



**Universidad Nacional del Comahue
Centro Regional Universitario Bariloche**

**“Preferencias de hospedador y hábitat de insectos fitófagos
asociados a *Nothofagus* spp.”**



Trabajo de Tesis para optar al Título de Doctora en Biología

**Lic. Prof. Ana Laura Pietrantuono
Director: Dr. Octavio Bruzzone
Co-Directora: Dra. Valeria Fernández-Arhex**

Marzo 2015

“Si tienes un sueño en tu corazón, y de verdad crees en él, corres el riesgo de que se convierta en realidad”

Walt Disney

**“Preferencias de hospedador y hábitat de insectos fitófagos
asociados a *Nothofagus* spp.”**



ÍNDICE

RESUMEN	i
----------------	---

ABSTRACT	iii
-----------------	-----

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL

Manejo y utilización del bosque Andino-Patagónico.	1
Impacto de los insectos en la silvicultura.	3
El estudio del comportamiento de los insectos del bosque.	4
Antecedentes de estudios entomológicos realizados en el bosque Andino-Patagónico.	5
Fundamentación.	6
Objetivo General.	7
Objetivos particulares, hipótesis y predicciones.	7
Determinación y justificación del sistema de estudio.	10

CAPÍTULO 2: SISTEMA DE ESTUDIO

Las plantas hospedadoras.	13
<i>Nothofagus antarctica</i> (G. Forster) Oerst “Ñire”.	15
<i>Nothofagus dombeyi</i> (Mirb.) Oerst “Coihue”.	16
<i>Nothofagus nervosa</i> (Phil.) Dim. Et Mil. “Raulí”.	17
<i>Nothofagus obliqua</i> (Mirb.) Oerst “Roble pellín”.	18

Nothofagus pumilio (Poep. Et Endl.) Krasser “Lenga”. 19

Los insectos fitófagos. 20

Notofenusa surosa Konow 1905 (Hymenoptera: Tenthredinidae). 20

Sinopla perpunctatus Signoret 1864(Hemiptera: Acanthosomatidae). 24

Perzelia arda Clarke 1978 (Lepidoptera: Oecophoridae). 25

Polydrusus nothofagii Kuschel 1950 y *P. roseaus* Blanchard 1851
(Coleoptera: Curculionidae). 29

CAPÍTULO 3: DESARROLLO DE ENFOQUES ALTERNATIVOS PARA PRUEBAS DE PREFERENCIA

Las pruebas de preferencia. 31

Las pruebas de preferencia en la entomología. 31

Las pruebas pareadas. 32

Análisis de las pruebas pareadas. 33

Bayes y el modelo de Thurstone-Bradley Terry. 36

Las preferencias y las variables explicativas. 37

Métodos y análisis de datos en esta tesis. 38

CAPÍTULO 4: CASOS DE ESTUDIO

CASO DE ESTUDIO 1 - “Los Minadores”: Preferencias de pupación en *Notofenusa surosa* (Hymenoptera: Tenthredinidae). 40

Introducción. 40

Materiales y métodos. 43

Resultados. 49

Discusión. 52

CASO DE ESTUDIO 2- “Los Succionadores”: Preferencias de planta hospedadora en *Sinopla perpunctatus* (Hemiptera: Acanthosomatidae). 55

Introducción. 55

Materiales y métodos. 58

Resultados. 62

Discusión. 64

CASO DE ESTUDIO 3- “Los Masticadores”: Preferencias de alimentación en *Polydrusus nothofagii*, *P. roseaus* (Coleoptera: Curculionidae) y *Perzelia arda* (Lepidoptera: Oecophoridae). 68

Introducción. 68

Materiales y métodos. 70

Resultados. 74

Discusión. 78

CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN GENERAL	81
Aportes metodológicos.	83
Conclusión general.	84
BIBLIOGRAFÍA	88
ANEXOS	
ANEXO CAPÍTULO 1. Listado de especies identificadas.	109
ANEXO CAPÍTULO 4-CASO DE ESTUDIO 1.	111
ANEXO CAPÍTULO 4-CASO DE ESTUDIO 3.	112
ANEXO A: Imágenes estereoscópicas en 3D de <i>N. surosa</i> .	114
ANEXO B: Generación y selección de modelos.	116
AGRADECIMIENTOS	118
PUBLICACIÓN DE RESPALDO	123

RESUMEN

El bosque nativo Andino- Patagónico se caracteriza por la presencia de diversas especies de *Nothofagus* (Fagales: Nothofagaceae). Estas especies leñosas no sólo representan una pieza del patrimonio natural, sino que además se presentan como una alternativa productiva de cultivo. Estudiar la ecología del comportamiento de los insectos fitófagos nativos del bosque Andino-Patagónico permite estudiar los mecanismos de elección, la biología del insecto y brindan información sobre el mantenimiento del estado sanitario del bosque como así también para el Manejo Integrado de Plagas (MIP). El objetivo general de mi tesis fue estudiar las elecciones que realizan algunas especies de insectos fitófagos asociados a *N. antarctica*, *N. dombeyi*, *N. obliqua*, *N. nervosa* y *N. pumilio* durante su comportamiento de búsqueda de recursos de hábitat y/o alimenticios. Como así también determinar qué variables explican dichos comportamientos. Para ello, desarrollé una metodología experimental y un protocolo de análisis de datos innovador para pruebas de preferencia pareadas y llevé a cabo tres casos de estudio. En el primer caso, mi objetivo fue estudiar el comportamiento de búsqueda de hábitat de pupación y la relación con las propiedades físico-químicas del sustrato para el minador de hojas *Notofenusa surosa* (Hymenoptera: Tenthredinidae). Seleccioné diferentes tipos de sustratos y evalué en cuál sustrato formaba la pupa. Mediante la generación de varios modelos determiné que estas larvas son capaces de elegir su sustrato y el porcentaje de materia orgánica fue el parámetro que mejor explicó sus elecciones. En el segundo caso de estudio, mi objetivo fue evaluar la conducta de selección de la planta hospedadora en el insecto succionador *Sinopla perpunctatus* (Hemiptera: Acanthosomatidae) y determinar si parámetros como la edad y la ceniza volcánica influyen en el comportamiento del insecto durante este proceso. Evalué las preferencias con ramas de *N. antarctica*, *N. nervosa*, *N. obliqua* y de una planta de plástico (control). La variable respuesta fue la elección de planta en forma diaria para cada individuo durante una semana. Las plantas preferidas para *S. perpunctatus* fueron *N. antarctica* y *N. obliqua*, mientras que *N. nervosa* ocupó el segundo lugar. Las defensas físicas y/o químicas de las hojas entre las especies explicarían esta escala de preferencias. A partir del modelo seleccionado pude analizar que el comportamiento del insecto no resulta afectado por las cenizas o el transcurso del tiempo, sino que está determinado por el efecto hogar, es decir una vez que el insecto elige su planta hospedadora decide establecerse y no cambiar. En este aspecto la falta de

motivación podría ser explicada por la “Teoría de forrajeo óptimo”. Para el tercer caso de estudio, el objetivo fue evaluar las preferencias de una planta hospedadora para tres especies de insectos masticadores *Polydrusus nothofagii*, *P. roseaus* (Coleoptera: Curculionidae) y *Perzelia arda* (Lepidoptera: Oecophoridae), y determinar la relación entre sus preferencias y las propiedades nutricionales de las hojas. Seleccioné 22 árboles diferentes del género *Nothofagus* y dos plantas no hospedadoras a modo de control (*Populus nigra* y *Salix nigra*). Recolecté muestras de hojas de las plantas hospedadoras y medí sus propiedades nutricionales. Simultáneamente coloqué un insecto dentro de un contenedor con hojas de dos tipos de árboles diferentes (estímulos). Luego observé en cuál de los dos estímulos se habían alimentado. A partir de los resultados establecí una escala de preferencias de cada árbol para cada insecto. Las tres especies de insectos se alimentaron de los *Nothofagus* ofrecidos y presentaron escalas de preferencia diferentes. A partir de los modelos generados con las propiedades de las hojas, pude comprobar que la celulosa es la propiedad que mejor explica las elecciones realizadas por los insectos. Sin embargo, las especies de *Polydrusus* prefieren hojas con menor contenido de celulosa, mientras que *P. arda* es opuesta. Por lo tanto, la celulosa puede actuar como una defensa anti-herbivoría para los Curculionidae. Los estudios del comportamiento realizados mediante este tipo de pruebas de preferencia brindan conocimientos biológicos sobre los insectos del bosque y establecen un punto de partida hacia la comprensión de las implicancias que poseen estos insectos estudiados en los planes de manejo silvícola y en el mantenimiento del estado sanitario del bosque.

-Palabras clave: Bosque Nativo, Comportamiento, Enfoque preventivo, Insectos defoliadores, Manejo Integrado de Plagas, Modelo de Thurstone-Bradley Terry, Pruebas de preferencia.

ABSTRACT

The Andean-Patagonian native forest is characterized by the presence of several species of the *Nothofagus* genus (Fagales: Nothofagaceae). These woody species not only represent a piece of natural heritage, also are an alternative crop production. Studying the behavioral ecology of the phytophagous insects from the native Andean-Patagonian forest allows studying the mechanisms of choice, insect biology and providing information about forest health as well for the Insect Pest Management (IPM). The general aim of my thesis was to study the choices that perform some species of phytophagous insects associated with *N. antarctica*, *N. dombeyi*, *N. obliqua*, *N. nervosa* and *N. pumilio* during the selection behavior of habitat and food resources. As well to determine which variables explain such behavior. To do this, I developed an experimental methodology and innovative protocol of data analysis for paired preference tests and conducted three case studies. In the first case, my aim was to study the searching behavior of habitat for pupation and the relationship with the physicochemical properties of the substrate on the leafminer *Notofenusa surosa* (Hymenoptera: Tenthredinidae). I selected different substrates and evaluated in which substrate formed the pupa. Through the generation of multiple models I determined that these larvae selected their substrate, on the basis on the percentage of organic matter. In the second case study I evaluated if parameters as age and volcanic ash influence in the searching behavior during host plant choice of the sap feeder *Sinopla perpunctatus* (Hemiptera: Acanthosomatidae). I evaluated the host plant preferences with branches of *N. antarctica*, *N. nervosa*, *N. obliqua* and a plastic plant (control). The response variable was the host plant daily choice of each individual for a week. *S. perpunctatus* preferred *N. antarctica* and *N. obliqua*, while *N. nervosa* was in second place. The physical and / or chemical defenses of leaves between species may explain this preference scale. Through the selected model I was able to analyze that the insect behavior is not affected by ash or age, but is determined by the home effect, is to say once the insect chooses its host plant decides to settle down and not move. In this respect the decreasing motivation could be explained according to “Optimal foraging theory”. For the third case study, the aim was to evaluate the host plant preferences for three species of chewing insects *Polydrusus nothofagii*, *P. roseus* (Coleoptera: Curculionidae) and *Perzelia arda* (Lepidoptera: Oecophoridae), and determine the relationship between their preferences and the nutritional properties of the leaves. I selected twenty-two trees of the

Nothofagus genus as well two non-host plants as control (*Populus nigra* and *Salix nigra*). I collected leaf samples from the host plants and I measured their nutritional properties. Simultaneously, I placed an insect inside a container with leaves of two different trees (stimuli). After that I observed in which of the two stimuli they fed. Based on the results I established a preference scale for each tree and for each insect. The three species of insects were fed on the *Nothofagus* offered. Subsequently, I related these preferences to the nutritional properties. The results showed that cellulose was the property that best explains the choices made by insects. However, *Polydrusus* species preferred leaves with low cellulose content, while *P. arda* is opposite. Therefore, the cellulose may be a defense for Curculionidae herbivory. Behavioral studies conducted by this type of preference tests provide biological knowledge on forest insects and establish a starting point toward an understanding of the implications of the studied insects in forestry management plans and in maintaining forest health.

- **Keywords:** Behavior, Insect defoliators, Integrated Pest Management, Model Thurstone-Bradley Terry, Native Forest, Preference tests, Preventive approach

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

El bosque Andino-Patagónico es un bioma ubicado en las regiones montañosas del sur de Chile y sudoeste de la Argentina. En Argentina tiene una superficie de aproximadamente 2.600.000 hectáreas y se extiende como una estrecha franja recostada sobre el macizo cordillerano desde el norte de Neuquén hasta Tierra del Fuego e Isla de los Estados. Se caracteriza por un clima templado- frío y una geomorfología marcada por la presencia de los Andes, los cuales funcionan como barreras naturales para los vientos húmedos del Pacífico provocando un gradiente de precipitaciones descendente Oeste-Este (Dimitri 1972). Asimismo, en estos ambientes predominan volcanes cuyas cenizas han originado gran parte de los suelos fértiles actuales (Donoso *et al.* 2004). En las zonas del Este la vegetación dominante está representada por el ciprés de la cordillera (*Austrocedrus chilensis*), mientras que en las zonas más húmedas del Oeste dominan los bosques de *Nothofagus* (Ward 1965; Ramírez 1987).

Manejo y utilización del bosque Andino-Patagónico.

Los bosques de la Patagonia han sido utilizados desde finales del siglo XIX con fines ganaderos o para la extracción de leña y madera (Donoso *et al.* 2006). En muchos casos la explotación excesiva y sin un manejo adecuado provocó la conversión del bosque a pastizales (Díaz Vaz *et al.* 2002). En el año 1948 y bajo el marco de la Ley Nacional N° 13273, la Administración Nacional de Bosques y posteriormente el Instituto Forestal Nacional impulsó un esquema de Manejo Forestal orientado al ordenamiento territorial de los bosques. Este método implicaba la extracción de los mejores ejemplares maderables del bosque, provocando una degradación en su calidad productiva (Martínez Pastur *et al.* 2003). Asimismo, en los años 70 el estado nacional impulsó en todo el país la forestación con especies exóticas de rápido crecimiento, muchas de estas plantaciones se desarrollaron con pináceas en áreas de bosques nativos (Barbero *et al.* 2011). Las plantaciones de especies leñosas nativas generan la posibilidad de disminuir la presión

de aprovechamiento sobre el bosque nativo, manteniendo el uso del recurso y permitiendo diversificar la producción forestal generalmente centralizada en especies exóticas (Donoso 1997; Gallo *et al.* 2000; Donoso *et al.* 2004).

Algunas especies arbóreas del bosque nativo son muy cotizadas y no solamente desde el aspecto maderero, tal es el caso de *N. antarctica* cultivada como especie ornamental en Noruega y Dinamarca (Sondergaard 1997). Asimismo, *N. pumilio* es una especie que ha sido utilizada para reforestación y restauración de zonas afectadas por incendios (Godoy & Defossé 2004; Azpilicueta *et al.* 2010). Mientras que ciertos ejemplares de *N. nervosa*, ubicados dentro del Parque Nacional Lanín, poseen la mayor variación genética en la especie y actuarían como reservorio genético (Gallo *et al.* 2003). En base a esto y debido a sus características como estatus de conservación (explotación pasada, riesgo de extinción de poblaciones, características y tamaño de su área de distribución natural, etc.) e importancia socio-económica, algunas especies como *N. antarctica* “ñire” (Forster) Oerst., *N. nervosa* “raulí” (Phil.) Dim. et Mil., *N. obliqua* “roble pellín” (Mirb.) Oerst. y *N. pumilio* “lenga” (Poepp. & Endl.) Krasser se encuentran bajo algún régimen de protección y manejo silvícola (Laclau 1997; Schlichter & Laclau 1998; Gallo *et al.* 2006).

Según Martínez Pastur y colaboradores (2003), el manejo forestal en la Patagonia se encuentra muy distante del modelo teórico y del uso sustentable del recurso. De acuerdo a datos publicados por la FAO (2007) entre los años 1997 y 2007 se han eliminado en nuestro país casi tres millones de hectáreas de bosques por corrimiento de la frontera agrícola y ganadera. Es por ello que en el año 2006 se desarrolló el “Plan de domesticación de especies nativas” que tiene como objetivo generar el conocimiento y la tecnología necesarios para introducir exitosamente al cultivo especies forestales nativas con la finalidad de incrementar la producción de madera de calidad del país, recuperar ecosistemas boscosos degradados y mantener su función productiva y de servicios. Para ello, es necesario desarrollar información básica en base a criterios genéticos, arquitecturales y eco-fisiológicos que permitan la formulación de pautas para el manejo del recurso boscoso y domesticación (Gallo *et al.* 2006).

Impacto de los insectos en la silvicultura.

El interés creciente sobre el manejo y conservación de los bosques nativos refleja la necesidad de realizar estudios que apunten a responder de qué manera y en qué grado puede verse afectado el desarrollo de estos bosques debido a diversos agentes (Baldini & Pancel 2000; Lanfranco & Ruíz 2010). En ocasiones se suele pensar que los insectos exóticos son los principales causantes de daño por herbivoría en los ambientes naturales. No obstante, algunas especies nativas pueden desarrollar estallidos poblacionales y causar un efecto significativo en la dinámica de los bosques, a pesar de estar sujetos a la presión causada por enemigos naturales, depredadores, enfermedades, condiciones del hospedador y los factores climáticos (Veblen *et al.* 1996 Dajoz 2001; Paritsis *et al.* 2009; Robert & Gara 2010; Ciesla 2011; Paritsis & Veblen 2011). Incluso pueden llegar a afectar plantaciones de especies exóticas como es el caso de *Ormiscodes* sp. que durante el estado larval se comporta como defoliador de especies nativas y de pino insigne o *Pinus radiata* (Gara 1978; Gara *et al.* 1980).

En la actualidad son abundantes los bosques de especies nativas cuya dinámica poblacional resulta afectada por la presencia de insectos herbívoros (Dimarco *et al.* 2004). Asimismo, las plantaciones con árboles de especies nativas resultan igualmente susceptibles a su propio complejo de insectos nativos debido a una mayor disponibilidad de alimento y falta de competencia (Ciesla 2011). Según Baldini y Pancel (2000) el daño excesivo causado por los insectos fitófagos puede traer varias consecuencias en los individuos afectados:

- Menor capacidad fotosintética (reducen la producción de hidratos de carbono, lo cual incidirá negativamente en la nutrición y crecimiento del árbol afectado).
- Alteración en la transpiración normal y en la traslocación de alimentos (interrumpen el transporte de fluidos y nutrientes).
- Debilitación del individuo afectado (esto puede permitir la infección foliar por patógenos oportunistas).

Desarrollar conocimientos básicos sobre los insectos fitófagos presentes en el bosque contribuye a las prácticas silvícolas, al mantenimiento del estado sanitario del bosque y al conocimiento para el Manejo Integrado de Plagas (MIP). Un adecuado manejo silvícola posee un enfoque preventivo contra las potenciales plagas y

enfermedades forestales, estableciendo las bases sanitarias de los bosques y nuevas plantaciones (Robredo & Cadahia 1992; Morales *et al.* 2007; Attis Beltrán *et al.* 2013).

El estudio del comportamiento de los insectos del bosque.

El estudio del comportamiento de los insectos contribuye tanto al Manejo Integrado de Plagas como a la comprensión de las interacciones entre las especies y su posible impacto sobre el funcionamiento del ecosistema (Price *et al.* 2011). El comportamiento es el medio por el cual un organismo se relaciona e interactúa con su entorno (Schowalter 2006). Gullan y Cranston (2000) sostienen que el éxito de los insectos depende en gran medida de la capacidad que poseen para responder e interpretar diversas señales de su entorno. Mediante el comportamiento de búsqueda los insectos adquieren los recursos necesarios para su éxito (inmediato o futuro), ya sea alimentos, pareja, refugio, sitios de oviposición y hábitat (Bell 1990; Matthews & Matthews 2010). Por lo tanto, el estudio del comportamiento de un insecto permite inferir cuáles son sus requerimientos y preferencias; de allí la necesidad de cuantificar la variación en el comportamiento y los mecanismos subyacentes (Krebs & Davies 2004; Owens 2006). Estudios de comportamiento bajo condiciones de campo permiten evaluar cuáles son los recursos que el insecto aprovecha en el ambiente en el que se encuentra bajo diversas presiones de selección. No obstante, lo que el individuo utiliza está fuertemente determinado por la disponibilidad, variación espacio temporal, competencia y el riesgo de convertirse en alimento de otros (Bell 1990; Matthews & Matthews 2010). Bajo condiciones de laboratorio estas presiones se encuentran controladas, lo cual también permite realizar réplicas precisas, que por su naturaleza serían muy difíciles de estudiar en el campo, y de esta forma establecer un punto de partida para conocer cuáles recursos pueden realmente aprovechar independientemente de estas presiones (Owens 2006; Price *et al.* 2011).

Antecedentes de estudios entomológicos realizados en el bosque Andino-Patagónico.

Los primeros trabajos de investigación enfocados en el estudio de los insectos asociados a los *Nothofagus* del bosque Andino Patagónico se remontan a finales de la década de los 80. Desde aquel entonces los trabajos descriptivos constituyen gran parte de la literatura desarrollada en esta temática. Principalmente tuvieron como objetivo nombrar y describir qué especies de insectos se encuentran asociadas a los *Nothofagus* spp. (Gentili & Gentili 1988; Welch 1988; Giganti & Dapoto 1990; McQuillan 1993; Veblen *et al.* 1996; Bauerle *et al.* 1997; Claros & Serey 2001; Faúndez 2009a; Paritsis *et al.* 2010; Vergara & Jerez 2010). El primer análisis que incluyó el estudio del estado fitosanitario de los *Nothofagus* de Chile, desde el punto de vista entomológico, fue el trabajo realizado por Grandon (1996). En este trabajo se evaluaron los tipos de daño y el impacto que puede causar cada una de las especies de insecto asociada a las Nothofagaceas estudiadas. Asimismo, Lanfranco y colaboradores (1999) realizaron un monitoreo durante dos años en el cual evaluaron el daño de varias especies de insectos defoliadores en *N. obliqua*. En ambos trabajos se concluye que los insectos defoliadores no ocasionan problemas significativos en términos de mortalidad de árboles. Posteriormente, se creó el primer Manual de Plagas y Enfermedades del Bosque Nativo en Chile, el cual reúne todos los antecedentes bibliográficos conocidos para 72 agentes de daño biótico y abiótico, complementado con observaciones de daño y con imágenes de los procesos de degradación del bosque (Baldini & Alvarado 2008).

En la última década, se han desarrollado varios trabajos que han ampliado el enfoque descriptivo y han cuantificado y correlacionado las tasas de herbivoría de varios gremios de insectos (principalmente masticadores) con diferentes tipos de factores. Especialmente factores extrínsecos como la disponibilidad y calidad del hospedador (Russel *et al.* 2004; Lavandero *et al.* 2009; Rousseaux *et al.* 2009; Chorbadjian & Francino 2013), climáticos- ambientales (Mazía *et al.* 2004; Chaneton *et al.* 2014) y otros factores bióticos que favorecen o perjudican la capacidad de los insectos para sobrevivir (Russel *et al.* 2000; Mazía *et al.* 2004, 2009; Garibaldi *et al.* 2010; 2011a, b; Altmann 2011; Paritsis *et al.* 2012). Escasos trabajos han integrado y evaluado cómo la herbivoría y *performance* están relacionadas con los cambios estacionales y la calidad de las hojas (véase Paritsis & Veblen 2010; Mazía *et al.* 2012).

Por otra parte, hasta el momento los antecedentes que evalúan cómo los factores intrínsecos de los insectos (*e. g.* estado fisiológico, capacidades biológicas, percepción, comportamiento y preferencias) influyen en la interacción que establecen con sus plantas hospedadoras, no son suficientes (ver Russel *et al.* 2004).

Fundamentación

Estudiar la ecología del comportamiento y las elecciones que realizan los insectos fitófagos nativos del bosque Andino-Patagónico bajo condiciones de laboratorio permite en primera instancia estudiar los mecanismos de elección y la biología del insecto y en última instancia brindar un punto de partida hacia el MIP de tal forma de inferir la vulnerabilidad de un ambiente de resultar afectado de acuerdo a los recursos que posee. Este tipo de estudios, comunes en ensayos de control biológico, podrán aportar al conocimiento de la ecología y de la historia natural de los insectos fitófagos de la Patagonia, como así también al manejo silvícola y al desarrollo de planes de conservación. De esta manera, se pueden seleccionar enemigos naturales que sean específicos de una especie dada, y que no ataquen a otra especie distinta. Inversamente, utilizando ese enfoque se pueden seleccionar variedades de plantas resistentes a plagas conocidas o potenciales (Van Driesche *et al.* 2007). Sin embargo, en este último caso, es necesario hacer los estudios a una escala más amplia y los métodos de pruebas de preferencia más utilizados pueden resultar insuficientes (Bruzzone & Corley 2011), puesto que están limitados a un máximo de seis opciones de hospedadores (Raffa *et al.* 2002).

Para inferir el rango de hospedadores, es necesario realizar experimentos de laboratorio, puesto que los experimentos de campo suelen estar afectados por tener un menor control en las condiciones experimentales. Los experimentos de laboratorio ayudan a comprender las tasas de herbivoría encontradas en el campo, debido a que los patrones observados pueden depender además de la preferencia de hospedadores en sí, de la dinámica poblacional, de comportamientos territoriales y/o gregarios que distorsionan los resultados de maneras opuestas e incontrolables, de la presencia de enemigos naturales y otros factores más (Begon *et al.* 2005, Schoonhoven *et al.* 2005). Los experimentos de preferencia en condiciones de laboratorio, al poder controlar

distintas variables, permiten realizar predicciones sobre nuevas asociaciones y no sólo de lo que se observa en el campo y bajo esas circunstancias.

A partir de lo planteado anteriormente y en base a la escasez de conocimientos se pone en evidencia la necesidad de desarrollar trabajos enfocados en esta temática y desarrollados en los diversos gremios de insectos fitófagos. Particularmente, estudios sobre el comportamiento de selección de recursos como el hábitat y alimento en los insectos asociados a las especies de *Nothofagus* que se encuentran en el bosque Andino-Patagónico y forman parte de planes de manejo y conservación. Asimismo, es necesario lograr una mayor eficiencia de los métodos de pruebas de preferencia para mejorar las inferencias de especificidad a un número mayor de posibles plantas hospedadoras. De esta manera se pretende mejorar tanto el diseño experimental como el análisis de datos. De tal forma que en el diseño experimental se puedan evaluar un gran número de estímulos sin afectar la capacidad de elección del individuo testeado. Por otra parte, en cuanto al análisis de datos se pretende utilizar un enfoque innovador para el estudio del comportamiento de elección en insectos.

OBJETIVO GENERAL:

Mi tesis tuvo como finalidad estudiar las elecciones que realizan algunas especies de insectos fitófagos asociados a *N. antarctica*, *N. dombeyi*, *N. obliqua*, *N. nervosa* y *N. pumilio* durante su comportamiento de búsqueda de recursos de hábitat y/o alimenticios. Como así también determinar las variables que explican dichos comportamientos.

Objetivos particulares, hipótesis y predicciones.

1. Objetivo: Desarrollar enfoques alternativos de pruebas de preferencia que permitan evaluar un mayor número de hospedadores e integrar variables explicativas dentro del análisis ya sean de carácter discreto (*e. g.* características foliares) o continuo (*e. g.* efecto del tiempo).

2. Objetivo: Estudiar el comportamiento de búsqueda de hábitat de pupación para la larva de un insecto minador y estudiar la relación con las propiedades físico-químicas del sustrato (Caso de estudio 1).

Hipótesis 2.1: Las larvas forman la pupa en aquellos sustratos que resulten adecuados de acuerdo a sus necesidades y requerimientos.

Predicción 2.1: Por ello, el insecto minador presentará una escala de preferencias frente a los sustratos ofrecidos y las elecciones que realice estarán determinadas en función de alguna de las características físico- químicas del suelo.

3. Objetivo: Analizar el comportamiento de búsqueda de planta hospedadora en un insecto succionador y determinar cómo influyen determinados factores extrínsecos (presencia de ceniza volcánica) e intrínsecos (edad) en las elecciones que realiza (Caso de estudio 2).

Hipótesis 3.1: Las características foliares de las distintas especies de plantas hospedadoras determinan las elecciones que realizan los insectos succionadores durante su comportamiento de búsqueda.

Predicción 3.1: Estos insectos, tendrán una mayor preferencia por hojas de menor grosor y pilosidad debido a sus hábitos como insectos succionadores.

Hipótesis 3.2: Factores extrínsecos como la presencia de ceniza volcánica y/o factores intrínsecos del insecto (motivación, edad) pueden influenciar el comportamiento de búsqueda de planta hospedadora.

Predicción 3.2.1: Los insectos evitarán las plantas con ceniza volcánica, debido a su efecto abrasivo.

Predicción 3.2.2: Una vez que el insecto encuentre su hábitat adecuado para desarrollarse, disminuirá sus movimientos y se establecerá en su planta preferida.

4. Objetivo: Estudiar las preferencias de plantas hospedadoras en insectos masticadores (esqueletizadores y pegadores) y la relación con las características de palatabilidad y digestibilidad de las hojas (Caso de estudio 3).

Hipótesis: 4.1: Cada especie de insecto estudiada posee su propio comportamiento de búsqueda de planta hospedadora.

Predicción 4.1: Cada especie de insecto tendrá una especie de planta preferida, según sus requerimientos y las propiedades de las plantas.

Hipótesis 4.2: La celulosa, lignina y contenido proteico son factores que determinan la palatabilidad, digestibilidad y preferencias de una planta hospedadora para el insecto herbívoro asociado.

Predicción 4.2: Para los insectos esqueletizadores un alto contenido de celulosa y lignina provocará una disminución de la preferencia alimenticia, debido a sus hábitos de evitar las nervaduras de las hojas que poseen una mayor dureza. Mientras que para las larvas de pegadores un alto contenido de proteínas provocará un aumento en sus preferencias, debido a sus requerimientos nutricionales en esta etapa del desarrollo.

Determinación y justificación del sistema de estudio.

Para definir los sistemas que serían objeto de mis casos de estudio, durante la temporada de verano 2010-2011 (Diciembre-Marzo), seleccioné cuatro sitios ubicados dentro de la región Andino Patagónica en los parques nacionales Lanín y Nahuel Huapi (provincias de Río Negro y Neuquén, Argentina) (Cabrera 1976). Estos sitios fueron seleccionados ya que presentan diferencias en cuanto a la composición de las especies de *Nothofagus* presentes (Figura 1.1). Quilanlahue es el más diverso y abundante en cuanto a las especies de *Nothofagus*, *N. antarctica*, *N. dombeyi*, *N. nervosa* y *N. obliqua*. En el sitio Casa de piedra y en el camping “La Querencia” abundan *N. antarctica* y *N. dombeyi* y escasos ejemplares *N. pumilio*. Mientras que en el vivero del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Bariloche (INTA EEA Bariloche), dominan *N. nervosa* y *N. obliqua* y ejemplares híbridos (Donoso *et al.* 1990), que coexisten con escasos individuos de *N. antarctica*, *N. dombeyi* y *N. pumilio*.

En cada uno de estos sitios observé entre 20 y 40 árboles (dependiendo la abundancia del sitio) y recolecté cada 15-20 días mediante colecta activa (*i.e.* recoger los individuos físicamente desde su hábitat) los insectos presentes sobre sus plantas hospedadoras. Específicamente, recolecté insectos folívoros (tanto en estados adultos como en estados inmaduros) que se encontraban sobre las distintas especies de Nothofagaceas presentes en cada sitio. Asimismo, categoricé su abundancia en tres categorías (Muy abundante cuando encontraba más de 50 ejemplares; Abundante cuando encontraba entre 15 a 50 ejemplares; Rara o escasa cuando eran menos de 10). Dado que los sitios poseen ejemplares de diversos rangos etarios, en el caso de que los árboles superaran los dos metros de altura seleccioné al azar 5 ramas por individuo y realicé, con ayuda de una tijera y pértiga, cortes de rama de un grosor menor o igual a 2cm y las coloqué en bolsas. Tanto para la recolección de insectos como para la recolección del material vegetal contaba con la autorización de la Asociación de Parques Nacionales para trabajar en ambos parques. Posteriormente transporté todo el material colectado a las instalaciones del INTA EEA Bariloche y los clasifiqué de acuerdo a su gremio de alimentación. El sitio con mayor abundancia y diversidad de insectos corresponde a Quilanlahue, datos similares fueron publicados por Welch (1988). Las especies más abundantes de cada gremio en ese sitio también se encuentran presentes en el vivero de INTA EEA Bariloche, esto quizás sea debido en parte a que

los plantines y árboles que allí se desarrollan provienen en gran medida de semillas recolectadas en la zona¹. Por otra parte, en “Casa de Piedra” y en el camping “La Querencia” no pude localizar una población significativa para cada gremio de insecto. Por ello, decidí analizar aquellas especies que se encontraban en forma abundante tanto en Quilanlahue como en el vivero del INTA.

A partir de los insectos recolectados en estos sitios pude realizar la clasificación taxonómica de aquellos que completaron sus ciclos de vida o se encontraban en estado adulto. En el Anexo Capítulo 1 se encuentra un listado de las especies encontradas. Para poder llevar a cabo los ensayos para los casos de estudio fue necesario establecer los sistemas de estudio en base a mis observaciones, registros bibliográficos y colaboración de distintos especialistas. Como así también fue necesario sobrellevar las dificultades que acompañan la cría/mantenimiento de insectos poco estudiados, la variabilidad de la abundancia de los mismos y el desarrollo de una metodología de diseño experimental y de análisis de datos poco estudiada.

En base a lo expuesto anteriormente, seleccioné los siguientes insectos: *Notofenusa surosa* Konow (Hymenoptera: Tenthredinidae), *Sinopla perpunctatus* Signoret (Hemiptera: Acanthosomatidae), *Perzelia arda* Clarke (Lepidoptera: Oecophoridae), *Polydrusus nothofagii* Kuschel y *P. roseaus* Blanchard (Coleoptera: Curculionidae). Si bien *Ditomotarsus punctiventris* (Hemiptera: Acanthosomatidae) y *Ormiscodes* sp. (Lepidoptera: Saturniidae) también podrían haber sido seleccionadas para los ensayos su cría se vio dificultada por el desarrollo de parasitoides (Pietrantuono *et al.* 2013b).

¹ Durante el proceso de recolección de semillas para el desarrollo de plantines en el vivero, se realiza una colecta de ramas (con sus insectos incluidos) de árboles con alta producción de semillas y de alta calidad maderera (Azpilicueta *et al.* 2010). Con lo cual, ocurre una inmigración accidental (ecesis) de los insectos fitófagos.

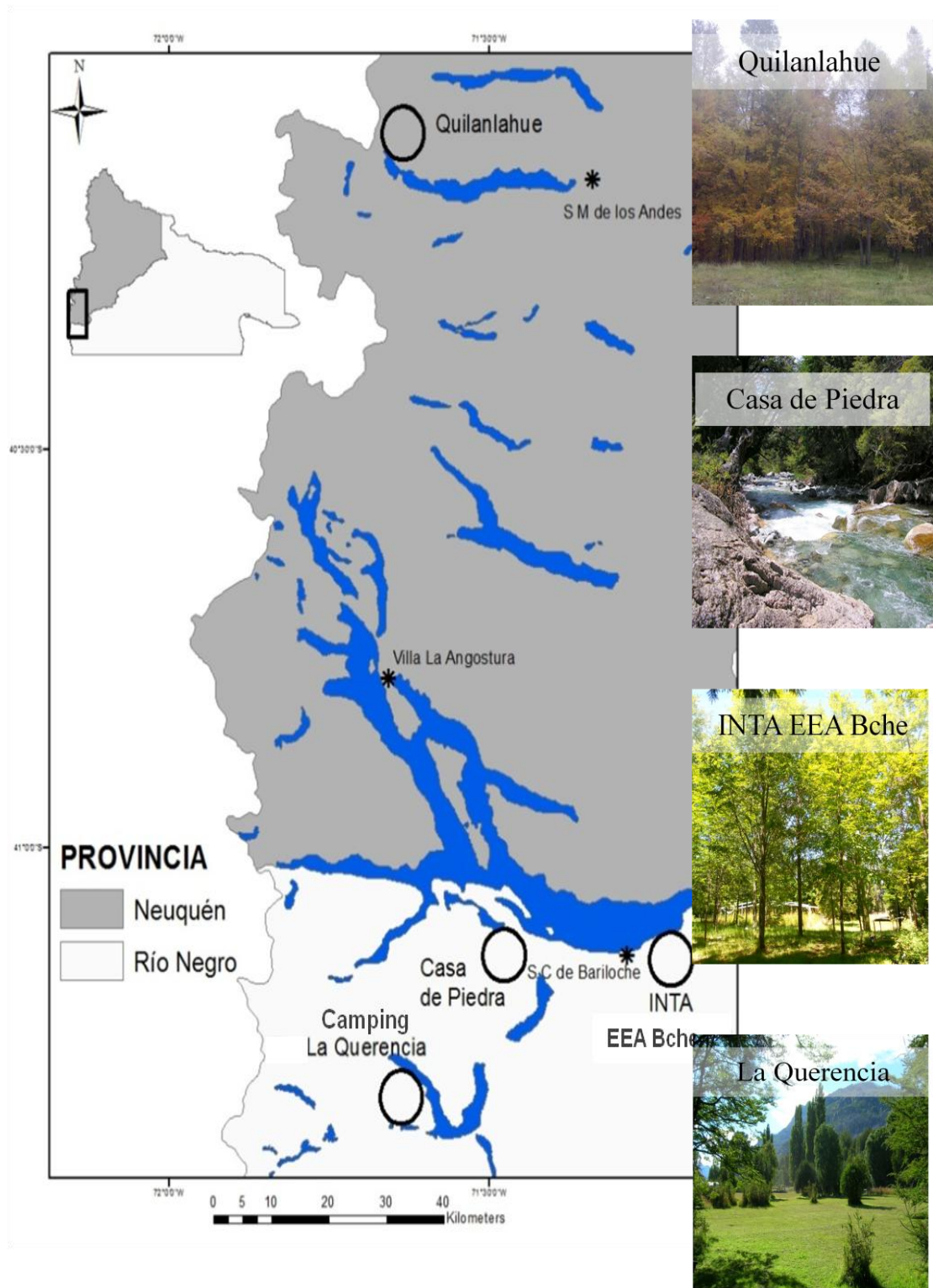


Figura 1.1 Mapa de los sitios de recolección en las provincias de Río Negro y Neuquén (Argentina) (Realizado por el Med. Vet. Fernando Raffo- INTA EEA Bariloche).

