

Dinámica temporal de *Epormenis cestri* Berg (Hemiptera: Flatidae) y su asociación con los componentes del paisaje del Litoral entrerriano

CAVIGLIASSO, Pablo^{1*}; MESSINA, Natalia²; BARRETO, Carolina G.³; ROMAN, Lilian²; BULACIO CAGNOLO, Natalia V.⁴ & RODRIGUEZ, Graciela A.⁵

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Concordia. Estación Yuquerí y vías del Ferrocarril s/n, Concordia, Entre Ríos, Argentina.

² Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Agencia de Extensión Agropecuaria Concordia. Estación Yuquerí y vías del Ferrocarril s/n, Concordia, Entre Ríos, Argentina. messina.natalia@inta.gob.ar; roman.lilian@inta.gob.ar

³ Universidad Nacional del Litoral, Licenciatura en Biodiversidad. Investigadora independiente. carolina_barreto96@hotmail.com

⁴ Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (INTA-CONICET). Ruta 34, Km 227, Rafaela, Santa Fe, Argentina. bulacio.natalia@inta.gob.ar

⁵ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Hilario Ascasubi. Ruta Nacional N° 3, Km 794, Buenos Aires, Argentina. rodriguez.graciela@inta.gob.ar

* E-mail: cavigliasso.pablo@inta.gob.ar

Recibido 09 - XI - 2021 | Aceptado 22 - II - 2022 | Publicado 31 - III - 2022

<https://doi.org/10.25085/rsea.810104>

Temporal dynamics of *Epormenis cestri* Berg (Hemiptera: Flatidae) and its association with the landscape components of the Entre Rios Littoral

ABSTRACT. The condition called "river disease" (MDR by its acronym in Spanish) is an intoxication in immature stages of honey bees caused by a compound from the genus *Sebastiania* Spreng and concentrated in the exudates of *Epormenis cestri* Berg. Our objective was to determine the temporal dynamics of the life cycle of *E. cestri*, its association with the predominant vegetation components and the influence of the Uruguay river on the size of its populations. With this aim, we selected 5 sites in the vicinity of the Uruguay river where populations of *E. cestri* were sampled using the Stem-tap technique modified for this purpose. The effect of landscape components on the abundance of *E. cestri* was evaluated using GLMM. It was determined that the hatching of the *E. cestri* eggs was in mid-October, finding a staggered distribution of its phenophases. In addition, we found significantly negative effects of the Espinal forest cover and the increase in the distance from the banks of the Uruguay river on the total abundance of *E. cestri*. This work shows some first clues for the understanding of how the components of the landscape structure the populations of *E. cestri*, allowing to predict the critical moment of incidence of MDR.

KEYWORDS. Beekeeping. *Epormenis cestri*. River disease. Space-time dynamics.

RESUMEN. La afección denominada "Mal del Río" (MDR) se trata de una intoxicación a las larvas de abejas melíferas originada por un compuesto proveniente del género *Sebastiania* Spreng y concentrados en los exudados de *Epormenis cestri* Berg. Nuestro objetivo fue determinar la dinámica temporal del ciclo de vida de *E. cestri*, su asociación con los componentes de la vegetación predominante y la influencia del río Uruguay sobre el tamaño de sus poblaciones. Para esto seleccionamos 5 sitios en las cercanías del río Uruguay donde se muestrearon poblaciones de *E. cestri* mediante la técnica Stem-tap modificada para tal fin. Se evaluó el efecto de los componentes del paisaje sobre la abundancia de *E. cestri* utilizando GLMMs. Como resultados, se

determinó que la eclosión de los huevos de *E. cestri* fue a mediados de octubre, encontrando una distribución escalonada de sus fenofases. Además, encontramos efectos significativamente negativos de la cobertura del bosque espinal y del aumento de la distancia desde las márgenes del río Uruguay sobre la abundancia total de *E. cestri*. Este trabajo muestra los primeros indicios para la comprensión de cómo los componentes del paisaje estructuran las poblaciones de *E. cestri*, permitiendo predecir cuándo será el momento crítico de incidencia de MDR.

PALABRAS CLAVE. Apicultura. Dinámica espacio-temporal. *Epormenis cestri*. Mal del Río.

INTRODUCCIÓN

Una de las afecciones que pueden alterar a las colonias de *Apis mellifera*, Linnaeus, se denomina Mal del Río (MDR) o Mal de Santa Lucía. Se trata de un cuadro o síndrome de mortalidad masiva de larvas de 1 día, que lleva a una reducción de la población y, eventualmente, a la muerte de las colmenas por despoblamiento. El MDR, fue mencionado por primera vez en Uruguay en el año 1951, en colonias ubicadas en las riberas del río Santa Lucía. Desde este momento se realizaron reportes esporádicos de esta sintomatología, aunque en los últimos años, su frecuencia de aparición e impacto negativo sobre las poblaciones de abejas melíferas es cada vez mayor en zonas asociadas a los ríos y arroyos importantes de la cuenca del río Uruguay (Mendoza et al., 2012). La sintomatología observada sobre las colmenas afectadas ocurre a finales de la primavera e inicio del verano, siendo posible ver una mortandad importante de larvas y una situación de bloqueo con polen y miel en los cuadros de cría, que de no ser revertida llevan a la muerte de la colonia por despoblamiento (Harriet, 2012). Se han realizado estudios que demuestran que los embriones (huevos), las larvas de más de 2 días y las abejas adultas no se ven afectadas por este síndrome (Invernizzi et al., 2018). Un caso de estudio bien reportado de pérdidas de colmenas por MDR en 6040 colmenas en el periodo 2010-12 en la ciudad de Young (departamento de Rio Negro, Uruguay) calculó una disminución de la rentabilidad promedio por colmena de US\$ 19,90 debido a la disminución de la producción y el aumento de los insumos para su supervivencia (Haller et al., 2014).

A partir de 2012, en Uruguay se ha comenzado a realizar el seguimiento del MDR logrando avances en el diagnóstico del cuadro clínico en forma temprana en condiciones de campo (Nogueira et

al., 2014), así como la detección de cuadros subclínicos (Nogueira et al., 2016b). El manejo recomendado frente a casos de MDR es el traslado temprano de las colmenas a sitios donde no se presente la sintomatología (Maggi et al., 2016). Dicho traslado no resulta efectivo si se realiza en forma tardía (Juri et al., 2016a) e incluso puede llevar a transmitir el MDR a colonias sanas, que ya estaban en los campos seguros, mediante el pillaje por parte de éstas a las colmenas con MDR trasladadas (Nogueira et al., 2016a).

