, C. M. (2008). Priming defense genes and metabolites in hybrid poplar by the green leaf volatile *cis*-3-hexenyl acetate. *New Phytologist*, *180*(3), 722–734. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02599.x>
- Gális, I., Gaquerel, E., Pandey, S. P., & Baldwin, I. T. (2009). Molecular mechanisms underlying plant memory in JA-mediated defence responses. *Plant, Cell and Environment*, *32*(6), 617–627. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01862.x>
- Giacometti, R., Barneto, J., Barriga, L. G., Sardoy, P. M., Balestrasse, K., Andrade, A. M., Pagano, E. A., Alemanno, S. G., & Zavala, J. A. (2016). Early perception of stink

bug damage in developing seeds of field-grown soybean induces chemical defences and reduces bug attack. *Pest Management Science*, 72(8), 1585–1594. <https://doi.org/10.1002/ps.4192>

Giacometti, R., Iliina, N., Eduardo, P. A., & Zavala, J. A. (2018). Stink bug *Nezara viridula* sustains late MAPKs phosphorylation status and induces expression of genes related with cell wall rearrangement in developing soybean seeds. *Arthropod-Plant Interactions*, 12(4), 531–541. <https://doi.org/10.1007/s11829-018-9599-8>

Giacometti, R., Jacobi, V., Kronberg, F., Panagos, C., Edison, A. S., & Zavala, J. A. (2020). Digestive activity and organic compounds of *Nezara viridula* watery saliva induce defensive soybean seed responses. *Scientific Reports*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72540-3>

Gouinguéné Sandrine P., & Turlings, T. C. J. (2002). The effects of abiotic factors on induced volatile emissions in corn plants. *Plant Physiol.*, 129, 1296–1307. <https://doi.org/10.1104/pp.001941.1296>

Grazia, J. (1978). Revisao de genero *Dichelops* Spinola, 1837 (Heteroptera, Pentatomidae, Pentatomini (Issue IHERINGA. Sér. Zool., Porto Alegre 53).

Hägele, B. F., & Rowell-Rahier, M. (1999). Dietary mixing in three generalist herbivores: Nutrient complementation or toxin dilution? *Oecologia*, 119(4), 521–533. <https://doi.org/10.1007/s004420050815>

Hammack, L. (2001). Single and blended maize volatiles as attractants for diabroticite corn rootworm beetles. *Journal of Chemical Ecology*, 27(7), 1373–1390. <https://doi.org/10.1023/A:1010365225957>

Hokkanen, H. M. T. (1991). Trap cropping in pest management. *Annu. Rev. Entomol.*, 36, 119–138.

Holopainen, J. K., & Gershenson, J. (2010). Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. *Trends in Plant Science*, 15(3), 176–184. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.01.006>

Hornitschek, P., Kohnen, M. V., Lorrain, S., Rougemont, J., Ljung, K., López-Vidriero, I., Franco-Zorrilla, J. M., Solano, R., Trevisan, M., Pradervand, S., Xenarios, I., & Fankhauser, C. (2012). Phytochrome interacting factors 4 and 5 control seedling growth in changing light conditions by directly controlling auxin signaling. *Plant Journal*, 71(5), 699–711. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.05033.x>

Howe, G. A., & Jander, G. (2007). Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 41–66. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092825>

Id, A. A., Viana, G., Wu, X., Wei, W., Brown, P., Joyce, A., Murua, G., Fogliata, S., Clough, S. J., & Id, M. I. Z. (2019). *Diatraea saccharalis* history of colonization in the Americas . The case for human-mediated dispersal. *PLoS ONE*, 1–16.

Instituto Biológico de São Paulo. (2005). Reporte Técnico: Manejo De Pragas Do Milho Em Plantio Direto. Por Bianco, Rodolfo.

http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/files/rifib/XI_RIFIB/bianco.PDF

INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). (2002). Manual técnico: Guía de reconocimiento y manejo de plagas tempranas relacionadas a la siembra directa. (p. 60). Por Aragón, Jorge. Agroediciones INTA.

INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). (2008). Reporte técnico: Para estar alerta: el sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*) resistente a glifosato. En Información técnica de cultivos de verano (Vol. 112). http://rafaela.inta.gov.ar/info/documentos/miscelaneas/112/misc112%7B_%7D124.pdf

INTA, (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). (2009). Reporte Técnico: Chinchas en soja: Niveles de decisión para su control según especies y estados del cultivo. Por Ianonne, N. En *Sistema de alerta de plagas; Servicio Técnico INTA*.

INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). (2012). Reporte técnico: Evaluación del daño en implantación de *Dichelops furcatus* (Fab.) en el cultivo de Maíz. Por Flores, F., Oliva, G., y Liotta, I.J. https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_maizplagas12b.pdf

INTA, (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). (2013). Reporte técnico: Manejo de *Dichelops furcatus*: Chinche de los cuernos. Por Canale, A., & Ferreira, L. Argentina. <https://inta.gov.ar/documentos/manejo-de-dichelops-furcatus-chinche-de-los-cuernos>

INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). (2016). Reporte técnico: Evaluación de alternativas de manejo con herbicidas residuales preemergentes y postemergentes para el control de *Amaranthus quitensis* en Entre Ríos. Por Metzler M.J. y Ahumada M. https://inta.gov.ar/sites/default/files/inta_control_amaranthus_quitensis_metzler_ahumada.pdf

Jackson, S. D. (2009). Plant responses to photoperiod. *New Phytologist*, 181(3), 517–531. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02681.x>

Jacobi, V. G., Fernandez, P. C., Barriga, L. G., Almeida Trapp, M., Mithöfer, A., & Zavala, J. A. (2021). Plant volatiles guide the new pest *Dichelops furcatus* to feed on corn seedlings. *Pest Management Science*, 77(5), 2444–2453. <https://doi.org/10.1002/ps.6273> Jacobi, V. G., Fernandez, P. C., & Zavala, J. A. (2022). The stink bug *Dichelops furcatus*: a new pest of corn that emerges from soybean stubble. *Pest Management Science*, aceptado, en prensa. <https://doi.org/10.1002/ps.6821>

Jaenike, J. (1978). On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology*, 14, 350–356.

James, D. G. (2003). Field evaluation of herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects: Methyl salicylate and the green lacewing, *Chrysopa nigricornis*. *Journal of Chemical Ecology*, 29(7), 1601–1609. <https://doi.org/10.1023/A:1024270713493>

Juárez, M.L., Murúa, M.G., García, M.G., Ontivero, M., Vera, M.T., Vilardi, J. C., Groot,

- A. T., Castagnaro, A. P., Gastaminza, G., & Willink, E. (2012). Host association of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) corn and rice strains in Argentina, Brazil, and Paraguay. *Journal of Economic Entomology*, *105*(2), 573–582. <https://doi.org/10.1603/EC11184>
- Kahl, J., Siemens, D. H., Aerts, R. J., Gäbler, R., Kühnemann, F., Preston, C. A., & Baldwin, I. T. (2000). Herbivore-induced ethylene suppresses a direct defense but not a putative indirect defense against an adapted herbivore. *Planta*, *210*(2), 336–342. <https://doi.org/10.1007/PL00008142>
- Kami, C., Lorrain, S., Hornitschek, P., & Fankhauser, C. (2010). Light-regulated plant growth and development. *Current Topics in Developmental Biology*, *91*(C), 29–66. [https://doi.org/10.1016/S0070-2153\(10\)91002-8](https://doi.org/10.1016/S0070-2153(10)91002-8)
- Kegge, W., Ninkovic, V., Glinwood, R., Welschen, R. A. M., Voeselek, L. A. C. J., & Pierik, R. (2015). Red:far-red light conditions affect the emission of volatile organic compounds from barley (*Hordeum vulgare*), leading to altered biomass allocation in neighbouring plants. *Annals of Botany*, *115*(6), 961–970. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv036>
- Kegge, W., & Pierik, R. (2010). Biogenic volatile organic compounds and plant competition. *Trends in Plant Science*, *15*(3), 126–132. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.007>
- Kessler, A., & Baldwin, I. T. (2002). Plant responses to insect herbivory: The emerging molecular analysis. *Annual Review of Plant Biology*, *53*(1), 299–328. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100301.135207>
- Küng, A. M., Ramírez, M. L., Candia, S. M., & Sosa, V. I. (2018). Longevidad de estadios ninfales de *Dichelops furcatus* alimentados a base de vainas de soja. *Entomología: XXII Congreso Brasileiro, X Congreso Latino-Americano*.
- La Porta, N., Loiácono, M., & Margaría, C. (2013). Platigástridos (Hymenoptera : Platygasteridae) parasitoides de Pentatomidae en Córdoba. Caracterización de las masas de huevos parasitoidizadas y aspectos biológicos. *Revista de La Sociedad Entomológica Argentina*, *72*(3–4), 179–194.
- Leskey, T. C., Agnello, A., Bergh, J. C., Dively, G. P., Hamilton, G. C., Jentsch, P., Khrimian, A., Krawczyk, G., Kuhar, T. P., Lee, D. H., Morrison, W. R., Polk, D. F., Rodriguez-Saona, C., Shearer, P. W., Short, B. D., Shrewsbury, P. M., Walgenbach, J. F., Weber, D. C., Welty, C., ... Zaman, F. (2015). Attraction of the invasive halyomorpha halys (Hemiptera: Pentatomidae) to traps baited with semiochemical stimuli across the United States. *Journal of Economic Entomology*, *44*(3), 746–756. <https://doi.org/10.1093/ee/nvv049>
- Ljung, K., Hull, A. K., Kowalczyk, M., Marchant, A., Celenza, J., Cohen, J. D., & Sandberg, G. (2002). Biosynthesis, conjugation, catabolism and homeostasis of indole-3-acetic acid in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*, *50*(2), 309–332. <https://doi.org/10.1023/A:1016024017872>
- Louis, J., Basu, S., Varsani, S., Castano-Duque, L., Jiang, V., Paul Williams, W., Felton, G. W., & Luthe, D. S. (2015). Ethylene contributes to maize insect resistance1-

- mediated maize defense against the phloem sap-sucking corn leaf aphid. *Plant Physiology*, 169(1), 313–324. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00958>
- Lucini, T., & Panizzi, A. R. (2017). Probing behavior of *dichelops furcatus* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae) on wheat plants characterized by electropenetrography (EPG) and histological studies. *Journal of Insect Science*, 17(2). <https://doi.org/10.1093/jisesa/iex044>
- Luna, M. J., & Iannone, N. (2013). Efecto de la chinche de los cuernos “*Dichelops furcatus*” (F.) sobre la calidad de la semilla de soja. *Revista de La Facultad de Agronomía, La Plata*, 112(2), 141–145.
- Machado, R. A. R., Robert, C. A. M., Arce, C. C. M., Ferrieri, A. P., Xu, S., Jimenez-Aleman, G. H., Baldwin, I. T., & Erb, M. (2016). Auxin is rapidly induced by herbivore attack and regulates a subset of systemic, jasmonate-dependent defenses. *Plant Physiology*, 172(1), 521–532. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00940>
- Maddonni, G. A., Otegui, M. E., & Cirilo, A. G. (2001). Plant population density, row spacing and hybrid effects on maize canopy architecture and light attenuation. *Field Crops Research*, 71(3), 183–193. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(01\)00158-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(01)00158-7)
- Markham, M. Y., & Stoltenberg, D. E. (2009). Red:far-red light effects on corn growth and productivity in field environments. *Weed Science*, 57(2), 208–215. <https://doi.org/10.1614/ws-08-149.1>
- Martin, J. P., Beyerlein, A., Dacks, A. M., Reisenman, C. E., Riffell, J. A., Lei, H., & Hildebrand, J. G. (2011). The neurobiology of insect olfaction: Sensory processing in a comparative context. *Progress in Neurobiology*, 95(3), 427–447. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.09.007>
- Mathews, S., & Sharrock, R. A. (1997). Phytochrome gene diversity. *Plant, Cell and Environment*, 20(6), 666–671. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1997.d01-117.x>
- McPherson, R. M., Newsom, L. D., & Farthing, B. F. (1979). Evaluation of four stink bug species from three genera affecting soybean yield and quality in Louisiana. *Entomological Society of America*, 72(02), 188–194.
- McPherson, J.E. (2018). Invasive stink bugs and related species (Pentatomidae): Biology, higher systematics, semiochemistry and management. CRC Press, 840p. ISBN 9781498715089
- Medina, V., Sardoy, P. M., Soria, M., Vay, C. A., Gutkind, G. O., & Zavala, J. A. (2018). Characterized non-transient microbiota from stinkbug (*Nezara viridula*) midgut deactivates soybean chemical defenses. *PLoS ONE*, 13(7), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200161>
- Medrano, E. G., Esquivel, J., Bell, A., Greene, J., Roberts, P., Bacheler, J., Marois, J., Wright, D., Nichols, R., & Lopez, J. (2009). Potential for *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) to transmit bacterial and fungal pathogens into cotton bolls. *Current Microbiology*, 59(4), 405–412. <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9452-5>

- Menzel, T. R., Weldegergis, B. T., David, A., Boland, W., Gols, R., Van Loon, J. J. A., & Dicke, M. (2014). Synergism in the effect of prior jasmonic acid application on herbivore-induced volatile emission by Lima bean plants: Transcription of a monoterpene synthase gene and volatile emission. *Journal of Experimental Botany*, *65*(17), 4821–4831. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru242>
- Michereff, M. F. F., Magalhães, D. M., Hassemer, M. J., Laumann, R. A., Zhou, J. J., Ribeiro, P. E. d. A., Viana, P. A., Guimarães, P. E. d. O., Schimmelpfeng, P. H. C., Borges, M., Pickett, J. A., Birkett, M. A., & Blassioli-Moraes, M. C. (2019). Variability in herbivore-induced defence signalling across different maize genotypes impacts significantly on natural enemy foraging behaviour. *Journal of Pest Science*, *92*(2), 723–736. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-1033-6>
- Midega, C. A. O., Pittchar, J. O., Pickett, J. A., Hailu, G. W., & Khan, Z. R. (2018). A climate-adapted push-pull system effectively controls fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J E Smith), in maize in East Africa. *Crop Protection*, *105*(November 2017), 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.11.003>
- Millar, J. G. (2005). Pheromones of true bugs. *The Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals II SE - 2*, *240*, 37–84. <https://doi.org/10.1007/b98315>
- Mitchell, P. L. (2004). Heteroptera as vectors of plant pathogens. *Neotropical Entomology*, *3*(5), 519–545.
- Ngi-Song, A. J., Njagi, P. G. N., Torto, B., & Overholt, W. A. (2000). Identification of behaviourally active components from maize volatiles for the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, *20*(3), 181–189. <https://doi.org/10.1017/s1742758400019615>
- Ninkovic, V., Rensing, M., Dahlin, I., & Markovic, D. (2019). Who is my neighbor? Volatile cues in plant interactions. *Plant Signaling and Behavior*, *14*(9). <https://doi.org/10.1080/15592324.2019.1634993>
- Norris, R. F., & Kogan, M. (2000). Interactions between weeds, arthropod pests, and their natural enemies in managed ecosystems. *Weed Science*, *48*(1), 94–158. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2000\)048\[0094:ibwapa\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2000)048[0094:ibwapa]2.0.co;2)
- Oksanen, A. J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., Hara, R. B. O., Simpson, G. L., Solymos, P., & Stevens, M. H. H. (2018). Community Ecology Package. *Ecology R-Package*, January, 263. <http://mirror.bjtu.edu.cn/cran/web/packages/vegan/vegan.pdf>
- Ozawa, R., Arimura, G. I., Takabayashi, J., Shimoda, T., & Nishioka, T. (2000). Involvement of jasmonate- and salicylate-related signaling pathways for the production of specific herbivore-induced volatiles in plants. *Plant and Cell Physiology*, *41*(4), 391–398. <https://doi.org/10.1093/pcp/41.4.391>
- Panizzi, A.R. (1997). Wild hosts of pentatomids: ecological significance and role in their pest status on crops. *Annual Review of Entomology*, *42*(151), 99–122. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.42.1.99>