CAPÍTULO 2

SISTEMA DE ESTUDIO

Los sistemas de estudio están formados entre las plantas hospedadoras y sus insectos fitófagos. Las plantas pertenecen al género *Nothofagus* (Nothofagaceae): *N. antarctica* G. (Forster) Oerst.; *N. dombeyi* (Mirb.) Oerst.; *N. nervosa* (Phil.) Dim. Et Mil.; *N. obliqua* (Mirb.) Oerst.; *N. pumilio* (Poep. Et Endl.) Krasser. Mientras que las especies de insectos pertenecen a órdenes y gremios diferentes: *Notofenusa surosa* Konow (Hymenoptera: Tenthredinidae), *Sinopla perpunctatus* Signoret (Hemiptera: Acanthosomatidae), *Perzelia arda* Clarke (Lepidoptera: Oecophoridae), *Polydrusus nothofagii* Kuschel y *P. roseaus* Blanchard (Coleoptera: Curculionidae).

Las plantas hospedadoras.

Los *Nothofagus* (Nothofagaceae o falsas hayas) representan un género que pertenece al hemisferio Sur, comprende alrededor de 35 especies vivientes, muchas de las cuales forman bosques en las regiones templadas de Sud América, Nueva Zelanda, Australia, Nueva Caledonia y Nueva Guinea (Ramírez 1987; Donoso *et al.* 2004). La mayoría de los bosques nativos de la zona andina de la Patagonia (aproximadamente un 90%) están dominados por especies de este género (Ward 1965; Ramírez 1987). Se caracterizan por maderas de gran calidad, una amplia distribución geográfica, la tendencia a formar rodales puros y su capacidad para aceptar diversas opciones de manejo forestal y utilización industrial, características que las convierten en especies de gran importancia económica y silvicultural. (Donoso *et al.* 2004; Azpilicueta *et al.* 2010).

En la región cordillerana de las provincias de Río Negro y Neuquén se encuentran presentes cinco especies de *Nothofagus*: *N. antarctica*, *N. dombeyi*, *N. nervosa*, *N. obliqua* y *N. pumilio* (Figura 2.1).

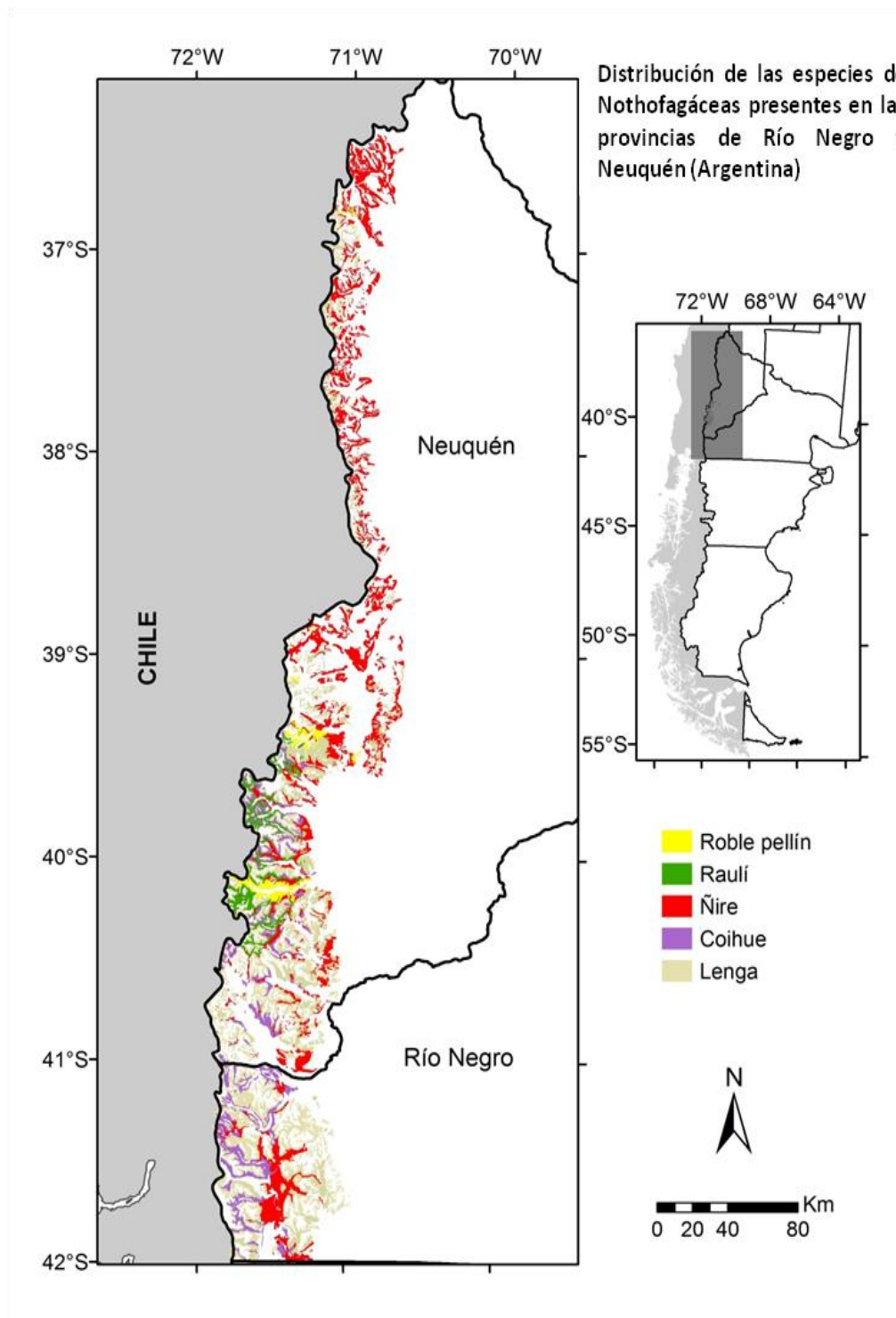


Figura 2.1 Mapa con la distribución de los *Nothofagus* en las provincias de Neuquén y Río Negro-Patagonia Norte. (Realizado por la Dra. Victoria Lantschner-INTA EEA Bariloche).

Cada una de estas especies posee características específicas en cuanto a su crecimiento, desarrollo, estado de conservación y utilización. Asimismo, la estructura morfológica de sus hojas permite diferenciarlos y realizar una rápida clasificación taxonómica (Langdon 1947; Gandolfo & Romero 1992; Premoli 1996).

***Nothofagus antarctica* (G. Forster) Oerst 1871 “Ñire”.**



El ñire es un árbol monoico de 15-20 m de alto, su tamaño varía según las condiciones de hábitat. En gran medida, debido al tamaño arbustivo o achaparrado con troncos generalmente retorcidos, es una especie que no ha sido utilizada como recurso maderero si no como leña. Sin embargo, en la provincia de Río Negro, los bosques de *N. antarctica* han sido utilizados en sistemas de producción silvicultural (Somlo *et al.* 1997). Es una especie que no se encuentra amenazada en su estado de conservación.

Características foliares: Posee hojas caedizas simples, alternas, de 1-4 cm de largo, cortamente pecioladas: lamina aovado o aovado- elíptica, con la base más o menos oblicua; margen lobulado y ondulado, irregularmente dentado; nervadura ligeramente pubescente, peciolo de 0,2-1 cm de largo (Donoso 2006). Sus hojas son hipostomáticas con pelos unicelulares simples y glándulas en ambas superficies. La epidermis tiene un grosor de 21,8-24,7 μm , mientras que la cutícula mide de 2,2- 2,9 μm (Barrera & Meza 1993) (Figura 2.2).

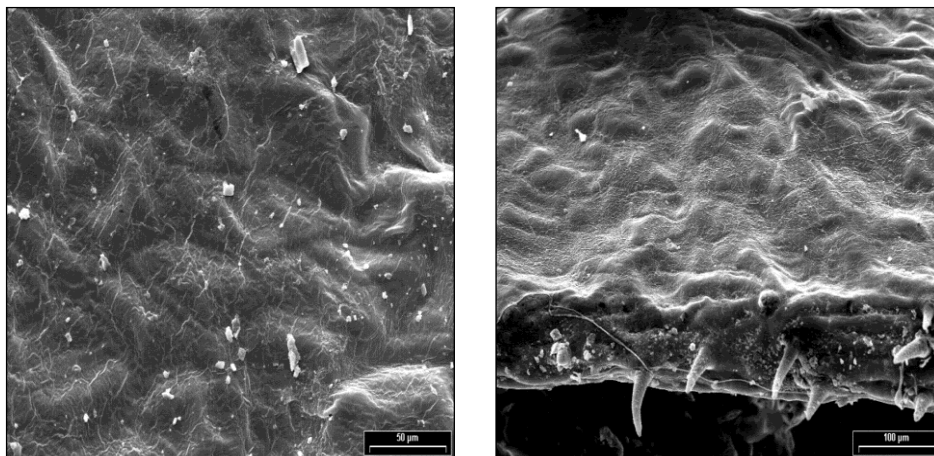


Figura 2.2 Fotografía foliar de *N. antártica* en MEB (a) Aumento 600X (b) Aumento 1200X. (Foto realizada por la Téc. Carolina Ayala-CNEA).

***Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst. 1872 “Coihue”.**



Árbol monoico, de tronco grueso y recto que puede alcanzar 2,5m de diámetro y hasta 40 m de altura aproximadamente. No es una especie con peligro en su estado de conservación, debido a que no ha sido históricamente una especie tan demandada como muchas otras del bosque nativo. Tiene una alta capacidad de invadir terrenos abandonados (Donoso 2006). La madera tiene una bonita beta y es utilizada en construcción y fabricación de muebles.

Características foliares: Posee hojas simples, coriáceas, enteras, ovadas y/o lanceoladas, ápice agudo, base cuneada, margen aserrado y/o dentado, bordes planos y perennes. Sus hojas son pequeñas de 2-3,5cm de largo y 1 cm de ancho, no son pegajosas. Son hipostomáticas, con pelos y glándulas en ambas superficies. Posee una epidermis de 11,6-14,5 μ m y cutícula de 5,5- 7 μ m de grosor (Barrera & Meza 1993) (Figura 2.3).

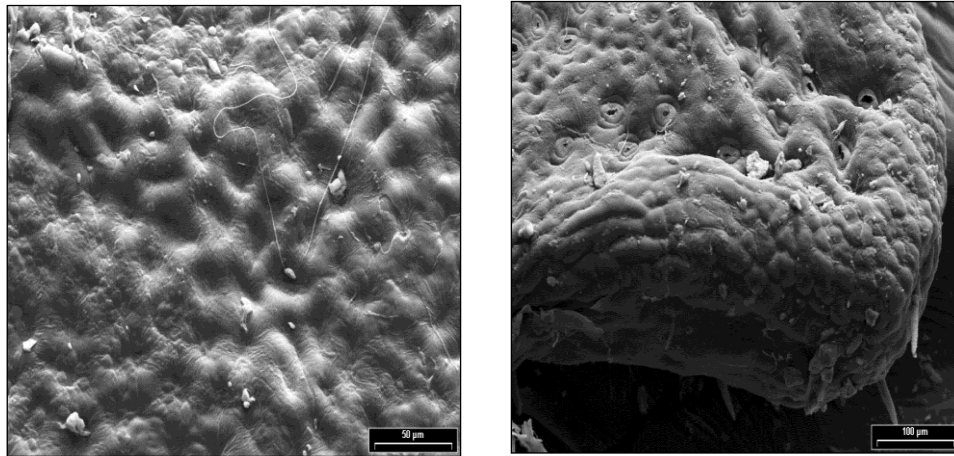


Figura 2.3 Fotografía foliar de *N. dombeyi* en MEB (a) Aumento 600X (b) Aumento 1200X. (Foto realizada por la Téc. Carolina Ayala-CNEA).

***Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. Et Mil. 1896 “Raulí”.**

Sinonimia: *Nothofagus alpina* (Poepp. & Endl.) Oerst. 1871, *N. procera* Oerst 1872, *Lophozonia alpina* (Poepp. & Endl.) Heenan & Smitsen 2013.



El raulí es un árbol monoico de 40 m de alto y hasta 3m de diámetro, frondoso. Tiene una madera de excelente calidad, fácil de trabajar, de hermosa veta y multiplicidad de usos. Hacia 1912 se realizaron estimaciones de agotamiento, debido a la excesiva explotación indiscriminada en un periodo de 36 años (Donoso & Lara 1995). *N. nervosa* ha visto mermada sus poblaciones principalmente por dos motivos: cosecha indiscriminada de bosques adultos, y sustitución de renovales jóvenes para efectuar plantaciones principalmente de *Pinus radiata*. En la actualidad, el estado de conservación de *N. nervosa* se puede considerar que está mejorando debido a que la especie se encuentra representada en varios Parques y Reservas Nacionales y es la especie nativa que más se está plantando en la actualidad (Barbero *et al.* 2011). Desde 1937, toda el área de distribución de esta especie dentro de Argentina se encuentra comprendida en dos Parques Nacionales: Parque Nacional Lanín y Parque Nacional Nahuel Huapi (Donoso 2006). Es una especie de gran valor ecológico y económico. Con el propósito de conservar la especie y promover su cultivo fuera del Parque Nacional se comenzó un programa para estudiar su diversidad genética (Gallo *et al.* 2006).

Características foliares: Posee hojas caedizas, simples, enteras, alternas, de 4,5 a 12 cm de largo y de hasta 5 cm de ancho, cortamente pecioladas (aproximadamente 1cm). Su lámina es aovado-oblonga a aovado-lanceolada, sub-glabra, lisa; margen ondulado y suavemente aserrado; con una nervadura muy notoria en la cara inferior y nervios primarios pilosos. No son ni coriáceas ni suculentas, son pegajosas en el peciolo. Hoja hipostomática con pelos unicelulares de dos tamaños y glándulas esféricas, principalmente sobre los nervios en ambas superficies. Epidermis de 7,3-11,6 μm y cutícula de 1,5- 2,2 μm de grosor (Barrera & Meza 1993) (Figura 2.4).

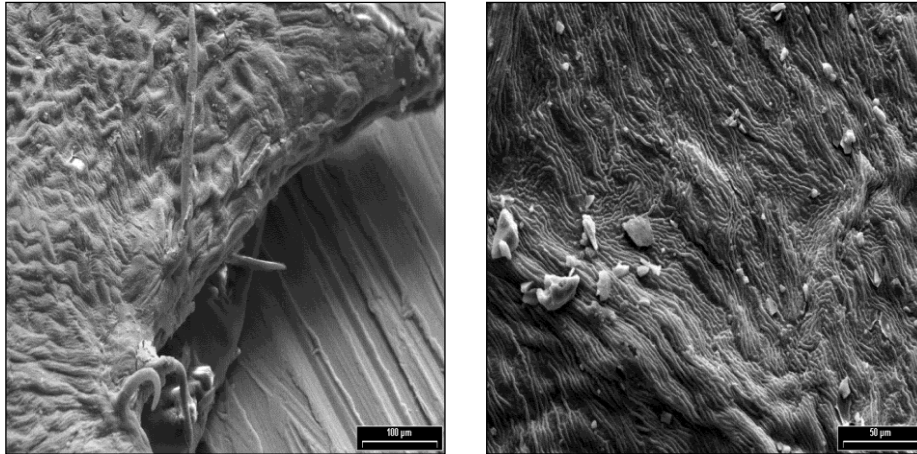
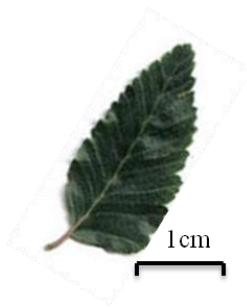


Figura 2.4 Fotografía foliar de *N. nervosa* en MEB (a) Aumento 600X (b) Aumento 1200X. (Foto realizada por la Téc. Carolina Ayala-CNEA).

***Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst 1871 “Roble pellín”.**

Sinonimia: *Lophozonia obliqua* (Mirb.) Heenan & Smitsen 2013.



El roble pellín es un árbol monoico de 40 m de altura y hasta dos metros de diámetro, frondoso y con un follaje verde-claro. *N. obliqua* no es considerada una especie con amenazas en cuanto a su conservación, a pesar de que muchos renovales y bosques maduros donde esta especie era dominante han sido sustituidos por plantaciones de pino. La madera tiene una bonita beta de color blanco-amarillento, es utilizada en construcción y carpintería.

Características foliares: Posee hojas caedizas, simples y alternas. Tienen un tamaño que varía entre 2 a 8 cm de largo, entre 1 a 3 cm de ancho y un pecíolo entre 0 -1 cm. Poseen una textura membranosa, la forma de la lámina es generalmente aovado-lanceolada con una base asimétrica y margen más o menos ondulado, débilmente lobulado e irregularmente bi-serrado. Sus hojas son de tipo hipostomática con pelos en ambas superficies y glándulas muy escasas. La epidermis tiene un grosor de 14,5-21,8 µm y la cutícula es de 2,9-4,4 µm de grosor (Barrera & Meza 1993) (Figura 2.5).

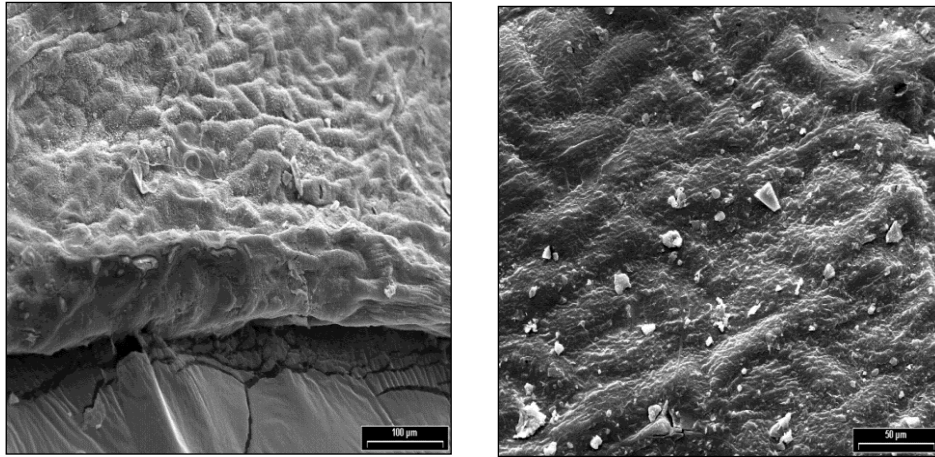
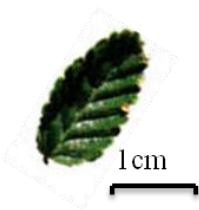


Figura 2.5 Fotografía foliar de *N. obliqua* en MEB (a) Aumento 600X (b) Aumento 1200X. (Foto realizada por la Téc. Carolina Ayala-CNEA).

***Nothofagus pumilio* (Poep. Et Endl.) Krasser. 1896 “Lenga”.**



La lenga es un árbol monoico de hasta 30 m de alto y 1,7m de diámetro con una copa piramidal. Sin embargo, su tamaño decrece paulatinamente hasta transformarse en un arbusto rastrero y tortuoso en el límite altitudinal del bosque. La extensa distribución de *N. pumilio* ocurre normalmente en sitios remotos o de altas elevaciones en los límites arbóreos altitudinales. Ello ha permitido que se pueda considerar en un buen estado de conservación en prácticamente todo su rango, tanto en Argentina como en Chile. Además, ambos países, poseen Parques Nacionales y Reservas forestales para su protección. La madera de lenga es reconocida por su alta calidad y considerada como una de las mejores maderas nacionales, utilizada en construcción, carpintería y para la fabricación de tejuelas (Donoso 2006).

Características foliares: Sus hojas son caedizas, simples y alternas. Tienen un tamaño aproximado de 2-4cm de largo y 1,4-3 de ancho con margen crenado o dentado. La lámina tiene forma elíptica, roma y levemente cordiforme en la base, a veces cuneada y asimétrica. La hoja hipostomática con pelos unicelulares simples en ambas superficies y glándulas escasas tiene una epidermis de 14,5-17,4 µm y cutícula de 2,9-4,4 µm de grosor (Barrera & Meza 1993) (Figura 2.6).

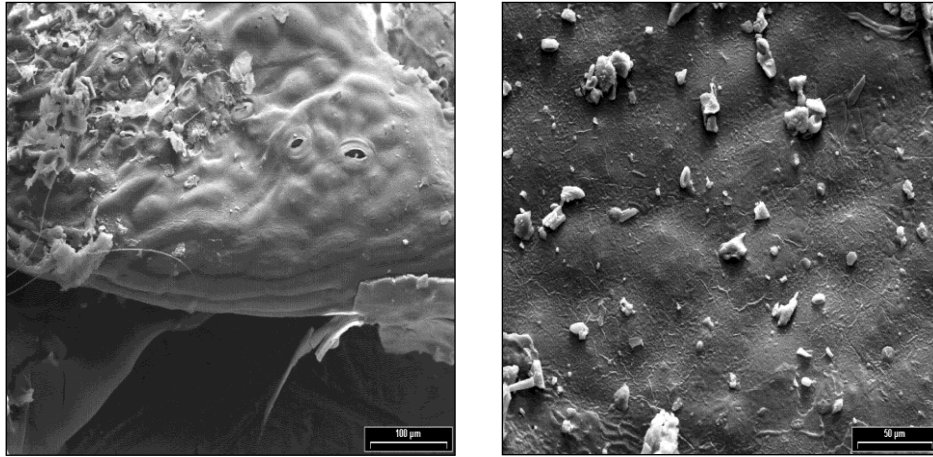


Figura 2.6 Fotografía foliar de *N. pumilio* en MEB (a) Aumento 600X (b) Aumento 1200X. (Foto realizada por la Téc. Carolina Ayala-CNEA).

Los insectos fitófagos.

Durante su crecimiento, los árboles son atacados por distintos gremios de insectos (*i.e.* grupos de especies que comparten un mismo hábito alimenticio). Según el tipo de daño se clasifican en: taladradores de corteza, taladradores de madera, dañadores de ramas, brotes y plántulas, dañadores de frutos, conos y semillas, dañadores de raíces, minadores, succionadores y masticadores (McQuillan 1993; Baldini & Pancel 2000; Dajoz 2001).

*Notofenusa surosa*² Konow 1905 (Hymenoptera: Tenthredinidae).

El género *Notofenusa*, pertenece a la tribu Fenusini, dentro de la subfamilia Heterarthrinae. La tribu Fenusini se caracteriza por poseer los tenthredínidos de menor tamaño. Sus larvas poseen el hábito de minar hojas, en muchos casos de especies arbóreas del Orden Fagales (Smith 1973, 2003). Asimismo, la presencia/ausencia de alas, el patrón de venación de las mismas, el largo y forma de las antenas, las uñas tarsales, la presencia/ausencia del prepecto son algunas de las características a analizar

² En el Anexo A se puede observar una imagen estereoscópica de *N. surosa* en 3D.

al momento de separar los distintos géneros de esta tribu. Todos los individuos son similares en tamaño (5-20mm), estructura externa y coloración, tienen diapausa con una generación anual y poseen una corta vida adulta (4-10 días) (Taeger *et al.* 2010). Los prolongados tiempos de diapausa y su limitada supervivencia durante el estado adulto dificultan seriamente su identificación y cría en condiciones de laboratorio. Según Smith (1976) estos motivos explicarían el escaso material de colección, especialmente de aquellas especies que no son de importancia económica.

Debido a la genitalia de las hembras adultas estos insectos son vulgarmente conocidos como “mosca sierra” o su equivalente en inglés *sawfly* y específicamente dentro del género *Notofenusa* es la principal característica de diferenciación e identificación. Smith (1973) sostiene que los insectos de este género deben estar presentes en todos los bosques de *Nothofagus* de Argentina y Chile. Asimismo, afirma que hay cuatro especies del género *Notofenusa*: *N. asorosa* Smith, *N. flinti* Smith, *N. nema* Smith y *N. surosa* Konow. Las cuales se encuentran presentes en el sur de Argentina, y en la zona central y sur de Chile. En el año 1905 Konow describía por primera vez la distribución del género y específicamente de *N. surosa* para Chile abarcando desde la región metropolitana hasta la región de Los Lagos (Valdivia). Luego, Benson (1959) registra la presencia de esta especie en Argentina específicamente en la provincia de Tierra del Fuego. Mientras que en 1995, Smith y Pérez incluyen a esta especie como insecto endémico de Argentina y Chile. Esta especie de “avispa sierra” se encuentra asociada como insecto minador de las hojas de *N. obliqua* (Smith 1976). Sin embargo, la información disponible sobre *N. surosa* es escasa, no existen datos publicados de su biología general, plantas hospedadoras y distribución geográfica actual. En el año 2009, Faúndez y colaboradores realizaron el primer registro de *Notofenusa flinti* en la región de Magallanes (Chile), asociada a *Nothofagus pumilio* con una breve descripción del daño que causa.

Durante la temporada de verano 2010-2011 hemos recolectado hojas minadas provenientes de *N. obliqua*, *N. nervosa* y *N. antártica* en la zona de Quilánlahue (Neuquén, Argentina) (Figura 2.7).



Figura 2.7 Hojas escaneada de *N. obliqua* en las cuales se observa el daño causado por la larva de *N. surosa*.

A partir de estas hojas minadas emergieron las larvas en su máximo estadio, las cuales se colocaron en recipientes con suelo proveniente del sitio de muestreo. Cabe mencionar que todas las hojas recolectadas estaban minadas solamente por un individuo, lo cual podría sugerir que la hembra tiene la capacidad de percibir cuando una hoja está “ocupada” por otra larva. Luego de la emergencia de la hoja, las larvas se mostraron muy activas y se desplazaron constantemente durante un periodo de uno a cuatro días hasta que finalmente se establecieron para desarrollar las pupas. En la temporada siguiente (2011-2012) dieron origen a los ejemplares adultos (Figura 2.8).

(a)



(b)



Figura 2.8 Fotografía cuerpo entero (a) vista dorsal (b) vista ventral de *N. surosa*.

La especie fue identificada por medio de fotografías de microscopio electrónico de barrido de ejemplares hembras, siguiendo la clave taxonómica desarrollada por

Smith (1973). Se analizaron las celdas alares, las uñas, las antenas y el diseño de los “dientes” de la sierra ovipositora (Figuras 2.9- 2.10).

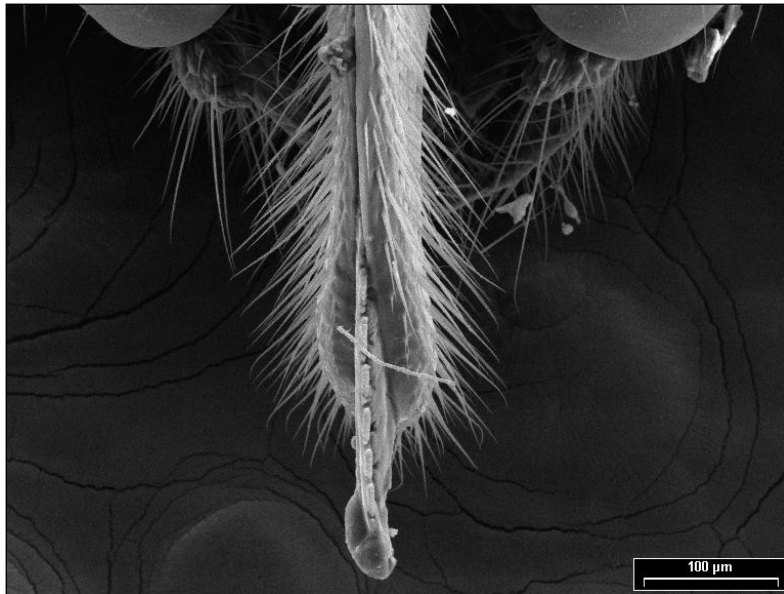


Figura 2.9 Detalle del ovipositor aserrado de *N. surosa*. Aumento 300X (Foto realizada por la Téc. Carolina Ayala-CNEA).

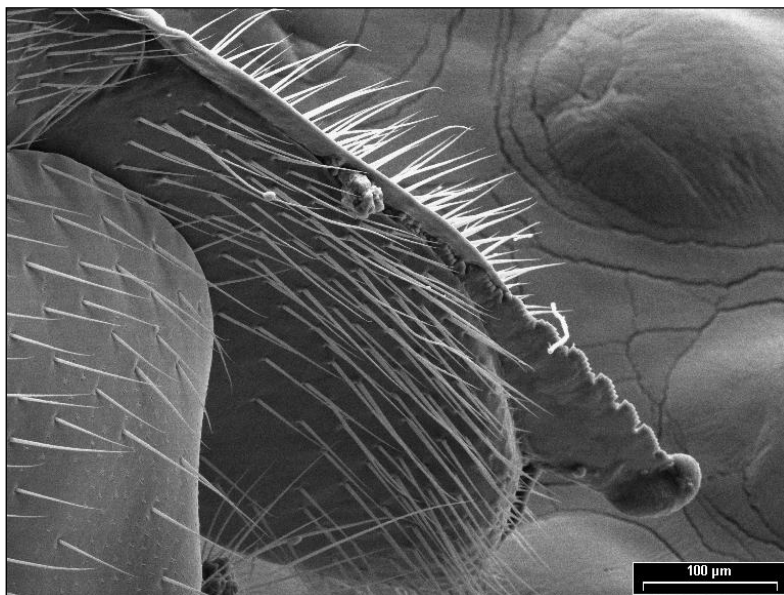


Figura 2.10 Vista lateral del ovipositor aserrado Aumento 300X (Foto realizada por la Téc. Carolina Ayala-CNEA).

Las larvas de esta especie tienen la capacidad de atacar principalmente a *N. obliqua*. Sin embargo, se lo registró en hojas de *N. antarctica*, *N. nervosa* y en híbridos

de *N. obliqua*- *N. nervosa* (Pietrantuono *et al.* 2013a). Consumen una gran proporción del área fotosintética de la hoja (entre un 40-90% *obs. pers.*) pudiendo afectar la capacidad para realizar este proceso, la durabilidad de la hoja o la tasa de crecimiento del árbol (Pritchard & James 1984).

La determinación taxonómica la realicé mediante bibliografía y en colaboración con el Dr. David R. Smith (Systematic Entomology Laboratory, USDA) y con el B.S. Eduardo I. Faúndez (Laboratorio de Entomología. Universidad de Magallanes, Chile).

***Sinopla perpunctatus* Signoret 1864 (Hemiptera: Acanthosomatidae).**

La familia Acanthosomatidae cuenta con alrededor de 200 especies dentro de 54 géneros (Kment 2005). *Sinopla perpunctatus* es una de las especies más estudiadas en Sudamérica (Faúndez 2009b; Faúndez & Osorio 2010; Figura 2.11). Los estados inmaduros de esta especie fueron descritos por Martínez y colaboradores (2003). Posee un ciclo univoltino y es la única especie sudamericana de la cual han sido estudiados los cinco estados ninfales (Osorio 2009). Registros en Chile, sostienen que las plantas hospedadoras de este heteróptero son diversas especies del género *Nothofagus* (Nothofagaceae): *N. antártica*, *N. nervosa* y *N. obliqua* (Faúndez 2007a). En cuanto a su biología Faúndez (2007b) ha descrito a esta especie con hábitos de crípsis en asociación con *N. antártica*, con lo cual cambia su coloración de acuerdo a la coloración de las hojas de su planta hospedadora según la época del año. Por otra parte, también sostiene que las hembras realizan cuidados maternos para sus crías. Se ha registrado esta especie en Chile (desde Vilches Alto- Región del Maule hasta la Isla Bertrand-Región de Magallanes) y en Argentina (Zona cordillerana de las provincias de Río Negro y Neuquén).

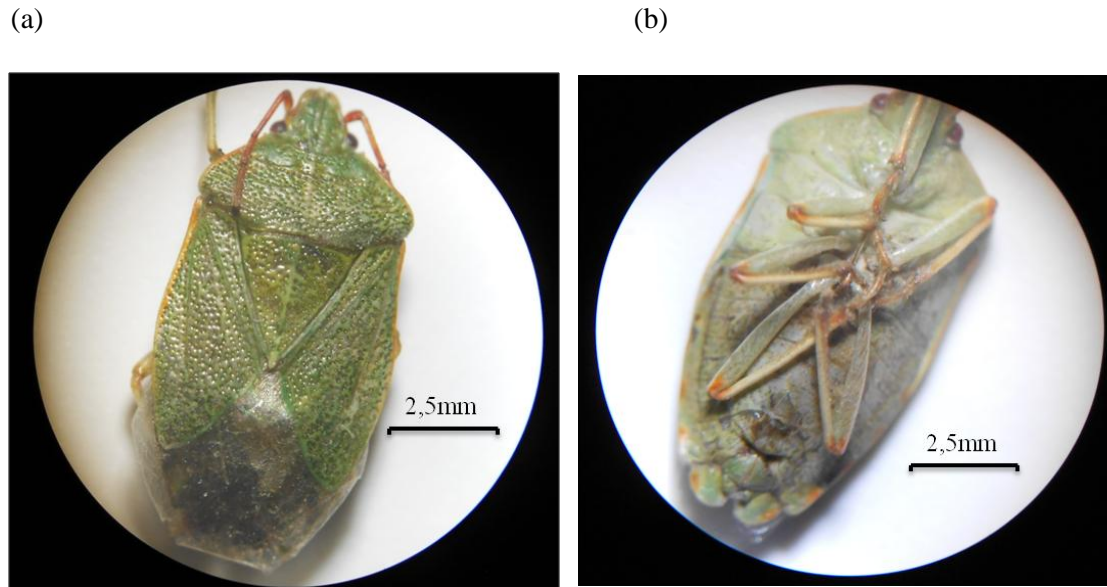


Figura 2.11 Fotografía de hembra de *S. perpunctatus* (a) vista dorsal (b) vista ventral.

A partir de material bibliográfico y de la colaboración del B.S. Eduardo I. Faúndez (Laboratorio de Entomología. Universidad de Magallanes, Chile) se pudo identificar la especie.

***Perzelia arda* Clarke 1978 (Lepidoptera: Oecophoridae).**

El género *Perzelia* Clarke se encuentra clasificado dentro de la familia Oecophoridae, la cual se caracteriza por presentar adultos de tamaño muy pequeño a mediano (de 0,3 a 3 cm). Son polillas que tienen la cabeza lisa, amplias alas delanteras y poseen dimorfismo sexual (las hembras son plateadas brillantes, mientras que los machos son grisáceo oscuro; Navarrete Valdivia 2006; Figura 2.12). Las larvas se ocultan y se alimentan en hojas enrolladas de la planta hospedadora (Figura 2.13). Con el transcurso de los estadios cambian de color, pasan de un amarillo pálido a un verde intenso. En el último estadio alcanzan un largo de 11mm y un ancho de 2mm (Donoso *et al.* 2006). Poseen una gran movilidad y capacidad de escape.

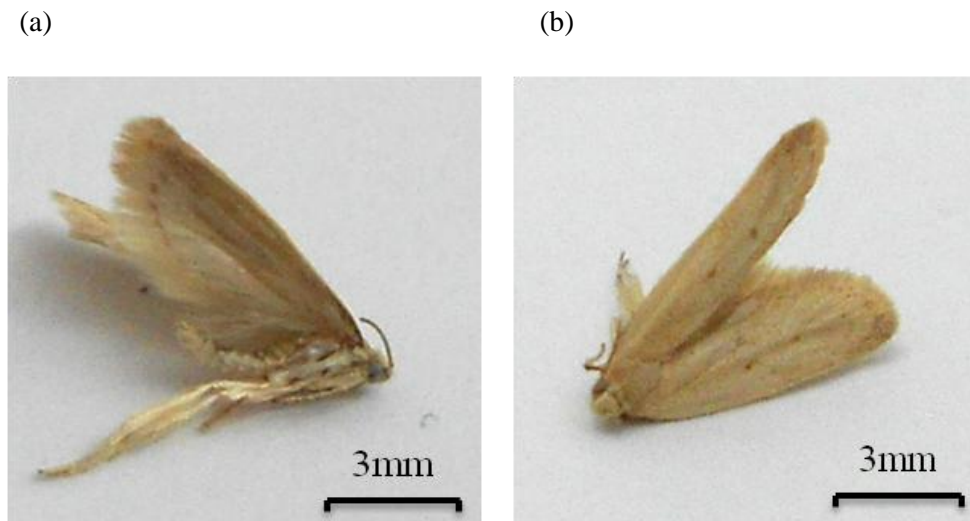


Figura 2.12 Fotografía de hembra adulta de *P. arda* (a) vista dorsal (b) vista ventral.