La marcada estacionalidad del síndrome y el hecho de que las colonias que eran trasladadas en las etapas iniciales del cuadro clínico se recuperaban espontáneamente, sugería que se trataba de una intoxicación por alguno de los recursos que las abejas estaban explotando en la vegetación asociada a los cursos de agua (Invernizzi et al., 2018). Recientemente se confirmó que el MDR se trata de una intoxicación originada por un compuesto proveniente de especies del género *Sebastiania* Spreng (Xantoxilina, ver Rossini et al., 2021) y concentrados en los melatos secretados por una chicharra de la familia Flatidae. En estudios posteriores se determinó que el organismo que generaba estos exudados era *Epormenis cestri* Berg en asociación a árboles de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg o "Sarandí negro" (Invernizzi et al., 2018).

En los últimos años este mismo cuadro se ha visto asociado a zonas aledañas al cauce del río Uruguay, tanto del lado uruguayo como argentino, ampliando el impacto de este síndrome. Dadas las sintomatologías tan particulares, el desconocimiento de los factores ambientales que regulan sus poblaciones y siendo el único manejo sugerido el traslado de las colonias afectadas a sitios seguros (Juri et al., 2016b; Nogueira et al., 2021a), es necesario un diagnóstico temprano y la

identificación de áreas de contingencia para el movimiento de las colmenas afectadas. El objetivo de este trabajo fue determinar la dinámica temporal del ciclo de vida de *E. cestri*, su asociación con los componentes predominantes dentro del paisaje y la influencia del río Uruguay sobre el tamaño de sus poblaciones. De este modo, se podrá determinar el momento en el cual las abejas comienzan a colectar los melatos generados por *E. cestri*, los ambientes que presentan mayor predisposición a tener incidencia por el síndrome de MDR y si la cercanía al río Uruguay es un determinante para su presencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para abordar este estudio, se trabajó en 5 sitios dentro de los cuales se tenía registro de la ocurrencia de este síndrome en apiarios productivos años anteriores. Cada sitio se delimitó en torno a una transecta de ~ 250 m, la cual constaba de un punto de muestreo (árbol de Sarandí) cada ~ 60 m (4 puntos/transecta). Las transectas fueron ubicadas de forma transversal al cauce del río Uruguay en la medida de lo posible. De esta forma, el centroide del polígono que define a cada sitio en particular se ubica a la mitad de cada una de las transectas.

Los sitios se encuentran distribuidos a lo largo de la costa del Río Uruguay correspondiente a la provincia de Entre Ríos (Argentina), con una separación promedio de, en media (\pm SD), $14,57 \pm 10,66$ km, desde la ciudad de Concordia ($31^{\circ}17'32.43''S$ - $57^{\circ}57'35.70''O$) hasta las proximidades de la ciudad de Ubajay ($31^{\circ}45'55.20''S$ - $58^{\circ}3'21.44''O$) (Fig. 1).

Zona de estudio. Esta zona se halla inmersa dentro de la provincia Fitogeográfica del Espinal, donde existe la influencia de tres comunidades botánicas diferentes (Oyarzabal et al., 2018): a) La “selva en galería”, considerada mayormente una extensión de otras formaciones vegetales que por razones de dinámica fluvial y microclima se expanden por fuera de los límites de otras selvas de mayor extensión, está compuesta por “tacuarales” (*Guadua* spp. Kunth; *Chusquea* spp. Kunth; *Merostachys* spp.

Spreng), palmeras “Pindó” (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman), “Lapacho rosado” (*Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl.), “Pacará” (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong), “Guatambú blanco” (*Balfourodendron riedelianum* (Engl.) Engl.), “Laurel negro” (*Nectandra saligna* Nees & Mart), “Laurel del río” (*Nectandra falcifolia* Nees J.A. Castigl. ex Mart.Crov. & Piccinini), “Sarandí negro” (*Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg), “Chalchal” (*Allophylus edulis* (A.St.-Hil.) Radlk. ex Warm.), “Ibapoy o higuerón” (*Ficus monckii* Hassl.) y “Fumo bravo” (*Solanum granuloso-leprosum* Michel Félix Dunal) entre otros; b) El “bosque xerófito abierto” o bosque espinal de *Prosopis affinis* Spreng y *Vachellia caven* (Molina) Seigler & Ebinger, ocupando llanuras planas y lomas bajas. Las especies acompañantes son *Aspidosperma quebracho-blanco* Schltr.; *Celtis ehrenbergiana* Gillies ex Planch. y *Prosopis nigra* Griseb., y puede ser abundante la palmera *Trithrinax campestris* (Burmeist.) Drude & Griseb.; c) La “sabana abierta” con gramíneas megatérmicas o mesotérmicas e individuos de *Prosopis affinis* o *Vachellia caven*. Diferenciándose la sabana con gramíneas megatérmicas (*Andropogon lateralis* Ness.) en colinas del norte, y la de gramíneas mesotérmicas (*Nassella* spp. E. Desv.) sobre lomas altas del sur.

Eclosión de *Epormenis cestri*. Para conocer el momento aproximado de eclosión de los huevos de *E. cestri* sobre árboles de “Sarandí negro” (*Sebastiania schottiana*) en cercanías a la ciudad de Concordia, se procedió de la siguiente manera. En primer lugar, en el campo se identificó un árbol de Sarandí que durante el 2019 había sido portador de los diferentes estadios de *E. cestri*. Luego, este árbol fue removido y trasplantado a finales de septiembre del 2020 en el predio experimental de la EEA Concordia de INTA para realizar un seguimiento detallado. El mismo fue excluido dentro de una jaula de 1x1x1,5 m para afirmar que los nacimientos observados sean propios de posturas encontradas sobre la planta trasplantado. Se revisó diariamente este árbol en busca de las posturas de huevos y hasta el nacimiento de ninfas del primer estadio.

