



**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**Evaluación de la antixenosis de híbridos intraespecíficos de
Populus spp. expuestos a *Leucoptera sinuella***

MEMORIA DE TÍTULO

Oswaldo José Palma Villalobos

**TALCA- CHILE
2021**

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

APROBACIÓN:



Profesor Guía **Dr. Claudio C. Ramírez Rivera**

Instituto de Ciencias Biológicas

Universidad de Talca



Profesor informante: **Dr. Sebastián G. Yáñez Segovia**

Escuela de Agronomía

Facultad de Ciencias Agrarias

Fecha de presentación de la Defensa de Memoria: 14 de mayo, 2021

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, dar las gracias a toda mi familia por brindarme apoyo en cada uno de los pasos necesarios para llegar hasta donde estoy. El poder terminar esta etapa universitaria sin su ayuda, más la motivación de mejorar por mi hija y mi pareja con su peculiar manera de motivación, no hubiera sido posible.

En segundo lugar, a todos los amigos y compañeros que fueron participes activos en mi formación como profesional.

Por último, agradecer a todo el equipo de trabajo de mi proyecto, que fueron un gran apoyo para lograr y realizar las labores necesarias con gran compromiso. Destacar el imprescindible y gran apoyo para terminar de buena manera este proceso a los profesores Claudio Ramírez y Sebastián Yáñez.

RESUMEN

Leucoptera sinuella (Reutti), es una plaga que actualmente afecta a las plantaciones de álamos en Chile. El daño producido por sus larvas en el follaje provoca reducción de las capacidades fotosintéticas y, por lo tanto, reducción en el rendimiento. Además, es considerada una plaga cuarentenaria en otros países, a los cuales el sector frutícola chileno exporta. Al ser una plaga introducida recientemente, no existen métodos efectivos de control. El objetivo de esta investigación fue evaluar la antixenosis en distintos clones de híbridos intraespecíficos [(*Populus trichocarpa* X *Populus deltoides*) X *Populus deltoides*] y *Populus alba*. De esta manera sentar bases para programas de mejoramiento en el control de la polilla del álamo. El experimento se realizó bajo condiciones experimentales controladas en el laboratorio del Centro Tecnológico del Álamo, perteneciente a la Universidad de Talca, donde se llevó a cabo la infestación controlada de adultos de *L. sinuella* sobre estacas de *Populus*, en donde fue evaluada la ovipostura y densidad de tricomas en la parte adaxial de las hojas. También se evaluaron particularidades de la ovipostura como número de huevos por nidada y distribución de la nidada. Se logró determinar una correlación entre número de huevos acumulados y número de tricomas por hoja (mm²) para cada clon de *Populus* TDxD y *Populus alba* (Villa Franca). Determinando que al aumentar la densidad de tricomas en la superficie adaxial de la hoja de *Populus* disminuye la cantidad de huevos de *L. sinuella*. Por otra parte, no se encontraron diferencias en el número de huevos por nidada y la distribución de la nidada para los clones de *Populus* TDxD con respecto a *Populus alba* (2-1-1).

ABSTRACT

Leucoptera sinuella (Reutti) is a pest that currently affects poplar plantations in Chile. The damage produced by their larvae in the canopy causes a reduction in photosynthetic capacities and, therefore, a reduction in yield. In addition, it is considered a quarantine pest in other countries, to which the Chilean fruit sector exports. Being a recently introduced pest, there are no effective control methods. The objective of this research was to evaluate antixenosis in different intraspecific hybrid clones [(*Populus trichocarpa* X *Populus deltoides*) X *Populus deltoides*] and *Populus alba*. In this way, provide foundations for improvement programs in the control of the poplar moth. The experiment was carried out under controlled experimental conditions in the laboratory of the Alamo Technological Center, belonging to the University of Talca, where the controlled infestation of *L. sinuella* adults was carried out on *Populus* cuttings, where oviposition and density of trichomes were evaluated in the adaxial part of the leaves. Particularities of oviposition such as number of eggs per clutch and clutch distribution were also evaluated. A correlation between the number of accumulated eggs and the number of trichomes per leaf (mm²) was determined for each clone of *Populus* TDxD and *Populus alba* (Villa Franca). Determining that by increasing the density of trichomes in the adaxial part of the *Populus* leaf, the quantity of *L. sinuella* eggs decreases. On the other hand, no differences were found in the number of eggs per clutch and the distribution of the clutch for *Populus* TDxD clones with respect to *Populus alba* (2-1-1).

ÍNDICE

1. INTRODUCCION	12
1.1. Hipótesis.....	13
1.2. Objetivo general	13
1.3. Objetivos específicos	13
2. REVISION BIBLIOGRAFICA	14
2.1 Insectos plaga en álamo	14
2.1.1 Defoliadores	15
2.1.2. Barrenadores del tallo	15
2.1.3. Fitófagos de brote	16
2.1.4. Minadores de hoja.....	16
2.1.4.1 Gracillaridae	16
2.1.4.2 Lyonetiidae	17
2.2 Mecanismos de defensa de las plantas.....	19
2.2.1 Antixenosis	20
2.2.1.1 Anatomía foliar (tricomas)	21
2.2.1.2 Preferencia oviposición	21
2.2.2 Antibiosis.....	22
2.2.3 Tolerancia	22
2.3 Particularidades de resistencia vegetal de híbridos sección Tacamahaca y Aigeiros	23
2.3.1 <i>Populus trichocarpa</i> Torr. & A.Gray ex. Hook.....	23
2.3.2 <i>Populus deltoides</i> Bartram ex Marshall	24
3. MATERIALES Y MÉTODOS	26
3.1 Ubicación del ensayo	26
3.2 Material experimental.....	26
3.3 Plantación y establecimiento del experimento.....	27
3.4 Ensayos de infestación controlada de adultos de <i>L. sinuella</i>	28