Según Cárcamo (1989), durante su estado larval *P. arda* posee a *N. obliqua* como planta hospedadora posteriormente se describe en asociación con el follaje de *N. nervosa* y *N. glauca* (Grandon 1996; Huerta- Fuentes *et al.* 2011). Baldini y Alvarado (2008) sostienen que *P. arda* puede causar diferentes tipos de daño, principalmente en árboles vivos de *N. nervosa* desde que estos inician la producción de semillas. Según Carrillo y Cerda (1987), es una de las principales plagas que afecta la producción de semillas de los *Nothofagus* spp. chilenos. El daño consiste en la perforación de las semillas, las larvas se movilizan al interior de éstas, efectuando una perforación circular cuyo diámetro coincide con el ancho de la cápsula cefálica. El daño ocasionado se traduce en una baja en la viabilidad de las semillas ya que en algunos casos pueden llegar a dañar más del 90% del total de semillas producidas por el árbol (Cerda *et al.* 1982; Carrillo & Cerda 1987). Mientras que por otra parte, realizan un daño secundario como defoliadoras de tipo esqueletizador (Cruz 1981; Bauerle *et al.* 1997; Baldini & Pancel 2000; Huerta-Fuentes *et al.* 2011).

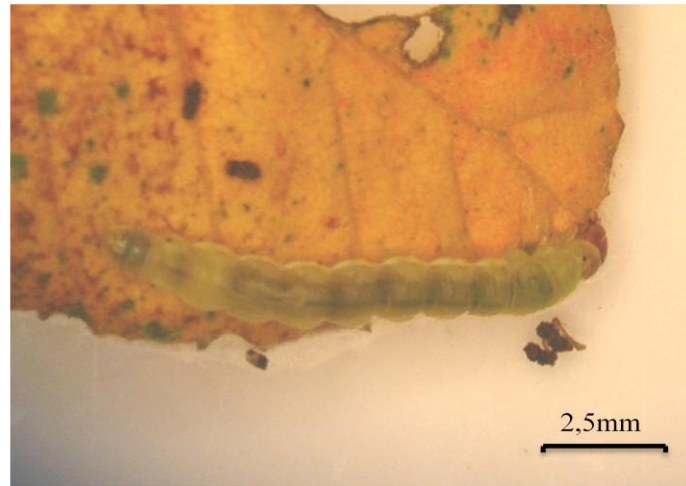


Figura 2.13 Fotografía de lupa de *P. arda* en estado larval.

Las hojas son afectadas por el haz, el envés o por ambos lados de la lámina. Las larvas realizan una esqueletización de las hojas en forma parcial, por esta razón aproximadamente la mitad de la hoja permanece sin sufrir daño (Cerdea *et al.* 1982). Las larvas tienden a ubicarse en el tercio apical de las plantas hospedadoras y en ocasiones provocan la unión de hojas o un plegamiento cuando utilizan una sola hoja (Cárcamo 1989). Al despegar las hojas se puede observar la formación de una especie de capullo que mantiene unidas las hojas y generalmente hay una larva en cada unión de éstas pero puede haber hasta tres. Unir las hojas les permite desarrollarse, formar su pupa y mantenerse protegidos tanto frente a depredadores como a condiciones climáticas adversas (Figura 2.14 y 2.15). No hay registros sobre el tipo de alimentación que poseen durante el estado adulto.



Figura 2.14 Fotografía de lupa de *P. arda* en estado pupal. .



Figura 2.15 Fotografía de daño foliar y unión de hojas de *N. nervosa*, causado por *P arda*.

En cuanto a su distribución el primer registro de esta especie corresponde a la región del Maule (Chile) y se sostiene que es similar a la distribución de *N. nervosa*, su planta hospedadora. Sin embargo, la información es escasa y no hay material de referencia ni bibliografía sobre este insecto en Argentina.

Es la única especie, de los insectos estudiados, que registra la presencia de enemigos naturales. Durante el estado larval, puede sufrir el ataque de hongos e insectos parasitoides del orden Hymenoptera, dentro de los cuales se señalan a *Microplitis sp* (Fam. Braconidae), género y otras especies desconocida de la familia Eulophidae (Sub familia Eulophinae; Fam. Braconidae, Subfamilia Rhogadinae) (Cerda *et al.* 1982; Navarrete Valdivia 2006). Estos mismos autores registraron en las pupas de *Perzelia* hasta un 65% de mortalidad causada por hongos pertenecientes al género *Bauveria sp.* (Fam. Moniliaceae).

Los ejemplares fueron identificados con material bibliográfico (Cárcamo 1989; Navarrete Valdivia 2006).

***Polydrusus nothofagii* Kuschel 1950 y *P. roseaus* Blanchard 1851 (Coleoptera: Curculionidae).**

La familia Curculionidae es una de las más importantes dentro del orden coleóptera, reúne un sinnúmero de especies nocivas para las plantas y es a la vez una de las familias más numerosas en especies. En el trabajo realizado por Grandon (1996), se citan 21 especies de curculiónidos defoliadores asociados a *Nothofagus*, siendo esta la familia más abundante y representativa dentro de los coleópteros. Asimismo, los géneros *Aegorhynus* Erichson y *Polydrusus* Germar presentan la mayor diversidad de especies.

El género *Polydrusus* pertenece a la tribu Polydrusini dentro de la subfamilia Entiminae, la cual agrupa a alrededor de 1150 géneros con más de 12200 especies. Las especies de esta subfamilia se conocen informalmente como Adelognatha (del griego Adelos = invisible, escondido; Gnathos = mandíbula), reconocidos comúnmente como los gorgojos de trompa corta y ancha. Algunos Entiminos son de importancia agrícola (Lanteri *et al.* 2002). En la actualidad hay un total de 194 especies del género *Polydrusus* conocidas. Sin embargo, *P. nothofagii* y *P. roseaus* son las dos únicas especies de este género que se encuentran presentes en el bosque Andino-Patagónico (Figuras 2.16 a y b respectivamente). Según Kuschel (1952) estas especies se encuentran ligadas principalmente a los géneros *Nothofagus* (Fagaceae) y *Myoschilos* (Santalaceae), plantas endémicas de Argentina y Chile. Las larvas habitan en el suelo con hábito rizófago, mientras que durante la etapa adulta actúan como defoliadores esqueletizadores (Figura 2.17; Gentili & Gentili 1988; Lanfranco *et al.* 1999; Elgueta & Marvaldi 2006). En el trabajo realizado por Welch (1988) se registra a *P. nothofagii* sobre individuos de *N. nervosa* y *N. obliqua*. Posteriormente Giganti y Dapoto (1990), lo describen en *N. pumilio* como planta hospedadora, mientras que para *P. roseaus* es *N. dombeyi*. Grandon (1996) incluye además a *N. dombeyi* para *P. nothofagii* mientras que Vergara y Jeréz (2010) sostienen que ambas especies de curculiónidos se encuentran asociadas a *N. antarctica*. De acuerdo a observaciones personales, puedo incluir que esta especie se encuentra asociada a *N. obliqua* y *N. nervosa*. Por lo tanto, ambas especies se encuentran asociadas a todas las especies de *Nothofagus* presentes en el bosque Andino-Patagónico.

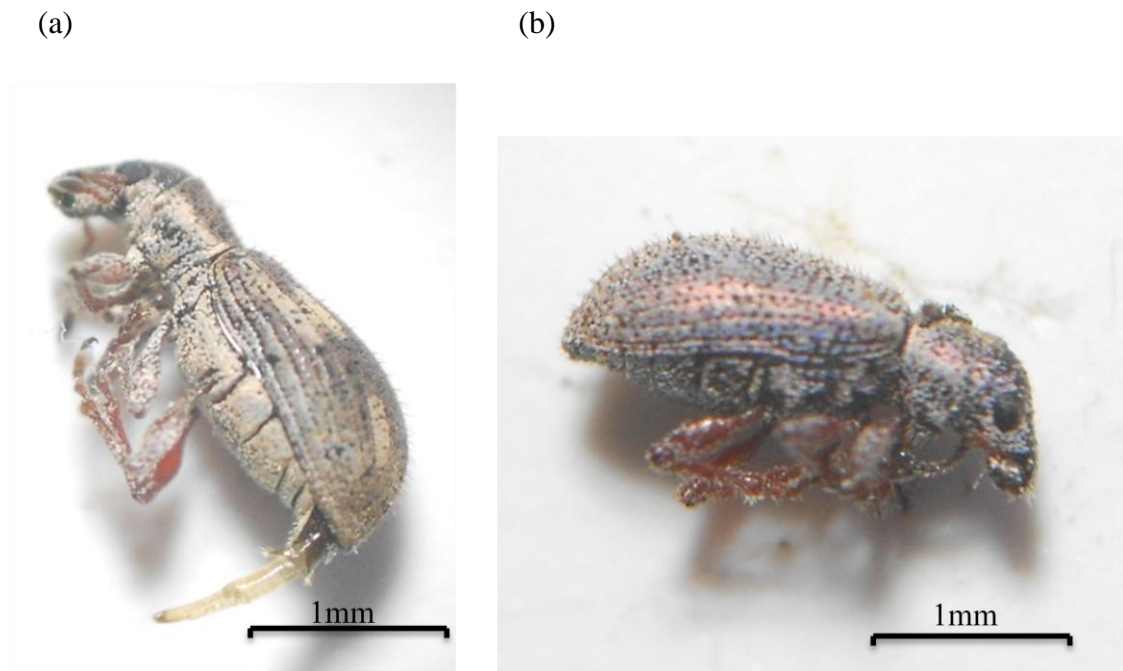


Figura 2.16 Vista lateral de hembra adulta de (a) *Polydrusus nothofagii* y de (b) macho adulto de *P. roseaus*.



Figura 2.17 Daño de tipo esqueletizador causado por estado adulto de *P. nothofagii* en hojas de *N. obliqua*.

Estos ejemplares fueron identificados gracias a la colaboración del Ing. Agr. Juan Enrique Barriga-Tuñón (Universidad de Chile).

CAPÍTULO 3

DESARROLLO DE ENFOQUES ALTERNATIVOS PARA PRUEBAS DE PREFERENCIA

Las pruebas de preferencia.

Las pruebas de preferencia son herramientas esenciales en los estudios de comportamiento, que se han utilizado en todos los principales grupos de taxones animales incluyendo humanos. Dichos ensayos evalúan una amplia gama de estrategias de historia de vida, tales como la herbivoría, parasitismo, polinización y la depredación, tanto en estudios de laboratorio como de campo. Permiten estudiar las elecciones que realizan los individuos, ya sea de pareja, refugio, alimento, hábitat y sobre todo permiten comprender cómo es el proceso de elección. La utilización selectiva de los recursos por parte de los organismos puede tener importantes consecuencias ecológicas y evolutivas (Mench 1998; Matthews & Matthews 2010). El propósito de las pruebas de preferencia es definir el grado de aceptación, atracción, percepción y preferencia de un producto/estímulo determinado por parte del sujeto experimental. Las formas para estimar la magnitud de la diferencia percibida entre las distintas opciones son diversas (Angulo & O'Mahony 2009).

Las pruebas de preferencia en la entomología.

Se debe tener en cuenta que la preferencia es consecuencia del comportamiento del organismo, y su expresión es la elección que puede ser activa o pasiva. La elección activa se produce cuando el organismo se desplaza hacia el factor y la elección pasiva cuando no necesita desplazarse porque ya está en ese factor. A nivel experimental, sólo la elección activa indica preferencias; en tanto que no se puede conocer la causa de la elección pasiva (Muñoz *et al.* 2005). En entomología, las pruebas de preferencia son ampliamente utilizadas, permiten estudiar el comportamiento, requerimientos y hábitos de los insectos (Méndez Olán & Ramírez Valverde 2001). Particularmente, en los

estudios de interacción planta - insecto, las pruebas de preferencia se han utilizado para investigar una amplia gama de temas:

- Resistencia química inducida por las plantas luego de sufrir daño por herbivoría (Edwards & Wratten 1982; Edwards *et al.* 1985; Karban 1988; Zangerl 1990).
- La dependencia de resistencia inducida en los mecanismos de lesión (Lin *et al.* 1990).
- La preferencia de insectos para diferentes especies alimenticias (Barnes 1963; Grime *et al.* 1968; Dudgeon *et al.* 1990; Berdegué *et al.* 1998, Powell *et al.* 2006).
- La preferencia de insectos en diferentes condiciones de alimentación (Lewis 1984; Blüthgen & Metzner 2007).
- La relación entre la abundancia relativa de las especies y la palatabilidad (Landa & Rabinowitz 1983).
- La relación entre el estado sucesional y palatabilidad (Cates & Orians 1975).
- La relación entre las condiciones ambientales y preferencias de insectos (Jones & Coleman 1988; Cook *et al.* 2006).
- La relación entre las preferencias y el éxito reproductivo del insecto (Gripenberg *et al.* 2010).

Las pruebas pareadas.

En ciencias biológicas la metodología estándar para estudiar las preferencias consiste en ofrecer simultáneamente varias opciones al individuo y luego medir la respuesta a esos estímulos (David 1988; Raffa *et al.* 2002). Sin embargo, Bruzzone y Corley (2011) demostraron que el diseño pareado, más usual en estudios con humanos, es el más apropiado para este tipo de ensayos. Sobre todo, si consideramos que el sujeto experimental pierde consistencia en las elecciones que realiza a medida que aumentan las opciones ofrecidas (DeShazo & Fermo 2002; Raffa *et al.* 2002). Especialmente, si los estímulos no son lo suficientemente diferentes. Este tipo de ensayos también es utilizado en otros ámbitos ajenos a la biología como en la investigación de mercados o el análisis de preferencias por candidatos electorales (Courcoux & Semenu 1996).

Desde un punto de vista pragmático, las pruebas de preferencia pareadas son más sencillas de realizar ya que en general no requieren repeticiones, porque los estímulos en una prueba de preferencia deben ser distinguibles (Angulo & O'Mahony 2005). Asimismo, Bruzzone y Corley (2011) sostienen que los experimentos llevados a cabo con diseños de bloques incompletos, como las pruebas de a pares o tríos (bloque tamaño 2), son claramente superiores a las que se realizan como bloques completos, donde se ofrecen todas las alternativas a la vez. Dicha metodología representa una gran ventaja para estudios comportamentales en los cuales la disponibilidad de los individuos experimentales o de los estímulos es acotado. Utilizando esta metodología se disminuye el esfuerzo experimental y/o esfuerzo de muestreo.

Durante la realización de las pruebas pareadas, se le ofrece al sujeto dos elementos o estímulos de elección. Luego el sujeto indica qué elemento de cada par es el preferido. En ocasiones dentro de las opciones a testear se puede incluir la opción "Control o No preferencia", es decir una opción que se conoce con anterioridad que no debería ser elegida por el sujeto, si la hipótesis planteada es cierta. Por ejemplo, si el insecto elige una planta por su valor como alimento, se puede incluir otra planta que no sirva como recurso alimenticio pero que le permita al insecto refugiarse o moverse (*i.e.* planta plástica). Incluir este tipo de opciones genera información y facilita la interpretación de los resultados finales del estudio. Por ejemplo, en una prueba de preferencia sin la opción de "Control" en donde la mitad de los individuos elige el producto A y la otra mitad elige el producto B no es fácil interpretar el resultado. Una interpretación puede ser que los individuos no presentan preferencia por ninguno de los productos y aleatoriamente eligen uno y el otro producto. Pero también es posible que la mitad de los individuos prefiera el producto A y la otra mitad prefiera el producto B. La inclusión de la opción de "Control" permite resolver este inconveniente (Angulo & O'Mahony 2005; 2009).

Análisis de las pruebas pareadas.

El método de comparación por pares se utiliza en el estudio científico de las preferencias, actitudes, sistemas de votación, elecciones y pruebas alimenticias. En 1927, Louis Leon Thurstone introdujo por primera vez un enfoque científico para el

análisis de pruebas pareadas la “Ley de los juicios comparativos” (Thurstone 1927; Bradley & Terry 1952). Este modelo asume que la calidad de una opción es una variable aleatoria con una distribución gaussiana (Figura 3.1). Originalmente este enfoque fue destinado para la teoría psicofísica, no obstante Thurstone demostró que el método se puede utilizar para estudiar las preferencias mediante una escala de intervalos. Thurstone vinculó este enfoque con la teoría psico-física desarrollada por Ernst Heinrich Weber y Gustav Fechner (Hecht 1924). La Ley Weber Fechner describe una relación cuantitativa entre la magnitud de un estímulo físico y cómo éste es percibido. Establece que el menor cambio discernible en la magnitud de un estímulo es proporcional a la magnitud del estímulo. La relación entre el estímulo y la percepción corresponde a una escala logarítmica.

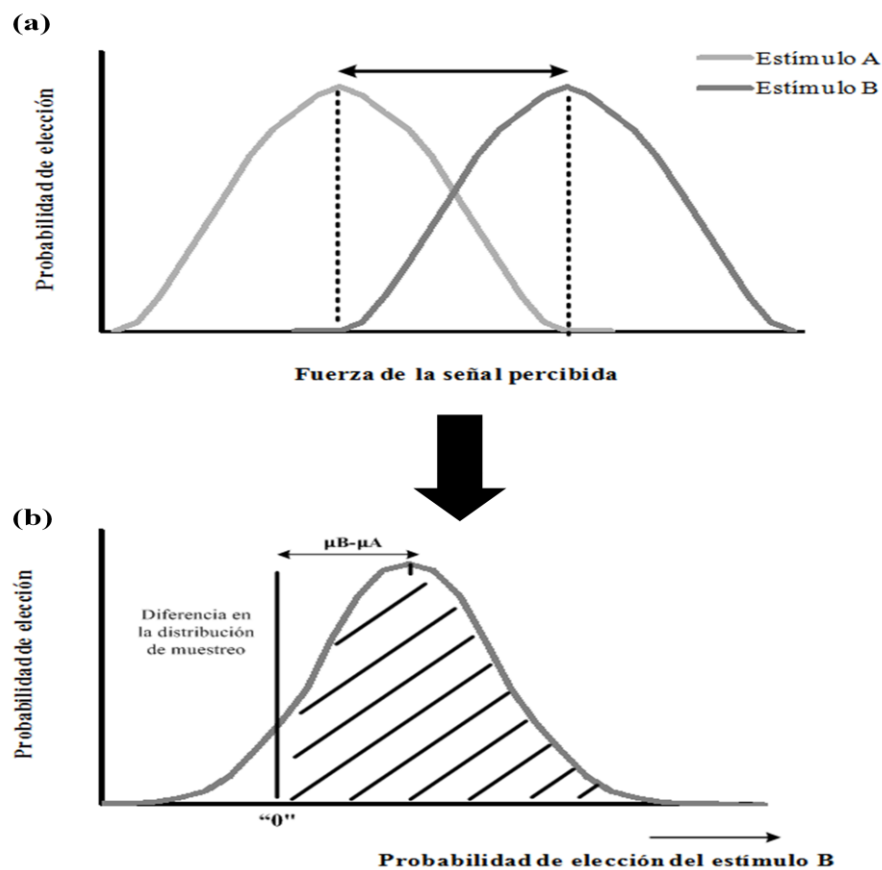


Figura 3.1 (a) Funciones de probabilidad de elección para dos estímulos A y B. El eje x representa la escala de calidad mediante la fuerza de la señal percibida, donde cada opción se coloca en la escala de calidad a su media. (b) La diferencia de calidad al azar $B-A$ tiene una distribución gaussiana con media $\mu_B - \mu_A$. La $P(A > B)$ corresponde al área sombreada bajo la curva.

Thurstone establece el “Modelo de caso V” en el cual asume que cada opción tiene la misma varianza y correlación cero. Bradley y Terry (1952) modifican el modelo de Thurstone caso V³ y proponen un modelo en el cual se utiliza la función logística en lugar de la normal (Adams 2005; Tsukida & Gupta 2011; Figura 3.2). Por lo tanto, el modelo de Thurstone- Bradley Terry supone que el sujeto experimenta sensaciones x_i y x_j cuando se le presenta el par de estímulos $\{A_i, B_j\}$, se asume que $(x_i - x_j)$ tienen una distribución logística con parámetros $\{\ln\pi_i - \ln\pi_j\}$, obtiene la probabilidad de preferencia de un estímulo sobre el otro $P(A_i \rightarrow B_j / A_i, B_j)$ e involucra las siguientes probabilidades en el modelo:

1. Probabilidad de preferir un estímulo, A_i , dado que fue presentado al sujeto el par de estímulos (A_i, B_j) .
2. Probabilidad de preferir un estímulo, B_j , dado que fue presentado al sujeto el par de estímulos (A_i, B_j) .

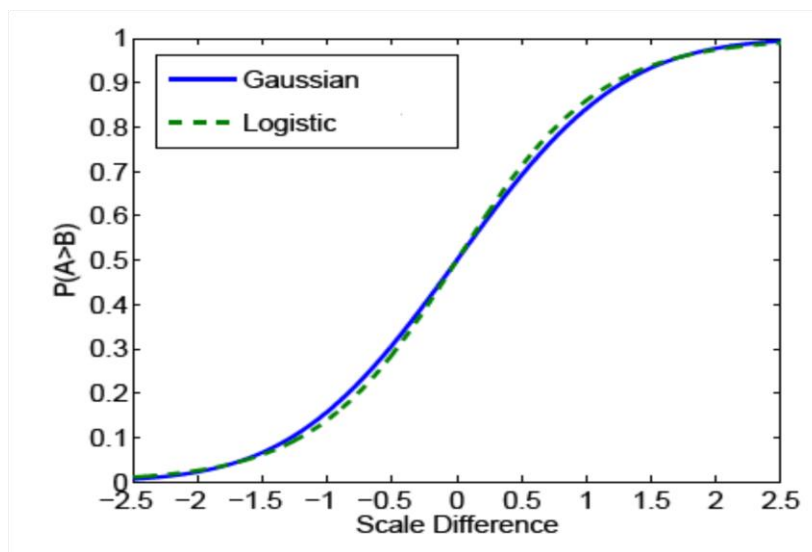


Figura 3.2 Función de distribución normal *versus* función logística.

En consecuencia se obtiene una escala de preferencias también conocida como la escala de Thurstone (Thurstone 1927). Esta escala puede aplicarse a diversos diseños experimentales y es la herramienta más conocida para la estimación de las preferencias

³ El caso I asume que para ambos estímulos existe una correlación constante a lo largo de todas las comparaciones. El caso II añade el supuesto de que el modelo general puede ser aplicado para estudiar los juicios de un grupo de sujetos. El caso III supone además que los estímulos no están correlacionados. Mientras que el caso IV también asume que las varianzas de la percepción de los estímulos son similares. Finalmente en el caso V las varianzas son iguales.

entre objetos mediante la frecuencia observada de sus comparaciones pareadas (Lipovetsky 2007; Angulo & O'Mahony 2009). No sólo proporciona un *ranking* de preferencias para todas las opciones ofrecidas, sino que también proporciona la posición de cada una de estas opciones en un espacio unidimensional de preferencias. Cabe destacar que cuando se establece una escala de preferencias, la magnitud de la calidad de las opciones es en relación a un valor de referencia establecido arbitrariamente (Tsukida & Gupta 2011). Por ello definir la colocación de cero y la unidad de medida es arbitraria. En consecuencia, las escalas de medición o de intervalos poseen dos grados de libertad (la colocación de cero y de la unidad de medida).

Bayes y el modelo de Thurstone- Bradley Terry.

A partir del trabajo realizado por Davidson y Solomon (1973), se propone analizar el modelo de Thurstone- Bradley Terry para la experimentación con pruebas pareadas mediante un enfoque bayesiano. La inferencia bayesiana es una herramienta estadística importante y ofrece una serie de beneficios en comparación a las técnicas no paramétricas. Sin embargo, estas contribuciones han sido ignoradas por los biólogos del comportamiento durante mucho tiempo, quizás debido a la falta de familiaridad con los métodos bayesianos. Recientemente, ha ido incrementando la utilización de los enfoques bayesianos por parte de los ecólogos, incluso se han vuelto más habitual en los ámbitos relacionados con el comportamiento de los animales (Hilborn & Mangel 1997; Holder & Lewis 2003; Ellison 2004; McNamara *et al.* 2006; Pereira *et al.* 2013).

Los métodos bayesianos estiman la distribución de probabilidad de los parámetros en modelos complejos sin depender de aproximaciones y muestras grandes para garantizar la normalidad (Quinn & Keough 2002; Congdon 2003). En este tipo de análisis se obtienen distribuciones de probabilidad para cada inferencia, cuantificando el grado de verosimilitud que se puede asignar a posibles valores de parámetros (Gelman *et al.* 2004; Gill 2008). Desde una perspectiva bayesiana, tanto los datos observados como los parámetros del modelo son considerados valores aleatorios. Las probabilidades posteriores relativas a la relación de los valores de los elementos clasificados y otros parámetros del modelo son fácilmente evaluadas usando la cadena de Markov Monte Carlo (MCMC "*Markov Chain Monte Carlo*"). Son métodos de

simulación para generar muestras de las distribuciones *a posteriori*. Las técnicas de Monte Carlo vía cadenas de Markov permiten generar, de manera iterativa, observaciones de distribuciones multi-variadas que difícilmente podrían simularse utilizando métodos directos. Las principales características que motivan la utilización de esta técnica son (Roberts & Rosenthal 1997):

- a) Obtener las distribuciones de los parámetros de interés.
- b) Hacer factible la estimación incluso cuando no es posible derivar el estimador analíticamente.
- c) Extender el procedimiento a modelos complejos y con datos que no siguen las distribuciones estándar.

Las preferencias y las variables explicativas.

Como mencioné anteriormente, la escala de Thurstone- Bradley Terry nos permite estudiar las preferencias de los sujetos experimentales. Sin embargo, no es suficiente para lograr comprender el comportamiento o el motivo de elección detrás de esas preferencias (Dawkins 1969). La validez explicativa se obtiene mediante regresiones simples o múltiples que permiten explicar el comportamiento de elección. Dado que la escala es una variable continua, es posible realizar un análisis de regresión entre los valores de cada estímulo dentro de la escala de Thurstone y las propiedades (que se supone *a priori*) serían las variables explicativas del proceso de elección.

Métodos y análisis de datos en esta tesis

En el presente trabajo apliqué la metodología de pruebas pareadas, para ello en cada caso de estudio diagramé un calendario de pruebas en el cual fui registrando los cruzamientos que iba realizando, comenzando por la diagonal mayor (Figura 3.3).

Estímulos	A	B	C	D	E
A	X				
B		X			
C					
D				X	
E					X

Figura 3.3 Ejemplo del calendario de pruebas. Tabla de doble entrada en la cual se van realizando los cruzamientos entre los estímulos. Las X representan los cruzamientos que no se realizan. El orden de las pruebas está indicado por la flecha, comienza por la diagonal mayor (negro) hasta completar todos los cruzamientos.

Luego, analicé los datos obtenidos según el modelo Thurstone- Bradley Terry mediante un enfoque bayesiano. El procedimiento para el análisis de datos fue similar para todos los casos de estudio:

- I. En primer lugar analicé los datos según el modelo de Thurstone-Bradley Terry.
- II. A partir del modelo nulo (en el que no hay preferencias), comencé la generación de nuevos modelos que explican las elecciones realizadas en relación a potenciales variables explicativas (Regresiones con alguna función matemática que *a priori* se supone que describe la relación, puede ser lineal, polinomial u otra). Las cuales pueden ser discretas (*e. g.* Presencia/ausencia de ceniza) o continuas (*e. g.* Contenido de materia orgánica, contenido de lignina, etc.). Dependiendo del diseño experimental analicé la variación en el tiempo (Caso de estudio 2, Pág. 55).

- III. Determiné cuál es el modelo que posee el mejor balance entre las preferencias y las variables o parámetros explicativos. Para lo cual, utilicé el valor de DIC (*Deviance Information Criterion*) o el porcentaje de iteraciones en las cual el modelo fue seleccionado. El DIC, al igual que el AIC (*Akaike Information Criterion*) y BIC (*Bayesian Information Criterion*), es una medida de la calidad relativa de un modelo estadístico, para un conjunto dado de datos. Estos índices proporcionan un medio para la selección del modelo.
- IV. A partir del modelo seleccionado establecí el intervalo de credibilidad bayesiano. Cabe destacar que un intervalo de credibilidad Bayesiano del 95%, a diferencia de un intervalo de confianza tradicional, se interpreta correctamente como que contiene el verdadero valor del parámetro con una probabilidad igual a 0.95, dado el modelo y los datos (Gill 2008).

Cabe destacar que tanto la metodología como el análisis de datos aquí propuestos son totalmente inéditos dentro de los estudios de comportamiento de insectos.

CAPÍTULO 4

CASO DE ESTUDIO 1

“Los Minadores”: Preferencias de pupación en *Notofenusa surosa* (Hymenoptera: Tenthredinidae).

Introducción.

Durante la vida adulta, los insectos tienen la habilidad de buscar y elegir los recursos necesarios para su desarrollo, reproducción y supervivencia. Este comportamiento es una conducta activa mediante la cual la opción elegida determinará el éxito individual y de la futura progenie (Bell 1990). La mayoría de los estudios que evalúan el comportamiento mediante las elecciones/preferencias de los insectos analizan las elecciones realizadas por las hembras adultas. Esto se debe a la relación que existe entre las preferencias y el éxito de la progenie (*i.e.* la hipótesis de Preferencia- Rendimiento o *The mother-knows-best hypothesis* la cual sostiene que las hembras maximizan su *fitness* depositando los huevos en las plantas de óptima calidad para sus crías) (Rausher 1979; Gripenberg *et al.* 2010). Sin embargo, se han reportado casos en los que las preferencias de las hembras adultas difieren de los requerimientos larvales (Rausher 1979; Valladares & Lawton 1991; Mayhew 2001; Ellis *et al.* 2004; Clark *et al.* 2011). La selección natural puede modificar y adaptar a la larva de un insecto a una porción de circunstancias completamente diferentes de las que conciernen al insecto adulto (Bernays & Chapman 1994). Denno y colaboradores (1990) sostienen que en ocasiones existe una escasa correspondencia entre las elecciones de oviposición y el rendimiento larval como consecuencia de otros factores ajenos a la calidad de la planta hospedadora que determinan la aptitud de las larvas.

Encontrar un recurso apropiado depende de la capacidad del insecto de integrar factores intrínsecos (*e.g.* estado nutricional, edad, motivación, requerimientos, preferencias) y extrínsecos (*e.g.* presencia de infoquímicos o ciertas condiciones ambientales y climáticas, competencia, etc.) (Chen 2008; Price *et al.* 2011). En el caso de los insectos holometábolos, las capacidades y elecciones que realiza la larva también son un factor determinante para el éxito de la progenie (Castelo & Lazzari 2004; Ellis *et*

al. 2004; Chen & Shelton 2007). Las larvas, al igual que los estados adultos, son capaces de seleccionar determinados recursos de acuerdo a sus necesidades y preferencias (Bernays & Chapman 1994; Castelo & Lazzari 2004). No obstante, en ocasiones el comportamiento de búsqueda puede estar restringido por las opciones/recursos que la hembra adulta eligió al momento de oviponer (Jaenike 1978; Craig *et al.* 1989; Berdegué *et al.* 1998). En el caso de la mayoría de las larvas de insectos minadores (*i.e.* insectos que se alimentan del tejido interno de las hojas) su capacidad de elección de recursos está también limitada hasta el momento en que logra emerger de la hoja. Para algunas minorías que desarrollan la pupa en el interior de la hoja, esta limitación es aún mayor dado que no pueden realizar una elección hasta la adultez (Haack & Mattson 1993).

Generalmente, las larvas de insectos minadores al alcanzar su máximo estadio caen al suelo luego de emerger de la hoja para desarrollar el estado pupal en el sustrato. El principal uso que hacen los insectos del suelo es como fuente de refugio, material de nidificación, alimento, humedad, sumidero de aire y como un medio de transporte. Ciertas condiciones y usos del suelo pueden determinar la distribución, abundancia relativa, actividades estacionales de los insectos (McColloch & Hayes 1922; Castelo & Lazzari 2004). De esta forma, el sustrato puede ser más o menos apto para el desarrollo del insecto, dependiendo de la combinación entre las propiedades y/o las necesidades y preferencias de los insectos (Fye 1978). Las propiedades físicas y químicas del suelo (*i.e.* concentración de materia orgánica, pH, conductividad eléctrica, capacidad de campo, transparencia y porosidad) determinan el ambiente en el cual el insecto va o no a desarrollarse (Prudic *et al.* 2005; Martínez *et al.* 2008). Por ejemplo, una alta concentración de materia orgánica puede ser perjudicial para completar el desarrollo pupal ya que incrementa el ataque de patógenos (Altieri 1999). De igual forma, una baja porosidad del suelo puede influenciar la habilidad de la larva para moverse o enterrarse (Johnson *et al.* 2006). Estas características edáficas están determinadas en gran medida por las características del ambiente como el tipo de vegetación, factores climáticos y uso de los recursos (Satti *et al.* 2003; Decker & Boerner 2003, 2006; Staelens *et al.* 2011).

La larva puede seleccionar ciertas condiciones en su entorno, que promuevan y protejan su desarrollo y el de la consecuente pupa (Berdegué *et al.* 1998). Escasos trabajos han incorporado o analizado los requerimientos de las larvas en cuanto a las

características del hábitat o sustrato en el cual se llevará a cabo la formación de la pupa (Nyman *et al.* 2006). Determinar las propiedades del suelo permite evaluar la influencia de dichas características sobre el desarrollo del insecto y en particular sobre los requerimientos para alcanzar el estado pupal (Alyokhin *et al.* 2001; Ellis *et al.* 2004; Chen & Shelton 2007; Clark *et al.* 2011). Asimismo, brinda una herramienta para el manejo y control de plagas, ya que se puede inferir sobre los recursos que aprovecha el insecto en un determinado ambiente (Moreby *et al.* 1994; Barker & Reynolds 2004; Castelo & Lazzari 2004). La mayoría de estos trabajos están basados en insectos del orden Coleoptera debido a sus hábitos rizófagos y el daño económico que causan en los monocultivos (Cherry & Allsopp 1991; Huk & Kühne 1999).

Hasta el momento, son escasos los trabajos que estudiaron a los insectos minadores de la Patagonia. De acuerdo a Sinclair & Hughes (2010) existe una escasez de conocimientos que es necesario ampliar sobre la ecología, historia natural y biología de los insectos minadores del hemisferio sur. En los registros y publicaciones sobre insectos minadores asociados a las Nothofagaceas del bosque Andino-Patagónico la mayoría de las especies pertenecen al orden Lepidoptera (Gentili & Gentili 1988; Grandon 1996; Karsholt & Kristensen 2003; Cordo *et al.* 2004). Principalmente han estudiado al género *Heterobahtmia* spp. (Heterobathmiidae) y están enfocados a describir aspectos morfológicos de ejemplares adultos (Kristensen & Nielsen 1998; Faucheux 2005; Hünefeld & Kristensen 2012 a, b), siendo hasta el momento sólo dos los trabajos que estudian los estados inmaduros (Kristensen & Nielsen. 1982; Ramos & Parra 2013). El trabajo desarrollado por Claros & Serey (2001) fue el pionero en adoptar un enfoque diferente y estudiar la tasa alimenticia de otros insectos minadores que no han identificado taxonómicamente (Lepidoptera: Heliozelidae) asociados a *N. alpina* y *N. obliqua*. Mientras que el trabajo realizado por Faúndez y colaboradores (2009) es el único trabajo actual que describe a *Notofenusa flinti* una especie de himenóptero minador de *N. pumilio*. Hasta el momento no se ha desarrollado ningún estudio que evalúe el comportamiento de los insectos minadores de los *Nothofagus* en estados inmaduros. Siendo el trabajo realizado por Mazía y colaboradores (2012) el único que muestra el impacto de los minadores de hojas sobre la abscisión temprana de hojas en bosques de lenga, allí se menciona que el principal minador es un himenóptero de la familia Tenthredinidae, posiblemente haciendo referencia a *Notofenusa flinti* Smith (Faúndez *et al.* 2009). Sin embargo, es necesario ampliar los conocimientos sobre

las especies de insectos minadores del bosque Andino-Patagónico con la finalidad de determinar su potencial impacto en las Nothofagaceas que utilizan como recurso alimenticio.