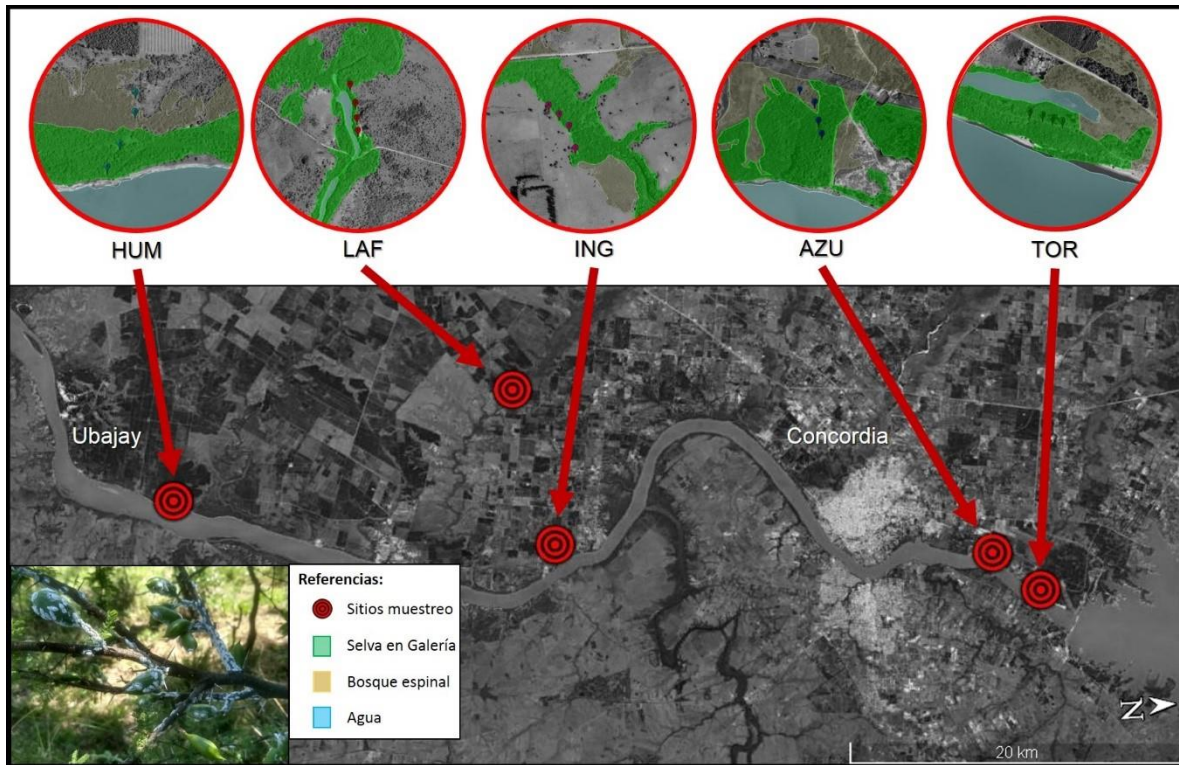


Fig. 1. Distribución espacial de los sitios bajo estudio. Se detalla en el apartado superior el ID de cada uno de los sitios ordenados, de izquierda a derecha, por su distribución latitudinal y la caracterización de los principales componentes del paisaje. En el vértice inferior izquierdo se incluye una imagen donde se observa un conglomerado de individuos de *Epormenis cestri*.

Ciclo de vida de *Epormenis cestri*. Para determinar las características del ciclo de vida de este organismo, la distribución temporal de sus estadios y la dinámica temporal de su ciclo en función de la latitud donde se registraron los datos, se realizaron muestreos de individuos en diferentes estadios mediante una modificación de la técnica “Stem-tap” (Golpeteo de ramas).

En cada uno de los 4 puntos de muestreo, correspondientes a cada sitio, se realizaron tres colectas de individuos de *E. cestris* mediante bandejas de 0,143 m² (31x46x6 cm), sumando una superficie total de 0,43 m², tras cinco golpes en la vegetación (técnica Stem-tap modificada). La suma de las tres recolecciones conformó una única muestra. Las bandejas contenían un volumen mínimo de agua con detergente para facilitar la recolección e impedir el escape de los individuos

debido a la gran facilidad de salto que presentan todos los estadios de su ciclo de vida. Esta metodología fue replicada cada 15 días, en la medida de las posibilidades, en cada uno de los sitios de estudio desde la segunda semana de octubre de 2020 hasta la segunda semana de febrero de 2021. En total fueron 9 periodos de muestreo.

El material colectado fue contabilizado e identificando en cinco diferentes estadios ninfales (N) además del estadio adulto (A). Esto se realizó basándonos en metodologías de estudios hechos en otras especies de la familia Flatidae (Wilson & Mc Pherson, 1981; de Oliveira & Frizzas, 2015) y teniendo en cuenta las observaciones del ciclo de vida de *E. cestri* detalladas en el trabajo de Santos & Invernizzi (2020). Todas las muestras fueron

resguardadas en la Estación Experimental Agropecuaria Concordia del INTA.

Interacción de *Epormenis cestri* con el ambiente. Para determinar el efecto de los componentes predominantes del paisaje sobre la abundancia de individuos de *E. cestri*, se clasificó la cobertura vegetal del área incluida dentro de un polígono circular de 500 m de radio desde el centroide determinado para cada uno de los cinco sitios seleccionados. Esta tarea se realizó utilizando la opción "Google Satélite" de la herramienta "OpenLayers plugin" de QGIS Essen 2.14.3 (QGIS Development Team, 2016), con una proyección WGS / Pseudo Mercator (EPSG: 3857).

En primer lugar, para explorar la influencia del paisaje sobre la abundancia de *E. cestri*, cada polígono fue clasificado en cuatro ambientes a los cuales se les cuantificó su porcentaje de cobertura: Agua, Área ocupada por cuerpos de agua pertenecientes a ríos o arroyos de gran caudal (principalmente el Río Uruguay); Selva en galería, área ocupada con vegetación correspondiente a la comunidad botánica "a" (sección 2.1); Bosque espinal, área ocupada con vegetación correspondiente a la comunidad botánica "b" (sección 2.1); Sabana: área ocupada con vegetación correspondiente a la comunidad "c" (sección 2.1).

En segundo lugar, para determinar la influencia de Río Uruguay sobre la abundancia de *E. cestri* se determinó la distancia de cada uno de los puntos de muestreos (20 puntos en total) a la costa más cercana del río Uruguay. De esta forma se relacionó la abundancia absoluta observada de *E. cestri* en cada punto de muestreo en función de su distancia al cauce del río.