3.5 Análisis de datos	30
4. RESULTADOS.....	32
4.1 Correlación de la ovipostura y tricomas de la parte adaxial de la hoja (Objetivo específico 1).....	32
4.2 Preferencia de oviposición de <i>L. sinuella</i> en las hojas de los clones de híbridos intraespecíficos (Objetivo específico 2)	34
5. DISCUSIÓN	37
5.1 Correlación de la ovipostura y tricomas de la parte adaxial de la hoja (Objetivo específico 1).....	37
5.2 Preferencia de oviposición de <i>L. sinuella</i> en las hojas de los clones de híbridos intraespecíficos (Objetivo específico 2)	38
6. CONCLUSION	40
7. BIBLIOGRAFÍA	41
8. ANEXOS	49
8.1 Gráficos y tabla complementarios para tricomas en laminas foliares y distribución de las nidadas.....	49
8.2. Gráficos complementarios del análisis y pruebas estadísticas.	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clones de híbridos intraespecíficos de *Populus* [(*Populus trichocarpa* X *Populus deltoides*) X *Populus deltoides*] y *Populus alba* y su condición de resistencia o susceptibilidad a la fitofagia de *L. sinuella* (datos no publicados Yáñez-Segovia, 2020).28

Tabla 2. Número de huevos por nidada y su distribución en híbridos intraespecíficos TDxD y *Populus alba* (Villa Franca).51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cuadrícula utilizada para la toma de muestras de tricomas de la parte adaxial de la hoja. categorización de la hoja en dos secciones longitudinalmente en nervadura central (A) y nervadura secundaria (B). Transversalmente en tres secciones basal (A') central (B') y apical (C').	29
Figura 2. Cuadrícula circular utilizada para establecer la ubicación espacial de las nidadas a nivel intra-hoja de <i>Populus</i> . La hoja fue segmentada virtualmente sobre fotografías digitales en cuatro sectores concéntricos (A,B, C, D).	30
Figura 3. Correlación entre número de huevos acumulados y número de tricomas por hoja (mm ²) para cada clon de híbrido intraespecífico de TDxD y <i>Populus alba</i> (Villa Franca).....	33
Figura 4. Correlación entre número de huevos acumulados y número de tricomas por hoja (mm ²) para cada clon de híbrido intraespecífico de TDxD.	33
Figura 5. Número de huevos por nidada de <i>L. sinuella</i> y su distribución en la hoja (secundaria-central) para cada híbrido intraespecífico de TDxD y <i>Populus alba</i> (Villa Franca).. ..	34
Figura 6. Gráfico que muestra el promedio tricomas por clon, error estándar y resumen estadístico de la cantidad de tricomas para nervadura central y secundaria para cada clon de <i>Populus</i>	35
Figura 7. Diagrama de sectores de preferencia de nidadas de <i>L. sinuella</i> en las hojas de <i>Populus</i> a nivel intra-hoja.	36
Figura 8. Distribución de frecuencias de nidadas de <i>L. sinuella</i> acuerdo a categorización implementada en sector intra-hoja de cada clon de <i>Populus</i> evaluado.	36
Figura 9. Gráfico que muestra el promedio tricomas por clon y de la cantidad de tricomas para nervadura central y secundaria para cada clon de <i>Populus</i>	49
Figura 10. Gráfico de frecuencias respecto de la distribución espacial del total de las nidadas de los cinco clones evaluados de <i>Populus</i>	49
Figura 11. Número de huevos acumulados y su distribución en la hoja (secundaria-central) para cada híbrido intraespecífico de TDxD y <i>Populus alba</i> (Villa Franca).	50
Figura 12. Número de huevos por nidada y su distribución en todos los tratamientos evaluados.. ..	50

Figura 13. Gráfico de cajas y bigotes para huevos por nidada y distribución (central-secundaria) para los tratamientos TDxD y *P. alba*. 51

Figura 14. Gráfico cuantil-cuantil para huevos por nidadas (normalidad). 52

Figura 15. Gráfico de residuos Vs predicho, para huevos por nidada (homogeneidad de varianzas)..... 52

1. INTRODUCCION

La polilla del álamo, *Leucoptera sinuella* (Reutti), es una especie que pertenece a la familia Lyonetiidae (Lepidoptera), es característico de estas alimentarse del mesófilo de las hojas en su estado de larva, sobre diferentes especies de salicáceas de los géneros *Populus* Linnaeus y *Salix* Linnaeus (Kagata & Ohgushi, 2004). Tiene su origen en la región Paleártica con presencia en Europa, Japón y el norte de África (Kuroko, 1964). Provoca daño al reducir el área foliar y posterior caída prematura de las hojas reduciendo el crecimiento de los árboles afectados (Arru, 1966).

Esta plaga fue introducida hace pocos años al territorio nacional, detectada en el 2015 por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). Causando daños económicos en plantaciones forestales, alamedas y cortinas cortavientos de álamos (Sandoval et al., 2019). La polilla del álamo no es una plaga importante en los álamos de su región de origen por lo cual existe poca información sobre alternativas de control que permitan el manejo de esta plaga (Fuentes, 2020). Actualmente se amplió su distribución abarcando todo el valle central y zonas precordilleranas. En el 2017 ocurre su mayor desplazamiento llegando hasta el sur del país, detectándose en la región del Biobío (Sandoval et al., 2019).

La polilla del álamo además produce un daño económico indirecto a la fruticultura, debido a que las pupas se ubican en las cavidades calicinales y/o pedunculares de frutas destinadas a exportación las cuales crecen en cortinas cortaviento de álamos próximos a los huertos frutícolas. De esta forma es una plaga cuarentenaria para mercados como México y EE.UU., produciendo rechazos de lotes de frutas de exportación en las últimas temporadas (Fuentes, 2017).

Los álamos son miembros de la Familia Salicáceas, los cuales poseen diversas características que los hace beneficiosos y útiles. Son de crecimiento juvenil rápido, facilidad de propagación, propensión a la hibridación, protección contra el viento y aumentando el valor estético en ciudades. Además de que es una fuente de aprovechamiento para confección de embalajes ligeros, fósforos y fibra. Por lo que son un aporte para los ecosistemas rurales, mitigando la erosión de tierras degradadas y restauración los bosques (Bingaman, 1991).

El desarrollo del mejoramiento genético permite la selección y cruce de variantes con el fin de potenciar el desarrollo de características fenotípicas de interés dentro de una especie, esto otorga características deseadas como una mayor productividad, menores costos de establecimiento, arquitectura del árbol que permita una mejor eficiencia para captar la luz, formas de las láminas foliares y entre otras muchas características que contribuirán a un mejor desempeño del cultivo calidad y/o cantidad de los productos finales (Isebrands & Richardson, 2014).