A partir de lo planteado anteriormente, mi objetivo fue estudiar el comportamiento de la larva *Notofenusa surosa* (Hymenoptera: Tenthredinidae) durante la búsqueda de hábitat de pupación y determinar cómo sus preferencias están relacionadas con las propiedades físico-químicas del sustrato. Cabe señalar que los sitios en los cuales se ha demostrado la presencia de esta especie (Pietrantuono *et al.* 2013 a), resultaron expuestos a la deposición de ceniza volcánica emitida por la erupción del complejo Puyehue- Cordón del Caulle (Chile) ocurrida el 4 de junio del 2011. La magnitud de este proceso abarcó aproximadamente, 7,5 millones de hectáreas en la Patagonia norte (Gaitán *et al.* 2011) y tuvo una duración de un año. La presencia de ceniza modificó el sustrato de los bosques y las condiciones de hábitats para los insectos del suelo. Trabajos previos han demostrado que esta ceniza puede resultar perjudicial para los insectos, afectando su hábitat, alimento y supervivencia (Buteler *et al.* 2011; Fernández -Arhex *et al.* 2013; Masciocchi *et al.* 2013; Elizalde 2014; Morales *et al.* 2014; Pirk 2014). El estudio del comportamiento mediante las elecciones de sustrato de pupación permiten inferir sobre cuáles son los requerimientos y preferencias de las larvas de *N. surosa* y de ésta forma determinar cuál es la capacidad de elegir y diferenciar diversos tipos de sustratos según sus cualidades. Las larvas que tienen la capacidad de elegir, forman la pupa en aquellos sustratos que resulten adecuados de acuerdo a sus necesidades y requerimientos. Por ello, los sustratos ofrecidos a *N. surosa* no serán igualmente elegidos y presentará una escala de preferencias frente a los sustratos ofrecidos y sus elecciones estarán determinadas en función de alguna de las características físico químicas del suelo.

Materiales y métodos.

Sistema de estudio.

El sistema de estudio está formado por la planta hospedadora *N. obliqua* (Fagales: Nothofagaceae) y larvas del insecto minador *N. surosa* (Hymenoptera: Tenthredinidae).

Pietrantuono y colaboradores (2013a) realizaron la primera descripción del ciclo de vida completo de *N. surosa* (Figura 4.1.1).

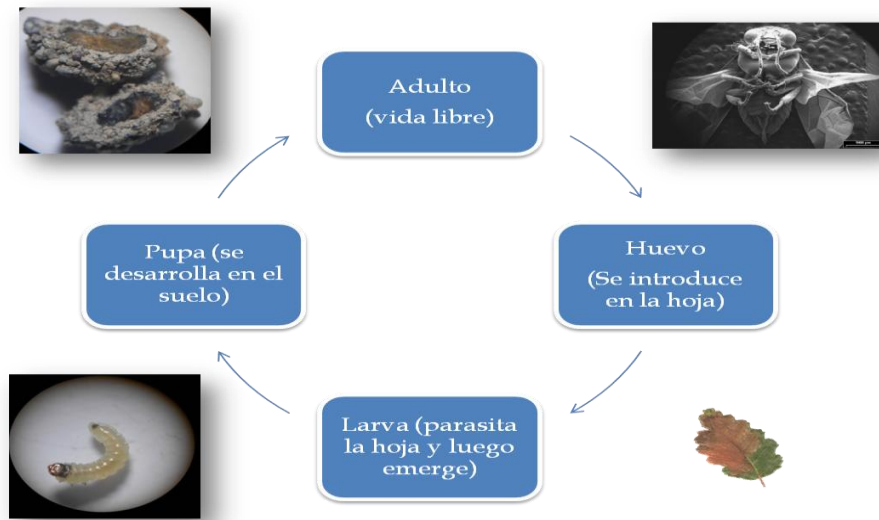


Figura 4.1.1 Ciclo de vida de *N. surosa*

Sustratos para pupación.

Para poder establecer una escala de preferencias sobre las elecciones realizadas por la larva, seleccioné distintos tipos de sustratos con características edáficas que permitieran diferenciarlos de forma tal que luego me permitan diferenciar el parámetro explicativo de las elecciones de las larvas. Dado que en la Patagonia existe un gradiente longitudinal precipitacional y de tipos de suelo, y no hay diferencias tan marcadas desde un aspecto altitudinal en los bosques de *Nothofagus* (Mazzarino *et al.* 1998; Decker & Boerner 2003) y que los suelos donde se desarrolla *N. obliqua* pueden presentar textura franca, franco-arcillosa o franco-arenosa debido a una alta plasticidad a nivel de requerimientos edáficos (Davel *et al.* 2004; Azpilicueta *et al.* 2010), decidí seleccionar varios sustratos diferentes. Estos sustratos provienen de seis sitios de muestreo dentro de la provincia de Río Negro ubicados según un gradiente precipitacional Oeste-Este y con diversas composición de cobertura vegetal (Figura 4.1.2; Tabla 4.1.1).

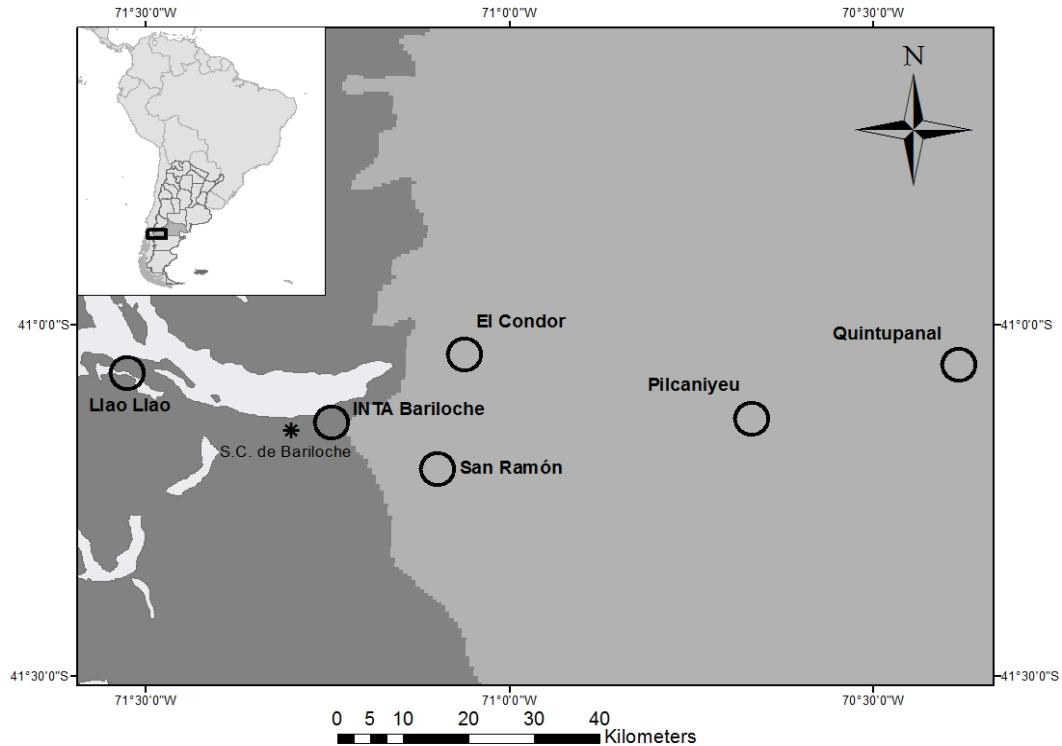


Figura 4.1.2 Sitios de muestreo de sustrato dentro de la provincia de Río Negro, de acuerdo a un gradiente precipitacional Oeste-Este (Mapa Med. Vet. Raffo).

Además de los sustratos provenientes de estos sitios evalué la preferencia por la ceniza volcánica, dichas muestras se recolectaron en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria- EEA Bariloche (INTA EEA-Bariloche) y en la estancia “San Ramón”.

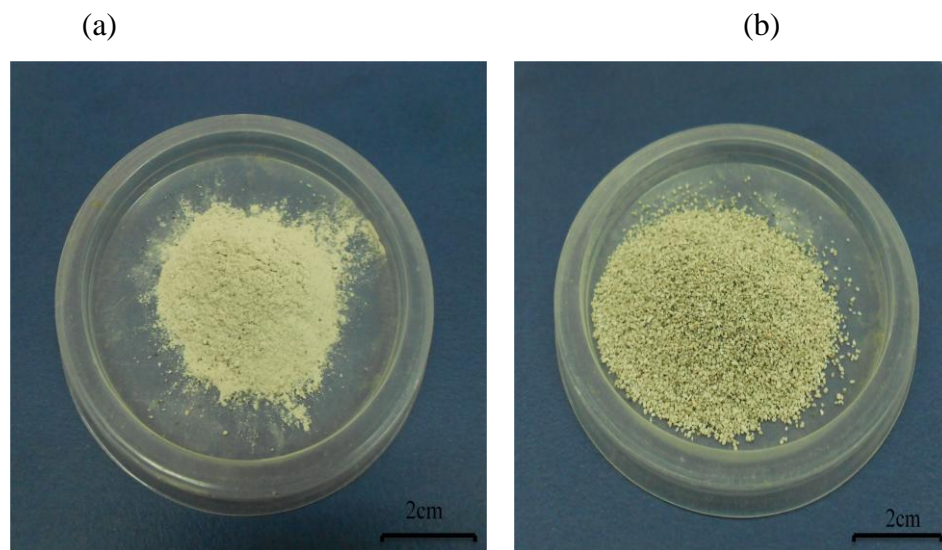


Figura 4.1.3 Ceniza volcánica emitida por la erupción del complejo volcánico Puyehue-Cordón del Cauile. (a) Ceniza fina ($<500\mu\text{m}$) (b) Ceniza gruesa ($\geq 500\mu\text{m}$).

Se establecieron las propiedades físico-químicas de los sustratos utilizados en este experimento (ver Anexo Capítulo4-Caso de estudio 1 para un mayor detalle sobre la metodología de este análisis; Cremona *et al.* 2011).

Tabla 4.1.1 Características de los sustratos utilizados en las pruebas de preferencia.

Sitios	Composición vegetal	Precipitación Media Anual (mm)	Temperatura Media Anual (°C)	pH ± ES	Capacidad de Campo (CC)± ES	Conductividad Eléctrica (CE) ±ES	% Materia orgánica (MO) ±ES	Porosidad± ES
Llao-Llao (LL)	Bosque de Ñires y Coihues	1400	7.5	5.35 ±0.12	115.92±13.6	0.21±0.03	38.34±9.70	81.82±2.5
INTA Bche. (INTA)	Plantación de Roble, Raulí y Lengua	580	8.8	5.65± 0.05	13.12±0.33	0.11±0.01	7.48±0.29	78.23±3.1
El Cóndor (EC)	Plantación de Pino ponderosa	580	8.8	6.95± 0.18	12.02±1.63	0.04±0.01	10.93±2.98	60.06±2.2
San Ramón (SR)	Estepa arbustiva	580	8.8	6.81 ±0.16	19.10±5.63	0.29±0.04	22.61±1.93	68.15±1.5
Quintupanal (QU)	Estepa arbustiva	290	9.0	8.83± 0.22	88.88±11.3	0.16±0.02	3.42±0.54	56.05±3.4
Pilcaniyeu (PI)	Estepa arbustiva	270	7.4	8.79± 0.22	74.15±18.9	0.16±0.01	1.77±0.06	54.84±2.2
Ceniza Gruesa (CG) (≥500µm)	-----	-----	-----	5.23± 0.16	12.87±2.17	0.43±0.06	0.04±0.02	74.38±0.0
Ceniza Fina (CF) (<500µm)	-----	-----	-----	8.16± 0.16	21.37±2.67	0.50±0.02	0.09±0.02	63.44±0.0

Diseño experimental

Para llevar a cabo el experimento de pruebas pareadas confeccioné unos contenedores de vidrio los cuales me permitieran observar en qué sustrato formaban la pupa. Estos contenedores poseen dos líneas marcadas, una horizontal y otra vertical; la línea vertical marca el límite entre los dos sustratos a comparar, mientras que la línea horizontal sirve de guía para nivelarlos (Figura 4.1.4, este es el primer trabajo de comportamiento en el que se utiliza este tipo de dispositivo). Establecí un total de 28 combinaciones de sustratos de acuerdo al calendario de cruzamientos (ver Anexo B y Capítulo 3) y realicé seis repeticiones para cada combinación. Luego de introducir los sustratos, los rehumedecí de acuerdo a la capacidad de campo de cada uno (Tabla 4.1.1).

Posteriormente, (durante el mes de enero del 2012) recolecté hojas minadas de *N. obliqua* con larvas de *N. surosa* (n = 180) provenientes del vivero del INTA EEA-Bariloche. Inmediatamente luego de su recolección, coloqué las hojas minadas (con una larva pronta a emergerse) sobre la intersección de ambas líneas del contenedor. Asimismo, en la parte superior del dispositivo coloqué un recorte de tela de *voile* para evitar que escapara la larva o el insecto adulto luego de la emergencia del sustrato. Llevé a cabo este experimento bajo condiciones semi-controladas de temperatura y humedad ($20,4 \pm 0,1^\circ\text{C}$; $39,5 \pm 0,1\%$ HR). Durante una semana observé diariamente si se desarrollaba la pupa y registré como variable respuesta la elección de sustrato mediante la formación de la pupa.



Figura 4.1.4 Contenedores de vidrio (10x15x1cm) realizados a mano para las pruebas de preferencia de sustrato. Prueba de preferencia entre sustratos de pinar y ceniza fina. Se puede observar en el sustrato de pinar la formación de la pupa de *N. surosa*.

Análisis de datos.

Para el análisis de los datos obtenidos realicé un proceso de generación y posterior selección de los modelos. Este proceso permite explicar la probabilidad de que las larvas elijan un determinado sustrato de acuerdo a sus cualidades. Establecí una escala de preferencia basada en el modelo de Thurstone – Bradley Terry (Thurstone 1927; Bradley & Terry 1952). Para ello coloqué, en forma aleatoria, al sustrato de Llao- Llao como el valor de referencia. En consecuencia su valor en la escala de preferencia fue establecido como cero. Las preferencias para el resto de los sustratos resultaron posicionadas en relación a este valor. Los modelos de preferencia, basados en las propiedades de los sustratos (es decir los parámetros) fueron generados progresivamente a partir de un modelo nulo (en el cual las preferencias no están causadas por los parámetros de los mismos).

Los modelos generados fueron aumentando en complejidad a medida que se fueron agregando y combinando los distintos parámetros. Por lo tanto, los modelos se

fueron desarrollando en forma de árbol desde el modelo nulo, pasando por modelos lineales simples de un parámetro (la preferencia es función lineal de un parámetro), luego por modelos bilineales con dos parámetros (las preferencias son una función lineal en la que se combinan dos parámetros o modelos cuadráticos (las preferencias son una función cuadrática de un solo parámetro) y así continuó aumentando en complejidad según este patrón (Anexo B, Figura B1). Continué con la generación de modelos hasta que la complejidad superó la probabilidad de mejorar la función de verosimilitud. Este proceso de generación y selección de modelos los desarrollé utilizando el algoritmo de cadenas de Markov Monte Carlo con Saltos Reversibles (“Reversible Jump Markov-Chain Monte Carlo”). Para cada parámetro adicional la función log-verosimilitud fue penalizada con un valor de -2. Descarté las primeras 40000 iteraciones del procedimiento y utilicé las últimas 10000 para calcular el peso de cada modelo durante el proceso de promediado. Los valores esperados en función de los parámetros los calculé utilizando una media ponderada de los modelos propuestos. Para el modelo seleccionado, realicé 1000 iteraciones de cadenas de Markov Monte Carlo para cada iteración del algoritmo de saltos reversibles. El modelo con el menor valor promedio de la función Log- Verosimilitud (*Log likelihood average*) fue el modelo que seleccioné (Takane 1980).

Resultados.

A partir de los ensayos realizados obtuve un éxito pupación del 93,88% (n = 169); las larvas desarrollaron la pupa en un lapso de 2 a 3 días y a una profundidad que osciló entre los 5 a 25mm. Durante la realización de los experimentos 11 larvas murieron y no formaron la pupa; por ello se excluyeron del análisis de los datos.

Mediante las respuestas de las elecciones realizadas por las larvas, desarrollé 84 modelos durante el proceso de análisis de datos. De acuerdo a la complejidad de los modelos y la probabilidad de mejorar la función de verosimilitud seleccioné 13 modelos. Posteriormente, según el porcentaje de iteraciones consideré que el modelo 1 es aquel que mejor representa las elecciones realizadas por las larvas (Modelo 1: 47.715%; Tabla 4.1.2).

Tabla 4.1.2 Modelos seleccionados de acuerdo al porcentaje de iteraciones. El modelo 1 (* y en negrita) es el que tiene el mayor porcentaje de iteraciones, por ello es el que mejor explica las preferencias de sustrato de *N. surosa*. Estas preferencias se determinan por una función cúbica del contenido de materia orgánica de los sustratos.

Modelo	Parámetros	Función	% de iteraciones en las cuales el modelo fue elegido	Log likelihood average	Log likelihood SD
1*	Materia Orgánica	Cúbica	47.715	-185.10	5.42
2	Materia Orgánica + Porosidad	Cúbica + Lineal	16.278	-184.24	6.50
3	Materia Orgánica	Cuadrática	13.759	-190.71	3.97
4	Materia Orgánica+ Luz	Cuadrática+ Lineal	7.509	-186.23	4.68
5	Materia Orgánica+ Ph	Cúbica + Lineal	4.300	-186.19	6.80
6	Materia Orgánica+ Conductividad Eléctrica	Cúbica + Lineal	3.440	-191.17	6.16
7	Materia Orgánica+ Capacidad de Campo	Cúbica + Lineal	2.710	-189.95	8.53
8	Materia Orgánica	Cuarta	1.980	-184.8	5.03
9	Materia Orgánica + Conductividad Eléctrica	Lineal + Cuadrática	1.450	-189.88	4.90
10	Conductividad Eléctrica	Cuadrática	0.560	-193.13	3.90
11	Conductividad Eléctrica	Cúbica	0.230	-186.19	5.09
12	Materia Orgánica + Luz	Cúbica + Lineal	0.050	-187.66	5.33
13	Materia Orgánica + Capacidad de Campo	Lineal + Cuadrática	0.020	-192.57	4.89

El modelo seleccionado integra las escalas de preferencia (Escala de Thurstone) de los insectos minadores con una función cúbica del porcentaje de materia orgánica contenida en los sustratos (Figura 4.1.5).

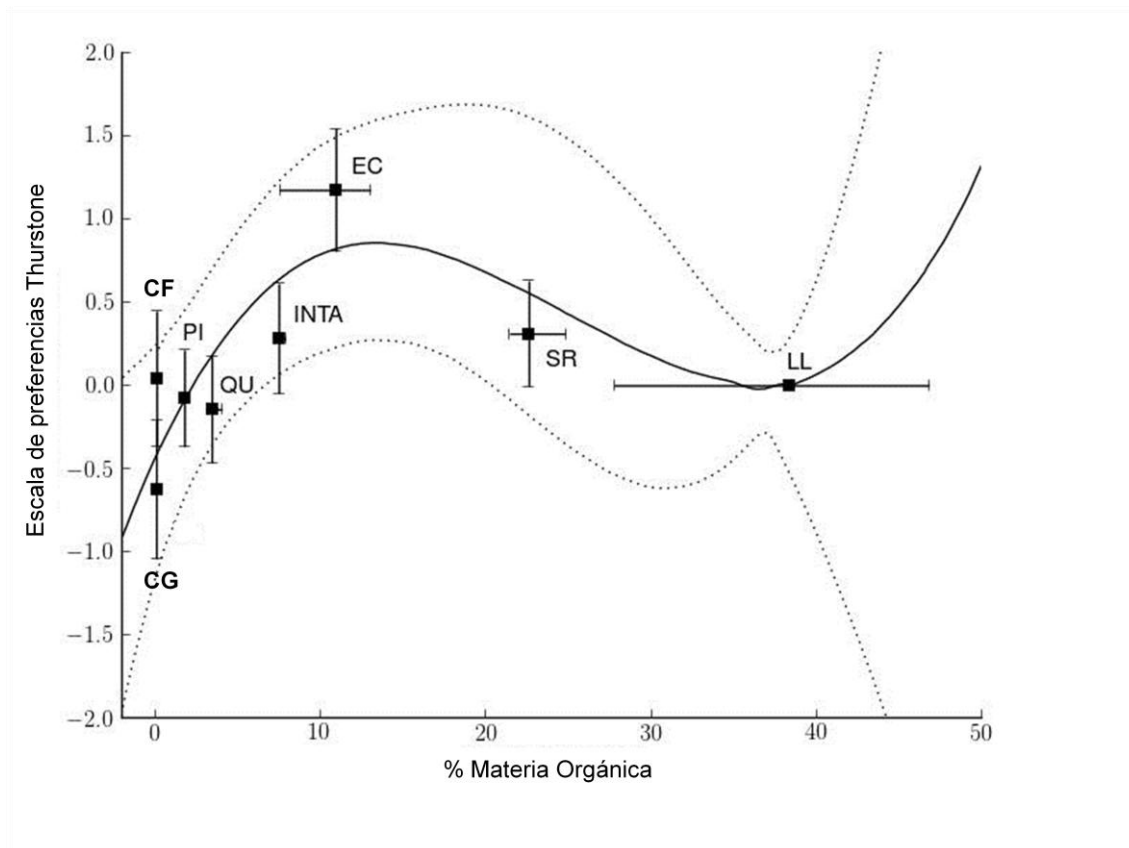


Figura 4.1.5 Curva de preferencia en función del porcentaje de materia orgánica. Esta función se calcula a partir de la media ponderada del modelo 1. El peso de cada modelo en el cálculo de la curva de ponderación es el porcentaje en la Tabla 4.1.2. Los ejes Y representan la escala de Thurstone de atractivo / preferencia. El eje X es el porcentaje de materia orgánica en cada sustrato (CF: Ceniza Fina, CG: Ceniza Gruesa, QU: Quintupanal, INTA EEA Bariloche: Instituto de Tecnología Agropecuaria, EC: El Cóndor, SR: San Ramón, LL: Llao-Llao). Los valores negativos en los ejes Y indican una menor preferencia por el parámetro. La línea punteada indica el 95% del intervalo de credibilidad.

La concentración de materia orgánica fue la propiedad que mejor explicó las elecciones de sustratos de pupación. Este modelo sugiere que existe un valor óptimo (entre el 10 y el 15% de contenido de materia orgánica) para el desarrollo de la pupa. Estos valores se corresponden con las características del sustrato extraído de la Estancia “El Cóndor”. Por otra parte, las muestras correspondientes a los sitios “INTA” y Estancia “San Ramón” poseen valores de materia orgánica que se encuentran dentro del gradiente de atractividad, mientras que la ceniza volcánica (ya sea fina o gruesa) al no tener materia orgánica es prácticamente repelida. Resulta interesante notar que los tres sitios también poseen valores similares de porcentaje de porosidad (la cual puede influir en la capacidad de moverse o enterrarse). Este no es un detalle menor, ya que el modelo

que incluye materia orgánica y porosidad es el segundo modelo en cuanto a número de iteraciones.

Discusión.

A partir de los resultados obtenidos puedo inferir que las larvas de *N. surosa* eligen el sustrato de pupación ya que no todos están igualmente posicionados dentro de la escala de preferencias. Esta elección está relacionada con las distintas concentraciones de materia orgánica. De acuerdo con Edwards y colaboradores (1970), la materia orgánica del suelo es un factor clave para la vida de los organismos que allí se desarrollan. Está fuertemente relacionada con la cantidad de aire disponible para la respiración, la textura, la estructura, la humedad y la porosidad del suelo (McColloch & Hayes 1922; Fernández Rueda & Paz González 1998; Bot & Benites 2005). Se ha demostrado que factores como la humedad y la porosidad influyen en las elecciones de las larvas (Huk & Kühne 1999; Alyokhin *et al.* 2001; Ellis *et al.* 2004). Por lo tanto, la materia orgánica podría llegar a ser un parámetro importante para el desarrollo y la supervivencia de las larvas (Marrone & Stinner 1984; Macdonald & Ellis 1990; Dimou *et al.* 2003; Hulthén & Clarke 2006). Particularmente en casos como los de *N. surosa* cuya pupa realiza una diapausa prolongada que dura varios meses hasta la próxima temporada estival (obs. pers.). La localización de un hábitat con las características adecuadas para soportar este período de fragilidad y alta susceptibilidad al ataque de patógenos es un factor determinante para el éxito del individuo. Este factor es de tal importancia que hasta se han desarrollado diversas técnicas para modificar las condiciones del sustrato como medida de control de plagas de moscas sierra que también desarrollan la pupa en el suelo. Tal es el caso de los minadores del género *Dolerus* y *Pachynematus* ambos pertenecen a la familia Tenthredinidae y se alimentan en cultivos de cereales y pastos en Gran Bretaña (Barker & Reynolds 2004).

En cuanto a la procedencia de la muestra preferida cabe destacar que no pertenece a los sitios en los cuales actualmente se encuentre la planta hospedadora de *N. surosa* sino que pertenece a una plantación de pino, específicamente *Pinus ponderosa*, lo cual le brinda al sitio características específicas. Actualmente en la provincia de Río Negro el 10% del territorio cubierto con pino cultivado se encuentra susceptible de

reemplazo con especies nativas como el género *Nothofagus*, principalmente *N. obliqua* y *N. nervosa* (Barbero *et al.* 2011). Algunas de estas plantaciones se están desarrollando en la misma área de distribución natural de estas especies nativas como los bosques ecotonales. En éstas áreas confluyen factores y dinámicas tanto de bosque como de estepa (Kitzberger 2008) por lo que podrían revestir un importante valor para la domesticación de esta y otras especies. En consecuencia las nuevas plantaciones (*e. g.* las 10 has desarrolladas por la Dirección General de Bosques y Parques de Chubut en el año 2008 con Roble Pellín, Raulí, Coihue y Ciprés de la Cordillera con fines de restauración fuera de los límites de la distribución de estas especies; Azpilicueta *et al.* 2010) resultarían expuestas a la acción de los mismos insectos del bosque (Milligan 1974; Denno & McClure 1983).

Por su parte, el efecto repelente causado por las cenizas volcánicas sobre larvas de *N. surosa* puede deberse a la alta capacidad abrasiva de las cenizas. Las cuales ocasionan un daño mecánico que deteriora la epicutícula del insecto aumentando su permeabilidad y acelerando el proceso de deshidratación (Buteler *et al.* 2011; Fernández Arhex *et al.* 2014a, b). Según Barker & Reynolds (2004), la desecación es uno de los principales factores que afectan seriamente el desarrollo de pupas de las moscas sierra. Por lo tanto, a pesar de que el efecto de la ceniza no es el mismo para todos los insectos, podemos suponer que las cenizas tendrán un efecto a largo plazo sobre el desarrollo de estos insectos (Fernández Arhex *et al.* 2013; Elizalde 2014; Pietrantuono *et al.* 2014). Si bien durante las primeras etapas la larva de *N. surosa* está totalmente protegida dentro de la epidermis de las hojas, después de la emergencia de la hoja la larva debe cavar en el sustrato y, al igual que otras moscas sierra, podría poseer una baja resistencia a daños mecánicos (Burret *et al.* 2005; Boevé *et al.* 2011; Pietrantuono *et al.* 2013a). Dada la magnitud de la deposición de cenizas, las larvas inevitablemente resultaron expuestas a las cenizas volcánicas y se enfrentaron a la dificultad de encontrar un hábitat adecuado en función de sus preferencias de sustrato. En consecuencia, la ceniza podría haber sido el factor regulador de la formación de la pupa y afectar la población del minador. Estas suposiciones concuerdan con los datos obtenidos por Chaneton y colaboradores (2014) quienes registraron, durante dos años posteriores la erupción del complejo Puyehue cordón del Caulle, una disminución de la tasa de herbivoría causada por minadores en *N. pumilio*.

Las larvas de *N. surosa* pueden realizar elecciones y percibir las características del sustrato, en condiciones naturales probablemente realicen una búsqueda a escala del micro-sitio que posea las características de materia orgánica preferidas para el desarrollo de su pupa. De acuerdo a este comportamiento de búsqueda (que puede durar hasta cinco días, *obs. pers.*) y al hábito de desarrollo que poseen, considero que la elección de sustrato es un factor determinante que podrían influir en su éxito y supervivencia.

CASO DE ESTUDIO 2

“Los Succionadores”: Preferencias de planta hospedadora en *Sinopla perpunctatus* (Hemiptera: Acanthosomatidae)⁴.

Introducción.

Según Bernays y Chapman (1994) todos los insectos fitófagos poseen un gradiente de selectividad en cuanto a sus recursos alimenticios. Utilizan una serie de claves sensoriales y respuestas comportamentales en la localización de una planta hospedadora (Bernays & Chapman 1994; Heard 2000). Las claves sensoriales en combinación con el estado interno del insecto, las características ambientales y las interacciones (competencia, depredación) son algunos de los factores que determinan la relación entre los insectos y sus plantas hospedadoras (Pérez Contreras 1999; Dicke 2000). En consecuencia, las plantas no resultan igualmente atractivas generando de esta forma rangos o escalas de preferencia entre plantas preferidas, plantas aceptables y plantas rechazadas (Singer *et al.* 1992; de Boer & Hanson 2011).

Para los insectos fitófagos la selección de la planta hospedadora no es una simple elección de un recurso alimenticio, además implica seleccionar un hábitat que sea adecuado para la supervivencia y el desarrollo (Bernays & Chapman 1994; Schoonhoven *et al.* 2005; Price *et al.* 2011). El gradiente de preferencias puede estar fuertemente influenciado por el estado motivacional del insecto durante el proceso de selección; la motivación puede marcar la diferencia entre aceptar o preferir un determinado hospedador (*i.e.* entre resultar atraído por un hospedador determinado o seleccionarlo y luego utilizarlo para su propio beneficio) (Rausher 1983). Los movimientos asociados con la búsqueda de un recurso permiten estimar la motivación o estado motivacional del organismo; esta teoría fue reconocida en primer lugar para insectos parasitoides y luego en insectos fitófagos (Gullan & Cranston 2010). Por lo tanto, un individuo altamente motivado llevará a cabo una serie de acciones hasta obtener el recurso que busca: primero deben localizar el hábitat, luego al hospedador,

⁴Este trabajo corresponde a la publicación de respaldo. Pietrantuono *et al.* 2014. First study of host-plant preferences of *Sinopla perpunctatus* (Hemiptera: Acanthosomatidae) a stink bug from Andean-Patagonic forest. Florida Entomologist 97(2): 534-539.

aceptarlo y finalmente hacer uso del hospedador (Heard 2000). Durante este proceso, la motivación de un insecto puede verse influenciada por la presencia de depredadores y competidores, el estado interno, la edad del insecto y condiciones ambientales (Herbers 1981; Visser 1988; Singer *et al.* 1992).

Eventos naturales como la ocurrencia de una erupción volcánica provocan cambios en el medio ambiente y en las interacciones entre especies y procesos tanto a nivel de ecosistemas como de individuos, como por ejemplo entre la productividad primaria y la herbivoría (Bishop *et al.* 2005; Marske *et al.* 2007; Chaneton *et al.* 2014). En consecuencia, los insectos presentes en estos sistemas pueden resultar afectados, ya sea por una modificación de su hábitat, cambios en la calidad de las fuentes de alimentos o en su capacidad para identificar y aprovechar los recursos (del Moral & Grishin 1999; Ayrís & Delmelle 2012). Por otra parte, a nivel de individuo, la ceniza volcánica posee una alta capacidad abrasiva provocando daño y desecación en la epicutícula de los insectos, la oclusión de espiráculos, salivación excesiva, un incremento en la limpieza y la interrupción de la actividad digestiva por la acumulación de ceniza en el intestino y finalmente ocasionar su muerte (Wigglesworth 1944, Wille & Fuentes 1975 Edwards & Schwartz 1981; Subramanyam & Roesli 2000; Stadler *et al.* 2010). Las cenizas pueden actuar en forma similar a los polvos inertes (polvos inorgánicos), los cuales son utilizados en el control de plagas de insectos fitófagos (Llewellyn & Eivaz 1979; Silva-Aguayo *et al.* 2004; Stadler *et al.* 2010). El 4 de junio del 2011, ocurrió la erupción volcánica del Complejo volcánico Puyehue-cordón del Caulle (Chile), afectando parte del bosque Andino-Patagónico con la deposición de grandes cantidades de ceniza volcánica (Gaitán *et al.* 2011). Por lo tanto, los insectos succionadores (Hemiptera) del bosque que resultaron expuestos a la ceniza volcánica pudieron verse influenciados en diversos aspectos como su diversidad, abundancia supervivencia y comportamiento (Buteler *et al.* 2011; Fernández -Arhex *et al.* 2013; Elizalde 2014).

El orden Hemiptera representa a gran parte de los insectos succionadores muchos de los cuales son exitosos y conocidos como plagas agrícolas de importancia económica (Cobben 1978). Según Backus (1988), gran parte de este éxito es debido al aparato bucal que poseen y a las estrategias y conductas alimenticias. Estudiar los factores que pueden influenciar la conducta de los insectos succionadores del bosque es

un tema de gran interés para el manejo silvícola y la conservación de estos ambientes. Según Grandon (1996), anteriormente los succionadores de los *Nothofagus* presentes en el bosque Andino-Patagónico recibieron muy poca atención debido a que el daño que ocasionan no es tan notorio en comparación con el que causan otros gremios. Sin embargo pueden ocasionar una pérdida prematura del follaje, transmitir virus y agentes patógenos e incluso provocar un debilitamiento en los árboles haciéndolos susceptibles a otras plagas (Dajoz 2001). A pesar de que generalmente no matan al árbol producen deformaciones, decoloraciones y retraso en el crecimiento afectando el recurso en su calidad como producto maderero, por ello es importante estudiar el potencial daño que estos insectos pueden ocasionar en viveros forestales y plantaciones de especies nativas (Baldini & Pancel 2000).

Recientemente se han desarrollado varios trabajos que describen la biología de los insectos succionadores y su interacción con las plantas del bosque Andino-Patagónico (Gentili & Gentili 1988; Grandon 1996; Quiroz *et al.* 1999; Faúndez 2007a, 2009, 2010; Faúndez *et al.* 2009, 2013; Faúndez & Carvajal 2011). *Sinopla perpunctatus* Signoret (Hemiptera: Acanthosomatidae) es uno de los insectos succionadores heterópteros más abundantes y mejor estudiados (Martínez *et al.* 2003; Faúndez 2007b; Prado 2008; Osorio 2009; Faúndez & Osorio 2010; Vergara & Jeréz 2010). Esta chinche verde es nativa del bosque andino-patagónico, posee a *Nothofagus antártica*, *N. nervosa* y *N. obliqua* como plantas hospedadoras (Faúndez 2007b; Vergara & Jeréz 2010). Durante el estado adulto, es capaz de desarrollar un complejo comportamiento de crípsis y cuidado parental de la progenie (Faúndez 2007b, Faúndez & Osorio 2010). Actualmente no hay trabajos que evalúen cómo ciertos factores ambientales o factores internos influyen sobre la conducta de selección de planta hospedadora en este insecto. Por ello mi objetivo fue analizar el comportamiento de búsqueda de planta hospedadora para el insecto succionador *Sinopla perpunctatus* y determinar cómo influyen determinados factores extrínsecos (presencia de ceniza volcánica) e intrínsecos (edad) en las elecciones que realiza. Las características foliares de las distintas especies de plantas hospedadoras determinan las elecciones que realizan los insectos succionadores durante su comportamiento de búsqueda, por ello tendrán una mayor preferencia por hojas de menor grosor y pilosidad debido a sus hábitos como insectos succionadores. Por otra parte, la presencia de ceniza volcánica y/o factores intrínsecos del insecto (motivación, edad) pueden influenciar el comportamiento de

búsqueda de planta hospedadora. Por ello, los insectos evitarán las plantas con ceniza volcánica, debido a su efecto abrasivo y una vez que el insecto encuentre su planta preferida, disminuirá sus movimientos y se establecerá allí.

Materiales y métodos.

Sistema de estudio.

Durante la temporada de verano 2011-2012 recolecté individuos adultos de *S. perpunctatus* en la zona de Quilanlahue en la provincia de Neuquén (S 40° 8' 10 .92 ", W 71° 28'14 .75"). Los individuos recolectados se encontraban sobre ejemplares de *N. antarctica*, *N. nervosa*, y *N. obliqua*. La zona de Quilanlahue se encuentra dentro del bosque Andino- Patagónico y resultó afectada por la erupción el complejo volcánico Cordón del Cauille en Chile (al igual que los sitios de muestreo del Caso de estudio 1).

Diseño experimental.

Para evaluar las preferencias de planta hospedadora, realicé una secuencia de pruebas pareadas bajo condiciones semi-controladas de temperatura y humedad ($20,4 \pm 0,1^\circ\text{C}$; $39,5 \pm 0,1\%$ HR) (David 1988; Bruzzone & Corley 2011). Para llevar a cabo estos ensayos, utilicé como estímulo ramas provenientes de tres plantas hospedadoras: *N. antarctica*, *N. nervosa* y *N. obliqua*. Dichas ramas medían aproximadamente 10cm de largo, tenían un grosor de 1-2 mm y pesaban 4gr (Figura 4.2.1). Posteriormente, se insertaban sobre un cubo húmedo de espuma fenólica de célula abierta (comúnmente conocido como esponja oasis).



Figura 4.2.1 Proceso de pesado y medición de hojas y ramillas para muestra estímulo.