Para evaluar estas relaciones se utilizaron Modelos Generalizados Lineales Mixtos (GLMMs por sus siglas en inglés; Zuur et al., 2013). Se modeló la abundancia de *E. cestri* (variable respuesta - VR) en función al porcentaje de cobertura de los ambientes dominantes que componen el paisaje y a la distancia del punto de muestreo en relación a la posición del Río Uruguay (Factores Fijos - FF). Las "réplicas espaciales (sitios)", los "puntos de muestreo (SW)" y la "fecha

cuando se tomó la muestra (SP)" se agregaron como factores aleatorios dentro de los modelos, SW y SP anidados dentro de cada sitio. El modelo general fue $VR \sim FF + (1 | \text{Sitio} / SW / SP)$ con una distribución del error tipo poisson en todos los casos. Para la selección de la mejor estructura de los GLMMs, se partió del modelo con la estructura más simple a la más compleja y lógica posible agregando factores aleatorios. Se utilizó el criterio de Akaike (AIC) para seleccionar el modelo que mejor representa nuestra variabilidad, eligiendo el modelo no nulo con el valor de AIC más bajo (Bates et al., 2014; 2015; ver Tabla S1).

Todos los cálculos se realizaron utilizando el software estadístico R (versión 4.1.2; R Development Core Team, 2013). Se empleó la función *glm*, *glmer* y *glmer.nb* del paquete "*lme4*" versión 1.1-27.1 para determinar la significancia de los modelos. Para los gráficos se utilizó la función *ggpredict* del paquete "*ggeffects*" versión 1.1.1 (Lüdtke, 2018) y las herramientas gráficas del paquete "*ggplot2*" versión 3.3.5.

RESULTADOS

Durante todo el periodo del estudio se realizaron 150 muestreos, en los cuales se colectó un total de 7688 individuos de *E. cestri* en los diferentes estadios de su ciclo de vida.

Se determinó que la fecha aproximada de eclosión de los huevos de *E. cestri* en las proximidades de la ciudad de Concordia, Entre Ríos, fue el 12 de octubre en la temporada 2020-21, encontrando una distribución escalonada de las fenofases de su ciclo de vida durante el periodo de muestreo (Tabla I). Se observa la mayor concentración de los estadios ninfales durante mediados de octubre y finales de diciembre.

En relación a la abundancia absoluta de los individuos de *E. cestri*, se observó que en el primer periodo de muestreo la abundancia absoluta promedio en N1 fue, en media \pm EE, de $262 \pm 270,62$, con picos máximos de 517 individuos / muestra; encontrando para febrero solo $14 \pm 3,07$ adultos / muestra.

Tabla I. Distribución temporal de la abundancia relativa promedio para los diferentes estadios del ciclo de vida de *Epormenis cestri* en la costa entrerriana del Río Uruguay.

Periodo de muestreo	N1	N2	N3	N4	N5	A
3° Oct	89,94 ± 23,41	5,06 ± 10,05				
1° Nov	37,97 ± 19,85	57,49 ± 18,25	4,54 ± 7,24			
3° Nov	1,83 ± 3,23	11,00 ± 22,13	27,61 ± 13,71	40,65 ± 21,69	13,88 ± 10,57	0,03 ± 0,13
1° Dic	0,03 ± 0,14	0,63 ± 1,23	9,84 ± 11,53	14,11 ± 12,32	68,01 ± 23,57	2,38 ± 2,53
3° Dic			1,19 ± 3,22	4,93 ± 6,77	48,84 ± 30,53	25,04 ± 25,14
4° Dic				2,30 ± 5,06	35,31 ± 33,37	37,40 ± 35,01
2° Ene					1,39 ± 3,40	98,61 ± 3,40
4° Ene					5,09 ± 13,29	94,91 ± 13,29
2° Feb						100

Se detalla el valor relativo, en media ± EE, de los estadios ninfales, definidos como N (del 1-5), y los adultos (A) en función de los 9 periodos de muestreo.

Se identificó que el periodo de mayor concentración de ninfas, estadios que generan mielatos, se distribuyó dentro de los meses de noviembre y la 3° semana de diciembre, acumulando el 71,41% de la abundancia total de los

estadios ninfales (N1-5). A través de las abundancias observadas de los últimos estadios (N5-A), se determinó una tasa de recambio de los estadios ninfales a los estadios reproductivos de solo el 38,19% del total (Fig. 2).

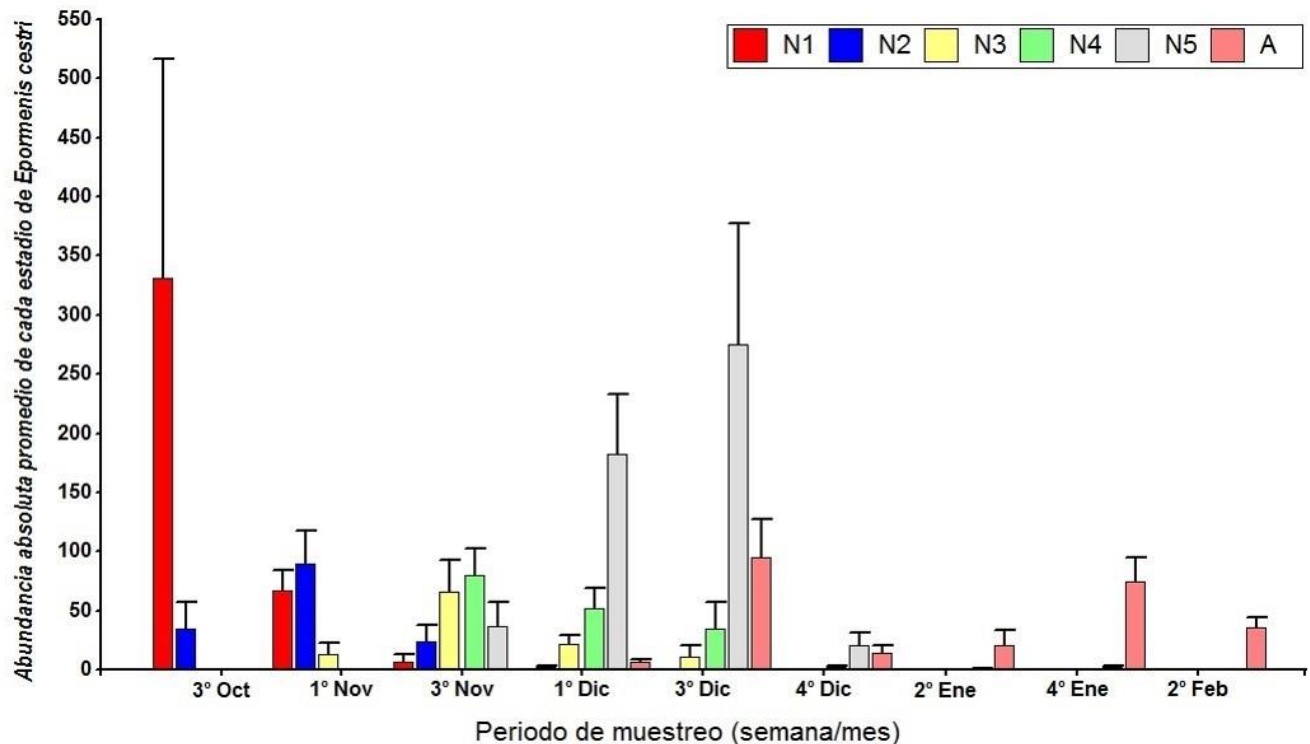


Fig. 2. Dinámica temporal de la abundancia de *Epormenis cestri*. Abundancia absoluta de los diferentes estadios de *E. cestri* a lo largo de los periodos de muestreo. Se denotan en diferentes colores los estadios de su ciclo de vida y el desvío estándar asociado en cada uno de los casos.