- Panizzi, A.R. (2015). Growing Problems with Stink Bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). Species Invasive to the U. S. and Potential Neotropical Invaders. *American Entomologist*, *61*(4), 223–233. <https://doi.org/10.1093/ae/tmv068>
- Panizzi, A.R., & Lucini, T. (2016). What happened to *Nezara viridula* (L.) in the Americas? Possible reasons to explain populations decline. *Neotropical Entomology*, *45*(6), 619–628. <https://doi.org/10.1007/s13744-016-0446-2>
- Panizzi, A.R., Agostinetto, A., Lucini, T., & Pereira, P. R. V. d. S. (2016). Effect of green-belly stink bug, *Dichelops furcatus* (F.) on wheat yield and development. *Crop Protection*, *79*, 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.10.006>
- Panizzi, A.R., Lucini, T., & Possebom, T. (2018). Development of *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) reared on spring cereals versus soybean. *Journal of Insect Science (Online)*, *18*(5). <https://doi.org/10.1093/jisesa/iey102>
- Pare, P. W., & Tumlinson, J. H. (1999). Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiology*, *121*(October), 325–331.
- Pease, C. G., & Zalom, F. G. (2010). Influence of non-crop plants on stink bug (Hemiptera: Pentatomidae) and natural enemy abundance in tomatoes. *Journal of Applied Entomology*, *134*(8), 626–636. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2009.01452.x>
- Peiffer, M., & Felton, G. W. (2014). Insights into the saliva of the brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae). *PLoS ONE*, *9*(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088483>
- Peterson, A. T., Soberón, J., Martinez-Meyer, E., & Nakamura, M. (2011). Ecological niches and geographic distributions. In *Choice Reviews Online* (Vol. 49). Princeton University Press. <https://doi.org/10.5860/choice.49-6266>
- Phillips, S. J., Anderson, R. P., & Schapire, R. E. (2006). Modelling and analysis of the atmospheric nitrogen deposition in North Carolina. *International Journal of Global Environmental Issues*, *6*(2–3), 231–252. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026>
- Phillips, S. J., & Dudík, M. (2008). Modeling of species distributions with Maxent: New extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography*, *31*(2), 161–175. <https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2008.5203.x>
- Pickett, J. A., Woodcock, C. M., Midega, C. A. O., & Khan, Z. R. (2014). Push-pull farming systems. *Current Opinion in Biotechnology*, *26*, 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.006>
- Pieterse, C. M. J., Leon-Reyes, A., Van Der Ent, S., & Van Wees, S. C. M. (2009). Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature Chemical Biology*, *5*(5), 308–316. <https://doi.org/10.1038/nchembio.164>
- Pieterse, C. M. J., Van der Does, D., Zamioudis, C., Leon-Reyes, A., & Van Wees, S. C. M. (2012). Hormonal Modulation of Plant Immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, *28*, 489–521. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio->

092910-154055

- Pingault, L., Varsani, S., Palmer, N., Ray, S., Williams, W. P., Luthe, D. S., Ali, J. G., Sarath, G., & Louis, J. (2021). Transcriptomic and volatile signatures associated with maize defense against corn leaf aphid. *BMC Plant Biology*, *21*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-02910-0>
- Pinto-Zevallos, D. M., Strapasson, P., & Zarbin, P. H. G. (2016). Herbivore-induced volatile organic compounds emitted by maize: Electrophysiological responses in *Spodoptera frugiperda* females. *Phytochemistry Letters*, *16*, 70–74. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2016.03.005>
- Pioneer. (2012). Reporte técnico: Chinche de los cuernitos en maíz.
- Ponzio, C., Gols, R., Pieterse, C. M. J., & Dicke, M. (2013). Ecological and phytohormonal aspects of plant volatile emission in response to single and dual infestations with herbivores and phytopathogens. *Functional Ecology*, *27*(3), 587–598. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12035>
- Pook-Da-Silva, P., Ribeiro Barao, K., & Grazia J. (2013). Contribution to the knowledge of *Dichelops* Spinola: description of a new species of *Dichelops* (Diceræus) and of the male of *Dichelops* (Prodichelops) divisus (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae: Pentatominae: Carpocorini). *Zootaxa*, *3609*(1): 060 - 068.
- Possebom, T., Lucini, T., & Panizzi, A. R. (2020). S Stink bugs nymph and adult biology and adult preference on cultivated crop plants in the southern Brazilian Neotropics. *Environmental Entomology*, *49*(1), 132–140. <https://doi.org/10.1093/ee/nvz142>
- Resquín-Romero, G., Cabral-Antúnez, C., Sarubbi-Orue, H., Garrido-Jurado, I., Valverde-García, P., Schade, M., & Butt, T. M. (2020). Virulence of *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) strains against stinkbugs *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Economic Entomology*, *113*(5), 2540–2545. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa150>
- Rice, K. B., Bergh, C. J., Bergmann, E. J., Biddinger, D. J., Dieckhoff, C., Dively, G., Garipey, T., Hamilton, G., Haye, T., Herbert, A., Hoelmer, K., Hooks, C. R., Jones, A., Krawczyk, G., Kuhar, T., Martinson, H., Mitchell, W., Nielsen, A. L., Pfeiffer, D. G., ... Tooker, J. F. (2014). Biology, ecology, and management of brown marmorated stink bug (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Integrated Pest Management*, *5*(3), 1–13. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1603/IPM14002>
- Ritchie, S. W., & Hanway, J. J. (1966). How a corn plant develops. In *Iowa State University, Cooperative Extension Service* (Vol. 48). <http://lib.dr.iastate.edu/specialreports/38>
- Robert, C. A. M., Erb, M., Hiltpold, I., Hibbard, B. E., Gaillard, M. D. P., Bilat, J., Degenhardt, J., Cambet-Petit-Jean, X., Turlings, T. C. J., & Zwahlen, C. (2013). Genetically engineered maize plants reveal distinct costs and benefits of constitutive volatile emissions in the field. *Plant Biotechnology Journal*, *11*(5), 628–639. <https://doi.org/10.1111/pbi.12053>
- Roza- Gomes, M. F., Salvadori, J. R., Pereira, P. R. V. D. S., & Panizzi, A. R. (2011).

Injúrias de quatro espécies de percevejos pentatomídeos em plântulas de milho. *Ciência Rural*, 41(7), 1115–1119. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000081>

- Sabljić, I., Barneto, J. A., Balestrasse, K. B., Zavala, J. A., & Pagano, E. A. (2020). Role of reactive oxygen species and isoflavonoids in soybean resistance to the attack of the southern green stink bug. *PeerJ*, 8, 1–18. <https://doi.org/10.7717/peerj.9956>
- Sardoy, P., Ilina, N., Borniego, L., Traverso, L., Pagano, E. A., Ons, S., & Zavala, J. A. (2021). Protease inhibitors-insensitive cysteine proteases allow *Nezara viridula* to feed on growing seeds of field-grown soybean. *Journal of Insect Physiology*, 132(May), 104250. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2021.104250>
- Scheirs, J., & Bruyn, L. De. (2002). Integrating optimal foraging and optimal oviposition theory in plant–insect research. *Oikos*, 96(1), 187–191.
- Schmelz, E. A., Engelberth, J., Alborn, H. T., Tumlinson, J. H., & Teal, P. E. A. (2009). Phytohormone-based activity mapping of insect herbivore-produced elicitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(2), 653–657. <https://doi.org/10.1073/pnas.0811861106>
- Schmelz, E. A., Alborn, H. T., & Tumlinson, J. H. (2001). The influence of intact-plant and excised-leaf bioassay designs on volicitin- and jasmonic acid-induced sesquiterpene volatile release in *Zea mays*. *Planta*, 214(2), 171–179. <https://doi.org/10.1007/s004250100603>
- Schmelz, E. A., Alborn, H. T., Engelberth, J., & Tumlinson, J. H. (2003). Nitrogen deficiency increases volicitin-induced volatile emission, jasmonic acid accumulation, and ethylene sensitivity in maize. *Plant Physiology*, 133(1), 295–306. <https://doi.org/10.1104/pp.103.024174>
- Schmelz, E. A., Engelberth, J., Alborn, H. T., O'Donnell, P., Sammons, M., Toshima, H., & Tumlinson, J. H. (2003). Simultaneous analysis of phytohormones, phytotoxins, and volatile organic compounds in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(18), 10552–10557. <https://doi.org/10.1073/pnas.1633615100>
- Schnee, C., Köllner, T. G., Gershenzon, J., & Degenhardt, J. (2002). The maize gene terpene synthase 1 encodes a sesquiterpene synthase catalyzing the formation of (E)- β -farnesene, (E)-nerolidol, and (E,E)-farnesol after herbivore damage. *Plant Physiology*, 130(4), 2049–2060. <https://doi.org/10.1104/pp.008326>
- Schnee, C., Köllner, T. G., Held, M., Turlings, T. C. J., Gershenzon, J., & Degenhardt, J. (2006). The products of a single maize sesquiterpene synthase form a volatile defense signal that attracts natural enemies of maize herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(4), 1129–1134. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508027103>
- Schoonhoven, L. M., van Loon, J. J. A., & Dicke, M. (2005). *Insect-Plant Biology* (2^o). Oxford University Press.

- Sharma, A., Khan, A. N., Subrahmanyam, S., Raman, A., Taylor, G. S., & Fletcher, M. J. (2014). Salivary proteins of plant-feeding hemipteroids – implication in phytophagy. *Bulletin of Entomological Research*, 104(2), 117–136. <https://doi.org/10.1017/s0007485313000618>
- Sheehan, M. J., Kennedy, L. M., Costich, D. E., & Brutnell, T. P. (2007). Subfunctionalization of PhyB1 and PhyB2 in the control of seedling and mature plant traits in maize. *Plant Journal*, 49(2), 338–353. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02962.x>
- Shelton, A. M., & Badenes-Perez, F. R. (2006). Concepts and applications of trap cropping in pest management. *Annual Review of Entomology*, 51(February), 285–308. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.150959>
- Singer, M. S., Bernays, E. A., & Carrière, Y. (2002). The interplay between nutrient balancing and toxin dilution in foraging by a generalist insect herbivore. *Animal Behaviour*, 64(4), 629–643. <https://doi.org/10.1006/anbe.2002.3082>
- Smaniotto, L. F. (2015). Biologia e Interação com plantas associadas dos percevejos Barriga-Verde, *Dichelops furcatus* (F., 1775) e *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). Tesis doctoral. Universidade Federal de Paraná.
- Smaniotto, L. F., & Panizzi, A. R. (2015). Interactions of selected species of stink bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) from leguminous crops with plants in the Neotropics. *Florida Entomologist*, 98(1), 7–17. <https://doi.org/10.1653/024.098.0103>
- Smith, H. (2000). Phytochromes and light signal perception by plants - An emerging synthesis. *Nature*, 407(6804), 585–591. <https://doi.org/10.1038/35036500>
- Sobhy, I. S., Erb, M., Lou, Y., & Turlings, T. C. J. (2014). The prospect of applying chemical elicitors and plant strengtheners to enhance the biological control of crop pests. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 369, 20120283. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2012.0283>
- Somavilla, J. C., Reis, A. C., Gubiani, P. da S., Godoy, D. N., Stürmer, G. R., & Bernardi, O. (2019). Susceptibility of *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae) to selected insecticides in Brazil. *Journal of Economic Entomology*, Xx, 1–8. <https://doi.org/10.1093/jee/toz340>
- Somers, D. E., Devlin, P. F., & Kay, S. A. (1998). Phytochromes and cryptochromes in the entrainment of the Arabidopsis circadian clock. *Science*, 282(5393), 1488–1490. <https://doi.org/10.1126/science.282.5393.1488>
- Sosa-Gómez, D. R., & Moscardi, F. (1995). Retenção foliar diferencial em soja provocada por percevejos (Heteroptera : Pentatomidae). *Anais Da Sociedade Entomológica Do Brasil*, 24(2), 401–404.
- Spoel, S. H., Johnson, J. S., & Dong, X. (2007). Regulation of tradeoffs between plant defenses against pathogens with different lifestyles. *Proceedings of the National*

Academy of Sciences, 104(47), 18842–18847.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0708139104>

- Stotz, H. U., Kroymann, J., & Mitchell-Olds, T. (1999). Plant-insect interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 2(4), 268–272. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)80048-X](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)80048-X)
- Syngenta. (2011). Reporte técnico: Resultados de ensayos con Avicta Completo en tratamiento de semillas de Maíz. https://www.pioneer.com/CMRoot/International/Argentina/productos_y_servicios/Reporte_Tecnico_Avicta_Completo.pdf
- Tamiru, A., Bruce, T. J. a, Woodcock, C. M., Caulfield, J. C., Midega, C. a O., Ogol, C. K. P. O., Mayon, P., Birkett, M. a., Pickett, J. a., & Khan, Z. R. (2011). Maize landraces recruit egg and larval parasitoids in response to egg deposition by a herbivore. *Ecology Letters*, 14(11), 1075–1083. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01674.x>
- Terry, M. J., Wahleithner, J. A., & Lagarias, J. C. (1993). Biosynthesis of the plant photoreceptor phytochrome. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 306(1), 1–15. <https://doi.org/10.1006/abbi.1993.1473>
- Thaler, J. S., Agrawal, A. A., & Rayko, H. (2010). Salicylate-mediated interactions between pathogens and herbivores. *Ecology*, 91(4), 1075–1082. <https://doi.org/10.1890/08-2347.1>
- Thaler, J. S., Humphrey, P. T., & Whiteman, N. K. (2012). Evolution of jasmonate and salicylate signal crosstalk. *Trends in Plant Science*, 17(5), 260–270. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.02.010>
- Thorsteinson, A.J. (1960). Host selection in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 5, 193 - 218
- Todd, J. (1989). Ecology and behavior of *Nezara viridula*. *Annual Review of Entomology*, 34(1), 273–292. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.34.1.273>
- Todd, W., & Turnipseed, G. (1974). Effects of southern green stink bug damage on yield and quality of soybeans. *Journal of Economic Entomology*, 67(3), 421–426.
- Ton, J., D’Alessandro, M., Jourdie, V., Jakab, G., Karlen, D., Held, M., Mauch-Mani, B., & Turlings, T. C. J. (2007). Priming by airborne signals boosts direct and indirect resistance in maize. *Plant Journal*, 49(1), 16–26. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02935.x>
- Trumper, E. V., & Edelstein J.D. (2007). Chinchas fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo. Ediciones INTA.
- Turlings, T. C. J., Erb, M., Sartor, R., Huffaker, A., Shen, Z., Alborn, H. T., Veyrat, N., Schmelz, E. A., Briggs, S. P., Teal, P. E. A., Pearce, G., & Vaughan, M. M. (2013). Plant elicitor peptides are conserved signals regulating direct and indirect antiherbivore defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(14), 5707–5712. <https://doi.org/10.1073/pnas.1214668110>