En la presente memoria de tesis se propone evaluar la antixenosis en clones de híbridos intraespecíficos de *Populus* y *Populus alba* expuestos a *L. sinuella*. De esta manera sentar bases para programas de mejoramiento en el control de la polilla del álamo.

1.1. Hipótesis

En clones de híbridos intraespecíficos [(*Populus trichocarpa* X *Populus deltoides*) X *Populus deltoides*] y *Populus alba* la resistencia a *L. sinuella* ocurre por un mecanismo de antixenosis.

1.2. Objetivo general

- Determinar la antixenosis en clones de híbridos intraespecíficos [(*Populus trichocarpa* X *Populus deltoides*) X *Populus deltoides*] y *Populus alba* expuestos a *Leucoptera sinuella*.

1.3. Objetivos específicos

1. Correlacionar la densidad de tricomas de la parte adaxial de la hoja con la ovipostura de *L. sinuella* en clones de híbridos intraespecíficos [(*Populus trichocarpa* X *Populus deltoides*) X *Populus deltoides*] y *Populus alba*.
2. Establecer la zona de preferencia de oviposición de *L. sinuella* en las hojas de los clones de híbridos intraespecíficos [(*Populus trichocarpa* X *Populus deltoides*) X *Populus deltoides*] y *Populus alba*.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

Los álamos son uno de los componentes más productivos de los ecosistemas en el hemisferio norte y dan forma a la ecología de estos ambientes sensibles (Philippe & Bohlmann, 2007). Los álamos también constituyen la mayor fracción de la superficie forestal de madera dura procesada intensivamente en América del Norte (Coyle et al., 2005). Debido a su longevidad, gran tamaño, estilos de vida sésiles y predominio ecológico, los álamos están sujetos a interacciones con una amplia diversidad de insectos fitófagos a lo largo de su área de distribución natural (Philippe & Bohlmann, 2007).

La capacidad de los álamos para hacer frente durante muchos años a una comunidad grande y dinámica de posibles insectos fitófagos se refleja en un conjunto diverso de defensas constitutivas e inducibles antiherbívoro. Estos sistemas de defensa involucran defensas químicas (i.e. metabolitos secundarios o productos naturales), defensas bioquímicas (i.e. proteínas o enzimas con efectos directos sobre los fitófagos), defensas físicas (i.e. estructuras de anatomía foliar protectoras) y defensas ecológicas o indirectas (i.e. atracción de depredadores o parasitoides de los herbívoros) (Philippe & Bohlmann, 2007).

La investigación sobre las interacciones de los álamos con las plagas de insectos avanza rápidamente como resultado de la implementación de enfoques genómicos. Dicha investigación es de vital importancia para una comprensión fundamental de las defensas dinámicas de los árboles longevos, el mayor desarrollo y sostenibilidad del álamo como un sistema para plantaciones forestales con aplicaciones para la producción de biomasa (Miranda et al., 2007).

2.1 Insectos plaga en álamo

Los álamos son hospederos de una gran diversidad de artrópodos plaga, con al menos 300 insectos y ácaros que se encuentran comúnmente en la diversidad de América del Norte y casi el doble con aproximadamente 525 especies en Europa (Mattson et al., 2001). Entre estos números hay una amplia diversidad de defoliadores, barrenadores del tallo, fitófagos de brotes y minadores. Sin embargo, solo unas pocas especies son responsables de niveles sustanciales de daño en los bosques naturales (Philippe & Bohlmann, 2007).

2.1.1 Defoliadores

Aunque los defoliadores constituyen la mayor proporción de los insectos plagas en los álamos, la mayoría de estos no se consideran una gran amenaza para la supervivencia de los árboles. Esto se debe a que los *Populus* pueden tolerar la pérdida de grandes cantidades de sus hojas (Kosola et al., 2001). Entre los defoliadores que pueden ser responsables de daños sustanciales se incluye el escarabajo de la hoja del álamo (*Chrysomela scripta* Fabricius). Tanto las larvas como los adultos se alimentan de hojas, provocando la pérdida de crecimiento y destrucción de hojas y brotes (Coyle et al., 2005).

Malacosoma disstria Hübner, es otro defoliador de Norteamérica (Stehr & Cook, 1968). Puede causar una defoliación generalizada en los brotes, la que se repite aproximadamente cada 10 años y duran de 2 a 5 años. No obstante, rara vez causan la mortalidad de los árboles. Cuando la defoliación repetida se combina con malas condiciones climáticas, puede ocurrir una muerte regresiva a gran escala de los bosques de álamos (Hogg et al., 2002).

Otro defoliador importante es la polilla *Choristoneura conflictana* Walker, la que se alimenta principalmente de los bosques de *Populus tremuloides* Michaux al norte del rango de *M. disstria* (Mattson et al., 2001). Por otra parte, *Orgyia leucostigma* Smith (Baker, 1972) y la oruga de la polilla gitana (*Lymantria dispar* L.) (McManus & McIntyre, 1981) se alimentan de una alta diversidad de árboles, incluidos los álamos.

2.1.2. Barrenadores del tallo

Estos incluyen especies plagas como el barrenador del álamo (*Saperda calcarata* Say) (Solomon, 1995), *Saperda inornata* Say (Nord et al., 1972a), el barrenador de la rama (*Oberias chaumii* LeConte) (Nord et al., 1972b) y el barrenador del álamo y el sauce (*Cryptorhynchus lapathi* L.) (Harris & Coppel, 1967). Estos insectos ponen sus huevos debajo de la corteza donde las larvas eclosionan y hacen un túnel en la madera, disminuyendo la calidad de la misma, creando heridas para infecciones patogénicas y aumentando la posibilidad de que el viento rompa los tallos debilitados (Solomon, 1995).

2.1.3. Fitófagos de brote

Entre los insectos que causan daño en los brotes de álamo se encuentra el áfido *Aphis maculata* Oestlund y la polilla *Gypsonoma haimbachiana* Kearfott, los que se alimentan de las puntas de los brotes en crecimiento y a menudo causan la muerte regresiva, lo que resulta en múltiples daños ocasionando árboles atrofiados con tallos malformados (Mattson et al., 2001).