Con respecto a la distribución latitudinal de la especie, se observó que el nacimiento y las diferentes fenofases del ciclo de vida de *E. cestri*

ocurre antes a menor latitud (orientación cardinal norte) y se va a extendiendo con el tiempo a mayores latitudes (orientación cardinal sur).

Además, si se compara lo observado en los sitios con latitudes extremas (TOR vs. HUM), se pudo ver que el ciclo de vida de *E. cestri* se concentra en el tiempo a medida que nos movemos a menores latitudes (Fig. 3).

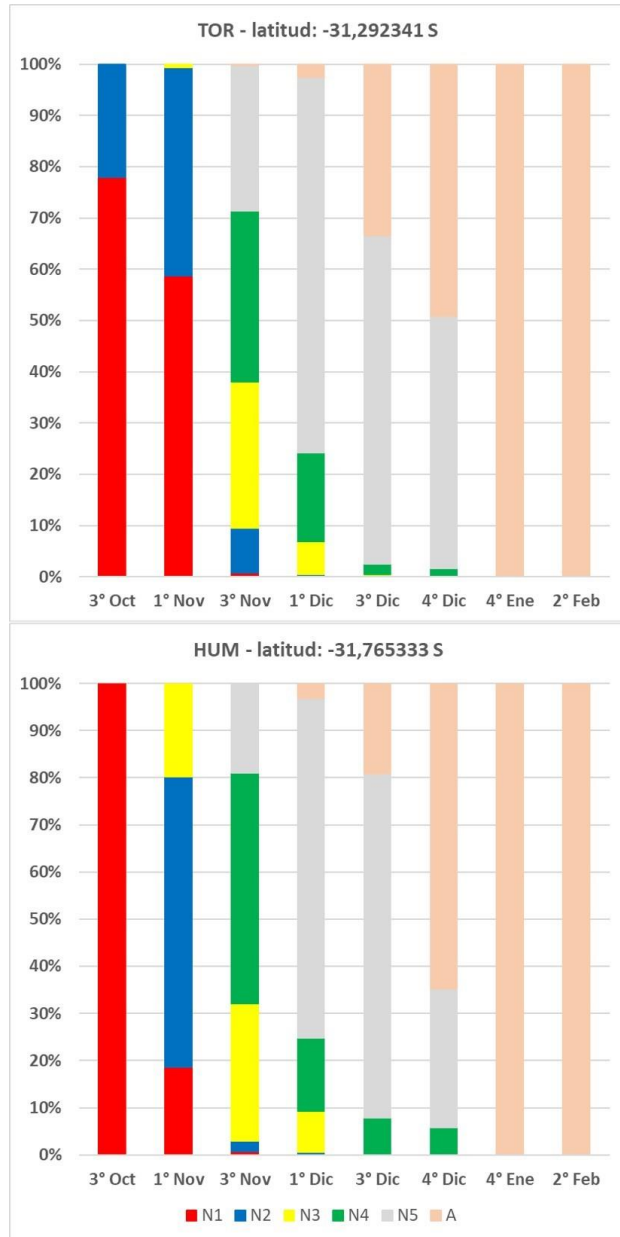


Fig. 3. Distribución relativa de las fenofases en poblaciones de *Epormenis cestri* a lo largo de un gradiente latitudinal. Se denota sobre cada una de graficas el ID de cada sitio de muestreo asociado con su ubicación espacial (latitud).

Se pudo observar que durante la tercera semana de octubre en el sitio extremo norte (TOR) el 81,81 \pm 16,92 % (media \pm SD) de los individuos estaban en el estadio N1 mientras que al mismo momento en el extremo sur (HUM) el 100 % de los individuos se

encontraban en este estadio, aunque al llegar a la cuarta semana de diciembre los adultos colectados en estos mismos sitios representaban el 47,25 (\pm 15,10) y 53,33 (\pm 19,44) % respectivamente. Esta información nos da la idea de que, aunque el nacimiento de esta especie comenzó aproximadamente una semana antes en el extremo norte, alcanza la adultez en ambos extremos latitudinales prácticamente al mismo tiempo.

Al evaluar el efecto de los diferentes componentes del paisaje sobre las poblaciones de *E. cestri*, se pudo determinar que el aumento de la cobertura de bosque espinal en torno a los puntos de muestreo tiene un negativo efecto significativo sobre la abundancia total de *E. cestri* y que a mayor cobertura con cuerpos de agua su abundancia tiende a crecer (Tabla II). Además, al analizar cómo la distancia desde las márgenes del Río Uruguay a los puntos de muestreo influye en el tamaño de las poblaciones de *E. cestri* observamos que su abundancia total disminuye significativamente a medida que nos alejamos de éste (Tabla II, Fig. 4).

DISCUSIÓN

El ciclo de vida de *E. cestri* tiene una duración de aproximadamente 6 meses con una generación por año, similar a otras especies de Flatidae (Wilson & McPherson, 1981; Oliveira & Frizzas, 2015). La etapa con mayor abundancia de ninfas, estadios que producen las secreciones de mielatos que generan la sintomatología de MDR, se concentra entre los meses de noviembre y diciembre coincidiendo con lo reportado por Santos & Invernizzi (2020) para esta especie en Uruguay, aunque su presencia se extiende hasta febrero (Nogueira et al., 2021b). Este patrón puede estar relacionado con el hecho de que, durante esta época, la mayoría de las plantas pasan por una fase de intenso crecimiento vegetativo con la aparición de hojas y ramas jóvenes (Morais & Diniz, 2004; de Oliveira & Frizzas, 2008); estas ramas jóvenes son los sitios de oviposición preferidos de *E. cestri*. Al igual que lo observado para otros hemípteros (Silva et al., 2011), la dinámica poblacional de *E. cestri* estuvo relacionada con la temperatura, lo que sugiere que su aumento a comienzo de diciembre es un factor importante para la aparición de adultos.