Como estímulo control utilicé ramas y hojas de una planta artificial para acuarios, esta brinda refugio, es inocua, inodora y sus hojas poseen una forma y tamaño similar a las de las plantas hospedadoras (Figura 4.2.2).



Figura 4.2.2 Planta artificial utilizada como estímulo control.

Coloqué los estímulos en los extremos opuestos de un recipiente cerrado de plástico de 12x16x25cm. Dependiendo del tipo de tratamiento, las hojas podían estar o no pulverizadas con ceniza volcánica. La muestra de ceniza provenía de dos sitios de recolección, el INTA Bariloche y la estancia “San Ramón”. Al igual que en el caso de estudio 1, luego de la recolección las muestras fueron homogeneizadas y clasificadas en dos granulometrías. Aquellos tratamientos con ceniza se les rociaba 0,5 g de ceniza fina $<500\mu\text{m}$ o ceniza gruesa $>500\mu\text{m}$ (Figuras 4.2.3).

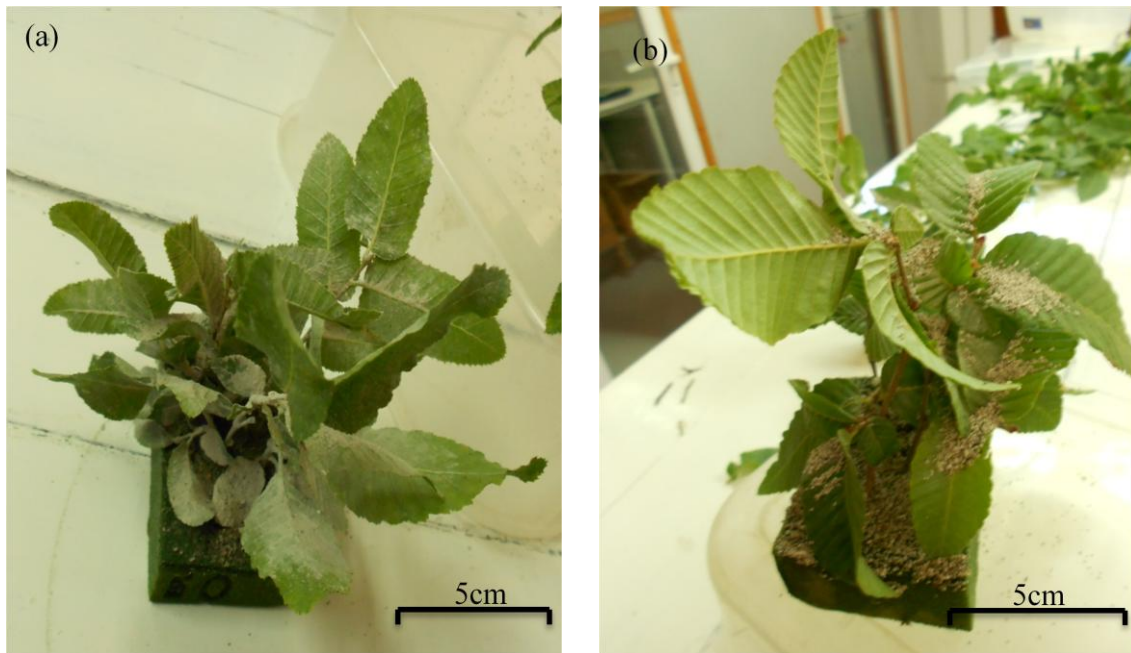


Figura 4.2.3 Estímulos con ceniza (a) Roble con ceniza fina (b) Raulí con ceniza gruesa



Figura 4.2.4 Contenedores en los cuales se realizaron las pruebas de preferencia de planta hospedadora-Tratamiento sin ceniza.

En total establecí 18 combinaciones de estímulos y tratamientos. Coloqué en el punto medio entre ambos estímulos grupos de 7 individuos en cada prueba (n total=126). Como variable respuesta registré las elecciones de cada individuo (*i.e.* en qué planta se encontraba) en el mismo horario cada día durante el lapso de una semana.

Análisis estadístico.

Analicé los datos mediante la generación de modelos que explican las probabilidades de los individuos de elegir una opción en particular dependiendo de sus preferencias. A partir de estos modelos se establece una escala de preferencias basada en el modelo de Thurstone – Bradley Terry (Thurstone 1927; Bradley & Terry 1952). En esta escala establecí en forma aleatoria a *N. nervosa* como referencia y le asigné el valor cero (0) con uno (1) como desviación estándar. Por lo tanto, *N. nervosa* actúa como origen de coordenadas y los valores de preferencias se establecen en relación a las preferencias por esta planta. Los valores positivos indican una mayor preferencia que *N. nervosa*, valores negativos sugieren rechazo o una menor preferencia (ver Capítulo 3- Descripción de los métodos y análisis de datos).

A partir de los modelos simples (sólo preferencias) fui incorporando nuevos parámetros. Dado que no existe información *a priori* sobre la distribución de estos parámetros utilicé una distribución normal para todos los parámetros con una media de 0 y una de desviación de 10 para medir el ajuste de función.

Establecí un total de diez modelos para explicar los datos:

- 1) **Modelo simple:** Preferencias según el modelo de Thurstone caso V.
- 2) **Modelo con efecto origen:** La preferencia original de Thurstone se le añade un término en forma de Delta de Dirac que vale cero en general, pero si la planta es la misma donde fue capturado, toma un valor distinto, que es positivo si la prefiere o negativo si la evita.
- 3) **Modelo con efecto de la edad:** Las preferencias cambian en función del transcurso del tiempo, por lo tanto a la preferencia original estimada en la escala de Thurstone en tiempo 0 (ordenada de origen), se le suma un término de pendiente de cambio de preferencia en función del tiempo, dando como resultado la ecuación de una recta en función del tiempo.
- 4) **Modelo con efecto hogar:** Las preferencias son afectadas por la motivación del insecto hacia cambiar de planta, se implementa de la misma manera que en el caso del modelo de origen, pero el delta en este caso pasa a ser un término auto-regresivo, que vale cero en general, pero toma otro valor si la planta es la misma

que en la que se encontró el día anterior (positivo si el animal tiende a quedarse, y negativo si tiende a cambiar).

- 5) **Combinación entre efecto de la edad y efecto hogar:** Combinación aditiva de los dos modelos previos.
- 6) **Modelo simple y efecto de la presencia de ceniza volcánica:** Implementado de la misma manera que el efecto de origen como un Delta de Dirac. Es positivo si el animal prefiere la ceniza, y negativo si la rechaza.
- 7) **Modelo de efecto de la edad en combinación lineal con el efecto de la presencia de ceniza volcánica.**
- 8) **Efecto hogar en combinación lineal con el efecto de la presencia de ceniza volcánica.**
- 9) **Efecto de la edad en combinación lineal con el efecto hogar y la presencia de ceniza volcánica.**
- 10) **Combinación lineal de todos los modelos anteriores**

El modelo seleccionado fue aquel que presentó el menor valor de DIC (Gelman *et al.* 2004).

Resultados.

A partir de las elecciones de *S. perpunctatus* pude establecer la escala de preferencias de planta hospedadora. Como resultado, este insecto eligió en una mayor proporción a *N. antarctica* y *N. obliqua* como plantas hospedadoras. Mientras que *N. nervosa* se encuentra en segundo lugar, pero dentro del rango de aceptación a diferencia de las hojas artificiales las cuales son prácticamente rechazadas (Figura 4.2.5).

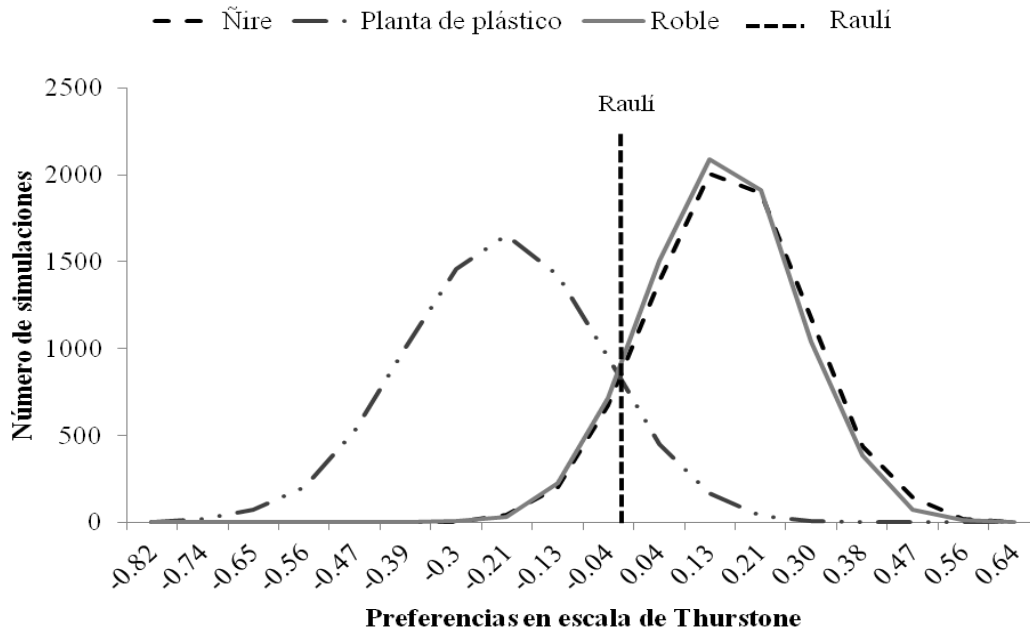


Figura 4.2.5 Preferencias de planta hospedadora para *S. perpunctatus* de acuerdo con el efecto hogar (modelo seleccionado). Las curvas representan las distribuciones de probabilidad de que el insecto elija un determinado estímulo. Las curvas situadas en la parte derecha de la línea vertical representan los estímulos preferidos, mientras que los valores negativos (o en la izquierda de la línea vertical) representan estímulos rechazados. La línea punteada vertical representa "raulí" (*N. nervosa*), es un valor arbitrario utilizado como punto de referencia. *S. perpunctatus* prefiere el "roble" y "ñire" como planta hospedadora.

El análisis de los modelos propuestos sugiere que las preferencias de plantas hospedadoras están fuertemente influenciadas por el efecto hogar, pero no por la planta donde fue originalmente capturado el insecto (*i.e.* efecto origen), ya que dicho modelo es el que posee el mínimo valor de DIC (Tabla 4.2.1). El efecto hogar establece que una vez que el insecto realizó una elección decide permanecer allí y no cambia hacia otra planta, independientemente del tiempo que le haya llevado realizar dicha elección.

Tabla 4.2.1 Modelos propuestos para evaluar las preferencias y el proceso de elección de la planta hospedadora. El asterisco (*) indica el modelo seleccionado de acuerdo al menor valor de DIC.

Nº	Modelo	DIC
0	Modelo simple	420,28
1	Modelo efecto origen	423,63
2	Modelo con efecto edad	419,94
3*	Modelo con efecto hogar	415,84
4	Modelo efecto edad+ efecto hogar	427,28
5	Modelo simple + efecto ceniza	418,17
6	Modelo efecto edad+ efecto ceniza	422,05
7	Modelo hogar+ efecto ceniza	417,94
8	Modelo hogar+ efecto edad+ efecto ceniza	422,55
9	Modelo hogar +efecto edad +efecto ceniza+ efecto origen	428,31

El efecto edad, el efecto origen y la presencia de ceniza volcánica (efecto ceniza) no explican las elecciones realizadas por los individuos.

Discusión.

Los resultados demostraron que *S. perpunctatus* realiza elecciones durante la selección de la planta hospedadora y elige en mayor proporción a *N. antarctica* y *N. obliqua*. Ambas especies presentan similares características en cuanto al tamaño, morfología de la hoja y características de la epidermis foliar (ver Capítulo 2. Sistema de estudio). El ñire posee hojas que van desde 1-4 cm de largo, una epidermis de 21,8 a 24,7µm y una cutícula de 2,2-2,9µm de grosor; por su parte el roble posee hojas que van de 2-5cm de largo, con una epidermis 14,5-21,8µm y una cutícula de 2,9-4,4µm de grosor. Mientras que las hojas del raulí, que son menos preferidas, se caracterizan por la presencia de tricomas con glándulas esféricas, un mayor tamaño, dureza, grosor y pilosidad (sobre ambas caras y principalmente sobre los nervios) (Barrera & Meza 1993; Donoso 2006). Los tricomas pueden afectar a los insectos folívoros en la elección de la planta como

hábitat, ya que puede influir en sus preferencias de oviposición, en las interacciones con enemigos naturales y en su capacidad de movimiento (Andrés & Connor 2003; Price *et al.* 2011). Esta pilosidad sobre los nervios primarios podría dificultar su capacidad de alimentación por su hábito succionador y causar un cierto grado de antixenosis (*i.e.* un cambio en el comportamiento del insecto por la presencia de defensas físicas o químicas en la planta) (Brunt *et al.* 2006). Dichas características podrían explicar sus elecciones y la escala de preferencias de *S. perpunctatus* (Quiroz *et al.* 1999; Russel *et al.* 2000; Peeters 2002; Peeters *et al.* 2006).

De acuerdo al comportamiento desarrollado durante el proceso de elección y según el modelo seleccionado, podemos inferir que más allá del transcurso del tiempo y del efecto de la ceniza volcánica, el estado motivacional es el factor que mejor explicaría el gradiente de preferencias. Según Mangel (1993) la motivación es una medida del estado fisiológico directamente relacionada con el comportamiento, cambios en la motivación se traducen en cambios en el comportamiento. Cuando se enfrenta a un estímulo en particular, un animal no siempre exhibe la misma respuesta, la motivación es el mecanismo que conduce a los animales a hacer lo que hacen cuando lo hacen. Una forma de estudiar esto es la fluctuación en el tiempo de la tendencia a comportarse de un modo determinado, por ejemplo estudiar el patrón de alimentación (Slater 2000). En ocasiones cuando los estímulos no son lo suficientemente diferentes o no son de su agrado el individuo presenta una indecisión, con lo cual puede realizar movimientos aleatorios y luego perder su motivación (Krebs & Davies 2004; Matthews & Matthews 2010). En este caso, *S. perpunctatus* no muestra un comportamiento de indecisión ya que decide establecerse y no cambiar hacia otra planta (conducta establecida como *Station keeping* en Price *et al.* 2011). Una vez que consiguió lo que quiere tiene una pérdida de motivación para realizar nuevas búsquedas de recurso. El proceso de selección de este insecto concuerda con lo propuesto por Visser (1988), quien sostiene que cuando un insecto fitófago selecciona un hospedador, disminuye su locomoción debido a una pérdida de motivación. Según varios autores, el proceso de elección en insectos especialistas, es un proceso independiente de experiencias previas y del transcurso del tiempo (Papaj & Rausher 1983; Jaenike & Papaj 1992). Resultados similares se han registrado en *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) que una vez alimentado reduce su motivación para responder a las señales asociadas a un nuevo hospedador (Bodin *et al.* 2009). Asimismo, individuos de *Apis mellifera* (Hymenoptera:

Apidae) han demostrado que prefieren permanecer en recursos conocidos en lugar de explorar nuevos recursos (“motivación hogar”; Alfonso *et al.* 2007).

En cuanto a las cenizas volcánicas, estas no influyen en la conducta y preferencias de *S. perpunctatus*, a pesar de que en trabajos anteriores se ha demostrado que pueden ejercer un efecto negativo sobre el bienestar de otros insectos ya sea porque afecta su hábitat, sus recursos alimenticios o su supervivencia (Akre *et al.* 1981; Edwards & Schwartz 1981; Shanks & Chase 1981; Buteler *et al.* 2011; Fernández Arhex *et al.* 2013; Masciocchi *et al.* 2013; Chaneton *et al.* 2014; Elizalde 2014; Morales *et al.* 2014; Pirk 2014). Es probable que, en comparación con otros fitófagos, los individuos de *S. perpunctatus* expuestos a la ceniza no hubieran resultado afectados en gran medida debido a que su fuente de recurso alimenticio no está expuesta o contaminada con este material y por su hábito succionador no habrían ingerido grandes cantidades de cenizas que afectasen su capacidad digestiva. En segundo lugar, debido a la tendencia que posee de ubicarse en el lado inferior de las hojas y en los pliegues de la corteza, que actuarían como barreras protectoras tanto del efecto corrosivo de la ceniza como de otros factores como las altas temperaturas (Dajoz 2001; Faúndez & Osorio 2010). Este hábito disminuiría la exposición, contacto y fricción con la ceniza. En consecuencia, de acuerdo a lo propuesto por Marske y colaboradores (2007), el impacto de la ceniza volcánica no sería el mismo para todos los insectos, ya que depende de sus hábitos y comportamiento.

Finalmente, puedo concluir que *S. perpunctatus* posee un comportamiento de selección de planta hospedadora que está fuertemente relacionado con su estado motivacional el cual establece que una vez que seleccionó la planta, posiblemente de acuerdo a sus propiedades físicas, no cambia su elección. Estos resultados pueden relacionarse con la “Teoría de forrajeo óptimo”, la cual sostiene que los organismos al buscar, seleccionar e ingerir alimentos siguen aquellas estrategias de comportamiento que les permiten obtener la mayor tasa neta de consumo, es decir, obtener el mayor beneficio con el mínimo esfuerzo y riesgo (MacArthur & Pianka 1966; Shettleworth 1984, 1998; Scheirs & De Bruyn 2002; Simpson *et al.* 2004). Asimismo, la “Teoría de la distribución libre ideal” de Fretwell y Lucas (1970) propone que los animales van a distribuirse entre las alternativas existentes con relación a la calidad de esas alternativas, es decir, cada animal va a elegir la alternativa que le proporcione el máximo beneficio.

Estudiar el proceso comportamental que realiza el insecto durante la selección de la planta hospedadora permite comprender los factores que determinan este proceso y posiblemente influyen en el éxito del individuo y de su progenie (Bell 1990; Niemeyer 1990; Singer *et al.* 1992; Matthews & Matthews 2010; de Boer & Hanson 2011; Price *et al.* 2011).

CASO DE ESTUDIO 3

“Los Masticadores”: Preferencias de alimentación en *Perzelia arda*, *Polydrusus nothofagii* y *P. roseaus*.

Introducción.

La interacción entre los herbívoros y las plantas sugiere estar influenciada significativamente por varios factores como, la diversidad de especies de plantas presentes dentro de una comunidad, las relaciones intra e inter-específicas, la disponibilidad de los recursos vegetales en el espacio y el tiempo, la calidad nutritiva de los tejidos vegetales, y la diversidad de defensas químicas y físicas (Cates 1980; Coley *et al.* 1985; Thompson 1988; Price *et al.* 2011). Hay señales que permiten a los insectos reconocer estos factores y aceptar su planta hospedadora y rechazar a otras (Jaenike 1990; Dajoz 2001).

El comportamiento de selección de una planta hospedadora está mediado, en gran medida, por los productos químicos primarios y secundarios que las plantas generan y que establecen la calidad del recurso (Jaenike 1990; Dicke 2000). El contenido de proteína es un factor de importancia nutricional, menos proteína resultará en bajos niveles de crecimiento, palatabilidad y digestibilidad (Suwarno *et al.* 2010). Según Schowalter (2006), el material vegetal es una fuente de baja calidad nutricional, debido a que el contenido de nitrógeno (N) se encuentra en bajas concentraciones y la mayoría de los hidratos de carbono están en forma de celulosa y lignina indigerible. Las plantas pueden diferir en sus propiedades y calidad nutricional incluso aquellas de la misma especie y de un mismo sitio (Jaenike 1990; Dicke 2000; Powell *et al.* 2006). El valor nutricional de los recursos vegetales con frecuencia cambia según la temporada, ontogenia, altitud, la fertilidad del suelo e incluso el grado de estrés (Denno & McClure 1983; Hevia *et al.* 1999; Rousseaux *et al.* 2004; Schowalter 2006; Altmann 2011).

Por otra parte, algunas propiedades químicas se traducen en propiedades físicas. Tal es el caso del contenido de celulosa, un componente importante de las paredes celulares, que junto a la lignina y hemi-celulosa son los principales responsables de la dureza de las hojas y pueden actuar como un factor de resistencia de amplio espectro a

insectos herbívoros y es el mejor predictor de la variación interespecífica en las tasas de herbivoría (Hanson 1983; Schoonhoven *et al.* 2005; Granados-Sanchez *et al.* 2008). Además de las propiedades de las plantas, otros factores como las preferencias y requerimientos nutricionales también pueden influir en la conducta de selección de planta hospedadora. Estas preferencias pueden variar entre las especies de insectos, la etapa de desarrollo e incluso las condiciones ambientales (Schoonhoven *et al.* 2005). Muchos insectos se alimentan de diferentes recursos dependiendo de su etapa de desarrollo, por ejemplo, las larvas de ciertos gorgojos tienen hábitos rizófagos y luego cambian a folívoros en el estado adulto (Giganti & Dapoto 1990). Asimismo, algunas especies de lepidópteros son capaces de cambiar su dieta monófaga cuando la planta hospedadora es escasa o ausente (Dajoz 2001). La selección de la planta hospedadora por parte de los insectos implica no sólo la elección de la especie adecuada, sino también la selección de una planta individual dentro de esa especie que es, o será, adecuada para su alimentación, supervivencia y desarrollo (Mayhew 1997; Price *et al.* 2011). La herbivoría de insectos puede reducir la productividad, el rendimiento y reproducción de una gran variedad de especies de plantas incluyendo las que se utilizan en cultivos agrícola (Janzen 1979; Baldini & Pancel 2000; Schowalter 2006).

En el bosque Andino-patagónico, los insectos masticadores asociados a los *Nothofagus*, representan el gremio más diverso dentro de los fitófagos (Gentili & Gentili 1988; Grandon 1996; Vergara & Jeréz 2010). En particular, los masticadores externos de hojas son los principales folívoros (Lanfranco *et al.* 1999; Mazía *et al.* 2012) y responsables del principal daño de hoja en *N. antarctica* y *N. obliqua* (Russel *et al.* 2000). Varios trabajos han analizado los cambios en patrones de herbivoría de acuerdo a diferentes factores ambientales, estacionales, nutricionales (Lowman & Box 1983; Lanfranco *et al.* 1999; Russel *et al.* 2000; Mazía *et al.* 2004, 2009, 2012; Rousseaux *et al.* 2004; Lavandero *et al.* 2009; Paritsis & Veblen 2010; Garibaldi *et al.* 2011a y b; Chorbadjian & Francino 2013). La mayoría de estos trabajos han demostrado que las propiedades de las hojas de los *Nothofagus* son variables (en cuanto a la dureza, toxicidad, nutrición y calidad) y que estas propiedades afectan a la herbivoría causada por los insectos. Sin embargo, hay poca información sobre los factores utilizados por estos insectos en la selección de la planta hospedadora (Quiroz *et al.* 1999; Russel *et al.* 2000, 2004; Lavandero *et al.* 2009; Altmann 2011). Del mismo modo, se desconoce si ciertas especies de *Nothofagus* son más susceptibles a sufrir daños por insectos fitófagos

y cuáles son los factores relacionados con estas diferencias (Altmann 2011). Mi objetivo fue estudiar las preferencias de planta hospedadora para tres especies de insectos masticadores y determinar si éstas estaban relacionadas con las características de palatabilidad y digestibilidad. Cada especie de insecto tiene sus propios requerimientos y por ello, tendrán diferentes escalas de preferencia. Las elecciones realizadas por los insectos están determinadas por las propiedades de digestibilidad y palatabilidad. Propiedades como la celulosa, lignina y contenido proteico serán los factores que determinen las preferencias en cada individuo de planta hospedadora. Un alto contenido de celulosa y lignina disminuirá las preferencias de los esqueletizadores, mientras que un bajo contenido de proteínas provocarán una menor preferencia en los pegadores.

Materiales y métodos.

Sistema de estudio.

El sistema de estudio está conformado por tres especies de insectos, *Polydrusus nothofagii*, *P. roseaus* (Curculionidae) en estado adulto y larvas de *Perzelia arda* (Oecophoridae). Estos insectos defoliadores masticadores se encuentran en asociación con los *Nothofagus* y fueron recolectados en el vivero del INTA EEA Bariloche (41° 7'22.36"S, 71°15'4.94"O). Se desconoce si tienen preferencia por alguna especie en particular y/o si sus preferencias están determinadas por las propiedades nutricionales de las hojas.

Muestras foliares.

Para llevar a cabo los experimentos, seleccioné un total de 22 árboles del género *Nothofagus* (*N. antarctica* (n=1), *N. nervosa* (n=11), *N. obliqua* (n=8) y *N. pumilio* (n=2)). La selección de estos árboles la realicé en función de aquellos individuos que poseen un seguimiento como líneas de cultivo y que se están utilizando como fuente de semillas para el vivero. Cabe señalar que no es el objetivo determinar si existe alguna preferencia a nivel de especie de árbol, sino a nivel de individuo. Los individuos 11, 12 y 13 son ejemplares híbridos entre *N. obliqua* y *N. nervosa*, y presentan distintos grados de hibridación, siendo el 11 y 12 con predominio de *N. nervosa* y el 13 de *N. obliqua*.

Hojas provenientes de los 22 ejemplares fueron analizadas en cuanto a sus propiedades de palatabilidad y digestibilidad. Este análisis fue realizado en colaboración con el Laboratorio de fibras textiles del INTA EEA Bariloche (en el Anexo Capítulo 4-Caso de estudio 3 se encuentra detallada la metodología utilizada y la Tabla A-4.3.1 con los valores obtenidos de cada parámetro para cada uno de los individuos). Hojas provenientes de estas mismas plantas fueron utilizadas como estímulo en los ensayos de preferencia. La recolección de hojas de plantas hospedadoras para los análisis foliares y experimentos la realicé durante la semana del 18 al 27 de febrero del 2013, teniendo en cuenta que las hojas fueran maduras, tuvieran un tamaño similar, que no estuvieran masticadas o con presencia de insectos minadores. De tal forma de controlar la variación en relación a la madurez y edad de las hojas, ya que ha sido demostrado que existe un incremento de la dureza en *N. pumilio* y *N. moorei* a lo largo de la temporada (Lowman & Box 1983; Mazía *et al.* 2012). Asimismo, recolecté hojas de plantas no hospedadoras (*i.e.* plantas control) provenientes de un álamo (*Populus nigra*) y un sauce (*Salix nigra*) ambas especies pertenecen a la familia Salicaceae. Todos los ejemplares se encontraban localizados dentro del vivero del INTA EEA Bariloche, por ende están bajo condiciones similares de temperatura, humedad, intensidad lumínica y características de sustrato.

Diseño experimental.

Para determinar las preferencias de cada especie de insecto, realicé pruebas de preferencia en forma pareada bajo condiciones semi-controladas de temperatura y humedad ($20,4 \pm 0,1^\circ\text{C}$; $39,5 \pm 0,1\%$ HR). Diagramé el calendario de pruebas para cada especie, en el cual iba registrando los cruzamientos que realizaba (comenzando por la diagonal mayor, ver Capítulo 3). Para las pruebas con *P. arda* utilicé hojas provenientes de los 24 árboles, mientras que para *P. nothofagii* y *P. roseaus* utilicé 20 árboles (incluidas las especies no hospedadoras). Dado que los árboles que corresponden a los números 9, 15, 16 y 20 fueron removidos del vivero durante la realización de este experimento con lo cual decidí no incluirlos en el análisis de datos. Esto no afectó los resultados del orden en la escala de preferencia de los demás árboles ya que según el modelo de Thurstone el orden en la escala no resulta afectado por el número de estímulos que se evalúen dado que las muestras son independientes (Thurstone 1927; Bruzzone & Corley 2011). Dependiendo de la disponibilidad de insectos, fui realizando

réplicas de algunos cruzamientos (*P. arda* n=156, *P. nothofagii* n=170, *P. roseaus* n=80).

Para cada prueba coloqué un insecto sobre el punto medio dentro de un recipiente cerrado de plástico (5x8x14cm) en el cual se encontraban los estímulos en los extremos opuestos (*i.e.* hojas frescas de los diferentes árboles). Luego de 24 hs observé en qué hoja se encontraba el insecto y si había consumido parte del tejido foliar. Para mantener la frescura de las hojas durante la duración del experimento, coloqué en el peciolo de las hojas un pedacito de espuma fenólica de célula abierta (comúnmente conocido como esponja oasis). Para los ensayos con los ejemplares adultos de *P. nothofagii* y *P. roseaus* ofrecí las hojas en forma simple (Figuras 4.3.1). En el caso que correspondiese, registré si el insecto elegía su planta de origen (*i.e.* la planta en la que había sido recolectado) o elegía otra opción.

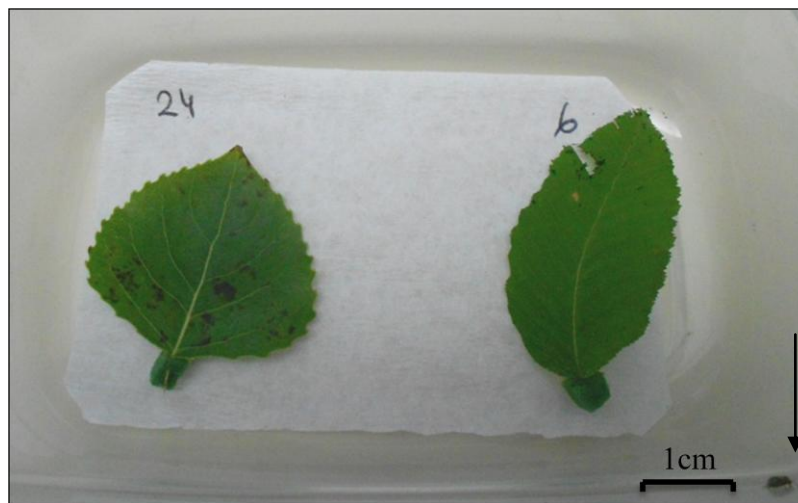


Figura 4.3.1 Prueba de preferencia para *Polydrusus nothofagii* y *P. roseaus*. En la imagen se puede apreciar el daño causado por el insecto en una hoja de raulí (derecha), mientras que la hoja control de álamo (Hoja de *Populus nigra* a la izquierda) no tiene daño. La flecha señala un individuo de *P. nothofagii*.

Mientras que para *P. arda*, considerando su hábito pegador, ofrecí las hojas de a pares y encimadas una sobre otra ya que el ángulo entre ambas hojas podría dificultar la capacidad de unir ambas superficies (Figura 4.3.2; Marquis *et al.* 2002; Marquis & Lill 2010).



Figura 4.3.2 Prueba de preferencia para *Perzelia arda*. En este caso se le ofrece a la larva dos hojas de cada estímulo ya que es un insecto pegador. A la izquierda hojas de *N. obliqua* y a la derecha *N. nervosa*.

Análisis de datos.

Para el análisis de los datos obtenidos realicé un proceso de generación y posterior selección de modelos. Este proceso permite explicar la probabilidad de que los insectos elijan una planta hospedadora de acuerdo a sus cualidades de palatabilidad. Al igual que en el primer caso de estudio (Pág. 40), definí una escala de preferencia basada en el modelo de Thurstone –Bradley Terry (Thurstone 1927; Bradley & Terry 1952). Paralelo, establecí en forma aleatoria a una de las plantas utilizadas (Nn11 o *N. nervosa* 11) el valor de referencia, en consecuencia su valor en la escala de preferencia corresponde a cero y no posee barras de desvío estándar. La preferencia para cada árbol dentro de la escala de preferencias fue posicionada en relación a este valor.

Desarrollé los modelos en base a las preferencias (*i.e.* modelo simple en el cual las preferencias no se relacionan con los parámetros) y en relación a las propiedades de las plantas hospedadoras (contenido de celulosa, lignina, etc.), y a la planta de origen en la cual fue capturado cada ejemplar de insecto (efecto origen, similar caso 2). Los nuevos modelos generados se complejizan y se van combinando los distintos parámetros (ver Capítulo 3- Descripción de los métodos y análisis de datos). Continué con la generación de modelos hasta que la complejidad excedió la probabilidad de

mejorar la función de verosimilitud. Luego seleccioné los modelos con el menor valor de DIC.

Resultados.

Las tres especies de insectos se alimentaron del tejido foliar de las cuatro especies de *Nothofagus* utilizadas en el experimento. Sin embargo, como se puede observar en las Figuras 4.3.3- 4.3.5 existe una variación o una escala de preferencias intra e inter específica para las especies arbóreas según cada tipo de insecto. *P. arda* tiende a preferir los ejemplares de *N. obliqua*, mientras que *P. nothofagii* y *P. roseaus* prefieren a *N. antarctica*. En cuanto a los ejemplares híbridos, se observó que se encuentran en el rango medio dentro de la escala de preferencias de las tres especies de insectos. Por otra parte, los árboles menos elegidos son los que corresponden Sn23 (*Salix nigra*) y Pn24 (*Populus nigra*), los cuales no son especies hospedadoras y actúan como ejemplares control.

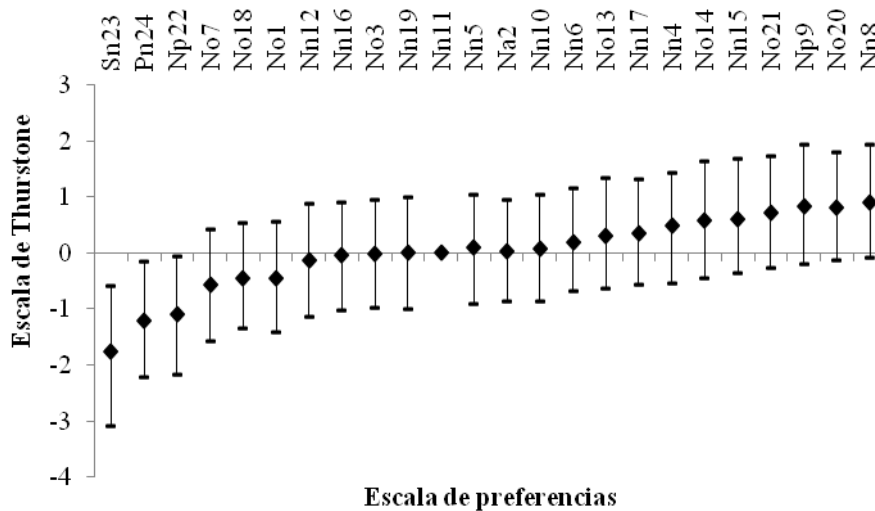


Figura 4.3.3 Escala de preferencias para *P. arda* en la cual *N. nervosa* es la especie preferida. Los puntos representan la mediana con su error estándar.

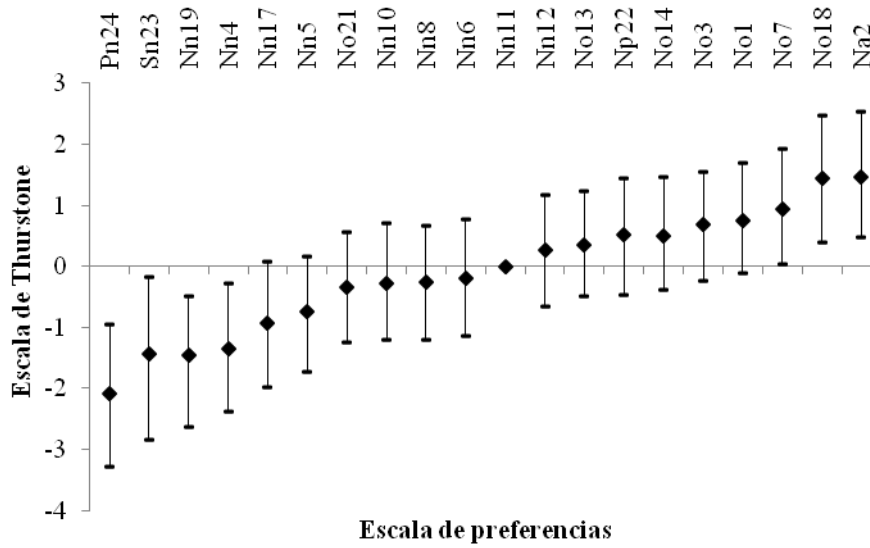


Figura 4.3.4 Escala de preferencias para *P. nothofagii* en la cual *N. antarctica* es la especie preferida. Los puntos representan la mediana con su error estándar.

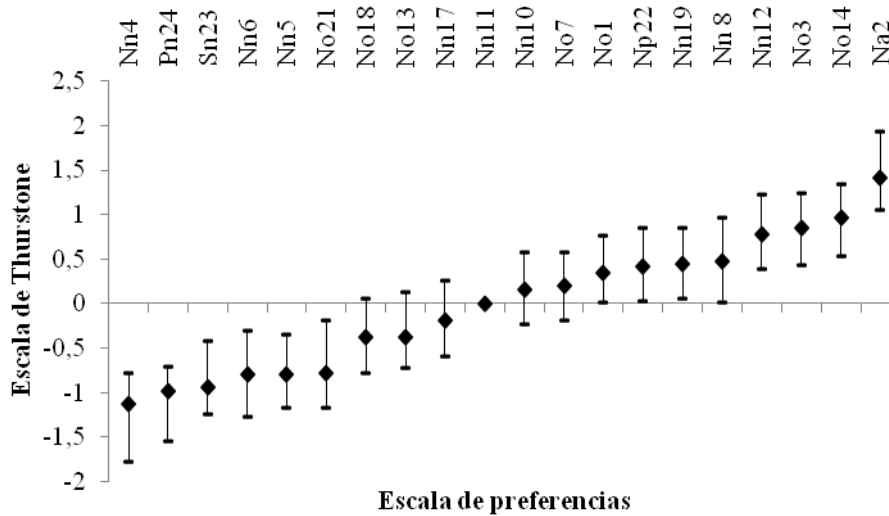


Figura 4.3.5 Escala de preferencias para *P. roseaus* en la cual *N. antarctica* es la especie preferida. Los puntos representan la mediana con su error estándar.