Si bien estos insectos en entornos naturales rara vez causan una devastación duradera de los bosques de álamos, cuando se combinan con otros factores bióticos o abióticos nocivos (Hogg et al., 2002) el daño de estas plagas puede ser responsable de una pérdida económica generalizada en las plantaciones de álamos (Coyle et al., 2002), y también puede aumentar el riesgo de infección por hongos patógenos (Klepzig et al., 1997).

2.1.4. Minadores de hoja

2.1.4.1 Gracillaridae

***Phyllonorycter populifoliella* (Treitschke)**, es una especie nativa de Eurasia que está ampliamente distribuida en Europa, Rusia, Siberia occidental y oriental, y Asia. Se observa más comúnmente por brotes prolongados en las ciudades. Estos brotes conducen a la defoliación prematura de los álamos a mediados de agosto, lo que reduce considerablemente el valor ornamental y la funcionalidad ecológica (Selikhovkin et al., 2020). Es muy posible que una parte de su distribución actual se haya formado por invasión (Ermolaev et al., 2020). *P. populifoliella* puede considerarse euritópica en especies forestales sinantrópicas como es el álamo (Baryshnikova & Bolshakov, 2004).

Esta especie ocurre en prácticamente todos los rodales naturales de álamos (Sachkov, 1989). Está ausente en las masas forestales de piedemonte y los bosques de los valles montañosos (Romanenko, 1981). La plantación masiva de álamos después de la Segunda Guerra Mundial facilitó la propagación de *P. populifoliella* en San Petersburgo y su primer brote durante 1992–1999 (Selikhovkin, 2010). Se han realizado estudios profundos de la biología del minador a nivel individual y poblacional. Selikhovkin et al. (2020), compilaron una lista de especies de álamo dañadas por este minador con diferentes secciones del género *Populus* clasificadas por su resistencia a la plaga.

Ph. populifoliella es un oligófago capaz de infestar 12 especies de álamo. Los híbridos menos resistentes al minador son los álamos balsámicos de la sección Tacamahaca, entre los que se encuentran *Populus balsamifera* Linnaeus, *P. simonii* Carrière, *P. laurifolia* Linnaeus (especie parental de *P.x berolinensis*) y *P. suaveolens* Fisch. Los álamos *P. alba* Linnaeus y *P. tremula* Linnaeus son los menos preferidos por este minador, y los álamos *P. nigra* Linnaeus y *P. deltoides* Marshall presentan un consumo intermedio (Ermolaev, 2019).

***Micrurapteryx salicifoliella* (Chambers)**, es originario de América del Norte, pero se reportó por primera vez en Alaska a principios de la década de 1990, cuando un brote dañó sauces en más de 600 km². *M. salicifoliella* ataca al menos 10 de las 28 especies de *Salix* que son ampliamente simpátricas en el interior de Alaska (Collet, 2004).

Esta polilla presenta una generación por año, las hembras ponen huevos en la superficie abaxial (inferior) de las hojas. Los huevos se adhieren a la superficie de la hoja y se hunden en la epidermis a medida que se desarrollan. Si un huevo se extrae a la fuerza de la hoja después de que ha comenzado a descender al tejido de la misma, queda una cicatriz brillante en la epidermis. Las larvas de primer y segundo estadio poseen partes bucales orientadas hacia adelante (prognata), carecen de maxilares, patas y falsas patas. No pueden iniciar una mina desde la superficie de la hoja o moverse efectivamente fuera de la mina. Más bien, los huevos eclosionan y las larvas se introducen directamente en la epidermis de la hoja sin tener contacto con su exterior y se alimentan del contenido celular a medida que se mueven lateralmente a través de la epidermis, dejando intactas la pared celular distal y la cutícula. Las larvas desarrollan maxilares, patas y falsas patas en el tercer estadio las cuales mantienen durante el resto del desarrollo larval. Durante el tercer estadio, los cambios en la morfología permiten el movimiento dorsoventral dentro de la hoja, y las larvas comienzan a extraer el mesófilo, creando un daño que es visible como una mancha decolorada en la superficie adaxial y con frecuencia salen de las minas establecidas para iniciar nuevas minas dentro de las hojas más jóvenes. Esta movilidad larvaria puede dañar muchas más hojas que las que recibieron originalmente los huevos (Wagner & Doak, 2017).

2.1.4.2 Lyonetiidae

***Leucoptera sinuella* (Reutti)**, es una polilla del tipo gregaria que ataca las especies de *Populus* y *Salix*, cuyos adultos aparecen en junio y agosto en el norte de Japón (Kagata & Ohgushi, 2002a). En este minador de hojas, las hembras son capaces de determinar el tamaño de las nidadas ovipuestas usando varias señales, la presencia de huevos conoespecíficos sería

una de las claves para determinar el tamaño de la nidada (Kagata & Ohgushi, 2002b). Algunos estudios teóricos predijeron que el tamaño de la nidada debería disminuir, porque la oviposición múltiple podría disminuir la disponibilidad de recursos y luego aumentar la competencia intraespecífica (Ekbom, 1998). La oviposición agregada en una sola hoja implica que las hembras adultas seleccionan el sitio de oviposición en respuesta a las características de la planta hospedante (e.g. nitrógeno de la hoja, tamaño de la hoja y el momento de la brotación o abscisión de la hoja) (Minkenberg & Ottenheim, 1990). Las hembras de *L. sinuella* prefirieron hojas grandes para la oviposición a pesar de la presencia de huevos conespecíficos. La oviposición en hojas grandes puede tener ventajas para las larvas, porque las hojas grandes tienen bajas concentraciones de compuesto defensivo o baja probabilidad de abscisión de la hoja (Zucker, 1982).

Las larvas de *L. sinuella* producen minas que están limitadas por las nervaduras principales de la hoja, y son de color pardo oscuro en el centro del minado debido a que la larva deposita sus excrementos en el centro de la galería (Arru, 1966).