Tabla II. Detalle de los modelos seleccionados para la abundancia total de *Epormenis cestri* en función de los componentes del paisaje.

Función:		Abundancia Total ~ FF + (1 Sitio/SW/SP),		poisson	
FF	β	Estimador	SE	Z	P
Agua	1,943	0,069	0,037	1,864	0,0623
Selva en galería	3,579	-0,041	0,127	-0,328	0,7430
Bosque espinal	4,050	-0,063	0,026	-2,428	0,0152
Sabana	2,615	0,006	0,034	0,164	0,8694
Distancia al R.U (m)	3,440	< 0,0001	< 0,0001	-8.021	< 0,0001

El porcentaje de cobertura de cada categoría del paisaje seleccionada y la distancia al Río Uruguay (R.U.) fueron los factores fijos (FF) para representar la composición del paisaje. Se incluyó a las variables "Sitio", "punto de muestreo (SW)" y "fecha de muestreo (SP)" como factores aleatorios. Se reportan todos los factores aun con valores de $P > 0,1$. Se detalla la función general con su distribución del error y el intercepto (β), estimador, error estándar (EE), valor del estadístico Z y el valor P extraídos de cada modelo particular. Se resaltan en *itálica y negrita* a los modelos con factores individuales que presentan efectos significativos.

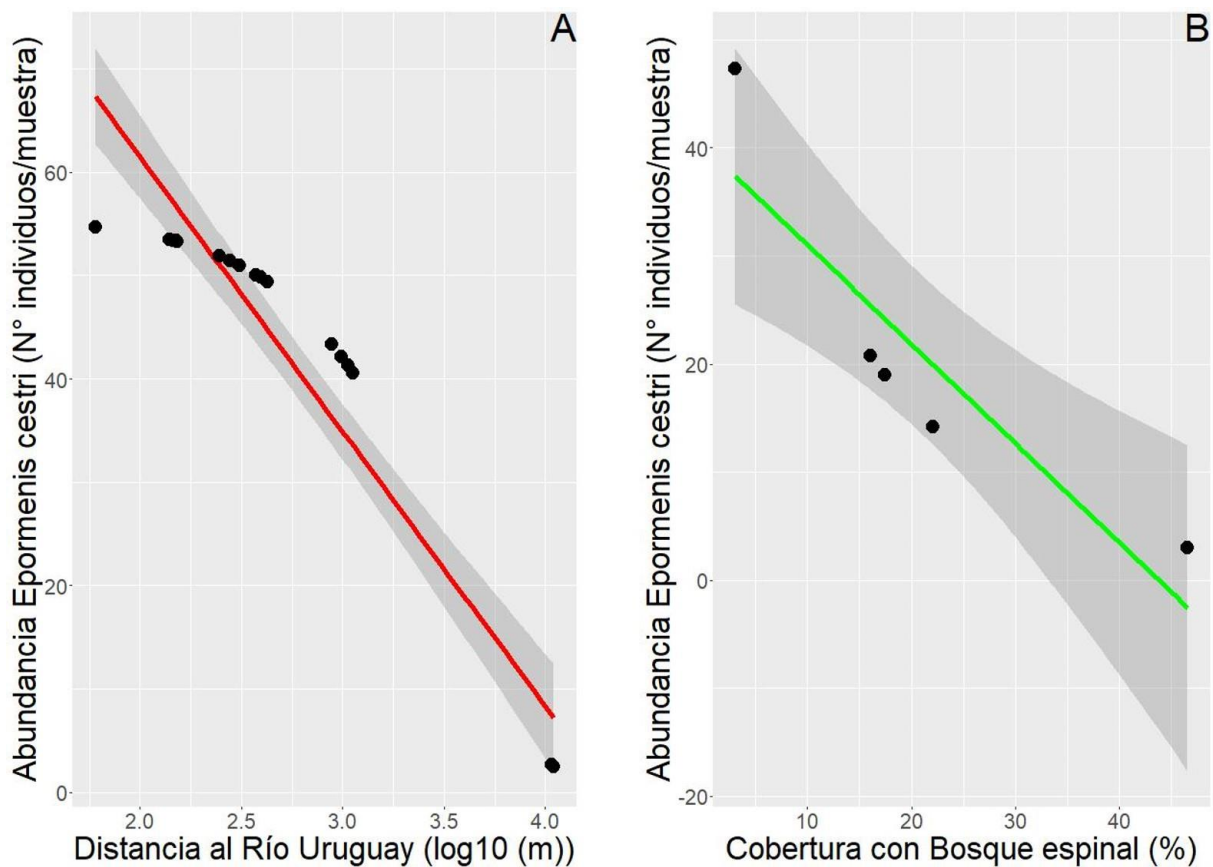


Fig. 4. Abundancia total de *Epormenis cestri* en función de A) la distancia (m) a las márgenes del Río Uruguay y B) la cobertura con bosque Espinal. Las líneas representan los efectos lineales ajustados mediante GLMM, las bandas grises representan los intervalos de confianza del 95 % y los datos estimados se muestran mediante puntos.

El pico de abundancia de los adultos se concentra en enero, momento en el cual ya se observa un ~95% de representación de este estadio en la población general.

El período de incubación de *E. cestri* alcanzó un máximo de 7 meses, lo que sugiere que los huevos están en diapausa durante la época invernal. La

diapausa de la fase huevo se puede observar en especies neárticas de Flatidae (Ej. *Metcalfa pruinosa*, Say; *Anormenis septentrionalis*, Spiniola y *Ormenoides venusta*, Melichar) como mecanismo de supervivencia durante el invierno (Dean & Bailey, 1961; Wilson & McPherson, 1981; Lauterer & Malenovský, 2002).

La dinámica del ciclo de vida de *E. cestri* en relación a la latitud, mostró una precocidad en la eclosión de los huevos de las poblaciones estudiadas que se encontraban en el sitio extremo norte con respecto al sitio del extremo sur. Aun así, a partir de la primera semana de diciembre, la proporción relativa de la abundancia de cada uno de los estadios ninfales se equiparán alcanzando las etapas adultas al mismo tiempo. En función a estos resultados se hipotetiza que la eclosión de los huevos se da por un acumulado de temperatura en el tiempo (modelos basados en grados día, (ver Damos & Savopoulou-Soultani, 2012; Régnière et al., 2012) lo que se alcanza anticipadamente en ambientes más cálidos, como lo observado en el extremo norte. Esto se ha registrado en otros hemípteros de la misma familia y en otras familias relacionadas taxonómicamente (Flatidae: Lee et al., 2016; Fulgoridae: Liu, 2020; Kreitman et al., 2021; Smyers et al., 2021; Delphacidae: Park et al., 2013). En base a las observaciones realizadas en este estudio, se ha confirmado mediante registros a campo que en la región del Litoral Argentino correspondiente a cercanías de la ciudad de Mocoretá (Corrientes), ubicación a ~170 km del sitio de muestreo del extremo norte (TOR), esta misma especie presenta individuos del estadio N1 desde el 30 septiembre de 2021. Esto corresponde a ~ 12 días antes que lo observado para el sitio identificado como “TOR” para el mismo año (datos no publicados).