- Turlings, T. C. J., & Tumlinson, J. H. (1992). Systemic release of chemical signals by herbivore-injured corn. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(17), 8399–8402. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.17.8399>
- Turlings, T. C. J., Bernasconi, M., Bertossa, R., Bigler, F., Caloz, G., & Dorn, S. (1998a). The induction of volatile emissions in maize by three herbivore species with different feeding habits : possible consequences for their natural enemies. *Biological Control*, 11, 122–129.
- Turlings, T. C. J., Lengwiler, U. B., Bernasconi, M. L., & Wechsler, D. (1998b). Timing of induced volatile emissions in maize seedlings. *Planta*, 207, 146–152.
- Turlings, T. C. J., & Erb, M. (2018). Tritrophic Interactions Mediated by Herbivore-Induced Plant Volatiles: Mechanisms, Ecological Relevance, and Application Potential. *Annual Review of Entomology*, 63, 433–452. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-020117-043507>
- Tzin, V., Fernandez-Pozo, N., Richter, A., Schmelz, E. A., Schoettner, M., Schäfer, M., Ahern, K. R., Meihls, L. N., Kaur, H., Huffaker, A., Mori, N., Degenhardt, J., Mueller, L. A., & Jander, G. (2015). Dynamic maize responses to aphid feeding are revealed by a time series of transcriptomic and metabolomic assays. *Plant Physiology*, 169(3), 1727–1743. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01039>
- Tzin, V., Hojo, Y., Strickler, S. R., Bartsch, L. J., Archer, C. M., Ahern, K. R., Zhou, S., Christensen, S. A., Galis, I., Mueller, L. A., & Jander, G. (2017). Rapid defense responses in maize leaves induced by *Spodoptera exigua* caterpillar feeding. *Journal of Experimental Botany*, 68(16), 4709–4723. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx274>
- USDA. (2021). World agricultural production. In United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service (Issue 10). <https://doi.org/10.32317/2221-1055.201907059>
- Valverde, F., Mouradov, A., Soppe, W., Ravenscroft, D., Samach, A., & Coupland, G. (2004). Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering. *Science*, 303(5660), 1003–1006. <https://doi.org/10.1126/science.1091761>
- Voelckel, C., & Jander, G. (2014). Insect-plant interactions. In *Annual Plant Reviews Volume 43* (Vol. 47). John Wiley & Sons, Ltd Registered. <https://doi.org/10.1002/9781444339956>
- von Mérey, G. E., Veyrat, N., D'Alessandro, M., & Turlings, T. C. J. (2013). Herbivore-induced maize leaf volatiles affect attraction and feeding behavior of *Spodoptera littoralis* caterpillars. *Frontiers in Plant Science*, 4, 1-9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00209>
- Wei, J., Van Loon, J. J. a, Rieta, G., Menzel, T. R., Li, N., Kang, L., & Dicke, M. (2014). Reciprocal crosstalk between jasmonate and salicylate defence-signalling pathways modulates plant volatile emission and herbivore host-selection behaviour. *Journal of Experimental Botany*, 65(12), 3289–3298. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru181>
- Wickremasinghe, M. G. V., & Emden, H. F. Van. (1992). Reactions of adult female

- parasitoids, particularly *Aphidius rhopalosiphi*, to volatile chemical cues from the host plants of their aphid prey. *Physiological Entomology*, 17(3), 297–304. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1992.tb01025.x>
- Wies, G., & Maddonni, G. Á. (2020). Effects of phytochromes B on growth variability and competitive capacity of maize plants in a canopy. *Field Crops Research*, 250(October 2019), 107765. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107765>
- Wies, G., Mantese, A. I., Casal, J. J., & Maddonni, G. Á. (2019). Phytochrome B enhances plant growth, biomass and grain yield in field-grown maize. *Annals of Botany*, 123(6), 1079–1088. <https://doi.org/10.1093/aob/mcz015>
- Williams, L., Rodriguez-Saona, C., Castle, S. C., & Zhu, S. (2008). EAG-active herbivore-induced plant volatiles modify behavioral responses and host attack by an egg parasitoid. *Journal of Chemical Ecology*, 34(9), 1190–1201. <https://doi.org/10.1007/s10886-008-9520-5>
- Williams, L., Rodriguez-Saona, C., Paré, P. W., & Crafts-Brandner, S. J. (2005). The piercing-sucking herbivores *Lygus hesperus* and *Nezara viridula* induce volatile emissions in plants. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 58(2), 84–96. <https://doi.org/10.1002/arch.20035>
- Wu, J., & Baldwin, I. T. (2010). New insights into plant responses to the attack from insect herbivores. *Annual Review of Genetics*, 44(1), 1–24. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102209-163500>
- Xu, T., Wang, J., & Luo, S. (2005). Cloning of the key genes in maize oxylipins pathways and their roles in herbivore induced defense. *Chinese Science Bulletin*, 50(21), 2457–2466. <https://doi.org/10.1360/982005-608>
- Yan, Z. G., & Wang, C. Z. (2006). Identification of *Mythmna separata*-induced maize volatile synomones that attract the parasitoid *Camponotus chlorideae*. *Journal of Applied Entomology*, 130(4), 213–219. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2006.01055.x>
- Yeom, M., Kim, H., Lim, J., Shin, A. Y., Hong, S., Kim, J. Il, & Nam, H. G. (2014). How do phytochromes transmit the light quality information to the circadian clock in arabidopsis? *Molecular Plant*, 7(11), 1701–1704. <https://doi.org/10.1093/mp/ssu086>
- Zarbin, P. H. G., Fávaro, C. F., Vidal, D. M., & Rodrigues, M. A. C. M. (2012). Male-produced sex pheromone of the stink bug *Edessa meditabunda*. *Journal of Chemical Ecology*, 38(7), 825–835. <https://doi.org/10.1007/s10886-012-0144-4>
- Zavala, J. A., Mazza, C. A., Dillon, F. M., Chludil, H. D., & Ballaré, C. L. (2015). Soybean resistance to stink bugs (*Nezara viridula* and *Piezodorus guildinii*) increases with exposure to solar UV-B radiation and correlates with isoflavonoid content in pods under field conditions. *Plant, Cell and Environment*, 38(5), 920–928. <https://doi.org/10.1111/pce.12368>
- Zavala, J. a, Casteel, C. L., Delucia, E. H., & Berenbaum, M. R. (2008). Anthropogenic increase in carbon dioxide compromises plant defense against invasive insects.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105(13), 5129–5133. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800568105>

Zerbino, M. S., Altier, N. A., & Panizzi, A. R. (2015). Seasonal occurrence of *Piezodorus guildinii* on different plants including morphological and physiological changes. *Journal of Pest Science*, 88(3), 495–505. <https://doi.org/10.1007/s10340-014-0630-2>

Züst, T., & Agrawal, A. A. (2017). Trade-offs between plant growth and defense against insect herbivory: An emerging mechanistic synthesis. *Annual Review of Plant Biology*, 68(January), 513–534. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042916-040856>

Anexo 1

Distribución geográfica y disponibilidad de hábitat de *Diceraeus furcatus*.

Se modeló la distribución geográfica potencial de *D. furcatus*, teniendo en cuenta las principales variables climáticas que moldean la disponibilidad de su hábitat. La distribución geográfica fue predicha vía el software Maxent (desarrollado por Phillips et al.) basado en el principio de máxima entropía (Figura A1 A). Este modelo ha sido construido a partir de datos de presencia en más de 200 locaciones (Grazia, 1978; Coscarón 2017; Somavilla et al., 2019; la base de datos GBIF (Global Biodiversity Information Facility); y observaciones personales). Las variables ambientales consideradas fueron temperatura media anual (BIO1); rango medio diario (BIO2); isothermalidad (Rango de temperatura diaria/ rango de temperatura anual x 100; BIO3); temperatura por estación (BIO4); temperatura máxima del mes más cálido (BIO5); temperatura mínima del mes más frío (BIO6); rango de temperatura anual (BIO7); temperatura media del cuartil más húmedo (BIO8); temperatura media del cuartil más seco (BIO9); temperatura media del cuartil más cálido (BIO10); temperatura media del cuartil más frío (BIO11); precipitación anual (BIO12); precipitaciones en el mes más húmedo (BIO13); precipitaciones en el mes más seco (BIO14); precipitaciones por estación (BIO15); precipitaciones en el cuadril más húmedo (BIO16); precipitación del cuadril más seco (BIO17); precipitación del cuadril más cálido (BIO18); precipitación del cuadril más frío (BIO19); elevación (elev); velocidad media del viento mensual (vien); y radiación solar media mensual (rad). Estas variables fueron exportadas desde la base de datos WordClim (www.wordclim.com).

Las variables que más contribuyeron al modelo fueron BIO3 (37,8%), BIO 11 (21,9%); BIO15 (12,7%); y BIO5 (12,1%). El ajuste del modelo fue evaluado utilizando el criterio del AUC (área bajo la curva operativa relativa), el cual considera la sensibilidad (la proporción de presencias predichas correctamente) en función de uno menos la especificidad (la proporción de ausencias predichas correctamente). El valor de AUC varía entre cero y uno, donde un valor de AUC de uno (AUC= 1) representa un ranking perfecto, mientras que las predicciones al azar tienen un valor medio de 0,5 (AUC= 0,5) (Phillips et al., 2006; Phillips y Dudík, 2008). El valor de AUC para los datos de

presencia de *D. furcatus* alcanza un valor de 0,944 (AUC= 0,944) (Fig. A1 B). Este valor representa la probabilidad de que el modelo tome un sitio de presencia elegido al azar sea ranqueado por encima de un sitio del ambiente tomado al azar.

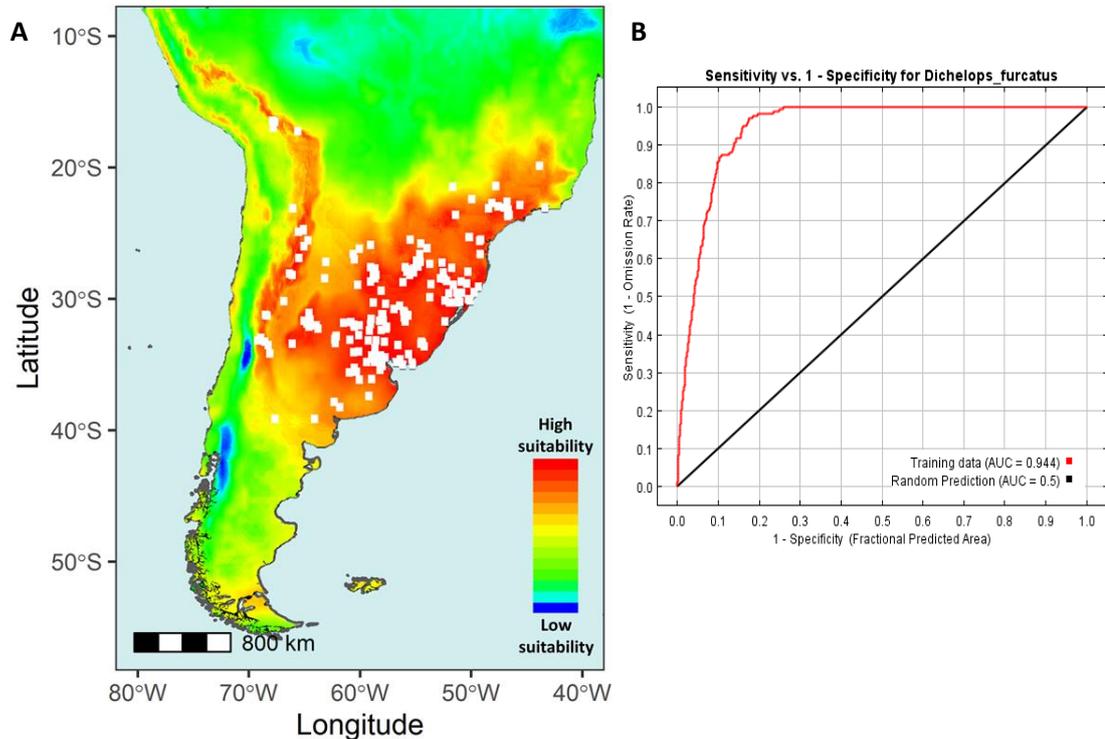


Figura A1: Modelo de distribución geográfica de *D. furcatus* utilizando el modelado de máxima entropía. A) Mapa mostrando las áreas de distribución potencial de *D. furcatus* empleando un gradiente de idoneidad colorimétrico. El gradiente va desde el color rojo, que representa las áreas con máxima idoneidad (High suitability), hasta el azul que muestra las áreas no idóneas (Low suitability). Cada cuadrado blanco representa un registro de ocurrencia. B) Ajuste del modelado de la distribución de *D. furcatus* usando Maxent. El valor de AUC para *D. furcatus* (Training data) calculado fue de 0,944 (área bajo la curva color roja). El valor de AUC esperado por predicciones al azar (RandomPrediction) es de 0,5 (área bajo la curva color negro).

Referencias bibliográficas

- Coscarón, M.D.C. (2017). A catalogue of the Heteroptera (Hemiptera) or true bugs of Argentina. *Zootaxa* 4295 (1). <http://doi.org/10.11646/zootaxa.4295.1.1>
- GBIF (Global Biodiversity Information Facility). *Dichelops furcatus* Fabricius, 1775. GBIF.org DOI: 10.15468/dl.immkfa [Acceso: 3 de septiembre de 2019]
- Phillips, S.J., Dudík, M. & Schapire, R.E. Maxent software for modeling species niches and distributions (Version 3.4.1). http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/ [Acceso: 3 de septiembre de 2019]

- Phillips, S.J., Anderson, R.P. & Echipire, R.E. (2006) Maximum entropy modeling for species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190, 231-259
- Phillips, S.J. & Dudík, M. (2008) Modeling of species distribution with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography* 31, 161-175
- Grazia, J. (1978). Revisão do gênero *Dichelops* Spinola, 1837 (Heteroptera, Pentatomidae, Pentatomini). *Série Zoológica Iheringia*, 53, 3-119.
- Somavilla, J.C., Reis, A.C., Gubiani, P. da S., Godoy, D.N., Stürmer, G.R. & Bernardi, O. (2019). Susceptibility of *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae) to Selected Insecticides in Brazil. *J. Econ. Entomol.* 20, 1–8
<http://doi.org/10.1093/jee/toz340>

Anexo 2

Tabla A2: Lista de especies vegetales relacionadas con *Diceraeus furcatus* en Argentina, Brasil y Uruguay.

Estas plantas pueden ser utilizadas por estas chinches como fuente de alimentación, sitios de reproducción o refugios temporales. Las especies de plantas listadas pueden ser cultivadas, silvestres (no cultivadas), nativas y/o exóticas.