Luego del análisis de las preferencias simples, generé un total de 45 modelos para cada especie de insecto. Elegí, además del modelo nulo y el modelo de efecto de

origen, cinco modelos por especie de acuerdo con el criterio de información de la desviación (DIC) (Tabla 4.3.1).

Tabla 4.3.1 Valores de DIC para el modelo nulo y los cinco mejores modelos propuestos que analizan la relación entre las preferencias y las propiedades nutricionales de las plantas hospedadoras. El asterisco (*) indica el modelo seleccionado para cada especie de insecto.

Insecto	Modelo	Función	DIC
<i>P. arda</i>			
Efecto origen			117.24
0	Nulo		113.44
1	Lignina	Lineal	113.29
2	Hemi celulosa	Lineal	112.70
3*	Celulosa	Lineal	110.80
4	CNE	Lineal	110.92
5	DA	Lineal	111.65
<i>P. nothofagii</i>			
Efecto origen			183.43
0	Nulo		181.60
1*	Celulosa	Lineal	153.64
2	Celulosa- Hemi celulosa	Bi- Lineal S/I	154.66
3	Celulosa-CNE	Bi- Lineal S/I	153.77
4	Celulosa- DA	Bi- Lineal S/I	153.78
5	Celulosa- Lignina	Bi- Lineal S/I	154.64
<i>P. roseaus</i>			
Efecto origen			84.02
0	Nulo		81.79
1*	Celulosa	Lineal	74.96
2	CNE	Lineal	78.65
3	Materia orgánica	Cuadrática	75.91
4	Celulosa- CNE	Bi-Lineal S/I	76.40
5	Celulosa- Materia seca	Bi Lineal S/I	76.42

Ref. S/I Sin interacción

De acuerdo a los valores de DIC obtenidos, el efecto origen o la combinación de varios parámetros (con y sin interacción) no explican las elecciones de los insectos. Mientras que el contenido de celulosa en función lineal es la propiedad nutricional que mejor relaciona las decisiones tomadas por los insectos con la escala de preferencias. Sin embargo, la relación entre la celulosa y las preferencias no es igual para todos los insectos. Para *P. arda* existe una relación positiva entre la cantidad de celulosa y las preferencias de plantas hospedadoras (Figura 4.3.6), mientras que para *P. nothofagii* y *P. roseaus* es una relación negativa (Figura 4.3.7 y 4.3.8).

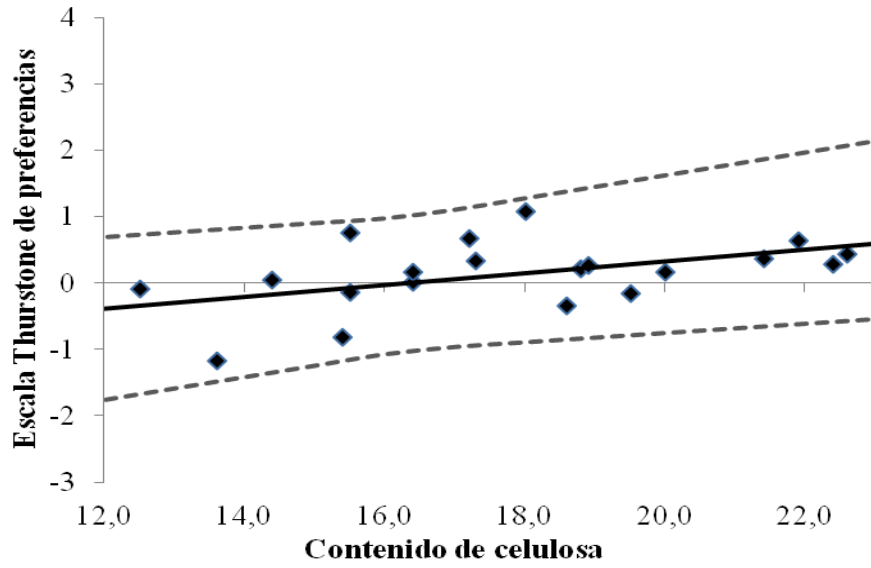


Figura 4.3.6 Escala de preferencias de acuerdo al contenido de celulosa para *P. arda*. La línea punteada indica un intervalo de credibilidad del 95%. Ecuación de la recta $y=0,089x- 1,4596$.

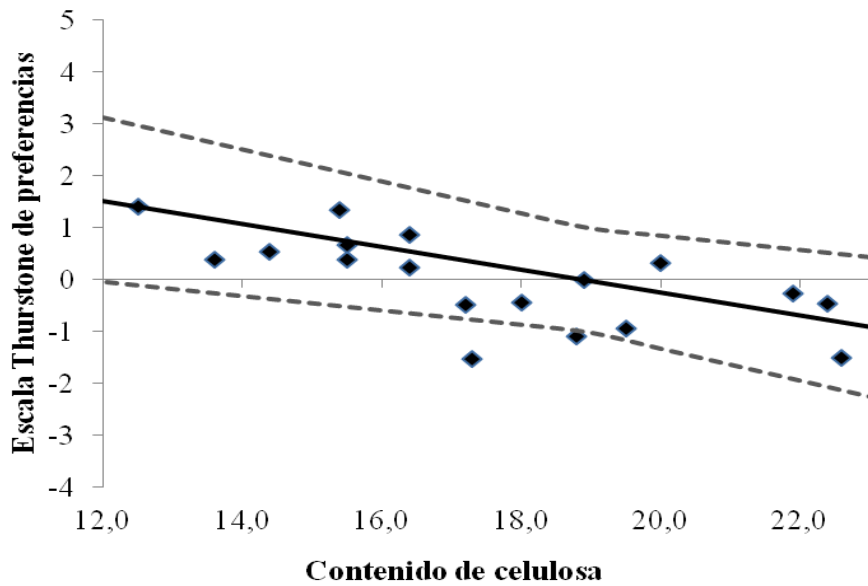


Figura 4.3.7 Escala de preferencias de acuerdo al contenido de celulosa para *P. nothofagii*. La línea punteada indica un intervalo de credibilidad del 95%. Ecuación de la recta $y= -0,22x+4,158$.

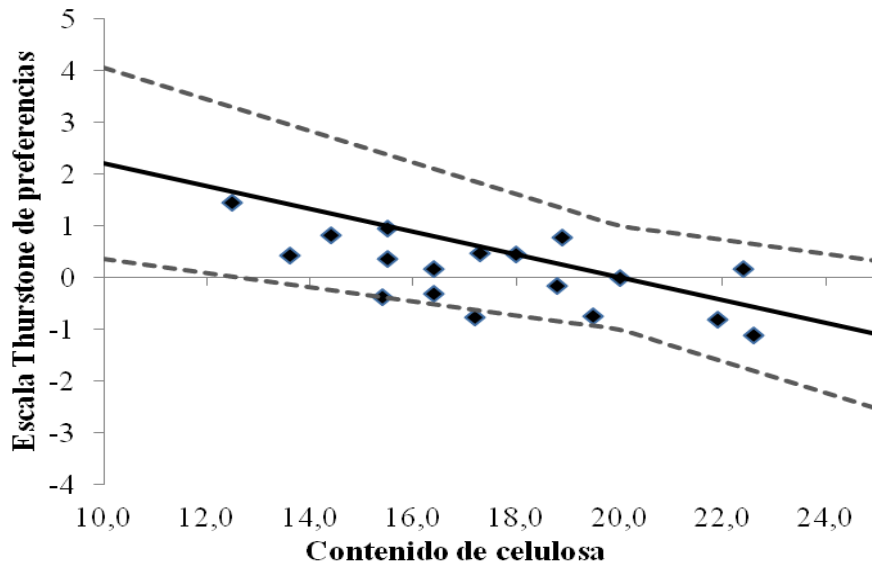


Figura 4.3.8 Escala de preferencias de acuerdo al contenido de celulosa para *P. roseaus*. La línea punteada indica un intervalo de credibilidad del 95%. Ecuación de la recta $y=-0,22x+4,4$.

Discusión.

Las tres especies de insectos tienen la capacidad de diferenciar las propiedades de los distintos estímulos ofrecidos, ya sea a nivel de especie o de individuo. Estos estímulos presentan diversas propiedades nutricionales y de digestibilidad y me permitieron establecer escalas de preferencia de plantas hospedadoras. Siendo *N. obliqua* y *N. antarctica* las especies más preferidas para los curculiónidos. Mientras que para *P. arda* *N. nervosa* y *N. obliqua* son las especies preferidas, estos valores están de acuerdo con los registros de Grandon (1996). Según Chapman (2009), estas preferencias indicarían que los insectos poseen una dieta monófaga ya que sólo se alimentan de plantas dentro de una especie o de un género particular.

De acuerdo a los modelos seleccionados, la planta en la cual fue capturado cada ejemplar no tuvo influencia en los resultados, por lo que las elecciones estarían determinadas principalmente por las características de las hojas ofrecidas. Esto puede deberse a que como el protocolo fue de pruebas pareadas, y los insectos fueron asignados aleatoriamente a cada par de hojas, muy pocas veces (menos de diez sobre el total) un insecto tuvo entre las opciones ofrecidas la planta en la que fue encontrado. De esta manera, las elecciones que realizaron los insectos estarían fuertemente

influenciadas por la concentración de celulosa en las hojas. En el caso de *P. nothofagii* y *P. roseaus*, las preferencias disminuyen conforme aumenta el contenido de celulosa, mientras que en el caso de las larvas de *P. arda* existe una relación positiva. Barker (1989) encontró resultados similares para *Listronotus bonariensis* (Curculionidae), la intensidad de alimentación se correlacionó negativamente con el contenido de fibra del follaje (celulosa + hemi-celulosa + lignina), posiblemente indicando un efecto de resistencia debido a la dureza de las hojas. Asimismo, Brunt y colaboradores (2006) registraron que la dureza de las hojas de *N. moorei* es un factor efectivo de defensa anti-herbivoría dado que la mayoría de los insectos poseen una capacidad restringida para digerir la celulosa, limitando su capacidad de consumo (Martin 1991; Abe & Higashi 1991; Hochuli 1996). La dureza de las hojas y el contenido de celulosa son los dos rasgos que mejor explican la diferencia en las tasas de herbivoría (Kitajima *et al.* 2012). La idea de que la pared celular vegetal presenta una barrera física a los herbívoros no es nueva (Murdoch 1966) y los problemas químicos asociados con la digestión de los componentes de la pared celular están bien documentados (Schoonhoven *et al.* 2005).

En el caso de *P. arda*, el contenido de celulosa influye en las preferencias pero no representa una barrera para su alimentación. Este resultado, se corresponde con el estudio de campo realizado por Mazía y colaboradores (2012) quienes encontraron una creciente presencia de daño causado por insectos pegadores en hojas de *N. pumilio* con mayor dureza. Por otra parte, se han registrado casos en los cuales los insectos pegadores tienen la capacidad de reducir las defensas anti-herbivoría de sus plantas hospedadoras (Sagers 1992; Fukui *et al.* 2002). Estas características les permitirían consumir hojas con un mayor contenido de celulosa o de una mayor dureza (Cerde *et al.* 1982; Carrillo & Cerde 1987). Por otra parte, esta preferencia también puede estar relacionada con la exigencia alimenticia de las larvas, debido a que necesitan almacenar recursos suficientes para poder atravesar la diapausa pupal y alcanzar el desarrollo del adulto. Las proteínas son los principales nutrientes requeridos por los insectos fitófagos, y a la vez son limitantes para el crecimiento óptimo de los insectos (Bernays & Chapman 1994). Sin embargo, el contenido de proteína cruda no explicaría la escala de preferencias en ninguna de las tres especies de insectos estudiadas. En consecuencia, estos resultados no concuerdan con lo planteado por varios autores que sostienen que un bajo contenido de proteínas puede actuar como una defensa ante la herbivoría (White 1984; Haukioja *et al.* 1991).

A partir de las escalas de preferencia y de la realización de los modelos puedo sugerir que estos insectos no tendrían las mismas cualidades de palatabilidad y digestibilidad (Southwood *et al.* 1986). Es probable que las especies de Curculionidae consuman en mayor proporción hojas jóvenes o incluso brotes, mientras que *P. arda* se alimente de hojas maduras. Por lo tanto, esto indicaría que no existe una aparente competencia por el recurso alimenticio. Cada especie de insecto presenta un patrón de selección de plantas hospedadoras debida a características físico-químicas de las hojas, en especial el contenido de celulosa, indicador de dureza, o de defensas físicas. Mientras que los masticadores tienden a evitar plantas con estas características, los pegadores tienden a preferirlas (tal vez porque su función como refugio supere a su efectividad como barrera mecánica ante el aparato bucal de este lepidóptero). Esto indicaría que sería difícil seleccionar un árbol resistente (incluso si se tratara de una especie híbrida) a todas las plagas potenciales, puesto que ciertas características que brindarían resistencia ante un determinado fitófago, sería atractiva para otras especies.

CAPÍTULO 5

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN GENERAL

En esta tesis evalué distintos aspectos del comportamiento de selección de hábitat y alimento para algunas especies de insectos del bosque nativo Andino-Patagónico. Este tipo de estudios es un tema que estaba pendiente dentro del conocimiento de la ecología de estos insectos. De hecho, hasta el momento, no se ha publicado ninguna tesis similar en este tipo de ambientes y con estos sistemas de estudio. Incluso, la mayoría de los trabajos de comportamiento están restringidos al estudio de un sólo taxa, ya sea a nivel de especie, o a lo sumo a nivel de familia (Russel *et al.* 2004; Paritsis & Veblen 2010; Paritsis *et al.* 2010). Asimismo, al estudiar especies de insectos que han sido poco estudiadas brinda conocimientos sobre aspectos de la biología e historia natural de los insectos de la Patagonia, como así también realiza un aporte desde aspectos metodológicos en cuanto a la aplicación de pruebas de preferencia en formas pareadas en estudios de comportamiento aplicados a la determinación de rango de hábitats y hospedadores. Si bien el uso de pruebas pareadas tiene una larga tradición, estos no se suelen encontrar asociados a pruebas de regresión simple, múltiple o análisis multivariados de algún tipo (Méndez Olán & Ramírez Valverde 2001; Muñoz *et al.* 2005; Bruzzone & Corley 2011). De hecho en las pruebas de preferencia muy rara vez se infiere el mecanismo subyacente (o variables explicativas) a la elección por algún método diferente a la manipulación directa del estímulo ofrecido. Esto tiene un gran impacto en estudios de control biológico, ecología química y de comportamiento en general.

En este sentido, en esta tesis estudié dos aspectos fundamentales. En primer lugar, el comportamiento de cinco especies de insectos folívoros y nativos del bosque Andino-Patagónico mediante el estudio de sus preferencias alimenticias y de hábitat. En segundo lugar, el desarrollo de un diseño experimental y análisis metodológico novedoso para los ensayos realizados. Los principales resultados de los estudios de comportamiento de esta tesis son:

- I. Las larvas de *Notofenusa surosa* tienen la capacidad de diferenciar los sustratos de pupación de acuerdo a sus propiedades. De acuerdo a la escala de preferencias, prefieren desarrollar sus pupas en sustratos que poseen un contenido intermedio de materia orgánica como el suelo proveniente de las plantaciones de *Pinus ponderosa*.
- II. *Sinopla perpunctatus* presenta una escala de preferencias de sus plantas hospedadoras. Elige en una mayor proporción a *N. antarctica* y *N. obliqua* mientras que *N. nervosa* se encuentra en segundo lugar. La elección de la planta podría estar relacionada con las propiedades físicas de las hojas. Mientras que el proceso de elección del hospedador adecuado, ocurriría una sola vez, y luego el insecto no tendría motivación para cambiar hacia otro hospedador. Este cambio en el estado motivacional podría ser explicado por la Teoría de forrajeo óptimo (MacArthur & Pianka 1966; Scheirs & De Bruyn 2002; Simpson *et al.* 2004). Por su parte, las cenizas no afectaron el comportamiento de selección este insecto posiblemente por sus hábitos alimenticios como insecto succionador y su tendencia a refugiarse.
- III. Los insectos masticadores *Polydrusus nothofagii*, *P. roseaus* (Coleoptera: Curculionidae) y *Perzelia arda* (Lepidoptera: Oecophoridae) poseen una variación tanto a nivel de especie como de individuo para las plantas que prefieren como recurso alimenticio. *P. arda* prefiere alimentarse de los ejemplares de *N. obliqua*, mientras que *P. nothofagii* y *P. roseaus* prefieren a *N. antarctica*. Estas preferencias están relacionadas con el contenido de celulosa de las hojas, de tal forma que *P. arda* consume hojas con un mayor contenido mientras que los curculiónidos prefieren aquellas con menos celulosa.

Las especies estudiadas poseen un comportamiento de búsqueda activa de sus recursos. Este comportamiento, particular para cada especie, está determinado por sus requerimientos y preferencias en combinación con las características físico/químicas de los estímulos ofrecidos. Esto contradice en cierta forma lo establecido por Gentili y Gentili (1988) quienes establecieron que los defoliadores de los *Nothofagus* no poseían preferencias en cuanto a la selección del hospedador, aunque consideraron que sería necesario realizar estudios empíricos. En aspectos generales, *N. antarctica* y *N. obliqua* resultaron ser las especies de plantas preferidas. Estos resultados coinciden con trabajos previos los cuales sostienen que *N. obliqua* es la especie de *Nothofagus* que presenta la

mayor diversidad de insectos defoliadores y mayor intensidad de daño tanto en condiciones naturales como de viverización (Gentili & Gentili 1988; Welch 1988; Cárcamo 1989; Grandon 1996; Bauerle *et al.* 1997; Lanfranco *et al.* 1999; Vergara & Jeréz 2010). Cabe señalar que los insectos masticadores y succionadores, realizan una doble elección, ya que la planta hospedadora no es solamente un recurso alimenticio, también es un lugar donde habitar y desarrollarse (Schoonhoven *et al.* 2005). En consecuencia el proceso de seleccionar y las características del recurso podrían determinar el crecimiento, desarrollo y el éxito del individuo y de las generaciones futuras (Bell 1990; Bernays & Chapman 1994; Matthews & Matthews 2010).

En cuanto al estudio de las preferencias de hábitat de pupación para *N. surosa* pude determinar que las larvas de insectos minadores realizan elecciones antes de formar su pupa y que éstas elecciones son independientes de las opciones que la hembra progenitora les dejó al momento de la oviposición. Incluso, las elecciones que realiza están determinadas por una propiedad en particular como es el contenido de materia orgánica. Si bien, se les ofreció a las larvas una gran variedad de sustratos que quizás bajo condiciones naturales no tendrían dentro del rango de opciones, esto permitió inferir sobre qué parámetro explica sus elecciones y consecuentemente sobre cuál podría ser su potencial éxito en aquellos ambientes con antecedentes de plantaciones de pino y en los cuales se desarrollen plantaciones de *Nothofagus*. Especialmente, si la planta hospedadora, como en el caso de *N. obliqua*, no posee muchas especificaciones edáficas (puede desarrollarse en sustratos con concentraciones muy variables de materia orgánica), está incluida en planes de domesticación y posee una gran diversidad de áreas potenciales de cultivo (Davel *et al.* 2004; Gallo *et al.* 2006; Barbero *et al.* 2011). Por lo tanto, este tipo de pruebas de preferencia pueden tener fuertes implicancias en planes de silvicultura y enfoques preventivos dentro del manejo integrado de plagas.

Aportes metodológicos.

Como mencioné anteriormente, en esta tesis realizo aportes metodológicos novedosos en forma simultánea a los aportes conceptuales. Dado que las preferencias son consecuencia del comportamiento del animal (no todos los insectos eligen de la misma forma), el diseño experimental desarrollado para su evaluación debe ser adecuado y

elaborado en relación a sus cualidades (Muñoz *et al.* 2005). Tal es el caso de las pruebas de pupación (Caso de estudio 1), en las cuales desarrollé una metodología y un dispositivo de pupado totalmente inédito. Desarrollar este tipo ensayos no es una tarea sencilla. Esto se debe en primer lugar a la escasez de información disponible sobre características taxonómicas que permiten identificar los insectos del bosque. La mayoría de las especies descritas provienen de especies presentes en el territorio chileno y/o asociadas a *Nothofagus* chilenos (Cárcamo 1989; Grandon 1996; Bauerle *et al.* 1997; Lanfranco *et al.* 2002; Navarrete Valdivia 2006; Lanfranco *et al.* 2002; Lanfranco & Ruiz 2010). En segundo lugar, se desconocen varios aspectos sobre de la biología y fisiología de estos insectos, dificultando la identificación de los sistemas de estudio y las posibilidades de establecer sus hábitos y requerimientos.

En los ensayos realizados, pude desarrollar y aplicar una metodología de diseño experimental y análisis de datos nunca antes utilizada en ensayos de comportamiento entomológico. Esta metodología me permitió establecer comparaciones entre un gran número de estímulos de forma tal de aprovechar al máximo la disponibilidad de insectos. En cuanto a utilizar el modelo de Thurstone-Bradley Terry para el análisis de las elecciones realizadas por los insectos, esto también implica una práctica novedosa, ya que como se citó anteriormente (Capítulo 3), este tipo de ensayo es propio de los análisis de preferencias en humanos. Este enfoque persigue una visión de conjunto entre el estudio de la ecología de insectos y el protocolo de análisis de datos propio de la teoría de la ecología de la información. Dicha teoría, pretende utilizar y desarrollar la teoría de decisión estadística para explorar más a fondo la ecología y la evolución de la conducta (Giraldeau 1997; Schmidt *et al.* 2010)

Conclusión general.

En ocasiones se suele interpretar que un insecto posee varias plantas hospedadoras o varias plantas preferidas, basándose en la distribución y abundancia que posee el organismo en relación al hábitat en el que se encuentra. Sin embargo, los estudios de selección de hábitat no son suficientes para estudiar preferencias de planta hospedadora porque no evalúan el mecanismo causal o el proceso de selección y sólo describen cuantitativamente la distribución de una población en un determinado ambiente (Muñoz

et al. 2005). En forma similar, determinar las defensas anti-herbivoría de una planta no es suficiente para inferir que será menos preferida para un insecto. Estudiar el comportamiento y las elecciones permite inferir sobre cuáles son los factores que perciben y determinan los requerimientos y por lo tanto qué tipo de recursos explotan los individuos (Mench 1998).

Los *Nothofagus* presentan una serie de rasgos foliares que los harían poco palatables como recurso alimenticio. Las hojas duras, coriáceas con presencia de tricomas glandulares, compuestos polifenólicos, taninos y tri-terpenos actuarían como defensas anti-herbivoría disminuyendo la selección por parte de los insectos defoliadores (Feeny 1976; Rhodes & Cates 1976; Fox 1981; Hill & Read 1991; McQuillan 1993, Russel *et al.* 2000, 2004; Thoison *et al.* 2004; Lavandero *et al.* 2009). Sin embargo, se debe notar que aún especies con altos niveles de compuestos defensivos tienen herbívoros especializados que pueden lidiar con estas defensas (Schoonhoven *et al.* 2005; Matthews & Matthews 2010). De acuerdo a mis resultados puedo concluir que lo que significa una defensa para un insecto, puede no serlo para otro (ver Caso 3). Cabe destacar que estos insectos nativos han coevolucionado con sus plantas hospedadoras y posiblemente han desarrollado adaptaciones que les permiten evitar o afrontar estas defensas (Viejo Montesinos 1996). Por otra parte, resulta muy generalizado establecer que todas las plantas dentro de una misma especie poseen las mismas cualidades y las mismas defensas, particularmente en los *Nothofagus* que se caracterizan por una alta variación intra-específica, pueden formar individuos híbridos y poseen una alta plasticidad morfológica y eco-fisiológica (Donoso *et al.* 1990, 2004; Premoli *et al.* 2012). Incluso, varios trabajos han demostrado cómo variaciones estacionales, climáticas, geográficas o debidas a eventos ambientales pueden afectar la tasa de herbivoría de insectos en los *Nothofagus* (Rousseaux *et al.* 2004; Paritsis & Veblen 2010; Mazía *et al.* 2004, 2012; Garibaldi *et al.* 2011 a, b; Chaneton *et al.* 2014).

Los bosques de *Nothofagus* poseen una entomofauna que es endémica e incluye especies relictas de importancia significativa para la conservación (Lanfranco 1977; McQuillan 1993; Solarvicens 1995). Asimismo, la comunidad de insectos constituye una gran parte de la biodiversidad de nuestros bosques (Morris *et al.* 1993; Spagarino *et al.* 2001). Contar con información fidedigna acerca de la biodiversidad e información biológica de todos los componentes del bosque, permitiría promover su conservación y

poder tomar medidas adecuadas basadas en conocimientos científicos sólidos y recomendaciones fiables (Wainhouse 2005; Novacek 2008; Pérez Schultheiss 2009).

Las especies leñosas nativas del bosque Andino-Patagónico no sólo representan una pieza del patrimonio natural, sino que además muchas de ellas se presentan como una alternativa productiva de cultivo (Godoy & Defossé 2004). Como mencioné anteriormente, en Argentina existe un creciente manejo forestal de especies nativas suscita el conocimiento de los insectos fitófagos asociados (Donoso & Promis 2013). El conocimiento de los factores de regulación de las poblaciones de insectos permite aplicar métodos de silvicultura que reducen o controlan las poblaciones de insectos fitófagos (Dajoz 2001). Muchas de estas plantaciones se desarrollan en el área de las especies nativas y por ello podrían resultar expuestas a la acción de los mismos insectos herbívoros del bosque (Milligan 1974; Denno & McClure 1983). Asimismo, las plantaciones de los *Nothofagus* en Europa, algunas de las cuales se remontan a 1830 y se desarrollaron a partir de semillas provenientes del bosque Andino de Chile. Siendo, *N. antarctica*, *N. nervosa* y *N. obliqua* las especies más cultivadas en Inglaterra, Dinamarca y Alemania (Destremau 1988). Por lo tanto, también podrían ser susceptibles al ataque de los insectos nativos de nuestros bosques, los cuales en Europa actuarían como exóticos y posiblemente no tendrían las presiones de selección que poseen como insectos nativos. Es necesario elaborar programas de control fitosanitarios y desarrollar medidas preventivas para el desarrollo de *Nothofagus* en condiciones de vivero, tendiente a evitar plagas potenciales y las consecuentes pérdidas (Cárcamo 1989; Navarrete Valdivia 2006; Martínez Pastur *et al.* 2013).

Estas implicancias, ponen en evidencia la necesidad de ampliar los conocimientos sobre los insectos del bosque. Particularmente, sobre su conducta y los factores que la determinan (*i.e.* sus ciclos de vida, interacciones, enemigos naturales, intensidad de daño, requerimientos, etc.). Este tipo de estudios entomológicos deberían integrarse en los programas de restauración y conservación o planes productivos. Desde el punto de vista de la conservación, permitirían una mayor comprensión del funcionamiento de este y otros ecosistemas y aportaría bases sólidas para los programas y estrategias de manejo de estas áreas. Mientras que desde un enfoque productivo, contribuirían a prevenir el desarrollo de posibles plagas forestales que puedan afectar plantaciones con especies nativas en la Patagonia andina. Asimismo, quiero destacar la

importancia de integrar estudios entomológicos y de realizar evaluaciones previas al momento de establecer una nueva plantación de especies forestales nativas. Los estudios del comportamiento y los conocimientos biológicos de los insectos del bosque brindan un punto de partida para el desarrollo de medidas preventivas e inferir sobre qué especies pueden ser más atacadas o que vulnerabilidad puede tener un determinado ambiente (Price *et al.* 2011).

BIBLIOGRAFÍA

- Abe T & M Higashi. 1991. Cellulose centered perspective on terrestrial community structure. *Oikos* 60(1):127-133.
- Adams ES. 2005. Bayesian analysis of linear dominance hierarchies. *Animal Behaviour* 69: 1191-1201.
- Akre RD, Hansen LD, Reed HC & LD Corpus. 1981. Effects of volcanic ash from Mt. St. Helens on ants and yellow jackets. *Melanderia* 37: 1-19.
- Alfonso W, Muñoz M, López J & E Caicedo. 2007. Optimización de funciones inspirada en el comportamiento de búsqueda de néctar en abejas. Memorias del Congreso Internacional de Inteligencia Computacional (CIIC2007).
- Altieri MA. 1999. The ecological role of biodiversity in agro-ecosystems. *Agriculture, Ecosystem and Environment* 74(1-3): 19-31.
- Altmann SH. 2011. Insect folivore damage in *Nothofagus* Blume trees of central Chile and its association with bottom-up plant community attributes. *Ecologia Austral* 21: 121-133.
- Alyokhin AV, Mille C, Messing RH & JJ Duan. 2001. Selection of pupation habitats by oriental fruit fly larvae in the laboratory. *Journal of Insect Behavior* 14(1):57-67.
- Andres MR & EF Connor. 2003. The community-wide and guild-specific effects of pubescence on the folivorous insects of manzanitas *Arctostaphylos* spp. *Ecological Entomology* 28:383–396.
- Angulo O & M O'Mahony. 2005. The paired preference test and the 'No Preference' option; was Odesky correct? *Food Quality and Preference* 16: 425-434.
- Angulo O & M O'Mahony. 2009. Las pruebas de preferencia en alimentos son más complejas de lo imaginado. *Interciencia* 34(3):177-181.
- Attis Beltran H, Martínez Pastur G, Ivancich H, Lencinas MV & LM Chauchard. 2013. Tree health influences diameter growth along site quality, crown class and age gradients in *Nothofagus* forests of southern Patagonia. *Journal of Forest Science* 59(8):328-336.
- Ayris PM & P Delmelle. 2012. The immediate environmental effects of tephra emission. *Bulletin of volcanology* 74: 1905-1936.
- Azpilicueta MM, Varela S, Martínez A & L Gallo. 2010. Manual de viverización, cultivo y plantación de Roble Pellín en el norte de la región Andino Patagónica. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Bariloche. ISBN 978-987-1623-87-7. 72 pp.
- Backus EA. 1988. Sensory systems and behaviours which mediate hemipteran plant-feeding: A taxonomic overview. *Journal of Insect Physiology* 34(3): 151-165.
- Baldini A & A Alvarado. 2008. Manual de plagas y enfermedades del bosque nativo en Chile. Asistencia para la recuperación y revitalización de los bosques templados de Chile, con énfasis en los *Nothofagus* caducifolios. FAO/CONAF, Santiago de Chile, 240p.

- Baldini A & L Pancel. 2000. Agentes de daño en el bosque nativo. Editorial Universitaria. 408pp.
- Barbero FA, Sabatier Y, Gallo LA, Bran D & MJ Pastorino. 2011. Áreas potenciales de cultivo de Raulí y Roble pellín en la provincia de Río Negro. Ediciones INTA, Buenos Aires 60 pp.
- Barker AM & CJM Reynolds 2004. Do host-plant interactions and susceptibility to soil cultivation determine the abundance of graminivorous sawflies on British farmland. *Journal of Agricultural and Urban Entomology* 21(4):257-269.
- Barker AM, Brown NJ & CJM Reynolds. 1999. Do host-plant requirements and mortality from soil cultivation determine the distribution of graminivorous sawflies on farmland? *Journal of Applied Ecology* 36: 271-282.
- Barker GM. 1989. Grass host preferences of *Listronotus bonariensis* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 82(6): 1807-1816.
- Barnes OL. 1963. Food-plant tests with the differential grasshopper. *Journal of Economical Entomology* 56: 396- 399.
- Barrera E & I Meza. 1993. Características de la epidermis foliar de árboles chilenos. II Subclase Hamamelidae. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural Chile* 44:29-45.
- Bauerle P, Rutherford P & D Lanfranco. 1997. Defoliadores de roble (*Nothofagus obliqua*), raulí (*N. alpina*), coigüe (*N. dombeyi*) y lenga (*N. pumilio*). *Bosque* 18(2): 97-107.
- Begon M, Townsend CR & JL Harper. 2005. Ecology. From individuals to ecosystems. Blackwell Publishing. United Kingdom. 759pp.
- Bell WJ. 1990. Searching behavior patterns in insects. *Annual Review of Entomology* 35: 447-467.
- Benson RB. 1959. Tribes of the Tenthredinidae and a new European genus (Hymenoptera: Tenthredinidae). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London* 28: 121-127.
- Berdegúe M, Reitz SR & JT Trumble. 1998. Host plant selection and development in *Spodoptera exigua*: do mothers and offspring know best? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 89:57-64.
- Bernays EA & RF Chapman. 1994. Host-plant Selection by Phytophagous Insects. 1st edition. Chapman and Hall, New York. 312pp.
- Bishop JG, William WF, Schade JD & CM Crisafulli. 2005. Causes and consequences of herbivory on prairie lupine (*Lupinus lepidus*) in early primary succession. Pp. 151- 162 in: Dale, VH; FJ Swanson & CM Crisafulli (eds.). *Ecological Responses to the 1980 Eruption of Mount St.Helens*. Springer, New York.
- Black CA, Evans DD, White JL, Clark FE & LE Ensminger. 1965. Methods of soil analysis. Part1: Physical and Mineralogical Properties, Including Statistics of Measurement and Sampling. American Society of Agronomy, Inc., Publisher Madison, Wisconsin, USA.

- Blüthgen N & Metzner. 2007. Contrasting leaf age preferences of specialist and generalist stick insects (Phasmida). *Oikos* 116(11): 1853-1862.
- Bodin A, Vinauger C & CR Lazzari. 2009. Behavioural and physiological state dependency of host seeking in the blood-sucking insect *Rhodnius prolixus*. *The journal of experimental biology* 212: 2386-2393
- Boevé JL, Voigt D & SN Gorb. 2011. Crystalline wax coverage of the cuticle in easy bleeding sawfly larvae. *Arthropod Structure and Development* 40: 186-189.
- Bot A & J Benites. 2005. The importance of soil organic matter. Key to drought-resistant soil and sustained food production, 1st edn. Food and Agriculture organization of the United Nations, Rome.
- Bradley RA & ME Terry. 1952. Rank analysis of incomplete block designs. I. The method of paired comparisons. *Biometrika* 39: 324-345.
- Brunt C, Read J & GD Sanson. 2006. Changes in resource concentration and defense during leaf development in a tough-leaved (*Nothofagus moorei*) and soft-leaved (*Toona ciliata*) species. *Oecologia* 148: 583-592.
- Bruzzone OA & JC Corley. 2011. Which is the best experimental design in animal choice test? *Animal Behavior* 82:161-169.
- Burret M, Boevé JL, Barker A & M Spindler-Barth. 2005. Structure and mechanical strength of larval cuticle of sawflies capable of “easy bleeding” a defense strategy against predators evolved in Tenthredinidae (Hymenoptera). *Tissue and Cell* 37: 67-74.
- Buteler M, Stadler T, López García GP, Lassa MS, Trombotto Liaudat D, D’Adamo P & V Fernández Ahrex. 2011. Propiedades insecticidas de la ceniza del complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle y su posible impacto ambiental. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 70(3-4):149-156.
- Cabrera P. 1976. Impacto de *Holopterus chilensis* (Coleoptera: Cerambycidae) en renovales de *Nothofagus obliqua* en la provincia de Valdivia, Chile: avances hacia la evaluación del daño. *Bosque* 18(1): 9-19.
- Cárcamo MA. 1989. Prospección entomológica en algunas especies nativas en vivero. Tesis presentada para optar al título de Ingeniero Forestal. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales. 85pp.
- Carrillo R & L Cerda. 1987. Zoofitófagos en *Nothofagus* chilenos. *Bosque* 8(2):99-103.
- Castelo MK & CR Lazzari. 2004. Host-seeking behavior in larvae of the robber fly *Mallophora ruficauda* (Diptera: Asilidae). *Journal of Insect Physiology* 50: 331-336.
- Cates RG & GH Orians. 1975. Successional status and the palatability of plants to generalized herbivores. *Ecology* 56: 410-418.
- Cates RG. 1980. Feeding patterns of monophagous, oligophagous, and polyphagous insect herbivores: The effect of resource abundance and plant chemistry. *Oecologia* 46:22-31.