La abundancia de *E. cestri* mostró efectos negativos frente a un aumento de la cobertura con vegetación asociada al bosque espinal (Tabla II). Se resalta que, en este tipo de hábitats, generalmente utilizado para el pastoreo de ganado bovino el cual se alimenta de la vegetación nativa, se observa la falta de brotes tiernos por ramoneo en las plantas del género *Sebastiania* spp. Esta característica asociada al uso del suelo particular podría estar generando una disminución de la carga de huevos depositados por *E. cestri* ya que elige esta ubicación para su oviposición. Además, el aumento de la cobertura con cuerpos de agua afectó positivamente la abundancia de las poblaciones de *E. cestri*. Esta asociación, por lo general, se da en zonas ribereñas del Río Uruguay donde la

intervención antrópica es reducida o nula determinando una asociación botánica más rica en especies y, posiblemente, es lo que ofrece una diversidad de recursos nutricionales aprovechada por *E. cestri* lo que beneficiaría su desarrollo en el tiempo.

En función a la distancia desde las costas del río Uruguay, a medida que ésta aumenta la abundancia de *E. cestri* disminuye. Este resultado respalda, en parte, los efectos interactivos presentados en la anterior sección. Tal información es especialmente importante desde el punto de vista del manejo apícola, ya que nos da idea de cuál es la zona de mayor probabilidad de incidencia de MDR en colmenares de *Apis mellifera* asociadas a ambientes rivereños de la cuenca del río Uruguay.

Finalmente, a modo de conclusión, resaltamos que este trabajo sienta un precedente en la comprensión de cómo los factores compositivos del paisaje se encuentran estructurando las poblaciones de *E. cestri* y, posiblemente, de la familia Flatidae en general dada su escasa representación en la bibliografía. Esta investigación se considera relevante para el sector apícola ya que permite, una vez identificados los primeros estadios ninfales, establecer aproximadamente cuando será el momento crítico para hacer manejos preventivos en los apiarios que se encuentran dentro de la zona de incidencia de MDR o eventualmente producir miel de melatos (Nogueira et al., 2021b).

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el Proyecto Estructural “Desarrollo del sector apícola organizado, sustentable y competitivo (2019-PE-E1-1017-001)” de la cartera de proyectos INTA 2019. Agradecemos a todos los integrantes del Programa Nacional Apicultura del INTA (PNAPI), en particular a Alejandra Palacios por el apoyo desde la conceptualización y vinculación con grupos relacionados a esta temática, a la Agencia de Extensión y Estación Experimental Agropecuaria Concordia del INTA por la facilitación de instalaciones, laboratorios y vehículos para la toma de datos a campo y su posterior análisis.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Bates, D, Mächler, M, Bolker, B & Walker, S (2014) Fitting linear mixed-effects models using lme4. arXiv preprint arXiv:1406.5823.
- Bates, D (2015) Package 'lme4'. Convergence. 12(2). Available at: <https://cran.r-project.org/web/packages/lme4/lme4.pdf>. Last accessed: June 22, 2021.
- Damos, P & Savopoulou-Soultani, M (2012) Temperature-driven models for insect development and vital thermal requirements. *Psyche: A Journal of Entomology*, **2012**, pp. 13. <https://doi.org/10.1155/2012/123405>
- Dean, HA & Bailey, JC (1961) A flatid planthopper, *Metcalfa pruinosa*. *Journal of Economic Entomology*, **54(6)**, 1104-1106.
- Haller, A, Juri, P, Plaván, E & Nogueira, E (2014) Cuantificación de pérdidas económicas causadas por el mal del río a productores apícolas de la cooperativa Calay en 3 temporadas (2010 – 2012). In: *XI Congreso Latinoamericano de Apicultura – FILAPI 2014*, Misiones, Argentina. pages 152.
- Harriet, J (2012) Sendos aportes del Dr. Homero Toscano en los años setenta sobre el “Mal de Santa Lucía”. *Actualidad Apícola*, **95**, 27-29.
- Invernizzi, C, Nogueira, E, Juri, P, Santos, E, Arredondo, D, Branchiccela, B, Mendoza, Y & Antúnez, K (2018) *Epormenis cestri* secretions in *Sebastiania schottiana* trees cause mass death of honey bee *Apis mellifera* larvae in Uruguay. *Plos one*, **13(1)**, e0190697. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190697>
- Juri, P, Nogueira, E & Invernizzi, C (2016a) Evolución de las colonias de un apiario afectado por el Mal del Río, que fue trasladado en forma tardía a una zona segura. In: *XII Congreso Latinoamericano de Apicultura y VI Congreso Cubano de Apicultura*, La Habana, Cuba.
- Juri, P, Balbuena, S, Cóppola, N, Viotti, H, Lombide, P, Invernizzi, C, Pedrana, G & Nogueira, E (2016b) Análisis cuantitativo de la evolución de la 37 cámara de cría de colonias de abejas melíferas sanas y afectadas por el Mal del Río en Uruguay. In: *I Reunión Transdisciplinaria de Ciencias Agrarias*. Casilda, Argentina. http://www.fveter.unr.edu.ar/upload/LIBRO_DE_RESUMENES_I_REUNI%20D3N_TRANSDISCIPLINARIA_EN_CIENCIAS_AGROPECUARIAS_2016.pdf.
- Kreitman, D, Keena, MA, Nielsen, AL & Hamilton, G (2021) Effects of Temperature on Development and Survival of Nymphal *Lycorma delicatula* (Hemiptera: Fulgoridae). *Environmental Entomology*, **50(1)**, 183-191. <https://doi.org/10.1093/ee/nvaa155>
- Lauterer, P & Malenovský, I (2002) New distributional and biological data on European Psylloidea (Hemiptera, Sternorrhyncha), with special reference to the fauna of the Czech Republic and Slovakia. *Entomologica Basiliensia*, **24**, 161-177.
- Lee, W, Park, CG, Seo, BY & Lee, SK (2016) Development of an emergence model for overwintering eggs of *Metcalfa pruinosa* (Hemiptera: Flatidae). *Korean journal of applied entomology*, **55(1)**, 35-43. <https://doi.org/10.5656/KSAE.2015.12.0.064>
- Liu, H (2020) Seasonal development, cumulative growing degree-days, and population density of spotted lanternfly (Hemiptera: Fulgoridae) on selected hosts and substrates. *Environmental Entomology*, **49(5)**, 1171-1184. <https://doi.org/10.1093/ee/nvaa074>
- Lüdecke D (2018). “ggeffects: Tidy Data Frames of Marginal Effects from Regression Models.” *Journal of Open Source Software*, **3(26)**, 772. doi: 10.21105/joss.00772.
- Maggi, M, Antúnez, K, Invernizzi, C, Aldea, P, Vargas, M, Negri, P, Brasesco, C, De Jong, D, Message, D, et al. (2016) Honeybee health in South America. *Apidologie*, **47(6)**, 835-854.
- Mendoza, Y, Antúnez, K, Branchiccela, B, Anido, M, Santos, E & Invernizzi, C (2014) Nosema ceranae and RNA viruses in European and Africanized honey-bee colonies (*Apis mellifera*) in Uruguay. *Apidologie*, **45 (2)**, 224–234.
- Morais, HC & Diniz, IR (2004) Herbivoros e herbivoria no Cerrado: lagartas como exemplo, pp.159-176. In Aguiar, LMS & Camargo, AJA (eds.), *Cerrado: ecologia e caracterizayao*. Embrapa Cerrados/Embrapa Informayao Tecnologica, Brasilia, Brazil.
- Nogueira, E, Haller, A, Juri, P & Plaván, E (2014) Mal del río: diagnóstico temprano y seguimiento del cuadro. In: *XI Congreso Latinoamericano de Apicultura – FILAPI 2014*, Misiones, Argentina. p162.
- Nogueira, E, Juri, P, Pedrana, G & Invernizzi, C (2016a) Diagnóstico subclínico del Mal del Río en