Familia	Nombre científico	Nombre común	Estatus	Referencias
Amaranthaceae	<i>Amaranthus quitensis</i> (Kunth) [†]	Amaranto	W – N	OP
	<i>Chenopodium quinoa</i> (Willd.) [†]	Quinoa	C – N	1, 2, OP
	<i>Beta vulgaris</i> (L.) var. Cicla	Acelga	C – E	1
Anacardiaceae	<i>Schinus terebinthifolius</i> (Raddi.)	Pimienta brasileño	C / W – N	3
Apiaceae	<i>Bowlesia incana</i> (Ruiz & Pav.)	Perejilillo	W – N	OP
	<i>Daucus carota</i> (L.)	Zanahoria	C – E	1
Asteraceae	<i>Bidens Pilosa</i> (L.)	Amor seco	W – N	4
	<i>Carduus nutans</i> (L.)	Cardo pendiente	W – E	1
	<i>Carthamus tinctorius</i> (L.)	Cártamo	C – E	5
	<i>Cichorium intybus</i> (L.)	Achicoria	C / W – E	1
	<i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	Cardo	W – E	OP
	<i>Conyza bonariensis</i> (L.)	Rama negra	W – N	6
	<i>Gochnatia polymorpha</i> (Less.)	Cambará	W – N	7
	<i>Helianthus annuus</i> (L.) [†]	Girasol	C – E	1, 8, 25, OP
	<i>Lactuca sativa</i> (L.)	Lechuga	C – E	1
	<i>Picris echioides</i> (L.)	Pega-pega	W – E	OP
	<i>Senecio argentes</i> (Baker) [†]	Senecio	W – N	OP
	<i>Sonchus oleraceus</i> (L.) [†]	Cerraja	W – E	OP
	<i>Stevia rebaudiana</i> (Ver.)	Estevia	C / W - N	9
	<i>Xanthium cavanillesii</i> (Schouw)	Abrojo	W – N	1
	Brassicaceae	<i>Brassica napus</i> (L.) [‡]	Colza	C – E
<i>Brassica oleracea</i> (L.) [‡]		Repollo	C – E	10
<i>Brassica rapa</i> (L.) [†]		Mostacilla	W – E	3
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.)		Bolsa de pastor	W – E	OP
<i>Raphanus sativus</i> (L.) [‡]		Rábano	C – E	6
Cucurbitaceae	<i>Citrullus lanatus</i> (Thumb.) Matsum. & Nakai	Sandía	C – E	1, 10
	<i>Cucumis melo</i> (L.)	Melón	C – E	1
	<i>Cucurbita maxima</i> (Duch.)	Zapallo	C / W – N	1

Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i> (L.)	Ricino	W – E	1
	<i>Arachis hypogaea</i> (L.) [†]	Maní	C - N	1
	<i>Avena fatua</i> (L.) [†]	Avena guacha	W – E	OP
	<i>Glycine max</i> (L.) Merr. [‡]	Soja	C – E	1, 4, 12, 26, 24, OP
	<i>Lotus corniculatus</i> (L.) [†]	Lotus	C – E	4, 12
	<i>Lupinus albus</i> (L.) [†]	Altramuzblanco	C – E	10
	<i>Macroptilium atropurpureum</i> (Urb.)	Siratiro	W – N	4, 10
	<i>Medicago sativa</i> (L.) [‡]	Alfalfa	C – E	1, 4, OP
Fabaceae	<i>Melilotus officinalis</i> (L.) Pallas	Trébol dulce	C / W – E	1
	<i>Phaseolus vulgaris</i> (L.) [‡]	Frijol	C – E	1, 4, 10, OP
	<i>Pisum sativum</i> (L.)	Chícharo	C – E	10
	<i>Rhynchosia corylifolia</i> (Mart.)	Urusu o Batatilla	W – N	10
	<i>Senna occidentalis</i> (L.)	Cafetillo	W – E	1
	<i>Trifolium repens</i> (L.) [†]	Trébolblanco	C / W – E	1, OP
	<i>Vicia sativa</i> (L.)	Arveja	C / W – E	10
	<i>Vicia faba</i> (L.) [†]	Haba	C – E	10, OP
	<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp. [†]	Caupí	C – E	4, 10, 13
		<i>Linum usitatissimum</i> (L.)	Lino	C – E
Linaceae	<i>Origanum vulgare</i> (L.)	Orégano	C – E	14
	<i>Gossypium hirsutum</i> (L.)	Algodón	C – E	15
Malvaceae	<i>Sphaeralcea bonariensis</i> (Cav.) Griseb.	Malva blanca	W – N	OP
Melastomataceae	<i>Miconia cinerascens</i> (Miq.)	Jacatirão	W – N	7
	<i>Eugenia uniflora</i> (L.)	Pitanga	W – N	7
Myrtaceae	<i>Myrciaria tenella</i> (DC) Berg	Jaboticaba	W – N	15
Oleaceae	<i>Olea europaea</i> (L.)	Olivo	C – E	16
	<i>Andropogon bicornis</i> (L.)	Sapé del Brasil	W – N	17
	<i>Avena sativa</i> (L.) [†]	Avena	C – E	6, 18, OP
	<i>Brachiaria plantaginea</i> (Link) Hitch	Pasto braquipará	W – E	3
	<i>Bromus catharticus</i> (Vahl.)	Cebadilla criolla	W – N	OP
	<i>Digitaria insularis</i> (L.) Fedde [†]	Pasto amargo	W – N	OP
	<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.	Pasto de cuaresma	W – E	3
Poaceae	<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn. [†]	Pata de gallina	W – E	OP
	<i>Erianthus angustifolius</i> (Ness.)	Pajaestralladora	W – E	17
	<i>Festuca perennis</i> (Lam.)	Raigrásanual	W – E	6
	<i>Hordeum vulgare</i> (L.) [‡]	Cebada	C – E	19
	<i>Oryza sativa</i> (L.)	Arroz	C – E	20
	<i>Secale cereale</i> (L.) [‡]	Centeno	C – E	19
	<i>Sorghum halepense</i> (L.) Pers. [†]	Sorgo de alepo	W – E	OP

	<i>Sorghum cafforum</i> (Retz) var. <i>Bicarinatum</i> (Hack.) [†]	Sorgo	C – E	1
	<i>Triticum secale semisecale</i> (Mackey) [‡]	Triticale	C – E	19
	<i>Triticum aestivum</i> (L.) [‡]	Trigo	C – E	4, 10, 18, 19, 27, OP
	<i>Zea mays</i> (L.) [†]	Maíz	C – E	1, 17, 21, 22, OP
Rosaceae	<i>Fragaria</i> sp	Frutilla	C – E	10, 4
	<i>Rubus</i> sp [†]	Mora	W – E	23
Scrophulariaceae	<i>Buddleja thyrsoides</i> (Lam.)	Cambarazinho	W – N	15
	<i>Cestrum parqui</i> (L'Hérit.)	Duraznillo negro	W – N	1
	<i>Nicotiana tabacum</i> (L.)	Tabaco	C – E	1, 4
Solanaceae	<i>Physalis</i> sp	Aguaymanto	W – N	24
	<i>Solanum granuloso-leprosum</i> (Dun.)	Fumo Bravo	W – N	1
	<i>Solanum lycopersicum</i> (L.)	Tomate	C – E	1
	<i>Solanum tuberosum</i> (L.)	Papa	C – E	4, 26
Urticaceae	<i>Parietaria debilis</i> (L.) G. Frost.	Yuyo de pared	W – E	OP

[†]Especies de plantas identificadas como fuente de alimento utilizadas por *D. furcatus* (Hospederos de alimentación).

[‡]Plantas conocidas donde los adultos de *D. furcatus* pueden alimentarse y las ninfas pueden completar su desarrollo (Hospederos reproductivos)

Estatus: Silvestre (W); Cultivada (C); Nativa (N); Exótica (E).

OP: Observación personal.

Referencias bibliográficas:

1. Cordo, H.A., Logarzo, G., Braun, K. & Di Lorio, O. (2004) Catálogo de Insectos Fitófagos de la Argentina y sus Plantas Asociadas. Sociedad Entomológica Argentina ediciones. 734 p. Buenos Aires, Argentina. ISBN987-21319-1-0. <https://fuedei.org/catalogo/> [Acceso 01 marzo de 2020]
2. Dughetti, A.C. (2015). Plagas de la quinua y sus enemigos naturales en el valle inferior del Río Colorado, Buenos Aires, Argentina. Ediciones INTA, EEA Hilario Ascasubi. ISBN: 9789875216686. <https://inta.gob.ar/documentos/plagas-de-la-quinua-y-sus-enemigos-naturales-en-el-valle-inferior-del-rio-colorado-buenos-aires-argentina> [Acceso 01 marzo de 2020]
3. Agostinetto, A., Panizzi, A.R. & Lucini, T. (2018). Monthly parasitism rate by tachinid flies and egg allocation on the body of *Dichelops furcatus*. *Fla. Entomol.* 101(1), 91–96 DOI: 10.1653/024.101.0116
4. Garbelotto, T. de A. & Campos, L.A. (2015). Pentatominæ do Sul de Santa Catarina. Zoologia: guias e manuais de identificação series. Sociedade Brasileira de Zoologia, Brazil. 80p. DOI: 10.7476/9788598203089

5. Fritz, F., Ramonda, F. & Baudino, E. (2019). Harmful and beneficial insects for safflower crop in the semiarid Pampean region. *Semiárida: Revista de la Facultad de Agronomía UNLP* 28(2), 35–44 DOI: 10.19137/semiárida.2018(02).35-44
6. Gassen, D. (2001). As pragas sob plantio direto. In Siembra Directa en el Cono Sur. Programa Cooperativo para el Desarrollo Tecnológico Agroalimentario y Agroindustrial del Cono Sur, Uruguay, pp. 103-120 <http://www.procisur.org.uy/siembra-directa-en-el-cono-sur/es> [Acceso 01 marzo de 2020]
7. Garlet, J., Roman, M. & Costa, E.C. (2010). Pentatomídeos (Hemiptera) asociados a espécies nativas em. *Revista Biotemas*, 23(1), 91–96
8. Frota, R.T. & dos Santos, R.S.S. (2007). Pentatomídeos asociados a cultivos de girassol no noroeste do estado do Rio Grande do Sul e ação de *Euschistus heros* (Fabricius, 1791) (Hemiptera: Pentatomidae) em aquênios. *Revista Biotemas*, 20(4), 65–71
9. Martínez Cruz, M. (2016). *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. A Review. *Cultivos Tropicales (INCA)* 36, 5-15. ISSN 0258-5936
10. Link, D. & Grazia, J. (1986). Pentatomídeos da região central do Rio Grande do Sul (Heteroptera). *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil* 16(1), 115–129
11. Bianchi, F.M., Marsaro Júnior, A.L., Grazia, J., Pereira, P.R.V.S. & Panizzi, A.R. (2018). Diversity of stink bugs (Pentatomidae) associated with canola: Looking for potential pests. *Neotrop. Entomol.* 48(2), 219–224 DOI: 10.1007/s13744-018-0642-3
12. Ribeiro, A., Castiglioni, E., Silva, H. & Bartaburu, S. (2009). Fluctuaciones de poblaciones de pentatómidos (Hemiptera: Pentatomidae) en soja (*Glycine max*) y lotus (*Lotus corniculatus*). *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas* 35, 429–438 [Spanish]
13. Paz-Neto, A. de A., Querino, R.B. & Margaría, C.B. (2015). Egg parasitoids of stink bugs (Hemiptera: Coreidae and Pentatomidae) on soybean and cowpea in Brazil. *Fla. Entomol.* 98(3), 929–932 DOI: 10.1653/024.098.0318
14. Argüello, J.A., Núñez, S.B., Davidenco, V., Suárez, D.A., Seisdedos, L., Baigorria, M.C. & Yossen, V. (2012). Sistema de producción y cadena de valor del cultivo de orégano (*Origanum* sp.) en la provincia de Córdoba (Argentina). *Phyton*, 81, 23–34
15. Costa, E.C., Bogorni, P.C. & Bellomo, V.H. (1995). Stink bug collected on canopy of different forest species, Pentatomidae. *Ciência Florestal, Santa Maria*, 5 (1), 123-128
16. Ricalde, M.P. (2013). Artropodofauna associada à cultura da oliveira (*Olea europaea* L.) no Rio Grande do Sul, Brasil. Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade; Universidade Federal de Pelotas, Brazil. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/97514/1/TeseFinal-Marcelo.pdf> [Acceso 01 marzo de 2020]

17. Engel, E., Pasini, M.P.B., Hörz, D.C. & Dalla Nora, S.L. (2017). Populações de percevejos barriga-verde [*Dichelops furcatus* (Hemiptera: pentatomidae)] em diferentes diâmetros de plantas silvestres durante entressafra de soja e milho. *Revista de Ciências Agrárias* 60, 206-209 DOI: 10.4322/rca.10563 [Portuguese]
18. Pereira, P.R.V.S., Salvadori, J.R. & Lau, D. (2010). Trigo: Manejo integrado de pragas. EMBRAPA., Brazil. ISBN: 978-85-7565-065-3 [Portuguese]
19. Panizzi, A.R., Lucini, T. & Possebom, T. (2018). Development of *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) reared on spring cereals versus soybean. *J. Insect Sci.* (Online) 18(5) DOI: 10.1093/jisesa/iey102
20. Ferreira, E., Freitas Barrigossi, J.A. & Almeida Vieira, N.R. (2001). Percevejos das panículas do arroz: Fauna heteróptera associada ao arroz. Embrapa Arroz e Feijão. Circular Técnica, 43. Brazil. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/211160/percevejos-das-paniculas-do-arroz-fauna-heteroptera-associada-ao-arroz> [Acesso 01 marzo de 2020]
21. Chocorosqui, V.R. (2001). Bioecologia de *Dichelops* (Diceræus) *melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae), danos e controle em soja, milho e trigo no Norte de Paraná. Programa de Pós-Graduação, Universidad federal do Paraná, Brazil [Portuguese]
22. Roza-Gomes, M.F., Salvadori, J.R., Pereira, P.R.V.D.S. & Panizzi, A.R. (2011). Injúrias de quatro espécies de percevejos pentatomídeos em plântulas de milho. *Ciência Rural* 41(7), 1115–1119 DOI: [10.1590/S0103-84782011005000081](https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000081)
23. Paulo, M. & Pasini, B. (2014). Pentatomids associated with blackberry. *Ciência e Agrotecnologia* 38(3), 256-261
24. Bado, S.G., Cerri, A.M. & Vilella, F. (2005). Fauna insectil asociada a cultivos de dos especies de *Physalis* (Solanaceae) en Argentina. *Boletín de sanidad vegetal. plagas* 31, 321–333 [Spanish]
25. Vitti, D., Salto, C. & Sosa, M.A. (2011). Insectos en girasol. Polinizadores, fitófagos y entomófagos. Ediciones INTA, Argentina <https://inta.gob.ar/documentos/insectos-en-girasol-polinizadores-fitofagos-entomofagos> [Acesso 01 marzo de 2020]
26. Chiaradia, L.A., Rebonatto, A., Smaniotto, M.A., Furlan Davila, M.R. & Nunes Nesi, C. (2011). Artropodofauna associada às lavouras de soja (Arthropods associated with soybean crops). *Revista de Ciências Agroveterinárias Lages* 10 (1), 29–36
27. Carrasco, A., Báez, A. & Belmonte, L.M. (2011). Trigo. Manual de campo. Ediciones INTA, RIAN <https://inta.gob.ar/documentos/trigo-manual-de-campo> [Acesso 01 marzo de 2020]

Anexo 3

Control de la densidad poblacional de *D. furcatus*

A la hora de decidir si es necesario (o no) controlar la densidad poblacional de *D. furcatus* se deben tener en cuenta 3 aspectos: la densidad poblacional y el nivel de daño económico, a través del monitoreo de los lotes; los insecticidas disponibles para el control químico, y la presencia de controladores naturales como depredadores y parasitoides. Estos aspectos se detallan a continuación.

+ Monitoreo y nivel de daño económico:

Cómo el ataque de *D. furcatus* produce daños económicos en vainas y semillas de soja, y la misma población de chinches puede afectar el número de plántulas de maíz por m² en la próxima campaña, controlar la abundancia de chinches es una práctica agronómica importante en el cultivo de soja (Fig. A3.1). Se recomienda el uso de un paño vertical en lotes sembrados con soja para estimar la abundancia de chinches en este cultivo (Fig. A3.1 A), lo que brinda a los productores una herramienta apropiada a la hora de decidir la aplicación efectiva de insecticidas (Stürmer et al., 2014). La Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa (AAPRESID) recomienda que el nivel de daño económico recomendado para aplicar insecticidas en soja es de más de tres individuos de *D. furcatus* por m² entre el tercer y el sexto estadio reproductivo (R3-R6 según la escala de Fehr & Caviness, 1977), pero a partir del séptimo estadio reproductivo (R7) se toleran hasta nueve individuos por m². Este nivel de daño económico es más alto que el recomendado para otras especies de chinches, como *N. viridula* y *P. guildinii*, en el cultivo de soja.