En el año 2015, el Servicio Agrícola y Ganadero de Chile (SAG) en la Región Metropolitana de Santiago reportaron por primera vez el daño en el follaje de *Populus* y *Salix*, atribuyéndose este a la presencia de larvas de *L. sinuella*. Los estudios iniciales de prospecciones determinaron que *L. sinuella* se encontraba distribuida entre el valle central de la Región Metropolitana y la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins. Al año 2017, su mayor desplazamiento ocurrió hacia el sur del país alcanzando la Región del Maule. En el 2018 fue detectada en la Región de Ñuble y del Biobío. Se ha observado que las hojas de álamo no son afectadas por las larvas hasta que éstas se encuentren completamente desarrolladas, lo que en nuestro país tiene lugar durante el mes de octubre, momento en que se presentan las primeras oviposturas. Entre los meses de verano desde diciembre a febrero, se evidencian los mayores daños en el follaje (Sandoval et al., 2019).

Son pocos los estudios que se han realizado sobre *L. sinuella* y su control en la región de origen debido a que no es una especie que provoque daños importantes en los bosques de donde son originarios. *L. sinuella* corresponde a una especie plaga que en Chile afecta a plantaciones de álamo, por lo cual se estima necesario estudiar mecanismos de resistencia natural, con particularidades intrínsecas de la genética de la planta que controlen la plaga.

2.2 Mecanismos de defensa de las plantas

Las defensas de las plantas contra los insectos fitófagos implican un delicado equilibrio de asignación de recursos entre crecimiento, desarrollo, reproducción y defensa (Koricheva, 2002; Strauss et al., 2002). Si bien las plantas que asignan recursos principalmente al crecimiento y desarrollo pueden tener una capacidad limitada para defenderse de insectos fitófagos o patógenos, el despliegue constitutivo de defensas puede generar que los insectos de evolución más rápida desarrollen estrategias para superar las defensas del hospedero (Herms & Mattson, 1992). La presencia o ausencia de defensas puede moldear de manera efectiva comunidades de fitófagos que pueden hacer frente a varios grados de defensa del hospedero (Paschold et al., 2007).

Los sistemas de defensa contra insectos de plantas que son en general multigénicos y flexibles, pueden permitir que las plantas se enfrenten a comunidades dinámicas de herbívoros. Las defensas en múltiples niveles parecen ser de particular importancia en árboles de larga vida que no pueden escapar de sus ambientes a los insectos fitófagos con períodos cortos de vegetación o tiempos de generación (Philippe & Bohlmann, 2007). En general, muchas especies de plantas, incluido el álamo, dependen de combinaciones de una diversidad de defensas constitutivas e inducidas contra los insectos para hacer frente a las posibles compensaciones entre el crecimiento y la defensa de las plantas, así como la posible adaptación de las comunidades de fitófagos a defensas (Mattson et al., 1997).

Por su parte, las defensas inducidas pueden estar restringidas localmente al sitio del ataque real del fitófago (defensa local), o pueden activarse sistémicamente en partes distantes de la planta o en toda la planta (defensa sistémica). Algunas de las defensas constitutivas e inducidas actúan directamente contra los fitófagos (defensas directas) o involucran las interacciones ecológicas con otros organismos como la atracción de depredadores y/o parasitoides del fitófago (defensas indirectas o multitróficas) (Philippe & Bohlmann, 2007).

Las defensas de los híbridos de álamo involucran componentes químicos en forma de metabolitos especializados (principalmente glicósidos), defensas bioquímicas con proteínas o enzimas que afectan directamente al fitófago (i.e., proteínas anti-digestivas) y defensas físicas en forma de estructuras anatómicas protectoras (Philippe & Bohlmann, 2007).

Las quitinasas pueden funcionar en la defensa de las plantas contra patógenos (Collingel et al., 1993) y se ha demostrado que el álamo transgénico que expresa una endoquitinasa fúngica posee una mayor resistencia al patógeno de la roya de la hoja (Noël et al., 2005). Las quitinasas de álamo inducidas también pueden tener una función contra los insectos fitófagos. Por ejemplo,

escarabajos de la patata de colorado (*Leptinotarsa decemlineata* Say), inducen en plantas de tomate las mismas endoquitinasas codificadas por win6 de *P. trichocarpa* x *P. deltoides*, lo cual genera un lento desarrollo del insecto (Lawrence & Novak, 2006). La fuerte regulación positiva de las enzimas win6 y win8 en las hojas locales y sistémicas de los árboles jóvenes de álamo tratados mediante heridas mecánicas y la aplicación de secreciones orales de *M. ditrisia*, respalda un papel en la defensa de los insectos (Philippe & Bohlmann, 2007). Un objetivo potencial de las quitinasas de las plantas en la defensa contra los insectos es la membrana peritrófica, que contiene quitina y forma una barrera protectora alrededor del contenido de alimentos ingeridos (Chapman, 1985).

Las ceras epicuticulares en *P. maximowiczii*, dan a la superficie inferior de la hoja una apariencia pálida y una superficie más dura. Es posible que estas propiedades puedan tener efectos adversos en la penetración del estilete de *C. leucomelas* Koch durante la alimentación (Alfaro-Tapia et al., 2007). Por ejemplo, *Pemphigus pyrothecae* Passerini se desempeñan mejor en tejidos de algodoncillo más viejos que en tejidos juveniles (Kearsly & Whitham, 1998). Además, las defensas de las plantas suelen ser más bajas y los nutrientes más altos en el floema de las hojas senescentes que en las hojas jóvenes (Merritt, 1996). Las densidades más altas de *C. leucomelas* en las hojas más viejas (base de las ramas) pueden ser el resultado de una mejora nutricional de los tejidos vegetales, que se ha descrito en otros pulgones (González et al., 2002).

2.2.1 Antixenosis

La antixenosis consiste en una baja aceptación del hospedero y como consecuencia el rechazo de la planta debido a señales físicas o químicas que repelen (o no atraen) a los insectos y alteran los procesos de comportamiento implicados en la aceptación del hospedero, disuadiendo a cualquier fitófago que se alimente y/o tenga contacto con el hospedero (Painter, 1958; Kogan & Ortman, 1978).

La resistencia por antixenosis superficial es una característica común que afecta el asentamiento de pulgones en las hojas de los árboles debido a la presencia de tricomas, ceras epicuticulares o emisión de compuestos orgánicos volátiles (Emden, 2017).