- abejas melíferas utilizando análisis de imágenes de la cámara de cría. *In: XII Congreso Latinoamericano de Apicultura y VI Congreso Cubano de Apicultura*, La Habana, Cuba.
- Nogueira, E, Juri, P, Pedrana, G & Invernizzi, C (2016b) Los embriones de colonias afectadas por el Mal del Río son viables. *In: XII Congreso Latinoamericano de Apicultura y VI Congreso Cubano de Apicultura*, La Habana, Cuba.
- Nogueira E., Juri P., Invernizzi C. (2021a) Efecto del jarabe de azúcar en la sobrevivencia larval en colonias de abejas melíferas afectadas por Mal del Río. *Veterinaria (Montevideo)* 57: 215. DOI:10.29155/VET.57.215.2
- Nogueira E., Juri P., Santos E., Invernizzi C. (2021b). Honeydew honey production in honeybees colonies affected by River disease in Uruguay. *Agrociencia Uruguay*, 25, 410. DOI:10.31285/AGRO.25.410.
- Oliveira, CMD & Frizzas, MR (2015). Bio-ecology of *Poekilloptera phalaenoides* (Hemiptera: Flatidae) under the influence of climatic factors in the Brazilian Cerrado. *Annals of the Entomological Society of America*, 108(3), 263-271. <https://doi.org/10.1093/aesa/sav004>
- Oliveira, PEAM (2008) Fenología e biología reproductiva das espécies de Cerrado. *Cerrado: ecologia e flora* (ed. Sano S.M., Almeida, S.P., & Ribeiro, J.F.), pp 273-290. Embrapa Informayao Tecnologica, Brasilia, Brazil.
- Oyarzabal, M, Clavijo, J, Oakley, L, Biganzoli, F, Tognetti, P, Barberis, I, Maturó, HM, Aragón, MR, Campanello, PI, et al. (2018) Vegetation units of Argentina. *Ecología austral*, 28(01), 40-63. http://hdl.handle.net/20.500.12110/ecologiaaustral_v028_n01_p040
- Park, CG, Kim, KH, Park, HH & Lee, SG (2013) Temperature-dependent development model of white backed planthopper (WBPH), *Sogatella furcifera* (Horvath) (Homoptera: Delphacidae). *Korean Journal of Applied Entomology*, 52(2), 133-140. <https://doi.org/10.5656/KSAE.2013.02.1.070>
- Régnière, J, Powell, J, Bentz, B & Nealis, V (2012) Effects of temperature on development, survival and reproduction of insects: experimental design, data analysis and modeling. *Journal of Insect Physiology*, 58(5), 634-647. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2012.01.010>
- Rossini, C, Almeida, L, Arredondo, D, Antúnez, K, Santos, E, Haralambides, AR & Invernizzi, C (2021) When a Tritrophic Interaction Goes Wrong to the Third Level: Xanthoxylin From Trees Causes the Honeybee Larval Mortality in Colonies Affected by the River Disease. *Journal of Chemical Ecology*, 47(8), 777-787. <https://doi.org/10.1007/s10886-021-01296-5>
- Santos, E & Invernizzi, C (2020) Observaciones sobre la biología de *Epormenis cestri*, Berg, 1879 (Hemiptera, Flatidae). *Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay*, 29(2), 176-182.
- Silva, NAPD, Frizzas, MR & Oliveira, CMD (2011) Seasonality in insect abundance in the "Cerrado" of Goiás State, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 55, 79-87. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262011000100013>
- Smyers, EC, Urban, JM, Dechaine, AC, Pfeiffer, DG, Crawford, SR & Calvin, DD (2021) Spatio-Temporal Model for Predicting Spring Hatch of the Spotted Lanternfly (Hemiptera: Fulgoridae). *Environmental entomology*, 50(1), 126-137. <https://doi.org/10.1093/ee/nvaa129>
- Wilson, SW & McPherson, JE (1981) Life histories of *Anormenis septentrionalis*, *Metcalfa pruinosa*, and *Ormenoides venusta* with descriptions of immature stages. *Annals of the Entomological Society of America*, 74(3), 299-311. <https://doi.org/10.1093/aesa/74.3.299>
- Zuur, A. F., Hilbe, J. M., & Ieno, E. N. (2013). A Beginner's Guide to GLM and GLMM with R: A Frequentist and Bayesian Perspective for Ecologists. Highland Statistics Limited.