A pesar de que durante el invierno la abundancia de *D. furcatus* no puede ser controlada químicamente porque está refugiada entre los restos vegetales, el monitoreo debe realizarse previa y posteriormente a la siembra de maíz (Capítulo 1, Fig. 1.4). Los adultos de *D. furcatus* suelen encontrarse agrupados alrededor de las malezas, especialmente poáceas (Fig. A3.1 B), y pueden ser visualizados y contados (Agostinetto et al., 2018; Engel et al., 2017). Esta práctica es fundamental para que los agricultores decidan cuándo es económicamente relevante el tratamiento con insecticidas. Esto se debe, por un lado, a que la severidad del daño está relacionada con el estadio fenológico de las plántulas, las cuales, cuando las condiciones ambientales son favorables, se desa-

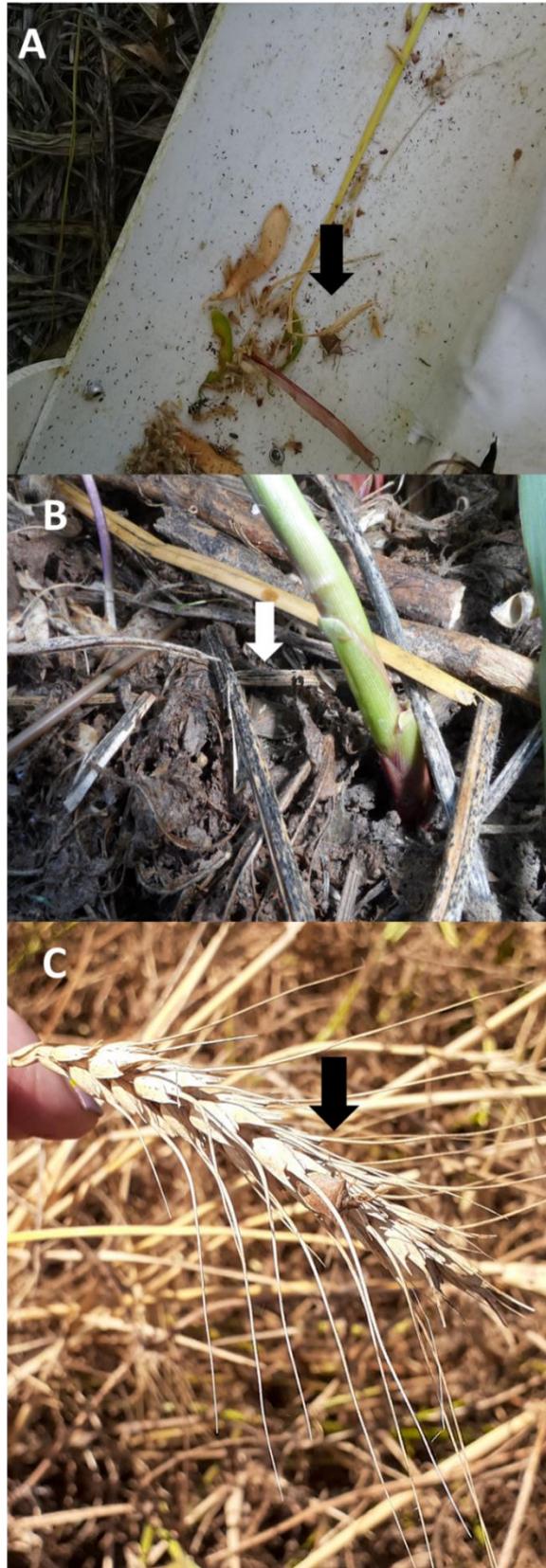


Figura A3.1: Monitoreo de *D. furcatus*. A) Adulto de *D. furcatus* en el receptáculo de la base de un paño vertical durante el monitoreo de un lote de soja. B) Adulto de *D. furcatus* encontrado entre los rastrojos de soja durante el monitoreo de un lote en primavera. C) Adulto de *D. furcatus* en una espiga de trigo.

rollan más rápido y el daño causado por las chinches se diluye (INTA, 2013). Por otro lado, en el momento en que el daño producido por la chinche de los cuernos es visible, ésta ya abandonó los lotes, buscando fuentes de alimento alternativas. Cómo el daño producido por parte de adultos de *D. furcatus* a plántulas de maíz es similar a las producidas por adultos de *D. melacanthus* (Roza- Gomes et al., 2011) el nivel de daño económico se trazó en medio individuo por m² al momento de implantación del cultivo (Rodrigues, 2011). En base a esto, de ser necesario el control químico de este insecto plaga, los técnicos recomiendan aplicar el insecticida en el preciso momento en el que las chinches están más activas (cuando las temperaturas fluctúan entre los 20 y 25°C) y dejan sus refugios en busca de fuentes de agua y alimento (INTA, 2013).

En el cultivo de trigo (Fig. A3.1 C), el nivel de daño económico de *D. furcatus* es más acotado que el observado en experimentos, tanto bajo condiciones de laboratorio como de campo (EMBRAPA, 2015). Se recomienda el uso de una red de golpeo (similar a una trampa caza mariposas, pero de lienzo) para estimar la abundancia del insecto antes de tomar decisiones. El umbral de daño económico para aplicar el control químico es de cuatro individuos por m² en los estadios vegetativos y dos por m² durante el período reproductivo (Panizzi et al., 2016).

+ **Control químico:**

El método más extendido para el control de *D. furcatus* corresponde a la aplicación de insecticidas. Los grupos químicos más ampliamente utilizados corresponden a los grupos de piretroides (lambdacialotrina, zetametrina, bifentrina y beta-ciflutrina), neonicotinoides (tiametoxam e imidacloprid) y carbamatos (metilcarbomato de oxima) (Somavilla et al., 2019). A pesar de que estos grupos químicos actúan sobre distintos receptores del sistema nervioso central de los insectos, presentan una acción similar. Desafortunadamente, estos insecticidas, presentan una actividad de amplio espectro, lo que afecta no sólo en la abundancia de las chinches, sino también tiene efectos negativos sobre los enemigos naturales de estas y sobre otros insectos beneficiosos. Recientemente, se han aplicado regulaciones que limitan el uso de los neonicotinoides en muchos países debido a su efecto deletéreo en la abundancia de los insectos polinizadores (Goulson, 2013; Stokstad, 2013). Los piretroides son ampliamente utilizados para controlar chinches debido a su accesibilidad, su costo relativamente bajo y su aparente efectividad. Sin embargo, estos insecticidas también son perjudiciales para insectos no-blanco y pueden disminuir las poblaciones de enemigos naturales, afectando

la implementación de estrategias de manejo integrado de plagas (MIP) y/o promoviendo el surgimiento de otras plagas (Hull & VanStarner, 1983; Kuhar & Kamminga, 2017). A pesar de que el uso excesivo de piretroides puede provocar el desarrollo de resistencia en los insectos, no se han documentado casos de resistencia en esta especie de chinches. No obstante, recientemente se reportó la presencia de variaciones significativas en la susceptibilidad a piretroides de adultos de *D. furcatus* en distintas zonas rurales de Brasil (Somavilla et al., 2019). Esto enciende las alarmas sobre la importancia de planificar programas de control que combinen diferentes estrategias de manejo que permitan reducir la presión de selección sobre los organismos plaga para evitar el surgimiento de poblaciones resistentes.

Para decidir la estrategia adecuada para el control de las chinches es importante tener en cuenta algunas consideraciones clave como el hospedero atacado, su estadio fenológico, una abundancia de las chinches superior al nivel de daño económico establecido, que el método de aplicación sea el adecuado (de pre o post-emergencia del cultivo), y el momento del día a realizar el tratamiento. La elección del horario para la aplicación de los insecticidas es crítico, ya que los individuos de *D. furcatus* tienden a estar refugiados debajo de los rastrojos cuando la temperatura no es favorable; y este comportamiento protege a la chinche de los cuernos de los insecticidas de contacto (INTA, 2013). Además, estas chinches tienden a moverse rápidamente entre los hospederos silvestres (vegetación espontánea) y los cultivados, facilitando su dispersión y colonización de nuevos cultivos (Agostinetto et al., 2018). Este comportamiento les permite escapar de las áreas tratadas con insecticidas y recobrase en áreas no tratadas. Con relación a esto, también hay que considerar la actividad residual de los insecticidas. Experimentos de campo con *H. halys* sugieren que los insecticidas frescos (recién aplicados) son significativamente más letales que los residuos secos de los mismos que quedan adheridos a la superficie de las hojas. A pesar de que los residuos de fenpropetrin y dinotefurán desalientan la alimentación de *H. halys*, la mortalidad de estas chinches fue muy baja (Leskey et al., 2013). Este tipo de inconvenientes lleva a los productores a aplicar mayores concentraciones de insecticidas, en comparación a las dosis recomendadas para controlar otras especies de chinches como *N. viridula* y *P. guildinii*. Así, se ha recomendado a los productores argentinos incrementar las dosis usuales entre un 30 y un 50 % (INTA, 2013).

+ **Enemigos naturales:**

Se han identificado distintos parasitoides generalistas que pueden atacar diferentes estados del desarrollo de las chinches, como huevo, ninfa o adulto (Tabla A3.1). Sin embargo, no se han identificado parasitoides que sean especialistas de *D. furcatus*. Las moscas tachínidas (Diptera: Tachinidae) como *Ectophasiopsis gradata* Wiedemann, *Cylindromyia* sp., *Gymnoclytia* sp. y *Trichopoda* sp. son parasitoides que usan a los adultos de *D. furcatus* como hospedero (Tabla A3.1) (Agostinetto et al., 2018; Aquino et al., 2019; Punschke et al., 2017). Las hembras pertenecientes a estas especies de moscas adhieren los huevos sobre la superficie del cuerpo de las chinches adultas o ninfas en estadio avanzado del desarrollo (Fig. A3.2 A-B). La larva de la mosca ingresa en el huésped y completa su desarrollo larval dentro de este. Estudios de campo en Brasil mostraron que el porcentaje de parasitismo por parte de estas especies de moscas fluctúa desde un 2 por ciento (promedio un huevo por chinche parasitada) en junio hasta alcanzar el 60% (promedio de dos huevos en diciembre (Agostinetto et al., 2018). Los rastrojos ofrecen protección contra los enemigos naturales a los adultos invernantes de *D. furcatus*, los cuales son menos atacados por las moscas taquínidas que la chinche verde, *N. viridula* (Panizzi & Oliveira, 1999).

Existen otros parasitoides de adultos que recientemente se han relacionado de *D. furcatus*. Estos son avispa de la familia Encyrtidae (Hymenoptera: Encyrtidae) (Tabla A3.1). *Hexacladia smithii* Ashmead fue registrado como un endoparásito de adultos de *D. furcatus* en Brasil (Panizzi & Silva, 2010) y Argentina (Torréns et al., 2017). En el año 2017 se describió una nueva especie de este género de avispa parasitando adultos de la chinche de los cuernos en Santa Fe, Argentina. Esta fue registrada como *H. dichelopsis* Torrén y Fidalgo (Torrén et al., 2017). Ambas especies son gregarias y una vez que completan su desarrollo (tanto los estadios larvales como el de pupa), los imagos emergen cortando la pared abdominal del individuo huésped (Fig. A3.2 C). Los adultos parasitados fueron encontrados en campos de cultivos que utilizaban el sistema de siembra directa (Panizzi & Silva, 2010; Torrén et al., 2017).

Por otro lado, se han registrado distintas especies de himenópteros parasitoides de huevos de *D. furcatus* (Tabla A3.1) (Cingolani, 2011; La Porta et al., 2013; Paz-Neto et al., 2015). Estudios de campo en el núcleo sojero de Argentina mostraron que más del 44% de las masas de huevos recolectadas de campos de soja están parasitadas por avispa platigástridas (INTA, 2006). Los parasitoides de huevos *Tr. Basalis* Wollaston y *Te. podisi* son los enemigos naturales más frecuentes de chinches pentatómidas en los lotes de soja y son usados como controladores naturales de estos organismos plaga en Brasil

(Bueno et al., 2012; Pacheco & Corrêa-Ferreira, 2000). Los numerosos órdenes de parasitoides y depredadores descritos para *D. furcatus* deberían ser incluidos en futuras investigaciones que busquen desarrollar programas de manejo integrado de este organismo plaga.

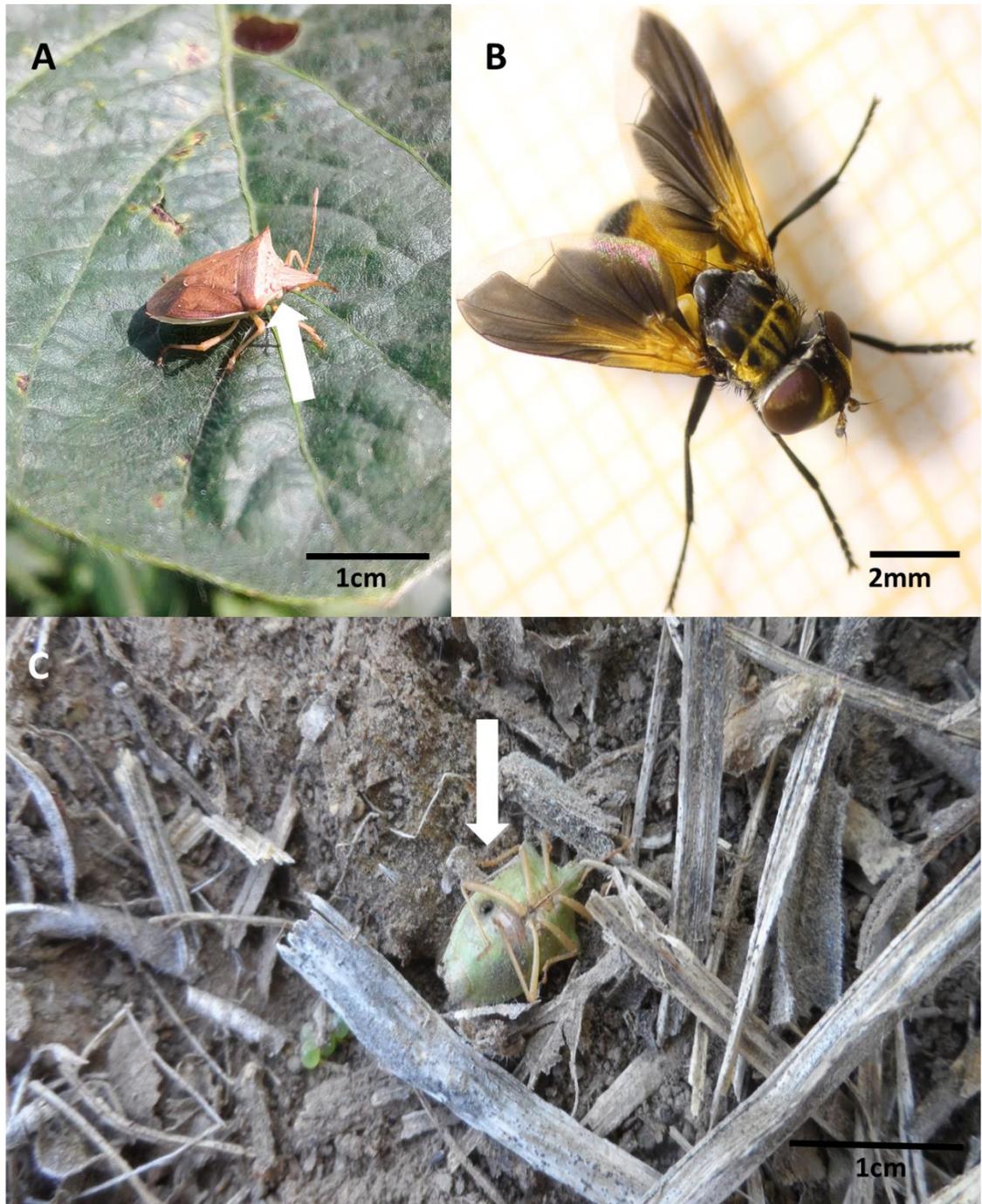


Figura A3.2: Enemigos naturales de *D. furcatus*. A) Huevos de mosca taquínida parasitoide de un adulto de *D. furcatus* recolectado en un muestreo de campo. B) Mosca taquínida adulta. C)

Momia de adulto de *D. furcatus*. La flecha marca un orificio en el abdomen. Esta lesión es característica de los himenópteros parasitoides del género *Hexacladia* spp.