2.2.1.1 Anatomía foliar (tricomas)

La preferencia por ciertas especies de álamos puede estar relacionada a las características específicas de la anatomía o fisiología de la hoja. Por ejemplo, las láminas más densas y pubescentes de *P. alba* L. y *P. tremula* L. pueden ser menos adecuadas para *Ph. populifoliella* Treitschke y *Ph. Pastorella* Zeller (Strauss et al., 2002). Existen reportes, que el menor daño a los álamos negros en Irkutsk se relacionó con el desarrollo posterior de las hojas en esta especie (Frolov, 1948). Al comienzo del primer brote de *Ph. populifoliella* en San Petersburgo, que ocurrió en 1991-1999, se observó una emergencia masiva de adultos hibernados a fines de marzo y abril, es decir, mucho antes del despliegue de las hojas de los álamos. Sin embargo, en 1995 y años posteriores, la aparición del minador se sincronizó en gran medida con el inicio de la formación de las hojas (Selikhovkin, 2010).

2.2.1.2 Preferencia oviposición

El sitio de oviposición determina el alimento de las larvas, ya que estas están limitadas a la superficie foliar en la que se ovipositan los huevos. Se considera que las larvas son la etapa con mayor repercusión, al reducir el área foliar y al estar presentes en mayor número que los adultos (Harrell et al., 1982).

La ubicación de las masas de huevos de *Chrysomelas cripta* Fabricius dentro del dosel del árbol mostró la frecuencia más alta en las hojas del tercio superior de los árboles menores de 1 año, incluidas las hojas en expansión del brote terminal (Haugen, 1985). Donde las masas de huevos (80%) se encontraron en el tercio superior del dosel. La oviposición en las hojas del dosel medio fue mucho menor (5%). La alta frecuencia de masa de huevos en las hojas en el tercio superior del árbol puede deberse al estado fisiológico de las hojas, por ejemplo, tejido de hojas nuevas suculentas u orientación visual de la hembra para la copa de árboles pequeños o una combinación de estos factores (Haugen, 1985).

Debido al hábito minero, las larvas de *P. citrella* Stainton, se alimentan del interior de los tejidos de las hojas y completan su desarrollo en las mismas hojas donde ovipositan. Por lo tanto, la selección de la planta huésped por las hembras de *P. citrella* es crucial para el desarrollo de su descendencia. La susceptibilidad de la planta huésped, la presencia o ausencia de organismos fitopatógenos y la presencia de enemigos naturales son los tres factores principales que influyen en la oviposición de *P. citrella* (Vercher et al., 2008). Sin embargo, otros factores también pueden

determinar la selección del hospedador de esta especie, por ejemplo, la anatomía de la planta, los aleloquímicos producidos por la especie hospedante y la relación filogenética (Fisher et al., 2000).

2.2.2 Antibiosis

La antibiosis es un tipo de resistencia en la que la alimentación de la planta produce la alteración de los parámetros fisiológicos de los insectos, es decir, menor tasa de desarrollo, menor fecundidad y mayor tasa de mortalidad (Painter, 1958). La resistencia a los antibióticos contra los pulgones puede deberse a un efecto antagonista, por ejemplo, tóxico o anti-digestivo de sustancias químicas secundarias (Emden, 2017).

Observaciones previas del desempeño de *P. passerinii* Signoret han demostrado que la resistencia del álamo a este pulgón varía entre especies e híbridos de álamo. Entre los genotipos pertenecientes al híbrido *Populus x canadensis* Moench, se han observado diversos niveles de resistencia a *P. passerinii* (Pointeau et al., 2011). En los genotipos resistentes, el asentamiento o supervivencia ninfal, el desarrollo y la fecundidad se vieron afectados negativamente, lo que sugiere que la resistencia actúa a través de un mecanismo de antibiosis (Pointeau et al., 2011).

El genotipo muy resistente Brenta tiene una antixenosis superficial en las ninfas de primer estadio porque la tasa de asentamiento inicial fue significativamente más baja que en el genotipo susceptible I214 (*Populus x canadensis*). En el caso de un alimentador de parénquima como *P. passerinii*, la antibiosis puede estar relacionada con el contenido de células del parénquima (Pointeau et al., 2013).

2.2.3 Tolerancia

El mecanismo de tolerancia se presenta cuando la planta no se ve afectada por la presencia del fitófago, a pesar de soportar una población similar a la que puede afectar a los individuos sensibles (Miñarro & Dapena, 2015). Este mecanismo es más o menos independiente del efecto sobre el insecto. Se definió como una "base de resistencia sobre la cual la planta muestra la capacidad de crecer y reproducirse por sí misma o de reparar un daño en un grado marcado a pesar de mantener una población aproximadamente igual a la que daña a un huésped susceptible (Kogan & Ortman, 1978).

2.3 Particularidades de resistencia vegetal de híbridos sección Tacamahaca y Aigeiros

2.3.1 *Populus trichocarpa* Torr. & A.Gray ex. Hook

En términos generales, los clones con parental *Populus trichocarpa* son en promedio y a menudo significativamente, más resistentes a las larvas de lepidópteros (James & Newcombe, 2000). Por el contrario, estos clones tienden a ser preferidos por los defoliadores de adultos de coleóptera (Allegro & Agustin, 2000).

Los clones de *P. trichocarpa* son muy susceptibles al minador de la hoja *Zeugophora flavicollis* Marsham, un coleóptero crisomélido, que es inhibido por los genes deltoides en los híbridos *P. deltoides* x *P. nigra* y *P. trichocarpa* x *P. deltoides*, mientras que el minador *Stigmella trimaculella* Stainton (Lepidoptera: Nepticulidae) prefiere *P. deltoides* x *P. nigra* pero es inhibido por los genes *P. trichocarpa* (Nef, 1985).

El daño causado por las orugas defoliantes en Bélgica es generalmente más abundante en los híbridos de *P. deltoides* x *P. nigra* que en los clones de *P. trichocarpa* (Tomescu & Nef, 2007). Por otra parte, los híbridos originarios de *P. trichocarpa* o de *P. deltoides*, tienen diferentes características de resistencia a *Phyllocnistis unipunctella* Stephens, las diferencias pueden estar vinculadas al hecho de que la primera es una especie forestal y la segunda es un álamo pionero (Nef, 2007). El número y el desarrollo de las larvas de *Ph. unipunctella* dependen también de los taninos foliares (polifenoles). Las hojas ricas en taninos, típicas de los álamos forestales (*P. trichocarpa* y sus híbridos), soportan más tiempo, pero menos minas, y la tasa de desarrollo larvario y el peso de las pupas se reducen. En las hojas de los álamos (*P. deltoides* x *P. nigra*) estos parámetros se invierten y, además, los niveles de polifenoles secundarios producidos tras los ataques son casi un 100% más elevados que en *P. trichocarpa*. Se puede concluir que la resistencia a *Ph. unipunctella* es marcadamente menor en clones derivados de álamos con parentales *deltoides* o *nigra* (Nef, 1988; Nef, 2007).