- Cerda L, Cruz C & M Donoso. 1982. Ciclo biológico del microlepidóptero defoliador de semilla de Raulí (*Nothofagus alpina* (Poepp. et Endl) Oerst.) Prospección Nacional Sanitaria Forestal, CONAFUACH. Facultad de Ingeniería Forestal, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. Serie técnica 60: 70 pp.
- Chaneton EJ, Mazía N, Garibaldi LA, Chaij J & T Kitzberger. 2014. Impact of volcanic ash deposition on foliar productivity and insect herbivory in northern Patagonia deciduous forests. *Ecología Austral* 24: 51-63.
- Chapman RF. 2009. Foraging and food choice in phytophagous insect. En: Hardege JD (Editor) *Chemical Ecology Volume 1. Encyclopedia of life support Systems*. Oxford: Eolss Publishers. Pp 72-101.
- Chen M & AM Shelton. 2007. Impact of soil type, moisture, and depth on swede midge (Diptera: Cecidomyiidae) pupation and emergence. *Environmental Entomology* 36(6): 1349-1355.
- Chen MS. 2008. Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. *Insect Science* 15 (2):101-114.
- Cherry RH & PG Allsopp. 1991. Soil texture and the distribution of *Antitrogus parvulus* Britton, *Lepidiota crinite* Brenske and *L. negatoria* Blackburn (Coleoptera: Scarabaeidae) in South Queensland sugarcane fields. *Journal of Australian Entomology Society* 30: 89-92.
- Chorbadjian RA & AE Francino. 2013. Phenological variation in leaf chemistry of *Nothofagus macrocarpa* in relation to *Ormiscodes* sp. growth and survival. *Bosque* 34(2): 155-160.
- Ciesla WM. 2011. *Forest Entomology*. Wiley Blackwell. Oxford, United States. 442pp.
- Clark KE, Hartley SE & SN Johnson. 2011. Does mother Know best? The preference-performance hypothesis and parent-offspring conflict in aboveground-belowground herbivore life cycles. *Ecological Entomology* 36: 117-124
- Clarke JF. 1978. New genera and species of Oecophoridae from Chile. *Smithsonian contribution to zoology* N° 273. 92pp.
- Claros S & I Serey. 2001. Tasa de consumo foliar de insectos masticadores (Geometridae) y minadores (Heliozelidae) en *Nothofagus alpina* y *N. obliqua*. *Bosque* 22:89-91.
- Cobben R H. 1978. Evolutionary trends in Heteroptera. Part II. Mouthpart-structures and feeding strategies. *Meded. Landbouwhoges. Wageningen* 18 (5):1-407.
- Coley PD, Bryant JP & FS Chapin. 1985. Resource availability and plant anti-herbivore defense. *Science* 230: 895-899.
- Congdon P. 2003. *Applied Bayesian Modeling*. John Wiley & Sons. University of London, United Kingdom. 464pp.
- Cook SM, Smart LE, Martin JL, Murray DA, Watts NP & IH Williams. 2006. Exploitation of host plant preferences in pest management strategies for oilseed rape (*Brassica napus*). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 119(3): 221-229.

- Cordo HA, Logarzo G, Braun K & O Di Lorio. 2004. Catálogo de Insectos Fitófagos de la Argentina y sus Plantas Asociadas” Sociedad Entomológica Argentina ediciones. Buenos Aires- Argentina. 734pp.
- Courcoux P & M Semenu. 1996. Preference data analysis using a paired comparison model. Food quality and preference 8(5-6): 352-358.
- Craig TP, Itami JK & PW Price. 1989. A strong relationship between oviposition preference and larval performance in a shoot-galling sawfly. Ecology 70(6): 1691-1699.
- Cremona V, Ferrari J & S López. 2011. Las cenizas volcánicas y los suelos de la región. Revista Presencia 57: 8-11.
- Cruz C. 1981. Ciclo biológico del microlepidóptero perforador de Raulí (*Nothofagus alpina*)”. Tesis Ingeniería Forestal, Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 100pp.
- Dajoz R. 2001. Entomología forestal. Los insectos y el bosque. Ediciones Mundi-Prensa, España 548 pp.
- Davel M, Urretavizcaya MF, Contardi L & G De María. 2004. Establecimiento de plantaciones de especies nativas de madera de calidad en el noroeste de la provincia de Chubut. Investigación Forestal al Servicio de la Producción II. Resultados aplicables al cultivo de bosques y la producción de madera en Argentina. SAGPyA - Proyecto Forestal de Desarrollo. 260 pp.
- David HA. 1988. The Method of Paired Comparisons. 2nd Edition. London: Charles Griffin.
- Davidson RR & DL Solomon. 1973. A Bayesian approach to paired comparison experimentation. Biometrika 60(3):477-487.
- Dawkins R. 1969. A threshold model of choice behavior. Animal Behaviour 17(1): 120-133.
- de Boer G & E Hanson. 2011. Food plant selection and induction of feeding preference among host and non-host plants in larvae of the tobacco hornworm *Manduca sexta*. Article first published online: 5 APR 2011 DOI:10.1111/j.1570-7458.1984.tb03378.x
- Decker KLM & REJ Boerner. 2003. Elevation and vegetation influences on soil properties in Chilean *Nothofagus* forest. Revista Chilena de Historia Natural 76: 371-381.
- del Moral, Roger, and Sergei Yu Grishin. 1999. Volcanic disturbances and ecosystem recovery. In: Walker LR (ed.) Ecosystems of disturbed ground. Chapter 4: 137-160.
- Denno RF & MS McClure. 1983. Variable plants and herbivores in natural and managed systems. Academic Press, London. 712pp.
- Denno RF, Larsson S & KL Olmstead. 1990. Role of enemy-free space and plant quality in host-plant selection by willow beetles. Ecology 71(1):124-137.
- DeShazo JR & G Fermo. 2002. Designing choice sets for stated preference methods: The effects of complexity on choice consistency. Journal of Environmental Economics and Management 44: 123-143.

- Destremau DX. 1988. La sylviculture des *Nothofagus* en Europe. Monografías de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y naturales. Simposio Sobre *Nothofagus*, Buenos Aires. Argentina 4: 115-122.
- Diaz-Vaz J, Poblete H, Juacida L & F Devlieger. 2002. Maderas comerciales de Chile, 3er edición Marisa Cuneo Ediciones, Valdivia- Chile. 78 pp.
- Dicke M. 2000. Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods: a multi-thropic perspective. *Biochemical Systematics and Ecology* 28:601-617.
- Dimarco R, Russo G & AG Farji-Brener. 2004. Patrones de herbivoría en seis especies leñosas del bosque templado de América del sur: evidencia preliminar a favor de la hipótesis del balance carbono nutrientes. *Ecología Austral* 14: 39-43.
- Dimitri M. 1972. La región de los bosques andino-patagónicos. Sinopsis general. Colección Científica Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 10.
- Dimou I, Koutsikopoulos C, Economopoulos AP & J Lykakis. 2003. Depth of pupation of the wild olive fruit fly, *Bactrocera* (*Dacus*) *oleae* (Gmel.) (Dipt., Tephritidae), as affected by soil abiotic factors. *Journal of Applied Entomology* 127:12–17.
- Donoso C & A Lara. 1995. Utilización de los bosques nativos de Chile: pasado, presente y futuro. En: Armesto JJ, Villagrán C & MTK Arroyo (eds.), *Ecología de los Bosques Nativos de Chile*. pp. 363-388. Editorial Universitaria, Santiago.
- Donoso C & M Cortes. 1987. Germinación de semillas y técnicas de vivero y plantaciones para las especies nativas de los tipos forestales de la X Región. III Parte. Resultados obtenidos durante el período 1986-1987. Informe de Convenio N° 134, CONAF/ UACH. 51 pp.
- Donoso C, Morales J & M Romero. 1990. Hibridación natural entre roble (*Nothofagus obliqua*) (Mirb) Oerst. y raulí (*N. alpina*) (Poepp. & Endl.) Oerst, en bosques del sur de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 63:49-60.
- Donoso C, Premoli A, Gallo L & R Ipinza. 2004. Variación intraespecífica en las especies aróreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Editorial Universitaria Bosque Nativo. Santiago de Chile, Chile. 420pp.
- Donoso C. 1997. *Ecología Forestal. El Bosque y su Medio Ambiente*. Editorial Universitaria. Santiago de Chile, Chile. 369pp.
- Donoso C. 2006. Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina- Autoecología. Marisa Cuneo Ediciones, Chile. 678pp.
- Donoso P & A Promis. 2013. *Silvicultura en Bosques Nativos. Avances en Investigación en Chile, Argentina y Nueva Zelanda*. Marisa Cuneo Ediciones. Valdivia, Chile. 226 pp.
- Donoso P, Donoso C, Gallo L, Azpilicueta MM, Baldini A & B Escobar. 2006. *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst. Roble, Pellín, Hualle. En: Donoso C. *Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Autoecología*, Valdivia, Chile.
- Dudgeon D, Ma HHT & PKS Lam. 1990. Differential palatability of leaf litter to four sympatric isopods in a Hong Kong forest. *Oecologia* 84: 398-403.

- Edwards CA, Reichle DE & DA Jr Crossley. 1970. The role of soil invertebrates in turnover of organic matter and nutrients. *Analysis of Temperate Forest Ecosystems*. *Ecological Studies* 1: 147-172.
- Edwards JS & LM Schwartz. 1981. Mount St. Helens ash: a natural insecticide. *Canadian Journal of Zoology* 59:714-715.
- Edwards PJ & SD Wratten. 1982. Wound-induced changes in palatability in birch (*Betula pubescens* Ehrh. ssp. *pubescens*). *The American Naturalist* 120: 816-818.
- Edwards PJ, Wratten SD & H Cox. 1985. Wound-induced changes in the acceptability of tomato to larvae of *Spodoptera littoralis*: a laboratory bioassay. *Ecological Entomology* 10: 155-158.
- Elgueta M & AE Marvaldi. 2006. Lista sistemática de las especies de curculionoidea (Insecta: Coleoptera) presentes en Chile, con su sinonimia. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural de Chile* 55: 113-153.
- Elizalde L. 2014. Volcanism and arthropods: a review. *Ecología Austral* 24:3-16.
- Ellis JD, Hepburn R, Luckman B & PJ Elzen. 2004. Effect of soil type, moisture, and density on pupation success of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae). *Physiological Ecology* 33(4):794-798.
- Ellison AM. 2004. Bayesian inference in ecology. *Ecology Letters* 7:509-520.
- Enriquez AS. 2008. Caracterización del reservorio de carbono (C) y nutrientes (N y P) en mallines del Norte de Patagonia, a lo largo de un gradiente de precipitaciones Oeste-Este. Tesis de grado, Universidad Nacional del Comahue, Centro Regional Universitario Bariloche. 81pp.
- FAO 2007. State of the world's forests. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Faucheux MJ. 2005. *Heterobathmia pseuderio cranía* (Heterobathmiina): mouthparts, mouthpart sensilla, and comparison with other non glossatan suborders (Insecta, Lepidoptera). *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 7(1): 57-65.
- Faúndez EI & GA Osorio. 2010. New data on the biology of *Sinopla perpunctatus* Signoret, 1864 (Hemiptera: Heteroptera: Acanthosomatidae). *Boletín de Biodiversidad de Chile* 3: 24-31.
- Faúndez EI & MA Carvajal. 2011. Catalog of Chilean Pentatominae Leach, 1815 (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). *Zootaxa* 2835: 53-60.
- Faúndez EI, Carvajal MA & DA Rider. 2013. Sinopsis del género *Chinavia* Orian, 1965 (Heteroptera: Pentatomidae) en Chile. *Boletín de Biodiversidad de Chile* 8: 26-36.
- Faúndez EI, Monsalve EA, Osorio GA & CP Bahamondez. 2009. First host plant for *Notofenusia flinti* Smith, 1973 (Hymenoptera: Symphyta: Tenthredinidae). *Boletín de Biodiversidad de Chile* 1 (1): 31-34.

- Faúndez EI. 2007a. Lista de las especies de Acanthosomatidae (Insecta: Hemiptera) de la Región de Magallanes (Chile). *Anales Instituto Patagonia (Chile)* 35(1): 75-78.
- Faúndez EI. 2007b. Asociación críptica entre *Sinopla perpunctatus* Signoret, 1863 (Acanthosomatidae: Hemiptera) y el ñirre *Nothofagus antarctica* (G. Forster) Oersted (Fagaceae) en la Región de Magallanes (Chile). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* 40: 563-564.
- Faúndez EI. 2009a. Contribution to the knowledge of the genus *Acrophyma* Bergroth, 1917 (Hemiptera: Heteroptera: Acanthosomatidae). *Zootaxa* 2137: 57-65.
- Faúndez EI. 2009b. *Sinopla perpunctatus* Signoret, 1864 or *Sinopla perpuctata* Signoret, 1864 ? A problematic name for a South American shield bug (Hemiptera: Heteroptera: Acanthosomatidea). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* 44: 553-554.
- Faúndez EI. 2010: Pentatomoidea (Hemiptera: Heteroptera) wrongly labelled in Gay's "Atlas de la Historia Física y Política de Chile" (1854). *Zootaxa* 2351: 65–68.
- Feeny P. 1976. Plant apparency and chemical defense. *Recent Advances in Phytochemistry* 10:1–40.
- Fernández Rueda MJ & A Paz González. 1998. Influencia del contenido de materia orgánica sobre las propiedades físicas del suelo. *Cadernos Lab. Xeológico de Laxe* 23: 101-119.
- Fernández-Arhex V, Amadio E, Enriquez A, Pietrantuono AL & O Bruzzone. 2014a. Effect of volcanic ash over Orthoptera survival in Patagonia. *Ecología Austral. En prensa*
- Fernández-Arhex V, Buteler M, Amadio E, Enriquez A, Pietrantuono AL, Stadler T, Becker G & O Bruzzone. The effects of volcanic ash from Puyehue- Cautle Range eruption on the survival of *Dichroplus vittigerum* (Orthoptera: Acrididae) *Florida Entomologist* 96(1): 286-288.
- Fernández-Arhex V, Pietrantuono AL, Amadio ME & OA Bruzzone. 2014b. Volcanic complex Puyehue-Cordón Cautle: impact of volcanic ash on insects in Patagonia, Argentina. In: Milburn T (ed.). *Volcanic Eruptions: Triggers, Role of Climate Change and Environmental Effects- In press.*
- Fox L. 1981. Defense and dynamics in plant herbivore systems. *American Zoologist* 21:853–864.
- Fretwell SD & HL Lucas. 1970. On territorial behaviour and other factors influencing habitat distribution in birds. *Acta Biotheoretica* 19: 16-36.
- Fukui A, Murakami M, Konno K, Nakamura M & T Ohgushi. 2002. A leaf-rolling caterpillar improves leaf quality. *Entomological Science* 5(3):236-266.
- Fye RE. 1978. Pupation preferences of Bollworms, Tobacco budworms and Beet armyworms and impact on mortality resulting from cultivation of irrigated cotton. *Journal of Economical Entomology* 71: 570-572.
- Gaitán JJ, Raffo F, Ayesa JA, Umaña F & DE Bran. 2011. Zonificación del área afectada por cenizas volcánicas. INTA EEA Bariloche "Dr. Greenville Morris"-Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. Bariloche,

<http://inta.gob.ar/documentos/zonificacion-del-area-afectada-por-cenizas-volcanicas-en-rio-negro-y-neuquen/>

- Gallo LA, Marchelli P, Azpilicueta MM & P Crego. 2006. El uso de marcadores genéticos en el género *Nothofagus* con especial referencia a Raulí y Roble. *Bosque* 27(1):3–15.
- Gallo LA, Marchelli P, Crego, P, Ondkerk L, Izquierdo F, Brettembücher A, González Peñalba M, Chauchard L & L Maresco. 2000. Distribución y variación genética en características seminales y adaptativas de poblaciones y progenies de Raulí en Argentina. En: Ipinza R, Gutierrez B & V Hemhardt (eds.) Domesticación y mejora genética de Raulí y Roble (181-196). Universidad Austral de Chile. Instituto Forestal, Valdivia Chile.
- Gallo LA, P Marchelli, M González Peñalba, L Chauchard, S Vellido. 2003. Genética de poblaciones en la definición de áreas protegidas. IV Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe. Mar del Plata, Argentina. Libro de resúmenes. p. 158.
- Gandolfo MA & EJ Romero. 1992. Leaf Morphology and a key to species of *Nothofagus* Bl. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 119: 152-166.
- Gara R, Cerda L & M Donoso. 1980. Manual de entomología forestal. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ingeniería Forestal. Valdivia. 61 pp.
- Gara, R. 1978. Documento interno insectos forestales dañinos en Chile. Corporación Nacional Forestal. Programa de Control de Plagas y Enfermedades Forestales. Valdivia, Chile. 38 pp.
- Garibaldi LA, Kitzberger T & A Ruggiero. 2011 a. Latitudinal decrease in folivory within *Nothofagus pumilio* forests: dual effect of climate on insect density and leaf traits? *Global ecology and biogeography* 20(4):609-619.
- Garibaldi LA, Kitzberger T & EJ Chaneton. 2011 b. Environmental and genetic control of insect abundance and herbivory along a forest elevational gradient. *Oecologia* 167:117-129.
- Garibaldi LA, Kitzberger T, Mazía NM & EJ Chaneton. 2010. Nutrient supply and bird predation additively control insect herbivory and tree growth in two contrasting forest habitats. *Oikos* 119: 337-349.
- Gelman A, Carlin JB, Stern HS, & DB Rubin. 2004. *Bayesian Data Analysis*. 2nd Ed. Boca Raton, Florida: Chapman & Hall. EE UU. 676pp.
- Gentili M & P Gentili. 1988. Lista comentada de los insectos asociados a las especies sudamericanas del género *Nothofagus*. En: Monografías de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Simposio sobre *Nothofagus*.
- Geweke J. 1992. Evaluating the accuracy of sampling based approaches to calculating posterior moments. 169-193. In: Bernardo JM, Berger J, David AP & JFM Smith (Eds.) *Bayesian Statistics 4*, Oxford University press, Oxford.
- Giganti H & G Dapoto. 1990. Coleópteros de los bosques nativos del Departamento Aluminé (Neuquén-Argentina) *Bosque* 11(2): 37-44.
- Gill J. 2008. *Bayesian Methods: A social and behavioral sciences approach* (2nd edition). *Statistics in the social and behavioral sciences series*. Chapman & Hall, EE UU. 656 pp

- Giraldeau LA. 1997. The ecology of Information Use. En: Krebs JR & NB Davies (Eds.) Behavioural Ecology. Blackwell Science, United Kingdom, pp 42-68.
- Godoy MM & G Defossé. 2004. Introducción de especies forestales para la diversificación de forestaciones y la rehabilitación de sitios degradados en la Patagonia Argentina. Informe final PIA 05/00 SAGPyA-BIRF. 97 pp.
- Göering HK & PJ Van Söest. 1970. Forage Fiber Analyses. Handbook N° 379, Department of Agriculture, USDA, Washington D.C. 24pp
- Granados-Sánchez D, Ruíz- Puga P & H Barrera- Escorcía. 2008. Ecología de la herbivoría. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 14(1):51-63.
- Grandon FE. 1996. Análisis fitosanitario de los *Nothofagus* de Chile, desde el punto de vista entomológico. Tesis presentada en la Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales. 70 pp.
- Grime JP, MacPherson-Stewart SF & RS Dearman. 1968. An investigation of leaf palatibility using the snail *Cepaea nemoralis* L. Journal of Ecology 56: 405-420
- Gripenberg S, Mayhew PJ, Parnell M & T Roslin. 2010. A meta-analysis of preference-performance relationship in phytophagous insects. Ecology Letters 13: 383-393.
- Gullan PJ & PS Cranston. 2010. The Insect. An outline of Entomology. Blackwell Science. 4th edition Cahpman & Hall United States. 590pp.
- Haack RA & WJ Mattson. 1993 Life history patterns of North American tree feeding sawflies. In: Wagner RM & KF Raffa (Eds) Sawfly Life history adaptations to woody plants. Academic Press, Inc. EE.UU. pp 503-545.
- Hanson FE. 1983. The behavioral and neurophysiological basis of food plant selection by Lepidoptereous larvae. In: Ahmad S (ed.) Herbivorous insects: Host-seeking behavior and mechanisms. Academic Press, New York USA. 253pp.
- Haukioja E, Ruohomäki K, Suomela J & T Vuorisalo. 1991. Nutritional quality as a defense against herbivores. Forest Ecology and management 39:237-245.
- Heard T. 2000. Concepts in insect host-plant selection behavior and their application to host specificity testing. In: Van Driesche R, Heard TA, McClay AS & R Reardon (Eds.). Proceedings of Session: Host Specificity Testing of Exotic Arthropod Biological Control Agents - The Biological Basis for Improvement in Safety, USDA Forest Service, Publication #FHTET-99-1, August 2000, pp. 1-10.
- Hecht S. 1924. The visual discrimination of intensity and the Weber-Fechner Law. The Journal of General Physiology 7(2): 235-267.
- Heenan PB & RD Smissen. 2013. Revised circumscription of *Nothofagus* and recognition of the segregate genera *Fuscospora*, *Lophozonia*, and *Trisyngyne* (Nothofagaceae). Phytotaxa 146 (1): 1-31.
- Herbers JM. 1981. Time resources and laziness in animals. Oecologia 49: 252-262.

- Hevia F, Minoletti ML, KLM Decker & REJ Boerner. 1999. Foliar nitrogen and phosphorus dynamics of three Chilean *Nothofagus* (Fagaceae) species in relation to leaf lifespan. *American Journal of Botany* 86(3): 447-455.
- Hilborn R & M Mangel. 1997. *The ecological detective. Confronting models with data.* Monographs in population biology. Princeton University Press.
- Hill RS & J Read. 1991. A revised infrageneri classification of *Nothofagus* (Fagaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 105: 37-72.
- Hochuli DF. 1996. The ecology of plant/insect interactions: implications of digestive strategy for feeding by phytophagous insects. *Oikos* 75(1):133-141.
- Holder M & PO Lewis. 2003. Phylogeny estimation: traditional and Bayesian approaches. *Nature Reviews Genetics* 4: 275-284.
- Huerta Fuentes A, Navarrete Valdivia W, Araya Clericus J & F Muñoz Alegría. 2011. Composición y clasificación de daño de insectos en *Nothofagus glauca* (Fagaceae), Región del Maule, Chile. *Revista Colombiana de Entomología* 37(1): 56-61.
- Huk T & B Kühne. 1999. Substrate selection by *Carabus clatratus* (Coleoptera: Carabidae) and its consequences for offspring development. *Oecologia* 121: 348-354.
- Hulthen AD & AR Clarke. 2006. The influence of soil type and moisture on pupal survival of *Bactrocera tryoni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae). *Australian Journal of Entomology* 45: 16-19.
- Hünefeld F & NP Kristensen. 2012a. The female post abdomen and genitalia of the basal moth family Heterobathmiidae (Insecta: Lepidoptera): Structure and Phylogenetic significance. *Arthropod Structure & Development* 41: 395-407.
- Hünefeld F & NP Kristensen. 2012b. Two new heterobathmiid moth species with distinctive female genital configurations (Lepidoptera: Heterobathmiidae) *Zootaxa* 3281: 61-68.
- Jaenike J & DR Papaj. 1992. Behavioral plasticity and patterns of host use by insects. In: Roitberg BD & MB Isman (eds.) *Insect chemical Ecology: An Evolutionary approach* 1st edition, Chapman and Hall. New York, United States. 360pp.
- Jaenike J. 1978. On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology* 14: 350-356.
- Jaenike J. 1990. Host specialization in phytophagous insects. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21:243-273.
- Janzen DH. 1979. *New horizons in the biology of plant defenses. Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites.* Academic Press, Inc. New York.
- Johnson SN, Birch ANE, Gregory PJ & PJ Murray. 2006. The “mother knows best” principle: should soil insects be included in the preference-performance debate? *Ecological Entomology* 31: 395-401.
- Jones CG & JS Coleman. 1988. Plant stress and insect behavior: cottonwood, ozone and the feeding and oviposition preference of a beetle. *Oecologia* 76: 51-56.

- Karban R. 1988. Resistance to beet armyworms (*Spodoptera exigua*) induced by exposure to spider mites (*Tetranychus turkestanii*) in cotton. *The American Midland Naturalist Journal* 119: 77-82.
- Karsholt O & NP Kristensen. 2003. *Plesiozela*, gen.nov. from temperate South America: apparent sister group of the previously known Heliozelidae (Lepidoptera: Incurvarioidea: Heliozelidae). *Invertebrate Systematic* 17: 39-46.
- Kitajima K, Llorens AM, Stefanescu C, Vargas Timchenko M, Lucas PW & SJ Wright. 2012. How cellulose-based leaf toughness and lamina density contribute to long leaf lifespans of shade-tolerant species. *New Phytologist* 195: 640-652.
- Kitzberger T. 2008. Ecología y dinámica de los bosques ecotonales del sur de Sudamérica: implicancias para la conservación y el manejo. Libro de Actas de Ecoreuniones, Segunda Reunión sobre Nothofagus en la Patagonia, pp. 11-15.
- Kment P. 2005. Revision of the genus *Mahea* Distant, 1909 (Insecta: Heteroptera: Acanthosomatidae), with review of the Acanthosomatidae of Madagascar and Seychelles. *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae* 45:21-50.
- Konow FW. 1905. Hymenoptera, Fam. Tenthredinidae En: Wytsman P (Ed.), *Genera Insectorum, Bruxelles Fascicles* 29, 176pp.
- Krebs JR & NB Davies. 2004. *An Introduction to Behavioural Ecology*, Wiley-Blackwell. 3rd edition Australia. 437pp.
- Kristensen NP & ES Nielsen. 1982. The *Heterobathmia* life history elucidated: Immature stages contradict assignment to suborder Zeugloptera (Insecta, Lepidoptera). Department of Entomology, Zoological Museum, University of Copenhagen 21: 101-124.
- Kristensen NP & ES Nielsen. 1998. *Heterobathmia valvifer* n. sp.: A moth with large apparent "ovipositor valves" (Lepidoptera: Heterobathmiidae). *Steenstrupia* 24: 141-156.
- Kuschel G. 1952. Los curculionidae de la cordillera Chileno-Argentina (1a parte) *Revista chilena de entomología* 2: 229-279.
- Laclau P. 1997. Los ecosistemas forestales y el hombre en el sur de Chile y Argentina. *Boletín Técnico FVSA N°34*, Buenos Aires.
- Landa K & D Rabinowitz. 1983. Relative preference of *Arphia sulphurea* (Orthoptera: Acrididae) for sparse and common prairie grasses. *Ecology* 64: 392-395.
- Lanfranco D, Ide S, Ruiz P, Peredo H & I Vives. 2002. Agentes Entomopatógenos Asociados a Productos Forestales Primarios de Exportación. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile. Ediciones UACH, 87pp.
- Lanfranco D, Rojas E & C Ruiz. 1999. Insect Defoliators of *Nothofagus obliqua* (Roble) in South Chile: Two Years Monitoring Species and Their Damage. Proceedings: integrated management and dynamics of forest defoliating. Department of Agriculture, Forest Service, Northeastern Research Station.

- Lanfranco D. 1977. Entomofauna asociada a los bosques de *Nothofagus pumilio* en la región de Magallanes: I parte: Monte Alto (Río Rubens, Última Esperanza). *Annales del Instituto de la Patagonia (Punta Arenas-Chile)* 8: 319–346.
- Lanfranco D & C Ruiz. 2010. *Entomología Forestal en Chile*. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile. Ediciones UACH. Valdivia, Chile. 486pp.
- Langdon LM. 1947. The comparative morphology of the Fagaceae I. The genus *Nothofagus*. *Botanical Gazette* 108(3): 350-371.
- Lanteri AA, Marvaldi AE & SM Suárez. 2002. Gorgojos de la Argentina y sus plantas huéspedes. Tomo I: Apionidae y Curculionidae. *Publicación Especial de la Sociedad Entomológica Argentina* N° 1, 98 pp.
- Lavandero B, Labra A, Ramírez CC, Niemeyer HM & E Fuentes–Contreras. 2009. Species richness of herbivorous insects on *Nothofagus* trees in South America and New Zealand: The importance of chemical attributes of the host. *Basic and Applied Ecology*, 10(1):10 – 18.
- Lewis AC. 1984. Plant quality and grasshopper feeding: effects of sunflower condition on preference and performance in *Melanoplus differentialis*. *Ecology* 65: 836-843.
- Lin H, Kogan M & D Fischer. 1990 Induced resistance in soybean to the Mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinellidae): comparisons of inducing factors. *Environmental Entomology* 19: 1852-1857.
- Lipovetsky S. 2007. Thurstone scaling in order statistics. *Mathematical and Computer modeling* 45:917-926.
- Llewellyn M & J Eivaz. 1979. Abrasive dusts as mechanism for aphid control. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 26 (2): 219-222.
- Lowman MD & JD Box. 1983. Variation in leaf toughness and phenolic content among five species of Australian rain forest trees. *Australian Journal of Ecology* 8(1):17-25.
- MacArthur RH & ER Pianka. 1966. On optimal use of a patchy environment. *American Naturalist* 100: 603-609.
- Macdonald PJ & CR Ellis. 1990. Survival time of unfed, first-instar western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) and the effect of soil type, moisture, and compaction on their mobility in soil. *Environmental Entomology* 19 (3): 666-671.
- Mangel M. 1993. Motivation, Learning, and motivated learning. In: Papaj DR (ed). *Insect learning. Ecological and evolutionary perspectives*. Kluwer Academic Publishers. United States 403pp.
- Marquis RJ & JT Lill. 2010. Impact of plant architecture versus leaf quality on attack by leaf-tying caterpillars on five oak species. *Oecologia* 163:203-213.
- Marquis RJ, Lill JT & A Piccinni. 2002. Effect of plant architecture on colonization and damage by leaf-tying caterpillars of *Quercus alba*. *Oikos* 99:531-537

- Marrone PG & RE Stinner. 1984. Influence of soil physical factor on survival and development of the larvae and pupae of the bean leaf beetle, *Cerotoma trifurcate* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Canadian Entomologist* 116 (7): 1015-1023.
- Marske KA, Ivie MA & GM Hilton. 2007. Effects of volcanic ash on the forest canopy insects of Montserrat, West Indies. *Environmental Entomology* 36(4):817-25.
- Martin MM. 1991. The evolution of cellulose digestion in insects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 333:281-288.
- Martínez HE, Fuentes JP & E Acevedo. 2008. Carbono orgánico y propiedades del suelo. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 8 (1):68-96.
- Martinez P, Dellapé PM, Coscarón MC & H Giganti. 2003. Immature stages of *Sinopla perpunctatus* (Heteroptera: Acanthosomatidae) from Argentina. *Entomological News* 114: 147-151.
- Martínez Pastur G, Peri PL, Lencinas MV, Cellini JM, Barrera M, Soler Esteban R, Ivancich H, Mestre L, Moretto AS, Anderson CB & F Pulido. 2013. La producción forestal y la conservación de la biodiversidad en los bosques de *Nothofagus* en Tierra del Fuego y Patagonia Sur. En: Donoso P & A Promis (eds.). *Silvicultura en Bosques Nativos. Avances en Investigación en Chile, Argentina y Nueva Zelanda*. 1ª edición Marisa Cuneo Ediciones, Valdivia, Chile Capítulo 8: 171-197.
- Martínez Pastur G, Vukasovic RF, Lencinas MV, Cellini JM & E Wäbo. 2003. El manejo silvícola de los bosques de Patagonia: Utopía o realidad? Resumen presentado en el XII Congreso Forestal mundial. Quebec, Canadá.
- Masciocchi M, Pereira AJ, Lantschner V & JC Corley. 2013. Of volcanoes and insects: the impact of the Puyehue-Cordon Caulle ash fall on population of invasive social wasps, *Vespula* spp. *Ecology Research* 28: 199-205.
- Matthews RW & JR Matthews. 2010. *Insect Behavior*. 2nd edition. Springer, New York. 514pp.
- Mayhew PJ. 1997. Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos* 79 (3):417-428.
- Mayhew PJ. 2001. Herbivore host choice and optimal bad motherhood. *Trends in Ecology and Evolution* 16: 165-167.
- Mazía CN, Chaneton EJ, Dellacanonica C, Dipaolo L & T Kitsberger. 2012. Seasonal patterns of herbivory, leaf traits and productivity consumption in dry and wet Patagonian forests. *Ecological Entomology* 37 (3): 193-203.
- Mazía CN, Chaneton EJ, Kitzberger T & LA Garibaldi. 2009. Variable strength of top-down effects in *Nothofagus* forests: bird predation and insect herbivory during an ENSO event. *Austral Ecology* (4):359–367.
- Mazía CN, Kitzberger T, & EJ Chaneton. 2004. Interannual changes in folivory and bird insectivory along a natural productivity gradient in northern Patagonian forests. *Ecography* 27: 29-40.

- Mazzarino MJ, Bertiller M, Schlichter T & M Gobbi. 1998. Nutrient cycling in Patagonian ecosystems. *Ecología Austral* 8: 167-181.
- McColloch JW & WP Hayes. 1922. The reciprocal relation of soil and insects. *Ecology* 3(4): 288-301.
- McNamara JM, Green RF & O Olsson. 2006. Bayes' Theorem and its applications in animal behavior. *Oikos* 112: 243-251.
- McNeill S & RE Southwood. 1978. The role of nitrogen in the development of insect/plant relationship. In: Harborne JB (ed.) *Biochemical aspects of plant and animal coevolution*. Academic Press, London, pp 77-98.
- McQuillan PB. 1993. *Nothofagus* (fagaceae) and its invertebrate fauna- an overview and preliminary synthesis. *Biological Journal of the Linnean Society* 49:317-354.
- Mench J. 1998. Why it is important to understand animal behavior. *ILAR journal* 39(1): 20-26.
- Méndez Olán C & G Ramírez Valverde. 2001. Prueba de razón de verosimilitud para el estudio de preferencias con dos opciones. *Agrociencia* 35(5): 543-549.
- Milligan RH. 1974. Insects damaging beech (*Nothofagus*) forests. *Proceedings of the New Zealand Ecological Society* 21:32-40.
- Morales CL, Saez A, Arbetman MP, Cavallero L & MA Aizen. 2014. Detrimental effects of volcanic ash deposition on bee fauna and plant-pollinator interactions. *Ecología Austral* 24:42-50.
- Morales H, Ferguson BG & L Garcia Barrios. 2007. Agricultura: La Cenicienta de La conservación en Mesoamérica. En: Harvey CA & JC Sáenz (eds.) *Evaluación y conservación de biodiversidad en paisajes fragmentados de Mesoamérica*. Editorial InBio, Costa Rica, 624 pp.
- Moreby SJ, Aebischer NJ, Southway SE & NW Sotherton. 1994. A comparison of the flora and arthropod fauna of organically and conventionally grown winter wheat in southern England. *Annals of Applied Biology* 125: 13-27.
- Morris LA, Bush P & J Clark. 1993. Ecological impacts and risks associated with forest management. Chapter 10. In: *Predicting ecosystem risk*. Cairns J, Niederlehner B & D Orvos (eds) *Advances in Modern Environmental Toxicology*, Vol XX, pp 153-213. Princeton Scientific Publishing, Princeton, New Jersey.
- Muñoz JM, García Martínez A, Peña Blanco F, Cabrera DV & M Herrera Garcia. 2005. Diseño experimental en evaluación de preferencias en la selección de hábitat. *Producción animal y gestión* 3(2):1-6.
- Murdoch WW. 1966. Community structure, population control, and competition. *American Naturalist* 100: 219-226.
- Nakamura M & T Ohgushi. 2003. Positive and negative effects of leaf shelters on herbivorous insects: linkin multiple herbivore species on a willow. *Oecologia* 136: 445-449.

- Navarrete Valdivia WA. 2006. Caracterización entomológica de renovales de *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser (Comuna de Empedrado, VII Región). Tesis de Ingeniero forestal, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales Escuela de Ciencias Forestales, Depto. de Silvicultura. Santiago, Chile. 84pp.
- Niemeyer HM. 1990. The role of secondary plant compounds in aphid-host interactions. In: Campbell RK & RD Eikenbary (Eds.) Aphid –Plant genotype interactions. Elsevier, Amsterdam 187-205pp.
- Novacek MJ. 2008. Engaging the public in biodiversity issues. Proceedings of the National Academy Sciences 105(1): 11571-11578.
- Nyman T, Farrel BD, Zinovjev AG & V Vikberg. 2006. Larval habits, host-plant associations, and speciation in Nematine sawflies (Hymenoptera: Tenthredinidae). Evolution 60(8): 1622-1637.
- Osorio G. 2009. Primer registro para la Región del Maule de *Sinopla perpunctatus* Signoret, 1864 (Hemiptera: Heteroptera: Acanthosomatidae). Boletín de Biodiversidad de Chile 1 (1): 35-37.
- Owens IPF. 2006. Where is behavioural ecology going? Trends in Ecology and Evolution 21(7): 356-361.
- Papaj DR & MD Rausher. Individual variation in host location by phytophagous insects. 1983. Herbivorous Insects: Host seeking behavior and mechanisms (1983): 77-127.
- Paritsis J & TT Veblen. 2010. Temperature and foliage quality affect performance of the outbreak defoliator *Ormiscodes amphimone* (F.) (Lepidoptera: Saturniidae) in northwestern Patagonia, Argentina. Revista Chilena de Historia Natural 83: 593-603.
- Paritsis J & TT Veblen. 2011. Dendroecological analysis of defoliator outbreaks on *Nothofagus pumilio* and their relation to climate variability in the Patagonian Andes. Global Change Biology 17: 239-253.
- Paritsis J, Elgueta M, Quintero C & TT Veblen. 2010. New host-plant records for the defoliator *Ormiscodes amphimone* (Fabricius) (Lepidoptera: Saturniidae). Neotropical Entomology 39 (6):1048-1050.
- Paritsis J, Quintero C, Kitzberger T & TT Veblen. 2012. Mortality of the outbreak defoliators *Ormiscodes amphimone* (Lepidoptera: Saturniidae) caused by natural enemies in northwestern Patagonia Argentina. Revista Chilena de Historia Natural 85: 113-122
- Paritsis J, TT Veblen, JM Smith & A Holz. 2011. Spatial prediction of caterpillar (*Ormiscodes*) defoliation in Patagonian *Nothofagus* forests. Landscape Ecology 26: 791-803.
- Paritsis J, Veblen TT & T Kitzberger. 2009. Assessing dendroecological methods to reconstruct defoliator outbreaks on *Nothofagus pumilio* in northwestern Patagonia, Argentina. Canadian Journal of Forestry Research 39(9):1617–1629.
- Patil A, Huard D & CJ Fonnesbeck. 2010. PyMC: Bayesian stochastic modeling in Python. J. Statistical Software 35:1-81.