Tabla A3.1: Lista de enemigos naturales de *D. furcatus* reportados en estudios de campo. En la tabla se especifica el orden, la familia y la especie (en el caso de que se cuente con ese dato) a la que pertenecen los enemigos naturales reportados, así como su tipo de hábito (depredador o parasitoide) y el estado de *D. furcatus* que se ve afectado (Huevo, ninfa o adulto).

Orden	Familia	Especie	Tipo de agente	Estado afectado	Referencias
Araneae	Thomisidae		Depredador	Ninfa y adulto	1
	Oxipidae		Depredador	Ninfa y adulto	1
Coleoptera	Coccinellidae	<i>Eriopis conexa</i>	Depredador	Ninfa	1
	Tachinidae	<i>Cylindromyia</i> sp	Parasitoide	Ninfa avanzada y adulto	2,3,4
Diptera		<i>Cylindromyia</i> <i>liana</i>	Parasitoide	Ninfa avanzada y adulto	5
		<i>Gymnoclytia</i> sp	Parasitoide	Ninfa avanzada y adulto	2,3,4
		<i>Phasia</i> sp	Parasitoide	Ninfa avanzada y adulto	5
		<i>Ectophasiopsis</i> <i>gradata</i>	Parasitoide	Ninfa avanzada y adulto	2,3,4
		<i>Trichopoda</i> sp	Parasitoide	Ninfa avanzada y adulto	2,3,4
	Hemiptera	Anthocoridae	<i>Orius</i> sp	Depredador	Ninfa y adulto
Geocoridae		<i>Geocoris</i> sp	Depredador	Ninfa y adulto	1,6
Pentatomidae		<i>Podisus</i> <i>nigrispinus</i>	Depredador	Ninfa y adulto	1,6
		<i>P. nigrolimbatus</i>	Depredador	Ninfa y adulto	1,6
Hymenoptera	Encyrtidae	<i>Hexacladia</i> <i>dichelopsis</i>	Parasitoide	Adulto	7
		<i>H. smithii</i>	Parasitoide	Adulto	7,8
	Eupelmidae	<i>Anastatus</i> sp	Parasitoide	Huevo	9,10,11
	Eurytomidae	<i>Neorileya flavipes</i>	Parasitoide	Huevo	9,10,11
		<i>Telenomus podisi</i>	Parasitoide	Huevo	9,10,11
	Platygastridae	<i>Trissolcus basalis</i>	Parasitoide	Huevo	2,9,10,11,12
		<i>Tr. teretis</i>	Parasitoide	Huevo	9,10,11
		<i>Tr. urichi</i>	Parasitoide	Huevo	9,10,11
Sphecidae		Depredador	Ninfa y adulto	1	
Neuroptera	Chrysopoidea		Depredador	Ninfa	1

Referencias: 1) INTA, 2006; 2) Punschke et al., 2017; 3) Aquino et al., 2019; 4) Agostinetto et al., 2018; 5) Zerbino & Panizzi, 2019; 6) Bueno et al., 2012; 7) Torrén et al., 2017; 8) Panizzi & Da Silva, 2010; 9)

Cingolani et al., 2012; 10) La Porta et al., 2013; 11) Paz-Neto et al., 2015; 12) Pacheco & Corrêa-Ferreira, 2000.

Referencias bibliográficas:

- Agostinetto, A., Panizzi, A. R., & Lucini, T. (2018). Monthly parasitism rate by Tachinid flies and egg allocation on the body of *Dichelops furcatus*. *Florida Entomologist*, *101*(1), 91–96. <https://doi.org/10.1653/024.101.0116>
- Aquino, M. F. S. De, Sujii, E. R., Borges, M., Moraes, M. C. B., & Laumann, R. A. (2019). Diversity of stink bug adults and their parasitoids in soybean crops in Brazil : Influence of a latitudinal gradient and insecticide application intensity. *Community and Ecosystem Ecology*, *20*(10), 1–10. <https://doi.org/10.1093/ee/nvy174>
- Bueno, A. de F., Pomari, A. F., Panizzi, A. R., Corrêa-Ferreira, B. S., Omoto, C., Oliveira, C. M. De, Hoffmann-Campo, C. B., Ávila, C. J., Sosa-Gómez, D. R., Gazzoni, D. L., Hirose, E., Silva, F. A. C. da, Moscardi, F., Marcelino-Guimarães, F. C., Lorini, I., Corso, I. C., Salvadori, J. R., Oliveira, L. J., Carvalho, M. C. da C. G. de, ... Yano, S. A. C. (2012). Soja: Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. En Soja: Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. <http://www.cnpso.embrapa.br/artropodes/>
- Cingolani, M. F. (2012). Parasitismo de huevos de *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae) por *Trissolcus basal* y *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) en el noroeste de la provincia de Buenos Aires. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- EMBRAPA, (Empresa Brasileira de Investigación Agropecuaria). (2015). Manual técnico: Manejo integrado dos percevejos barriga-verde, *Dichelops* spp. em trigo. Por Panizzi, A. R., Roberto, P., Pereira, S., Dalmago, A., Valle, P. R., Pereira, S., & Martins, M. R. In *Embrapa Trigo*. Documentos 114; EMBRAPA Trigo.
- Engel, E., Pasini, M. P. B., Hörz, D. C., & Dalla Nora, S. L. (2017). Populações de percevejos barriga-verde [*Dichelops furcatus* (Hemiptera: pentatomidae)] em diferentes diâmetros de plantas silvestres durante entressafra de soja e milho. *Revista de Ciências Agrárias*, *60*(2), 206–209. <https://doi.org/10.4322/rca.10563>
- Fehr, W. R., & Caviness, C. E. (1977). Stages of soybean development recommended citation. *Special Report*, 87. <http://lib.dr.iastate.edu/specialreports/87>
- Foerster, L. A., & Doetzer, A. K. (2006). Cold storage of the egg parasitoids *Trissolcus basal* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Biological Control*, *36*(2), 232–237. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.10.004>
- Goulson, D. (2013). An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, *50*(4), 977–987. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12111>
- Hull, L. A., & VanStarnner, R. (1983). Impact of four synthetic pyrethroids on major natural enemies and pests of apple in Pennsylvania1. *Journal of Economic Entomology*, *76*(1), 122–130. <https://doi.org/10.1093/jee/76.1.122>
- INTA, (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). (2006). Reporte técnico: Enemigos naturales del complejo de chinches fitófagas y evaluación de su acción ecológica en un cultivo de soja. Por Massoni, F., & Frana, J. En *Publicación miscelánea* (Vol. 106, pp. 163–165).

- INTA, (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). (2013). Reporte técnico: Manejo de *Dichelops furcatus*: Chinche de los cuernos. Por Canale, A., & Ferreira, L. Argentina. <https://inta.gob.ar/documentos/manejo-de-dichelops-furcatus-chinche-de-los-cuernos>
- Kuhar, T. P., & Kamminga, K. (2017). Review of the chemical control research on *Halyomorpha halys* in the USA. *Journal of Pest Science*, 90(4), 1021–1031. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0859-7>
- La Porta, N., Loíacono, M., & Margaría, C. (2013). Platigástridos (Hymenoptera : Platygasteridae) parasitoides de Pentatomidae en Córdoba . Caracterización de las masas de huevos parasitoidizadas y aspectos biológicos. *Revista de La Sociedad Entomológica Argentina*, 72(3–4), 179–194.
- Leskey, T. C., Short, B. D., & Lee, D. H. (2013). Efficacy of insecticide residues on adult *Halyomorpha halys* (Stål) (Hemiptera: Pentatomidae) mortality and injury in apple and peach orchards. *Pest Management Science*, 70, 1097–1104. <https://doi.org/10.1002/ps.3653>
- Pacheco, P. J. P., & Corrêa-Ferreira, B. S. (2000). Parasitismo de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera : Scelionidae) em Populações de Percevejos Pragas da Soja. *Anais Da Sociedade Entomológica Do Brasil*, 29(2), 295–302.
- Panizzi, A. R., Agostinetto, A., Lucini, T., & Pereira, P. R. V. d. S. (2016). Effect of green-belly stink bug, *Dichelops furcatus* (F.) on wheat yield and development. *Crop Protection*, 79, 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.10.006>
- Panizzi, A. R., & Oliveira, É. D. M. (1999). Seasonal occurrence of Tachinid parasitism on stink bugs with different overwintering strategies. *Anais Da Sociedade Entomológica Do Brasil*, 28(1), 169–173. <https://doi.org/10.1590/s0301-80591999000100018>
- Panizzi, A. R., & Silva, J. J. da. (2010). New records of pentatomids as hosts of *Hexacladia smithii* ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae) in southern Brazil. *Neotropical Entomology*, 39(4), 678–679. <https://doi.org/10.1590/s1519-566x2010000400034>
- Paz-Neto, A. de A., Querino, R. B., & Margaría, C. B. (2015). Egg parasitoids of stink bugs (Hemiptera: Coreidae and Pentatomidae) on soybean and cowpea in Brazil. *Florida Entomologist*, 98(3), 929–932. <https://doi.org/10.1653/024.098.0318>
- Punschke, E., Vignaroli, L. A., & Montero, G. A. (2017). Chinchas Fitófagas parasitadas por Moscas Taquínidas. *Agromensajes de La Facultad Universidad Nacional de Rosario*, 49, 40–44. https://fcagr.unr.edu.ar/wp-content/uploads/2017/12/AM49_completa.pdf
- Resquín-Romero, G., Cabral-Antúnez, C., Sarubbi-Orue, H., Garrido-Jurado, I., Valverde-García, P., Schade, M., & Butt, T. M. (2020). Virulence of *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) strains against stinkbugs *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Economic Entomology*, 113(5), 2540–2545. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa150>
- Rodrigues, R. B. (2011). Danos do percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) na cultura do milho. Universidade Federal de Santa Maria/RS (UFSM).

- Roza- Gomes, M. F., Salvadori, J. R., Pereira, P. R. V. D. S., & Panizzi, A. R. (2011). Injúrias de quatro espécies de percevejos pentatomídeos em plântulas de milho. *Ciência Rural*, 41(7), 1115–1119. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000081>
- Somavilla, J. C., Reis, A. C., Gubiani, P. da S., Godoy, D. N., Stürmer, G. R., & Bernardi, O. (2019). Susceptibility of *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae) to selected insecticides in Brazil. *Journal of Economic Entomology*, Xx, 1–8. <https://doi.org/10.1093/jee/toz340>
- Stokstad, E. (2013). Pesticides under fire for risks to pollinators. *Science*, 340(6133), 674–676. <https://doi.org/10.1126/science.340.6133.674>
- Stürmer, G. R., Filho, A. C., Guedes, J. V. C., & Stacke, R. F. (2014). Sample size for estimating the population of stink bugs in soybean crops. *Revista Ciencia Agronomica*, 45(1), 155–167. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000100019>
- 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. *Journal of Hymenoptera Research*, 61, 75–83. <https://doi.org/https://doi.org/10.3897/jhr.61.20742>
- Zerbino, M.S. & Panizzi, A.R. (2019). The underestimated role of pest pentatomid parasitoids in Southern South America. *Arthropod-Plant Interactions*13: 703–718 DOI: 10.1007/s11829-019-09703-1

Anexo 4

Orientación en olfatómetro de ambiente estacionario.

La orientación en olfatómetro se analizó estadísticamente con la prueba Chi-cuadrado (X^2). En la tabla se muestran los valores de X^2 y P para cada contraste. Las columnas [A] y [B] representan el número de adultos de *Diceraeus furcatus* que se orientaron hacia los volátiles correspondientes a los tratamientos entre cada contraste (sin inducción coloreado en rojo versus inducido en verde). La columna N representa el número total de chinches que estuvieron en contacto con alguno de los lados del olfatómetro durante más de 10 minutos. La columna no elección muestra el número de insectos por contraste que no se orientaron hacia ninguno de los estímulos olfativos ofrecidos.

Contraste	[A]	[B]	N	X^2	P-valor	No elección
<i>Plántulas sin inducción >>> Fig. 2.3</i>						
TEMP vs Control	16	5	21	5	0,025	2
TROP vs Control	15	5	20	5,76	0,016	1
TEMP vs TROP	24	12	36	4	0,045	2
<i>Plántulas dañadas por herbivoría (FD) >>> Fig. 2.5</i>						
TEMP vs TEMP 2 h FD	26	13	39	4,33	0,037	3
TEMP vs TEMP 24 h FD	12	11	23	0,04	0,835	1
TROP vs TROP 2 h FD	8	13	21	1,19	0,275	1
TROP vs TROP 24 h FD	13	9	22	0,73	0,394	2
<i>Plántulas con daño mecánico (MD) >>> Fig. 2.7</i>						
TEMP vs TEMP 2 h MD	10	13	23	0,39	0,53	1
TEMP vs TEMP 24 h MD	11	13	24	0,17	0,68	3
TROP vs TROP 2 h MD	14	19	33	0,75	0,38	0
TROP vs TROP 24 h MD	15	18	33	0,27	0,6	3
<i>Plántulas con inducción de jasmonato de metilo (JA) >>> Fig. 2.9</i>						
TEMP vs TEMP 2 h JA	10	22	32	4,4	0,034	0
TEMP vs TEMP 24 h JA	14	4	18	5,56	0,018	2
TROP vs TROP 2 h JA	12	25	37	4,57	0,033	1
TROP vs TROP 24 h JA	12	15	27	0,33	0,564	1
<i>Plántulas con inducción de ácido salicílica (SA) >>>2.11</i>						
TEMP vs TEMP 2 h SA	18	7	25	4,84	0,027	2
TEMP vs TEMP 24 h SA	17	13	30	1,81	0,178	0
TROP vs TROP 2 h SA	18	10	28	2,28	0,131	2
TROP vs TROP 24 h SA	12	7	19	1,32	0,251	1
<i>Plántulas con inducción de ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) >>> Fig. 2.13</i>						
TEMP vs TEMP 2 h ACC	10	12	22	0,18	0,669	3
TEMP vs TEMP 24 h ACC	11	9	20	0,2	0,655	2
TROP vs TROP 2 h ACC	17	10	27	1,81	0,178	1
TROP vs TROP 24 h ACC	20	9	29	4,17	0,041	1

<i>Linalool bioassays >>> Fig. 2.17</i>						
Linalool vs solvent	12	4	16	4	0,045	0
Linalool vs TEMP + solvent	10	6	16	1	0,31	0
Linalool + TROP vs TEMP + solvent	8	7	15	0,67	0,79	1
<i>Mutantes Paris >>> Fig. 3.4</i>						
WT vs Phy B1	6	16	22	4,5455	0,033	2
WT vs Phy B2	10	11	21	0,0476	0,827	3
Phy B1 vs Phy B2	21	9	30	4,8	0,028	0
<i>Malezas >>> Fig. 4.5</i>						
Control vs TEMP	11	9	20	0,2	0,65	2
Pata de gallina vs TEMP	18	22	40	4	0,53	8
Coroyuyo vs TEMP	3	17	20	9,8	0,0017	1
Yuyo colorado vs TEMP	21	10	31	3,9	0,048	3
Cerraja vs TEMP	11	10	21	0,047	0,83	4
Santa lucía vs TEMP	3	14	17	7,11	0,0076	2
Pega-pega vs TEMP	8	12	20	0,06	0,8	3
Cebadilla criolla vs TEMP	9	8	17	0,8	0,37	0
Sorgo de alepo vs TEMP	10	12	22	0,2	0,67	1
Trebol blanco vs TEMP	14	8	22	1,63	0,2	3

TEMP: templado; TROP: tropical; 2 h y 24 h: 2hs. y 24 hs. respectivamente después de iniciada la inducción por herbivoría (FD), daño mecánico (MD), aplicación de fitohormonas como jasmonato de metilo (JA), ácido salicílico (SA) y ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC). WT: línea endocriada 'Paris 2'; Phy B1: línea isogénica de 'Paris 2' con el fitocromo B1 desactivado; Phy B2: línea isogénica de 'Paris 2' con el fitocromo B2 desactivado.