En Finlandia, *Saperda carcharias* Linnaeus, es una plaga agresiva de álamos "parentales" e "híbridos". La investigación mostró que ambos genotipos eran igualmente susceptibles al escarabajo y, por lo tanto, las decisiones de plantación deben basarse en otros criterios (Välimäki & Heliövaara, 2007).

P. alba Linnaeus es eficazmente resistente al barrenador *Cryptorhynchus lapathi* Linnaeus, y hay clones disponibles en Italia para el cultivo de producción de biomasa (Allegro et al., 2007). El daño a *P. simonii* Carrière por la chinche de la hoja del álamo, *Monosteira unicastata* (Mulsant &

Rey), fue mayor que en *P. trichocarpa*, *P. ciliata* y *P. alba*. Otros clones de *P. alba* y *P. nigra* resultaron menos dañados (Babmorad et al., 2007).

En Chile, los híbridos de álamo son atacados por el pulgón *Chaitophorus leucomelas* Koch, plaga que tienen mayor densidad y desempeño reproductivo en híbridos de álamo con parentales *P. deltoides* Bartram y *P. trichocarpa* (híbridos susceptibles), mientras que la menor densidad y rendimiento reproductivo se presenta en híbridos de álamo con parentesco de *P. maximowiczii* Ruprecht (híbridos resistentes) (Ramírez et al., 2004).

2.3.2 *Populus deltoides* Bartram ex Marshall

A mediados del siglo XVIII, *P. nigra* x *P. deltoides* var. Monilifera, fué uno de los primeros híbridos de álamos cultivados comúnmente (White, 1993). Las principales características de la madera de álamo son la baja densidad ($0,35 \pm 0,5$ g / cm³) y bajo poder calorífico casi dos veces menor que los valores establecidos para el roble, haya o carpe (Battaglia et al., 1980).

La investigación con álamos ha demostrado que el cultivar "Robusta" (*P. deltoides* x *P. nigra*), obtenido alrededor de 1910, es más susceptible a algunos insectos que otros cruces de *P. deltoides* x *P. nigra* de origen más reciente (Tomescu & Nef, 2007).

Se encuentra reportado, que, en algunos casos, *Ph. populifoliella* daña fuertemente a los híbridos de álamo interseccional. Por ejemplo, en Novosibirsk (*P. balsamifera* y *P. x canadensis*) y los álamos ES-38 (*P. deltoides* y *P. balsamifera*) revelaron tasas anuales de infestación foliar del 100% y densidad de infestación alcanzando 24 minas por hoja (Bakulin, 2005). En Minsk, los álamos híbridos euroamericanos sufrieron el mayor daño por el minador de hojas (Chumakov & Lozinskaya, 2015).

En hojas de álamo con daño por *Ph. unipunctella*, la longitud de las minas varía de 14 a 34 cm² en diferentes clones, promediando 17 cm² en *P. deltoides* x *P. nigra*, 27 cm² en *P. trichocarpa* y 24 cm² en *P. trichocarpa* x *P. deltoides*. El 20% de las hojas son atacadas y el insecto reduce el área foliar promedio (y por lo tanto probablemente el crecimiento) en aproximadamente un 5%. Sin embargo, hasta el 70% de las hojas de algunos híbridos son atacadas (Nef, 1988). La frecuencia del insecto en un clon está relacionada significativamente con las relaciones de los elementos P, Mn, K o Zn, y las cantidades de K, Mo, Cu y Zn se modifican significativamente, ya sea positiva o negativamente, después de un ataque (Bouyaiche & Nef, 1987).

Los hospederos principales de *C. scripta* Fabricius se encuentran en las secciones Aigeiros y Tacamahaca, pero los clones con parentesco de *P. deltoides* son preferidos para la oviposición (Bingaman & Hart, 1992).

En estudios se demostró que, la resistencia al pulgón *Phloeomyzus passerinii* Sign varió entre las especies de álamo y sus híbridos. Esto confirma las observaciones de campo y de laboratorio anteriormente reportadas en Italia e Irán (Sadeghi et al., 2007). Estos resultados indican que el comportamiento de *P. passerinii* es óptimo en *P. nigra* (genotipo "Vereecken") y que el asentamiento de pulgones se vio afectado en *P. deltoides* (genotipo "Alcinde"), *P. trichocarpa* (genotipo "Trichobel") y *P. x interamericana* (genotipo "Raspalje"). Estas diferencias concuerdan con estudios previos que indican que, en general, los genotipos de *P. deltoides* exhiben una alta resistencia a *P. passerinii*, mientras que los genotipos de *P. nigra* son generalmente susceptibles (Sadeghi et al., 2009).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron ensayos bajo condiciones experimentales controladas, a nivel de laboratorio, en donde se expusieron a las hojas maduras de cinco clones de híbridos intraespecíficos [(*Populus trichocarpa* X *Populus deltoides*) X *Populus deltoides*] - (TDxD) y *Populus alba*, con particularidades de resistencia y susceptibilidad determinados en anteriores experimentos (datos no publicados Yáñez-Segovia, 2020) (Tabla 1), provenientes de estacas, con infestación controlada de adultos de *L. sinuella*, provenientes de poblaciones invernantes. Las evaluaciones se centraron en dos factores: el primero fue correlacionar la densidad de tricomas de la parte adaxial de la hoja, cercanos a la nervadura, central y secundarias y cuantificar los alcances de oviposuras de acuerdo a su costumbre es el sitio de oviposición. En este estudio se realizó un diseño completamente al azar con cinco tratamientos, cada uno con 14 repeticiones.