- Peeters PJ, Sanson G & J Read. 2006. Leaf biomechanical properties and the densities of herbivorous insect guilds. *Functional Ecology* 21(2): 246-255.
- Peeters PJ. 2002. Correlations between leaf structural traits and the densities of herbivorous insect guilds. *Biological Journal of the Linnean Society* 77(1): 43-65.
- Pereira AJ, Masciocchi M, Bruzzone O & JC Corley. 2013. Field preferences of the social wasp *Vespula germanica* (Hymenoptera: Vespidae) for protein-rich baits. *Journal of Insect Behavior* 26(5): 730-739.
- Pérez Contreras T. 1999. La especialización en los insectos fitófagos: una regla más que una excepción. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* 26: 759-776.
- Pérez Schultheiss J. 2009. Biodiversidad, taxonomía y el valor de los estudios descriptivos. *Boletín de Biodiversidad de Chile* 1(1): 1-14.
- Peri PL. 2005. Sistemas Silvopastoriles en Ñirantales. IDIA XXI Forestal. Año V. N ° 8 pp. 255-259.
- Pietrantuono AL, Fernández-Arhex V & OA Bruzzone. 2013a. Nuevo registro de *Notofenusia surosa* (Konow, 1905) (Hymenoptera: Tenthredinidae) de la Patagonia norte de Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 72 (1-2): 105-110.
- Pietrantuono AL, Fernández-Arhex V & OA Bruzzone. 2014. First study of host-plant preferences of *Sinopla perpunctatus* (Hemiptera: Acanthosomatidae) a stink bug from Andean-patagonic forest. *Florida Entomologist* 97(2):534-539.
- Pietrantuono AL, Loiácono M, Margaría C, Fernández- Arhex V, & OA Bruzzone. 2013b. Primer registro de *Trissolcus teretis* (Hymenoptera: Platygasteridae) parasitoide de posturas de *Ditomotarsus punctiventris* (Hemiptera: Acanthosomatidae) en la Patagonia Argentina. *Acta Zoológica Lilloana* 57:62-64.
- Pirk G. 2014. Did ash fall from Puyehue-Cordón Caulle volcanic complex affect ant abundance and richness in the Patagonian steppe? *Ecología Austral* 24:23-30.
- Powell G, Tosh CR & J Hardie. 2006. Host plant selection by aphids: Behavioral, evolutionary, and applied perspectives. *Annual Review of Entomology* 51: 309-330.
- Prado E. 2008. Conocimiento actual de Hemiptera-Heteroptera de Chile con lista de especies. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural, Chile* 57: 31-75.
- Premoli AC, Acosta MC, Mathiasen P & C Donoso Z. 2012. Variación genética en *Nothofagus* (subgenero *Nothofagus*). *Bosque* 33(2): 115-125.
- Premoli AC. 1996. Leaf architecture of South American *Nothofagus* (Nothofagaceae) using traditional and new methods in morphometrics. *Botanical Journal of the Linnean Society* 121: 25-40.
- Price PW, Denno RF, Eubanks MD, Finke DL & I Kaplan. 2011. *Insect Ecology: Behavior, Population and Communities*. University Press Cambridge. 816 pp.
- Primer inventario nacional de bosques natives. 2005. Proyecto Bosques Nativos y Áreas Protegidas Préstamo BIRF 4085-AR.

- Pritchard IM & M James. 1984. Leaf mines: their effect on leaf longevity. *Oecologia* 64: 132-139.
- Prudic KL, Oliver JC & MD Bowers. 2005. Soil nutrient effects in oviposition preference, larval performance and chemical defense of a specialist insect herbivore. *Oecologia* 143: 578-587
- Quinn GP & MJ Keough. 2002. *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University press, United Kingdom. 537pp.
- Quiroz A, Fuentes Contreras E, Ramirez C, Russell G & H Niemeyer. 1999. Host-Plant chemicals and distribution of *Neuquenaphis* on *Nothofagus*. *Journal of Chemical Ecology* 25 (5):1043-1054.
- Raffa KF, Havill NP & EV Nordheim. 2002. How many choices can your test animal compare effectively? Evaluating a critical assumption of behavioral preference test. *Oecologia* 133: 422-429.
- Ramirez C. 1987. El género *Nothofagus* y su importancia en Chile. *Bosque* 8(2) 71-76.
- Ramos RA & LE Parra. 2013. *Heterobathmia pseuderiocrania* Kristensen & Nielsen (Lepidoptera: Heterobathmiidae) identification base don DNA-barcoding and notes on the morphology. *Revista Brasileira de entomología* 57 (1): 24-30.
- Rauscher MD. 1983. Ecology of Host-Selection behavior in Phytophagous insects. In: Denno RF & MsMcClure (eds.) *Variable plants and herbivores in natural and managed systems* Academic Press, New York, USA. 734pp.
- Rausher MD. 1979. Larval habitat suitability and oviposition preference in three related butterflies. *Ecology* 60(3): 503-511.
- Rhodes DF & RG Cates. 1976. Towards a general theory of plant antiherbivore chemistry. *Recent Advances in Phytochemistry* 10:168–213.
- Robert I & B Gara. 2010. Chile forestal y las plagas de insectos. En: *Entomología forestal en Chile*. Ed.: Lanfranco D & C Ruiz. Ediciones Universidad Austral de Chile. 47-68 pp.
- Roberts GO & JS Rosenthal. 1997. Markov Chain Monte Carlo: Some practical implications of theoretical results. *Canadian Journal of Statistics* 26:5-31.
- Robredo F & D Cadahia. 1992. Protección contra las enfermedades e insectos forestales. *Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas* 18: 555-567.
- Rousseaux MC, Julkunen-Tiitto R, Searles PS, Scopel AL, Aphalo PJ & CL Ballaré. 2004. Solar UV-b radiation affects leaf quality and insect herbivory in the southern beech tree *Nothofagus antarctica*. *Oecologia*, 138:505–512.
- Russel GB, Bowers WS, Keesing V, Niemeyer HM, Sevenet T, Vasanthaverni S & SD Wratten. 2000. Patterns of bioactivity and herbivory on *Nothofagus* species from Chile and New Zealand. *Journal of Chemical Ecology* 26(1):41-56.

- Russell GB, Faúndez EH & HM Niemeyer. 2004. Selection of *Nothofagus* host trees by the aphids *Neuquenaphis staryi* and *Neuquenaphis edwardsi*. *Journal of Chemical Ecology* 30 (11): 2231-2241.
- Sagers CL. 1992. Manipulation of host plant quality: herbivores keep leaves in the dark. *Functional Ecology* 6: 741-743.
- Satti P, Mazzarino MJ, Gobbi M, Funes F, Roselli L & H. Fernández. 2003. Soil N dynamics in relation to leaf litter quality and soil fertility in northwestern Patagonian forest. *Journal of Ecology* 91(2): 173-181.
- Scheirs J & L de Bruyn. Integrating optimal foraging and optimal oviposition theory in plant-insect research. *Oikos* 96 (1): 187-191.
- Schlichter T & P Laclau. 1998. Ecotono estepa-bosque y plantaciones forestales en la Patagonia norte. *Ecología Austral* 8: 285-296.
- Schmidt KA, Dall SRX & JA van Gils. 2010. The ecology of information: an overview on the ecological significance of making informed decisions. *Oikos* 119: 304-316.
- Schoonhoven LM, van Loon JJA & M Dicke. 2005. *Insect-Plant Biology*. 2nd edition Oxford University Press, Oxford. 421pp.
- Schowalter TD. 2006. *Insect Ecology. An Ecosystem Approach*. 2nd edition Elsevier/Academic, San Diego, California. 572pp.
- Shanks Jr CH & DL Chase. 1981. Effect of volcanic ash on adult *Otiiorhynchus* (Coleoptera: Curculionidae). *Melandria* 37: 63-66.
- Shettleworth SJ. 1998. *Cognition, evolution and behavior*. New York Oxford: Oxford University Press. 688pp.
- Shettleworth SJ. 1984. Learning and behavioural ecology. In: Krebs JR & NB Davies. *Behavioural ecology: An evolutionary approach*. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 2nd edition.
- Silva- Aguayo G, Gonzáles-Gómez P, Hepp- Gallo R & P Casals- Bustos. 2004. Control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky with inert dusts. *Agrociencia* 38(5): 529-536.
- Simpson SJ, Sibly RM, Pum Lee K, Behmer ST & D Raubenheimer. 2004. Optimal foraging when regulating intake of multiple nutrients. *Animal Behaviour* 68 (6): 1299-1311.
- Sinclair RJ & L Hughes. 2010. Leaf miners: The hidden herbivores. *Austral Ecology* 35: 300-313.
- Singer MC, Vasco D, Parmesan C, Thomas CD & D Ng. 1992. Distinguishing between "preference" and "motivation" in food choice: an example from insect oviposition. *Animal Behaviour* 44: 463-471.
- Slater PJB. 2000. *El comportamiento animal*. Cambridge University Press, Madrid. 1era edición. 239pp.

- Smith DR & V Pérez DA. 1995. Elenco sistemático y bibliografía de las avispa sesilivientes (Hymenoptera: Symphyta) de Chile. *Gayana* 59(1): 103-108.
- Smith DR. 1973. Sawflies of the subfamily Heterarthrinae in South America (Hymenoptera: Tenthredinidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 75(3): 337-345.
- Smith DR. 1976. World genera of the leaf-mining sawfly tribe Fenusini (Hymenoptera: Tenthredinidae). *Scandinavian Entomology* 7: 253-260.
- Smith DR. 2003. A synopsis of the Sawflies (Hymenoptera: Symphyta) of America South of the United States: Tenthredinidae (Nematinae, Heterarthrinae, Tenthredinidae). *Transactions of The American Entomological Society* 129 (1): 1-45.
- Solervicens J. 1995. Consideraciones generales sobre los insectos, el estado de su conocimiento y las colecciones. En: Simonetti JA, MTK Arroyo, AE Spotorno & E Lozada (eds.) *Diversidad biológica de Chile*: 198-210. Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica, Santiago.
- Somlo RT, Bonvissuto G, Schlichter T, Laclau P, Peri P, Alloggia M & AM Gordon. 1997. Silvopastoral use of Argentine Patagonian forest. In: Newman SM (Ed.). *Temperate agroforestry systems* 237-250.
- Sondergaard P. 1997. Experiences with *Nothofagus* in west Noeway and East Denmark. *Dansk Dendrologsk Arsskrift* 15: 61-94.
- Southwood TRE, Brown VK & PM Reader. 1986. Leaf palatability, life expectancy and herbivore damage. *Oecologia* 70:544-548.
- Spagarino C, Martinez Pastur G & PL Peri. 2001. Changes in *Nothofagus pumilio* forest biodiversity during the forest management cycle.1. *Insects. Biodiversity and Conservation* 10: 2077-2092.
- Sparks DL, Page AL, Helmke PA, Loeppert RH, Soltanpour PN, Tabatabai MA, Johnson CT, Sumner ME (1996) *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods. SSSA Book Series Nr. 5. SSSA, ASA, Madison, Wisconsin, E:U.U*
- Stadler T, Buteler M & DK Weaver. 2010. Nanoinsecticidas: nuevas perspectivas para el control de plagas. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 69(3-4):149-156.
- Staelens J, Ameloot N, Almonacid L, Padilla E, Boeckx P, Huygens D, Verheyen K, Oyarzun C & R Godoy. 2011. Litterfall, litter decompositions and nitrogen mineralization in old-growth evergreen and secondary deciduous *Nothofagus* forests in South- central Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 84: 125-141.
- Subramanyam B & R Roesli. 2000. Inert dusts. 321-379 In: Subramanyam B & DW Hagstrum (eds.). *Alternatives to Pesticides in stored-product IMP*. Kluwer Academic Publishers, Boston, Massachusetts.
- Suwarno, Che Salmah MR, Ali A & AA Hassan. 2010. Oviposition preference and nutritional indices of *Papilio polytes* L. (Papilionidae) larvae on four rutaceous (Sapindales: Rutaceae) host plants. *Journal of the Lepidopterist Society* 64(4): 203-210.

- Taeger A, Blank SM & AD Liston. 2010. World Catalog of Symphyta (Hymenoptera). *Zootaxa* 2580:1-1064.
- Takane Y. 1980. Maximun likelihood estimation in the generalized case of Turnstone's model of comparative judgment. *Japanese Psychological Research* 22(4): 188-196.
- Thoison O, Sévenet T, Niemeyer HM & GB Russel. 2004. Insect antifeedant compounds from *Nothofagus dombeyi* and *N. pumilio*. *Phytochemistry* 65: 2173-2176.
- Thompson JN. 1988. Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 47:3-14
- Thurstone LL. 1927/1994. A law of comparative judgment. *Psychological Review* 101: 266–270.
- Tsukida K & MR Gupta. 2011. How to analyze paired comparison data. UWEE Technical report. University of Washington, United States. 28pp.
- Valladares G & H Lawton. 1991. Host-plant selection in the holly leaf-miner: Does Mother know best?. *Journal of Animal Ecology* 60: 227-240.
- Van Driesche RG, Hoodle MS & TD Center. 2007. Control de Plagas y Malezas por Enemigos Naturales. Forest Health Technology Enterprise Team. 751pp
- Veblen TT, Donoso C, Kitzberger T & AJ Rebertus. 1996. Ecology of Southern Chilean and Argentinean *Nothofagus* Forests 293-353 cap10. In: The ecology and biogeography of *Nothofagus* forest Veblen TT, Hill RS & J Read (Eds.) Yale University press New Haven and London. 403 pp.
- Vergara O & V Jerez. 2010. Insectos e infestaciones asociadas al follaje de *Nothofagus antarctica* (Forst) Oerst (Nothofagaceae) en la cuenca del río Baker, Región de Aysén, Chile. *Gayana* 74(2): 83-93.
- Viejo Montesinos JL. 1996. Coevolución de plantas e insectos. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* 13: 13-19.
- Visser JH. 1988. Host- Plant finding by insects: orientation, sensory input and search patterns. *Journal of Insect Physiology* 34 (3): 259-268.
- Wainhouse D. 2005. *Ecological Methods in Forest Pest Management*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Ward RT. 1965. Beech (*Nothofagus*) Forest in the Andes of Southwestern Argentina. *American Midland Naturalist* 74(1): 50-56.
- Welch R. 1988. Phytophagous insects on deciduous *Nothofagus* in Chile and Argentina. *Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de Buenos Aires* 4:107-114.
- White TCR. 1984. The abundance of invertebrate herbivores in relation to the availability of nitrogen in stressed food plants. *Oecologia* 63(1): 90-105.
- Wigglesworth VB. 1944. Action of inert dusts on insects. *Nature* 153: 493-494.

Wille A & G Fuentes. 1975. Efecto de la ceniza del Volcán: Irazú (Costa Rica) en algunos insectos. *Revista de Biología Tropical* 3:165-175.

Zangerl AR. 1990. Furanocoumarin induction in wild parsnip: evidence for an induced defense against herbivores. *Ecology* 71: 1926-1932.

ANEXO CAPÍTULO 1. Listado de especies identificadas.

Tabla 1.1. Listado de especies encontradas que se lograron clasificar y registro del hospedador en el que fue hallado. **Hospedadores:** *N.a:* *Nothofagus antarctica*, *N.d:* *N. dombeyi*, *N.o:* *N. obliqua*, *N.n:* *N. nervosa*, *N.p:* *N. pumilio*. **Sitios:** 1-Quilánlahue, 2- Casa de Piedra, 3- vivero INTA EEA-Bche, 4- Camping “La querencia”. **EA:** Estimación de abundancia según Grandon (1996):***: Muy abundante, **: Abundante, *: rara/escasa.

Gremio	Orden y Familia	Hospedador					Sitio				EA
		<i>N.a</i>	<i>N.d</i>	<i>N.o</i>	<i>N.n</i>	<i>N.p</i>	1	2	3	4	
Succionadores											
<i>Ditomotarsus punctiventris</i> Spinola 1852	Hemiptera: Acanthosomatidae	x	x	x	x	x	x	x	x	x	***
<i>Planois gayi</i> Spinola 1852	Hemiptera: Acanthosomatidae		x	x			x			*	
<i>Phorbanta variabilis</i> Signoret 1863	Hemiptera: Acanthosomatidae			x	x		x			*	
<i>Sinopla perpunctatus</i> Signoret 1864	Hemiptera: Acanthosomatidae	x	x	x	x		x		x	***	
Masticadores											
<i>Brachysternus prasinus</i> Guérin 1830	Coleoptera: Scarabaeidae	x		x	x	x	x		x	**	
<i>Hylamorpha elegans</i> Burmeister 1844	Coleoptera: Scarabaeidae			x	x		x		x	**	
<i>Phytholaema mutabilis</i> Solier 1851	Coleoptera: Scarabaeidae			x			x			*	
<i>Polydrusus nothofagii</i> Kushel 1950	Coleoptera: Curculionidae	x		x	x	x	x		x	***	
<i>Polydrusus roseaus</i> Blanchard 1851	Coleoptera: Curculionidae			x	x		x		x	***	
<i>Aegorhinus vitulus</i> Fabricius 1775	Coleoptera: Curculionidae		x	x	x		x	x		*	
<i>Hybreoleptops tuberculifer</i> Boheman 1842	Coleoptera: Curculionidae			x	x	x	x		x	*	
<i>Perzelia arda</i> Clarke 1978	Lepidoptera: Oecophoridae	x		x	x		x		x	***	
<i>Ormiscodes</i> sp.	Lepidoptera:	x		x			x		x	**	

Fabricius 1775		Saturniidae				
Minadores						
<i>Heterobathmia</i> sp Kristensen & Nielsen 1979	Lepidoptera: Heterobathmiidae	x		x		**
<i>Notofenusa surosa</i> Konow 1905	Hymenoptera: Tenthredinidae	x	x	x	x	**
<i>Plesiozela patagónica</i> Karsholt & Kristensen 2003	Lepidoptera: Heliozelidae	x	x	x	x	*
Parasitoide						
<i>Trissolcus teretis</i> Johnson 1987	Hymenoptera: Platygastridae		<i>Ditomotarsus punctiventris</i>	x		**
Sin identificar	Diptera: Tachinidae		<i>Ormiscodes</i> sp.		x	**

Nota: ***Muy abundante cuando encontraba más de 50 ejemplares; **Abundante cuando encontraba entre 15 a 50 ejemplares; *Rara o escasa cuando eran menos de 10).

ANEXO CAPÍTULO 4- CASO DE ESTUDIO 1.

Metodología para el análisis de los sustratos.

La caracterización de las muestras de sustrato fue realizada por el Laboratorio de Agua y suelos del INTA EEA Bariloche. En la Tabla 4.1.1 se unificaron datos que fueron presentados en la tesis de grado de Enriquez (2008) y datos nuevos obtenidos para esta tesis. A continuación describo la metodología llevada a cabo:

En cada sitio de muestreo se seleccionaron tres muestras compuestas triples (es decir un total de nueve sub-muestras por sitio). Las muestras se colectaron a una profundidad de 10 cm, luego fueron secadas naturalmente y tamizadas para limpiar la muestra de rocas grandes. Asimismo la ceniza volcánica también fue tamizada y clasificada en dos categorías de acuerdo al tamaño de las partículas: ceniza gruesa $\geq 500 \mu\text{m}$ y ceniza fina $< 500 \mu\text{m}$. La granulometría se determinó según el sistema internacional Attemberg para la clasificación de suelos, la cual establece que si la partícula es mayor a 0,5 mm se clasifica como arena gruesa mientras que si es menor se clasifica como arena fina. Posteriormente, se unificaron las sub-muestras (tanto de suelo como de ceniza) y se utilizó un tamiz de 2mm para obtener una muestra adecuada para medir el pH y conductividad eléctrica. Luego, se tamizó nuevamente con una malla de 0,5 mm para obtener una muestra de menor granulometría que permitiera medir la concentración de materia orgánica por el método de Walkley & Black (Sparks *et al.* 1996).

Para todos los sustratos se determinó la capacidad de campo de acuerdo a la metodología de Black y colaboradores (1965) y la porosidad aparente mediante la técnica del cilindro biselado. Se introduce el cilindro en forma horizontal en la porción del suelo que se desea muestrear, con precaución de introducir completamente el cilindro y hacerlo en forma que se distorba lo menos posible la muestra. Luego se retira el cilindro y se enrasan sus bordes, se coloca el contenido en una bolsa y se cierra para evitar la pérdida de humedad. Se seca la muestra a 105°C durante 24-36 hs, se deja enfriar y se pesa. También se mide el volumen del cilindro (10cm de altura y 3,75cm de diámetro). Siendo la densidad aparente la relación entre el peso del suelo seco/ volumen de la muestra original.

ANEXO CAPÍTULO 4- CASO DE ESTUDIO 3.

Análisis foliares.

Se pesó un gramo de muestra (hojas secadas y molidas con molinillo) con una balanza analítica con una precisión de 0,0004 gr. Para la determinación de materia seca y materia orgánica se usó la misma muestra, luego otra muestra similar se utilizó para la determinación de hemi-celulosa y lignina. Mientras que para la determinación de proteína el peso de la muestra era de 0,2 gramos. Todas las determinaciones se hicieron por duplicado.

Para las determinaciones de celulosa, hemi-celulosa y lignina se hicieron siguiendo el Método detergente de Göering & van Söest (1970), la proteína cruda se estimó a través de la determinación de Nitrógeno total según el método de Kjeldhal y obteniendo el valor de proteína aplicando (% Nitrógeno total x 6,25). La materia seca se determinó mediante el secado de las muestras en estufa a 105°C hasta peso constante, mientras que los datos de la materia orgánica se obtuvieron calcinando las muestras en mufla a 550°C durante 8 horas y pesando el residuo como ceniza, % Materia orgánica = 100 - % cenizas. La estimación de los carbohidratos no estructurales (CNE), se hizo con el residuo de la determinación de fibra no digerible usado para celulosa y asumiendo que la porción soluble que no se recupera está compuesta por la fracción de CNE. En cuanto a digestibilidad aparente (DA), la misma surge de la aplicación de la Ecuación Sumativa de Göering & van Söest (1970) para estimar la digestibilidad de la materia seca.

Tabla A- 4.3.1 Características de palatabilidad y digestibilidad para los individuos de *Nothofagus* utilizados en los experimentos.

Árbol N°	Lignina	Hemi- celulosa	Celulosa	P. Bruta*	%Materia Seca	%Materia Orgánica	CNE	DA
1No	9,4	19,3	15,5	14,7	93,8	90,9	55,8	54,3
2Na	13,6	19,2	12,5	12,6	92,1	92,0	54,7	49,5
3No	9,8	20,1	14,4	16,1	94,2	90,9	55,8	53,4
4Nn	13,4	24,3	22,6	14,8	---	---	39,8	43,3
5Nn	10,9	22,6	19,5	15,9	94,3	93,6	47,0	48,9
6Nn	13,3	26,7	21,9	16,2	94,3	94,2	38,2	41,9

7No	10,6	27,4	16,4	17,4	94,3	89,7	45,6	46,6
8No	10,7	27,4	18,0	15,8	92,6	93,7	43,9	46,2
10Nn	12,6	23,0	22,4	14,3	93,9	90,5	42,0	45,4
11Nn	13,5	21,6	20,0	13,5	94,0	92,5	44,9	45,7
12Nn	12,3	20,8	18,9	12,4	94,7	89,8	48,1	48,2
13No	12,5	16,6	16,4	12,3	93,9	87,3	54,6	51,8
14No	9,9	18,7	15,5	11,3	93,3	91,6	56,0	53,9
15Nn	15,5	20,4	21,4	10,7	93,7	94,7	42,7	43,4
16Nn	13,3	20,4	18,6	13,9	92,2	94,7	47,7	47,2
17Nn	12,4	22,1	18,8	12,6	93,1	96,0	46,7	47,2
18No	10,7	21,1	15,4	12,3	94,4	95,2	52,7	51,1
19Nn	12,0	21,7	17,3	11,9	95,1	94,8	49,1	48,4
20No	13,2	22,9	19,9	15,6	94,4	92,5	44,0	45,2
21No	11,4	19,4	17,2	15,7	93,7	91,9	52,1	51,0
22Np	9,7	14,6	13,6	14,4	92,9	92,6	62,1	57,9

Ref. * Proteína bruta (% N*6,25) CNE: Carbohidratos no estructurales DA: Digestibilidad aparente Na: *N. antarctica*; Nn: *N. nervosa*; No: *N. obliqua*; Np: *N. pumilio*.

ANEXO A. IMÁGENES ESTEREOSCÓPICAS EN 3D DE *N. surosa*.

Para poder observarlas usar los anteojos para 3D



Figura A1 Imagen en 3D de la zona frontal de *N. surosa* obtenida mediante MEB. Aumento 55X (Foto Carolina Ayala- CNEA).

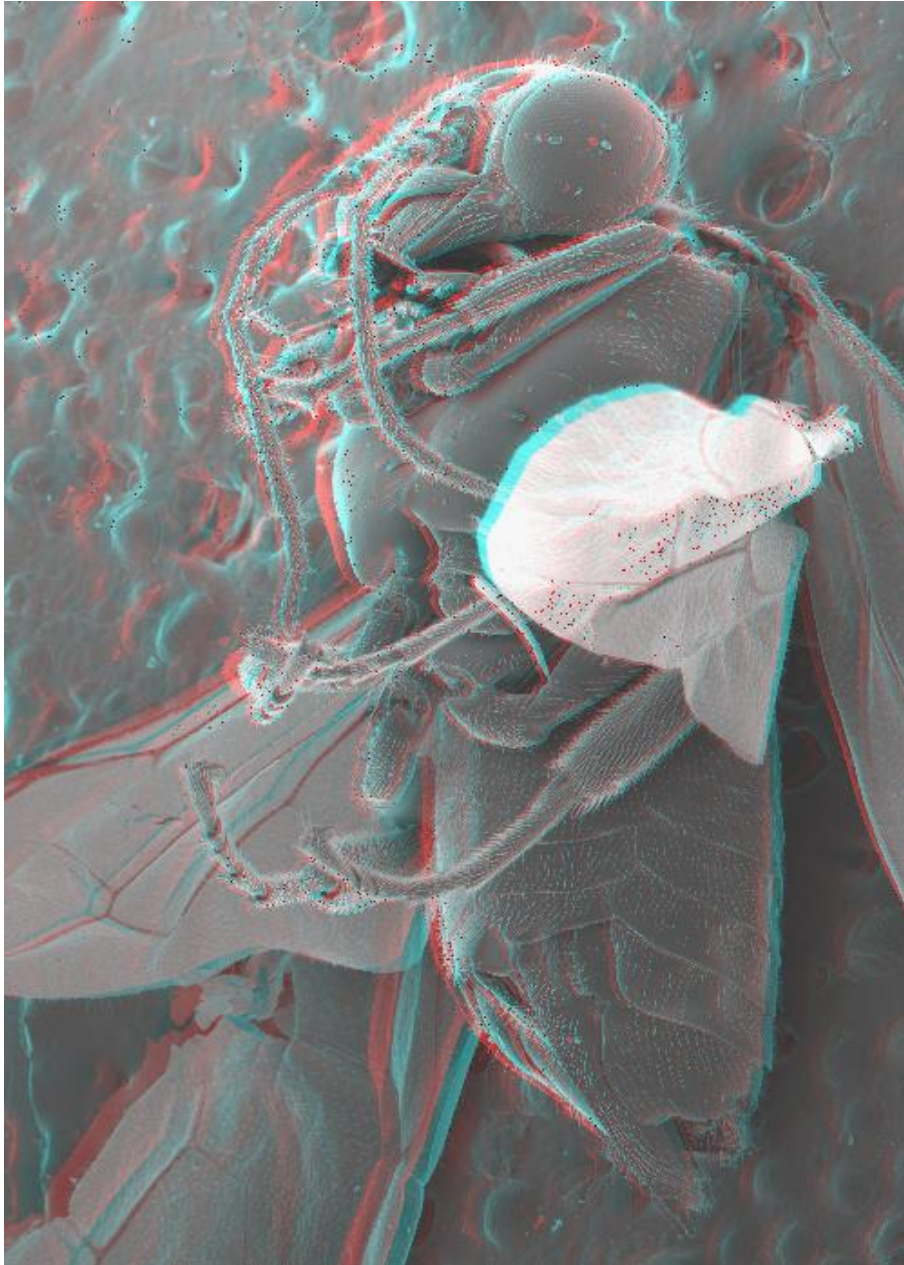


Figura A2 Imagen en 3D del cuerpo entero de *N. surosa* obtenida mediante MEB. Aumento 25,4X (Foto Carolina Ayala- CNEA).

ANEXO B. GENERACIÓN Y SELECCIÓN DE MODELOS.

Para el análisis de datos de los distintos casos de estudio realicé un proceso de generación y selección de modelos. Para cada modelo, establecí una distribución normal con media cero y desviación de 10 para todos los parámetros, dado que no hay información *a priori* de todos los parámetros. En los modelos seleccionados evalué la convergencia mediante gráficos Geweke y realicé una inspección visual de las trazas de cada parámetro.

Todos los análisis los realicé con una versión modificada de la librería PyMC para estimaciones bayesianas (Patil *et al.* 2010), con Python como lenguaje de programación. Durante este proceso, fui desarrollando los nuevos modelos en forma de árbol a partir del modelo nulo, pasando por modelos lineales simples de un parámetro (la preferencia es función lineal de un parámetro), luego por modelos bilineales con dos parámetros (las preferencias son una función lineal en la que se combinan dos parámetros o modelos cuadráticos (las preferencias son una función cuadrática de un solo parámetro) y así continúa aumentando en complejidad según este patrón. En la Figura B1 se presenta un esquema del diagrama de generación de modelos para el Caso de estudio 1 (Capítulo 4, Página 40).

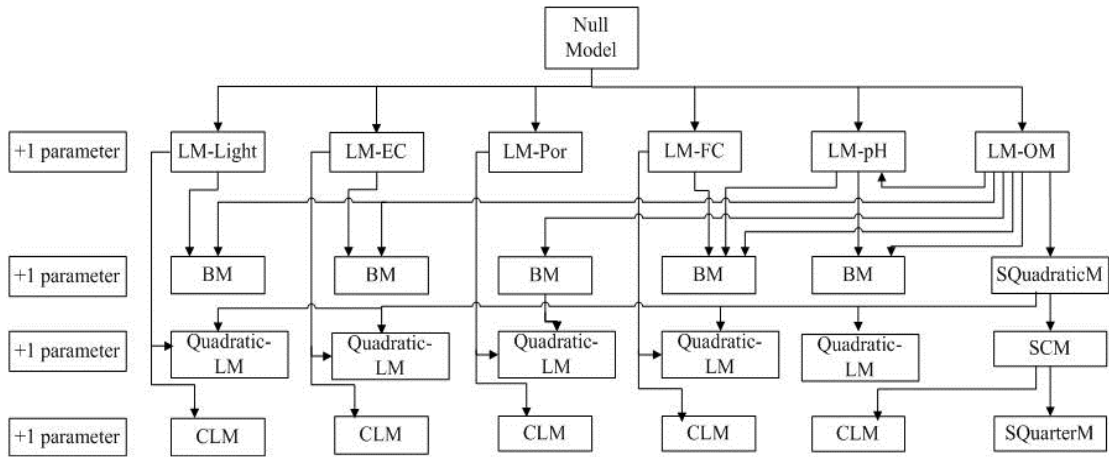


Figura B1. Diagrama del proceso de selección de modelos. En cada nivel se agrega un nuevo parámetro a la función. Se parte de un modelo nulo (solamente preferencias) luego modelos lineales (LM) para cada parámetro estudiado (*e. g.* pH, porosidad, etc.). A partir de ellos se desarrollan modelos bilineales (BM) y modelos cuadráticos simples (SQuadraticM). Posteriormente se generan modelos cuadráticos lineales (Quadratic LM) y modelos cúbicos simples (SCM). El proceso continua con modelos cúbicos lineales (CLM) y modelos simples cuaternarios (SQuarterM).

AGRADECIMIENTOS

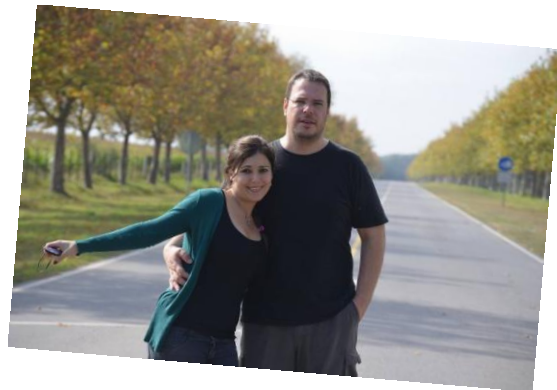
Son muchas las personas que me ayudaron, acompañaron e incentivaron durante estos años.



En primer lugar tengo que agradecer a mi familia (Mamá, Papá, Flor y Matiú) sin ellos nada de esto sería posible.

Gracias por estar día a día a mi lado, ayudándome, escuchándome (aguantándome) y empujándome a seguir adelante.

A mis dires!! Gracias Octavio y Vale, sin ustedes esto tampoco hubiese sido posible!! Gracias por el aguante y por enseñarme a investigar cada día!!



A mis tías, tíos y primos que me acompañan en todo momento y en todas partes!



A mi mejor y gran amiga Kari!!



Gracias nena!!!



A toodos mis amigos, los quiero!



A Emi!! Y Şabri!!
Gracias por siempre estar ahí!! (Vamos Şabri que ya casi terminamos!!!!!!)

También quiero agradecer al INTA EEA Bariloche por dejarme realizar mi proyecto y ayudarme a crecer profesionalmente. Especialmente al Lab. De Suelos, Lab. De Genética y Semillas y Lab. De Ecología de insectos y a cada uno de mis compañeros!!

Quiero agradecer también la colaboración del Med. Vet. Fernando Raffo, Tec. Luis Cohen y a la Dra. Victoria Lantschner (INTA EEA Bariloche) quienes me ayudaron en la realización de los mapas.

También a la Téc. Carolina Ayala (CNEA) por la paciencia y colaboración en la realización de las fotos con MEB.

A los especialistas Bs. Eduardo Faúndez, Dr. David R. Smith, Ing. Agr. Juan Enrique Barriga-Tuñón, Dra. Marta Loíacono y Dra. Cecilia Margaría quienes me ayudaron con la identificación de los insectos.

Al CONICET por creer en este proyecto y financiar mis estudios.

Al CRUB, por permitirme estudiar y enseñarme a descubrir cuál es mi pasión. Especialmente a Patricia, Gustavo y Andrea Premoli gracias!!!

A los jurados que evaluaron mi tesis, el Dr. Alejandro Sosa, el Dr. Enrique Chaneton y el Dr. Juan Paritsis.

A la Asociación de Parques Nacionales, PN Lanín y PN Nahuel Huapi.

A todas esas personas que colaboraron y pusieron su granito de arena en alguna etapa del desarrollo de esta tesis y que seguramente me estoy olvidando de nombrar ;)

A mis grandes amores incondicionales (Micho, Misha, Pipistrela y Mora).



Y finalmente a los principales protagonistas de mi tesis, **LOS INSECTOS!!!**

GRACIAS

Este trabajo doctoral fue financiado por los siguientes proyectos:

-Proyecto Específico INTA PNFOR44321 "Plan de domesticación de especies forestales nativas" a cargo de la Dra. Paula Marchelli.

-Proyecto PROEVO 40-B-185 "Efecto de las cenizas volcánicas procedentes de la erupción del complejo Puyehue-cordón cauile, sobre el desarrollo y sobrevivencia de los insectos plagas" a cargo de la Dra. Valeria Fernández Arhex

-PICT-2010-2508 "Evaluación de dieta, daño, y dinámica poblacional de insectos herbívoros sobre las plantaciones de forestales nativas en el NO de la Patagonia" a cargo del Dr. Octavio Bruzzone.

-PIP 11220100100266 "Evaluación de riesgo de especies de insectos herbívoros sobre las plantaciones de forestales nativas en el NO de la Patagonia" Dr. Octavio Bruzzone.

-Beca doctoral tipo 1 y tipo 2 otorgada por CONICET a la Lic. Ana Laura Pietrantuono.