Anexo 5

Volátiles totales emitidos por los híbridos tropical y templado

Valores expresados como la media \pm el error estándar. Cada media representa los datos de entre 6 y 10 réplicas expresadas como ng h^{-1} . Los compuestos están ordenados según su tiempo de retención (RT). La identificación se basó en el espectro de masa (MS), índice Kovats (KI) calculado en comparación a una serie de alcanos (C8-C20) y/o el estándar químico (CS). Las medias de la misma fila acompañadas por diferentes letras representan diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$). Las comparaciones se hicieron utilizando el test de Kruskal-Wallis, ya que los datos no presentan una distribución normal. UN: compuestos emitidos constitutivamente; FD: inducción por herbivoría; MD: inducción por daño mecánico; MeJA: inducción por aplicación de un spray de jasmonato de metilo; SA: inducción por aplicación de un spray de ácido salicílico; ACC: inducción por aplicación de un spray de ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico.

DMNT: (3E)-4,8-dimethyl-13,7-nonatriene; TMTT: (3E,7E)-4,8,12-trimethyl-1,3,7,11-decatetraene.

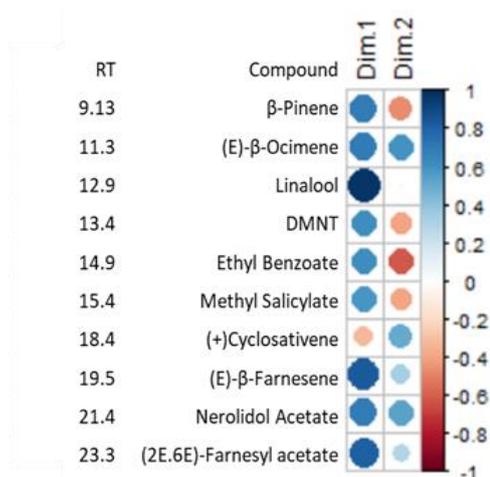
RT	KI	Compuento	UN		FD (24hs)		MD (24hs)		MeA(24hs)		MeA(24hs)		SA (24hs)		SA (24hs)		ACC (24hs)		ACC (24hs)		Identificación	Estadístico					
			Templado	Tropical	Templado	Tropical	Templado	Tropical	Templado	Tropical	Templado	Tropical	Templado	Tropical	Templado	Tropical	Templado	Tropical	Templado	Tropical							
7.90	927	α-Pineno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI, CS	H=66.39					
8.75	945	Cumeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=66.39					
9.13	973	β-Pineno	3.86±0.99 b	-	14.10±7.87 ab	2.16±0.83 ab	5.48±1.76 ab	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI, CS	H=46.79					
9.50	985	ono	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=28.72					
10.16	1005	Acetato de 3-hexenilo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI, CS	H=28.73					
10.80	1027	Eucaliptol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI, CS	H=39.19					
11.30	1050	[E]-β-Ocimeno	1.53±0.47 abc	1.55±0.64 ab	3.73 ± 1.20 ab	-	-	1.42±0.38 ab	1.01±0.34 a	2.01±0.41 abc	1.31±0.65 a	-	-	-	-	-	-	-	-	1.5±1.5 ab	1.67±1.67 ab	MS, KI, CS	H=66.01				
11.60	1056	γ-Terpineno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI, CS	H=82.75				
12.55	1087	Oxido de (E)-linalool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI, CS	H=34.48				
12.90	1099	Linalool	63.59±9.99 cde	11.77±3.39 ab	9.96±2.40 cde	16.17±6.27 abc	38.16±9.53 abc	62.97±6.27 abc	12.61±1.03 a	22.79±10.52 abc	5.11±0.92 abc	4.20±1.12 abc	15.6±7.9 abc	9.55±1.4 abc	26.76±6.48 abc	7.42±3.0 abc	1.35±0.8 abc	4.31±1.5 abc	6.68±3.07 abc	4.42±1.21 abc	5.96±2.3 abc	3.44±2.0 abc	2.63±0.87 abc	MS, KI, CS	H=60.30		
13.40	1118	DMNT	5.48±1.76 ab	2.60±1.33 a	28.94±8.86 cef	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=62.14				
14.46	1156	Desconocido 1	4.34±1.39 abcdef	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=63.09				
14.90	1175	Benzato de etilo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=73.77				
15.12	1182	Desconocido 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=73.77				
15.40	1198	Salicilato de metilo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=37.90				
16.35	1252	Desconocido 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=10.11				
17.20	1287	Isobornil acetato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=10.11				
17.40	1297	indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=10.11				
18.40	1371	(+)-Cyclohexeno	1.71±0.67 a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=71.17				
18.45	1375	Ylangeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=119.61				
18.50	1379	α-Copaeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=80.29				
18.55	1384	(E)-Geraniol acetato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=29.05				
18.73	1394	Cis-jasmone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=29.05				
19.10	1404	β-Cariofileno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=95.11				
19.25	1438	Desconocido 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=95.18				
19.27	1459	β-Gurjuneno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=28.43				
19.50	1459	(E)-Farneseno	1.86±0.57 abcde	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI, CS	H=62.08				
19.80	1483	D-Germacreno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=109.75				
20.05	1506	α-Amorfeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=80.85				
20.15	1514	α-Farneseno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI, CS	H=49.67				
20.24	1522	β-Sesquiflindreno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=79.08				
20.35	1531	Calamano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=100.02				
20.50	1545	α-Cadineno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=51.95				
20.80	1580	TMT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=49.58				
21.40	1639	Nerolidol Acetato	2.68±0.90 ab	1.85±0.58 ab	0.51±0.27 a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=66.61				
23.30	1840	acetato	2.74±0.78 bcd	3.61±0.46 cd	3.84±1.09 cd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=47.24				
23.80	1900	Homosilato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, KI	H=47.24				
Volátiles totales																							64.75±2.0 abcd	194.67±5.5 defg	64.75±2.0 abcd	151±3.1 efg	H=92.55

Anexo 6

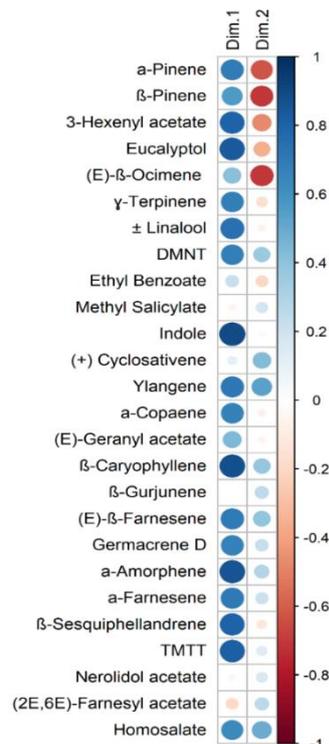
Representación gráfica de la contribución de cada variable a los componentes principales de cada PCA.

La escala de color representa el coeficiente de correlación entre las variables (COVs) y los factores (líneas de maíz). Dim. 1 corresponde a PC1 y Dim.2 a PC2. Corresponden a: **A)** la **Figura 2.4** (los volátiles emitidos constitutivamente por las plántulas de los híbridos tropical y templado); **B)** la **Figura 2.6** (Volátiles emitidos como consecuencia del daño provocado por el herbívoro); **C)** la **Figura 2.8** (Volátiles emitidos por las plántulas de maíz cómo consecuencia del daño mecánico); **D)** la **Figura 2.10** (Volátiles emitidos por las plántulas de maíz cómo consecuencia de la aplicación de jasmonato de metilo); **E)** la **Figura 2.12** (Volátiles emitidos por las plántulas de maíz cómo consecuencia de la aplicación de ácido salicílico); **F)** la **Figura 2.13** (Volátiles emitidos por las plántulas de maíz cómo consecuencia de la aplicación de ACC); **G)** la **Figura 3.5** (Volátiles emitidos constitutivamente por plántulas de maíz de la línea endocriada “Paris 2” (WT) y de 2 de sus líneas isogénicas con el fitocromo B1 (Phy B1) y B2 (Phy B2)); **H)** la **Figura 3.7** (Volátiles emitidos por las líneas WT, Phy B1 y Phy B2 cómo respuesta a la herbivoría); **I)** la **Figura 3.9** (Volátiles emitidos por las líneas WT, Phy B1 y Phy B2 cómo respuesta al daño mecánico). DMNT: (3E)-4,8-dimethyl-13,7-nonatriene; TMTT: (3E,7E)-4,8,12-trimethyl-1,3,7,11-decatetraene.

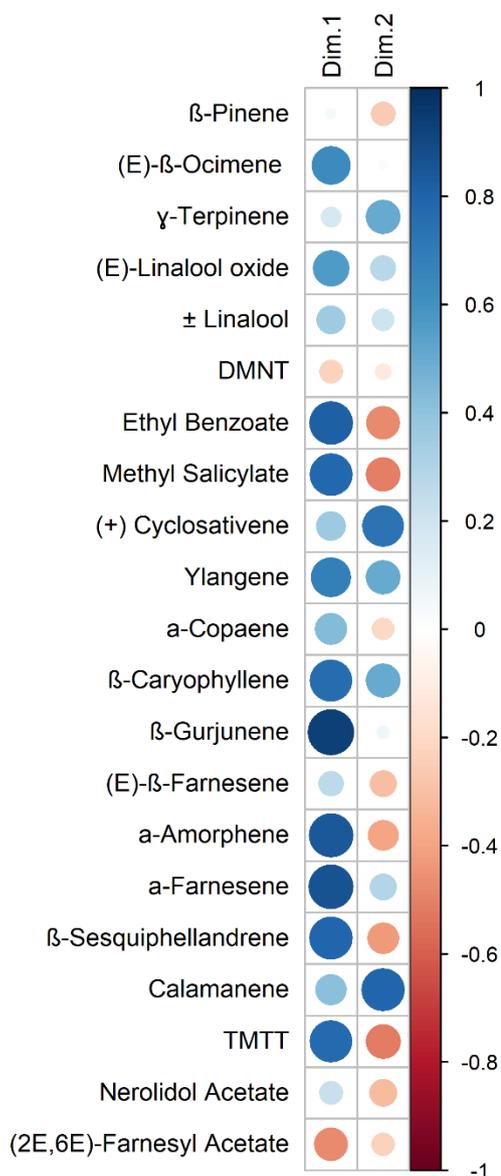
A)



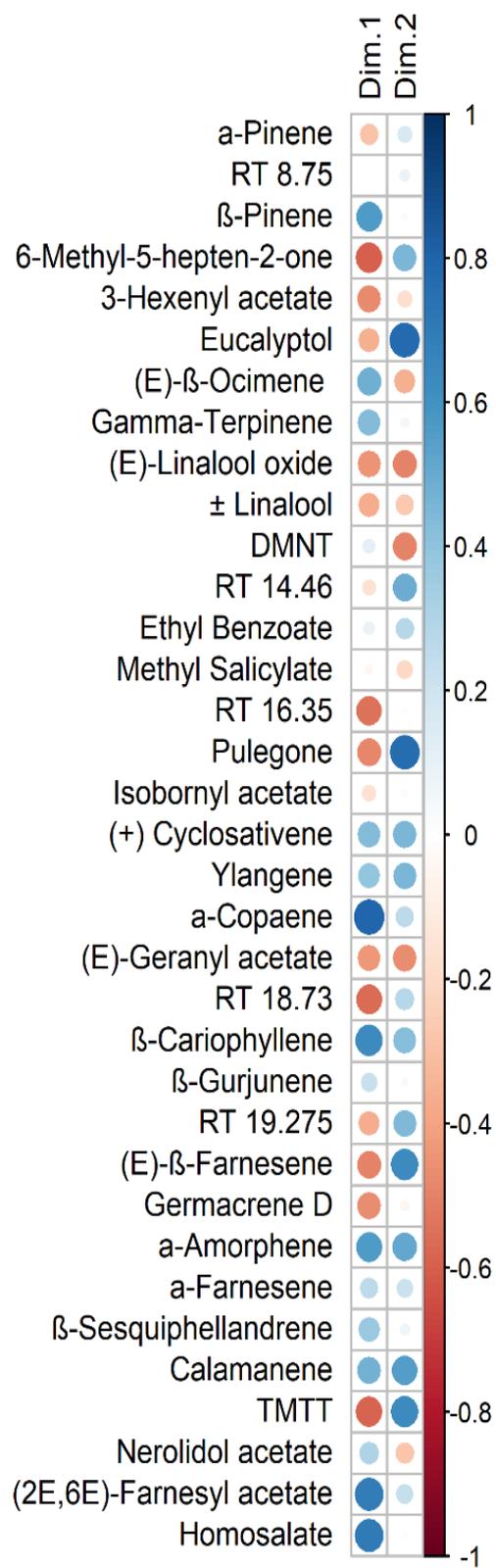
B)



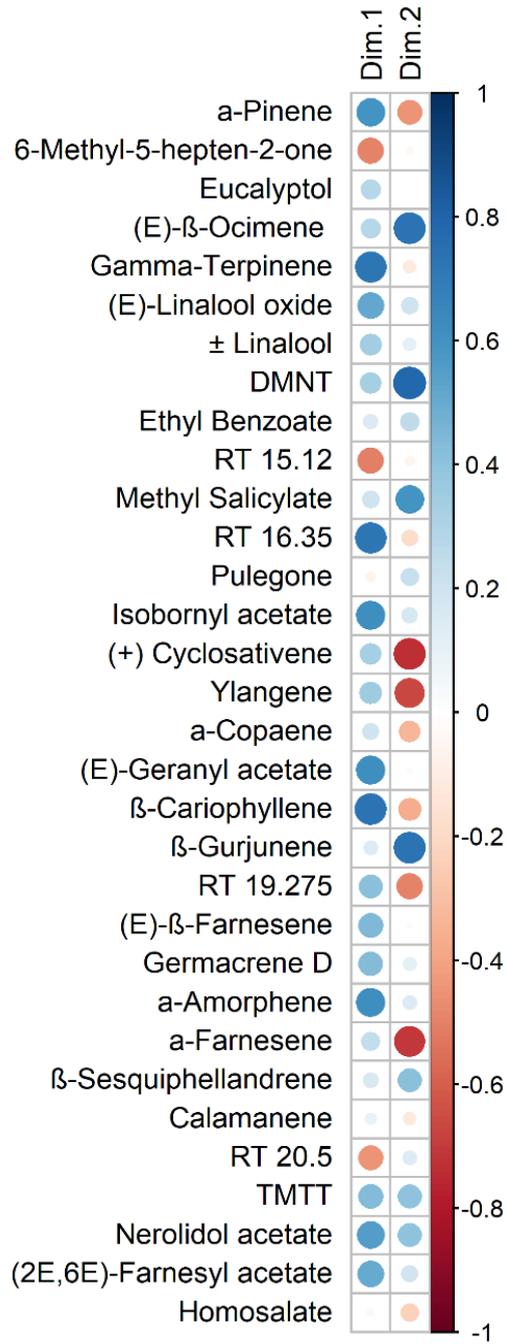
C)



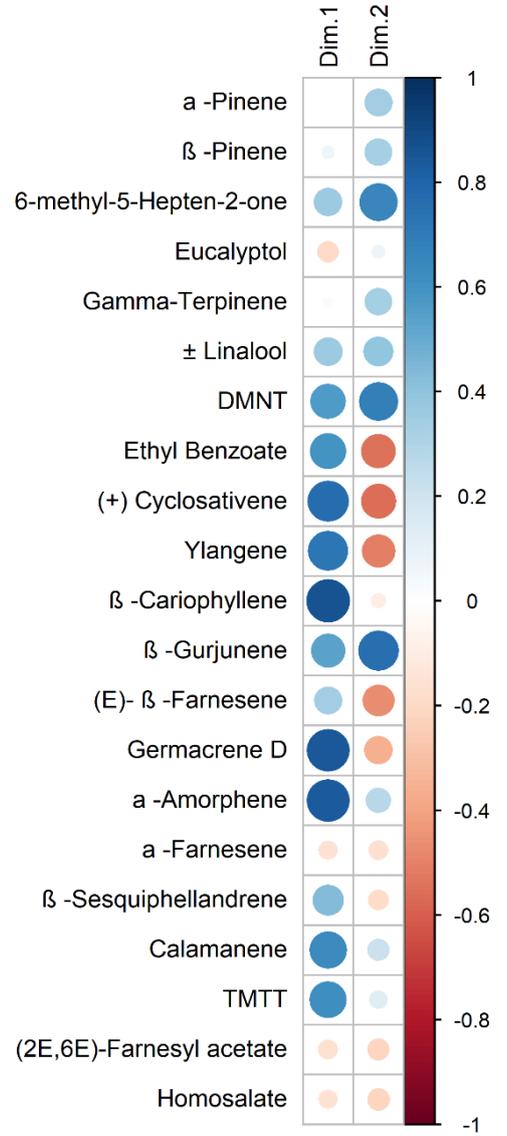
D)



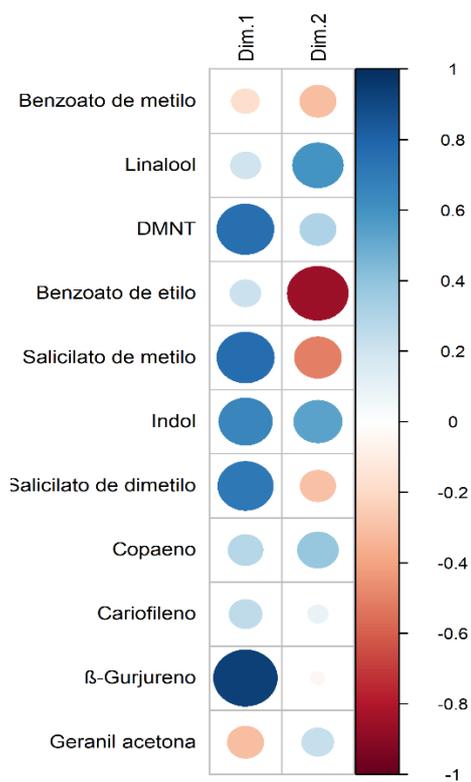
E)



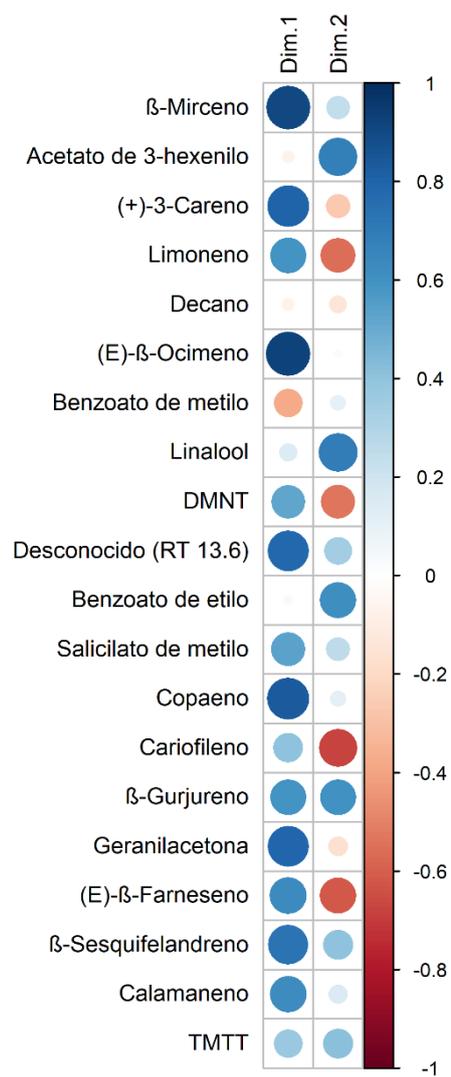
F)



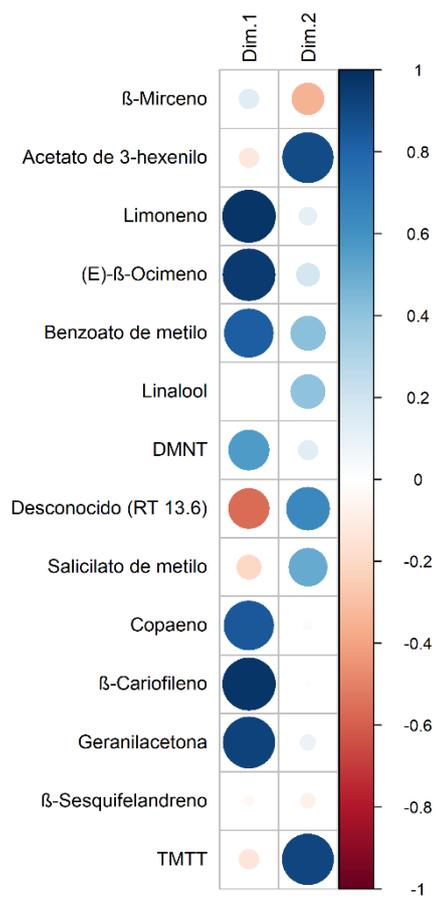
G)



H)



D)



Anexo 7:

Comparación de los niveles de fitohormonas en los tejidos foliares de las plántulas de maíz

Datos analizados mediante una ANOVA de un factor. Los datos fueron transformados logarítmicamente para cumplir con el supuesto de normalidad. Las comparaciones se hicieron utilizando el test de Duncan.

Híbrido de maíz	F	GL	Valor P
<i>Templado</i>			
JA	3.08	4; 19	0.041
JA-Ile	9.81	4; 19	0.0002
OPDA	5.10	4; 19	0.006
SA	5.76	4; 19	0.0033
ABA	10.62	4; 19	0.0001
IAA	3.08	4; 19	0.041
<i>Tropical</i>			
JA	7.54	4; 18	0.0009
JA-Ile	3.13	4; 18	0.04
OPDA	0.94	4; 18	0.462
SA	3.03	4; 18	0.045
ABA	6.27	4; 18	0.0024
IAA	8.33	4; 18	0.0006

GL= grados de libertad; JA= ácido jasmónico; JA-Ile= Jasmónico-Isoleucina; OPDA= ácido 12-oxophytodienoico; SA= ácido salicílico; ABA= ácido absícico; IAA= ácido indolacético.

Anexo 8

Volátiles totales emitidos por las plántulas de la línea endocriada Paris 2 (WT) y sus mutantes isogénicos para el fitocromo B1 (Phy B1) y B2 (Phy B2).

A) Volátiles constitutivos; B) Volátiles emitidos luego de la herbivoría (2h FD); C) Volátiles emitidos luego del daño mecánico (2h MD). Los datos se expresaron como la media \pm el error estándar. Cada media representa los datos de 5 réplicas expresadas como ng h^{-1} . Los compuestos están ordenados de acuerdo a su tiempo de retención (RT). La identificación se basó en el espectro de masa (MS), índice Kovats (KI) calculado en comparación a una serie de alcanos (C8 - C20) y/o el estándar químico (CS). Las medias de la misma fila acompañadas por diferentes letras representan diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$). Las comparaciones de la varianza se hicieron utilizando el test Duncan en las variables que cumplieron con los supuestos después de la transformación de los datos aplicando \log_{10} y el test de Kruskal-Wallis cuando los datos no presentan una distribución normal. DMNT: (3E)-4,8-dimethyl-13,7-nonatriene; TMTT: (3E,7E)-4,8,12-trimethyl-1,3,7,11-decatetraene.

A) Volátiles constitutivos

RT	KI	Compuesto	WT	Phy B1	Phy B2	Estadístico	Valor P
12.7	1090	Benzoato de metilo	4,9 \pm 2 cde	2,9 \pm 0,36 e	2,5 \pm 1,9 de	H=1,82	0,4
12.9	1097	Linalool	27,3 \pm 11,7	47,25 \pm 11,73	37,2 \pm 12,2	F=0,7	0,5
13.5	1123	DMNT	1,82 \pm 0,75 a	9,6 \pm 3,1 b	4,4 \pm 0,92 ab	H=9,26	0,01
14.9	1174	Benzoato de etilo	1,6 \pm 0,9	2,5 \pm 1,6	2,8 \pm 0,8	H=0,86	0,6
15.4	1198	Salicilato de metilo	6,9 \pm 2,93	20,7 \pm 5,25	6,94 \pm 2,17	F= 5,02	0,26
17.4	1297	Indol	1 \pm 0,3 a	4,06 \pm 1,6 b	-	H= 5,96	0,03
18.03	1345	Salicilato de dimetilo	-	3,56 \pm 1	-	H=6	0,07
18.5	1376	Copaeno	-	1,36 \pm 1,1	-	H=1,5	0,12
19.1	1424	Cariofileno	1,1 \pm 0,8	2,44 \pm 1	0,8 \pm 0,5	H=1,24	0,48
19.27	1438	β -Gurjureno	0,4 \pm 0,29 a	3 \pm 0,68 b	-	H=9,25	0,004
19.45	1454	Geranilacetona	0,9 \pm 0,50	-	-	H=3,38	0,03
		Volátiles totales	46 \pm 9,5 a	97,4 \pm 9 b	54,7 \pm 11 a	F= 7,30	0,0084

B) Volátiles recolectados después de la inducción por herbivoría

RT	KI	Compuesto	WT	Phy B1	Phy B2	Estadístico	Valor P
----	----	-----------	----	--------	--------	-------------	---------

			2h FD	2h FD	2h FD		
9.6	987	β -Mirceno	37,78 \pm 7,7 b	8,76 \pm 2,8 a	5,35 \pm 0,83 a	F=13,65	0,001
10.1	1003	Acetato de 3-hexenilo	11,37 \pm 9,29	-	10,82 \pm 4,69	H= 4,18	0,07
10.3	1009	(+)-3-Careno	8,81 \pm 4	-	-	H= 4,50	0,012
10.75	1025	Limoneno	6 \pm 2,5	3,8 \pm 0,8	2,85 \pm 0,3	H= 1,42	0,49
11.1	1036	Decano	-	1,3 \pm 0,8	-	H= 1,44	0,143
11.4	1048	(E)- β -Ocimeno	23,31 \pm 6,6 b	4,1 \pm 1,7 a	1,17 \pm 0,72 a	F=7,21	0,019
12.7	1090	Benzoato de metilo	-	1,7 \pm 0,9 a	2,1 \pm 1,4 abcd	H= 2,05	0,248
12.9	1097	Linalool	15,4 \pm 8 a	-	10,3 \pm 4,5 a	H= 7,36	0,018
13.5	1123	DMNT	16,3 \pm 8	5,9 \pm 1	5,7 \pm 4,1	F=1,59	0,262
13.6	1125	Terpeno desconocido	26,35 \pm 11,4	-	-	H= 4,50	0,012
14.9	1174	Benzoato de etilo	6,44 \pm 2,7	5,52 \pm 1,64	7,1 \pm 2,67	F= 0,12	0,89
15.4	1198	Salicilato de metilo	13,6 \pm 2,6	7,6 \pm 3,17	7,3 \pm 2,3	F=1,55	0,255
18.5	1376	Copaeno	8,86 \pm 1,6 b	1,72 \pm 0,2 a	1,25 \pm 0,17 a	F=52,53	0,0001
19.1	1424	Cariofileno	7,4 \pm 6	3,17 \pm 1	2,2 \pm 1,4	F=1,59	0,278
19.27	1438	β -Gurjureno	7,3 \pm 4,7	-	-	H= 2,05	0,07
19.45	1454	Geranilacetona	6,9 \pm 3,3	1,16 \pm 0,7	1,3 \pm 0,58	F= 3,67	0,104
19.5	1457	(E)- β -Farneseno	3,05 \pm 1,9	-	-	H= 2,05	0,07
20.23	1.521	β -Sesquifelandreno	9,2 \pm 1,7	2 \pm 0,7	1,23 \pm 0,3	F= 20,34	0,0005
20.4	1533	Calamanene	1,7 \pm 1	1,1 \pm 0,45	-	H= 2,83	0,146
20.8	1578	TMTT	5,8 \pm 3,3	-	4,3 \pm 3,2	H= 3,29	0,1
		Volátiles Totales	250 \pm 14 b	50 \pm 13 a	63 \pm 14 a	F= 12,84	0,0013

C) Volátiles recolectados después de la inducción por daño mecánico

RT	KI	Compuesto	WT 2h MD	Phy B1 2h MD	Phy B2 2h MD	Estadístico	Valop P
9.6	987	β -Mirceno	15,71 \pm 5,84 bc	4,49 \pm 2,19 ab	-	H= 4,25	0,056
10.1	1003	Acetato de 3-hexenilo	11,16 \pm 5,67	-	-	H= 4,5	0,012
10.75	1025	Limoneno	8 \pm 4 b	2,74 \pm 1,26 ab	1,22 \pm 0,5 b	H= 6,35	0,04
11.4	1048	(E)- β -Ocimeno	6,12 \pm 3,8	-	-	H= 8	0,002
12.7	1090	Benzoato de metilo	5,53 \pm 2,22	1,26 \pm 0,7	1,4 \pm 0,7	H= 4,84	0,08
12.9	1097	Linalool	35,4 \pm 21,6	-	2,72 \pm 1,6	H= 3,97	0,09
13.5	1123	DMNT	11,3 \pm 7	12 \pm 9	-	H= 5,19	0,06
14.9	1174	Benzoato de etilo	3,6 \pm 1,73	3,3 \pm 0,94	3,27 \pm 0,62	H= 05	0,977
15.4	1198	Salicilato de metilo	8,7 \pm 3,1	7,8 \pm 2,43	4,13 \pm 1,73	F= 1,03	0,388
18.5	1376	Copaeno	3,3 \pm 1,1 b	3,23 \pm 0,9 ab	0,95 \pm 0,15 a	F= 4,51	0,037
19.1	1424	β -Cariofileno	10,4 \pm 7,6	4 \pm 1,8	3,25 \pm 0,8	F= 0,9	0,44
19.45	1454	Geranilacetona	2,3 \pm 1,54	-	-	H= 2	0,07
20.23	1.521	β -Sesquifelandreno	1,3 \pm 0,6	1,64 \pm 0,8	1 \pm 0,29	F= 0,58	0,584
20.8	1578	TMTT	6,9 \pm 3,21	-	-	H= 4,5	0,012
		Volátiles Totales	130,7 \pm 15 b	45,7 \pm 17 a	18,22 \pm 4 a	H= 8,46	0,01