3.1 Ubicación del ensayo

El ensayo se llevó a cabo en el laboratorio del Centro Tecnológico del Álamo (L-CTA), perteneciente a la Universidad de Talca, ubicado en la comuna de Talca (35°24'30.4"S 71°38'01.6"O), Región del Maule. El L-CTA cuenta con una cámara climática de crecimiento bajo con condiciones controladas a 25 ± 2.6 °C y $50 \pm 4.9\%$ HR. Las cuales fueron diariamente monitoreadas durante el transcurso del experimento, mediante un dispositivo HOBO® modelo UX100. Se utilizó un fotoperiodo 16:8 (luz:oscuridad), los tratamientos fueron ubicados en estanterías que contaban con fuentes de luz neutra de 6500 lumens.m⁻²; la distancia entre la base de la maceta y la fuente de luz, se encontraba estandarizada a 60 cm.

3.2 Material experimental

Insectos: Se recolectó durante el mes de marzo de 2020 larvas de último estadio y pupas de *L. sinuella* del Banco Clonal perteneciente al Centro Tecnológico del Álamo, estas fueron transferidas grupalmente a una cámara de crecimiento con similares características que la del L-CTA previo el sexamiento, se realizó él mismo procedimiento una vez que todas las larvas alcanzaran el estado de pupa. Posteriormente, en abril de 2020 fueron sexadas alrededor de 2000 pupas, las cuales se individualizaron en recipientes plásticos de una onza donde fueron confinados dos machos y dos hembras por cada recipiente. De esta forma, se indujo la fecundación de la hembra y posterior oviposición sobre las láminas foliares infestadas. En cuanto a las condiciones ambientales, los tratamientos se mantuvieron en la cámara de frío a 4°C hasta el mes de julio para posteriormente trasladarlas a una cámara de crecimiento CONVIRON®

modelo E7 acondicionado con un humidificador de 5 L., con condiciones controladas a 25 ± 1.9 °C y $50 \pm 3.7\%$ HR, monitoreadas mediante dispositivo HOBO® modelo UX100 hasta la emergencia y desprendimiento de la exuvia (metodología Yáñez-Segovia, 2020 - datos no publicados).

Material vegetal: Estacas de *Populus*, de los clones a evaluarse, se cosecharon durante el mes de abril del 2020 en el Banco Clonal del CTA de clones de 8 años de edad. Durante un mes se mantuvieron en una cámara de frío, simulando invernación ambiental, con condiciones controladas a 4 °C \pm 1.2 °C. Las estacas fueron cortadas en su parte inferior homogenizando en promedio de longitud en 25 cm. y 3-5 yemas por estaca. Para asegurar la generación de raíces por parte de la estaca, se dejaron en un recipiente plástico con 5 cm. de agua de manera horizontal durante 30 minutos. Antes de la plantación, en los 2 cm. inferiores de cada estaca se le aplico el enraizante ANASAC® (IBA 0.15 g. por cada 100 g.) en polvo.

3.3 Plantación y establecimiento del experimento

Se precedió a rotular los cinco clones de híbridos de materiales vegetales promisorios (Tabla 1), con claves y colores particulares, para hacer más fácil su diferenciación en la toma de datos durante el experimento. Una vez con todos los tratamientos rotulados, se dio paso a la plantación de las estacas. Se colocó cartón corrugado en el fondo de cada una de las macetas de 5 L. para favorecer la retención del agua, se completaron los maceteros (35,53 g.) con perlita HARBOLITE®, cuya densidad aparente es de 95 kg.m^{-3} , alcanzando un peso total de 199,59 g. Una vez que la maceta estuvo completamente llena con perlita, se procedió a saturar las macetas con agua (500 mL.) para dejarlas húmedas, previo la colocación de las estacas. Finalmente, a inicios de julio, se plantaron las estacas con 5 cm. de profundidad dentro de la perlita previamente humedecida, además, se dejaron todas las yemas apicales en la misma dirección (sur) con relación al observador.

Todas las macetas distribuidas al azar dentro de la cámara y se regaron constantemente para asegurar la humedad requerida para el óptimo desarrollo de las estacas. Por ende, durante el transcurso de todo el experimento la frecuencia de riego fue cada 7 días, suministrando 500 mL. en cada uno de las unidades experimentales.

Las estacas comenzaron a brotar los primeros días de agosto de 2020 y al momento de la infestación, alrededor de 45 días después de la plantación, contaban con un promedio de 2 brotes y 6 hojas completamente extendidas en cada una de las réplicas.

Tabla 1. Clones de híbridos intraespecíficos de *Populus* [(*Populus trichocarpa* X *Populus deltoides*) X *Populus deltoides*] y *Populus alba* y su condición de resistencia o susceptibilidad a la fitofagia de *L. sinuella* (datos no publicados Yáñez-Segovia, 2020).

Codificación	<i>Populus</i>	Familia	Clon	Condición
T1		795	17574	R
T2		808	16613	R
	TDxD			
T3		782	16585	R
T4		499	11688	S
T5	<i>Populus alba</i>	Villa Franca	2-1-1	R

R: Resistente; S: Susceptible

3.4 Ensayos de infestación controlada de adultos de *L. sinuella*

Para la infestación controlada, en primer lugar, se seleccionaron 3 láminas foliares representativas y bien desarrolladas las cuales presentaban similar área de lámina foliar en cada una de las catorce estacas (réplicas) en cada clon de *Populus* evaluado. En las hojas seleccionadas, se realizó la primera infestación, primera reinfestación y segunda reinfestación (utilizado una hoja en cada proceso), dentro de la misma réplica. Por lo tanto, se introdujeron cuatro adultos de *L. sinuella* (dos machos y dos hembras) dentro de una tela de organza para confinarlos en la primera lamina foliar (primera infestación). Después de 24 horas, se realizó la primera reinfestación hacia otra lamina foliar de la misma réplica, confinando los mismos adultos de la infestación en la hoja. Finalmente, luego de 24 horas, se procedió a realizar la última reinfestación en la tercera hoja de la misma réplica con los mismos adultos de *L. sinuella*. Este procedimiento, se hizo en cada réplica en los 5 clones evaluados.

Objetivo específico 1: Correlacionar la densidad de tricomas de la parte adaxial de la hoja con la ovipostura de L. sinuella en clones de híbridos intraespecíficos [(Populus trichocarpa X Populus deltoides) X Populus deltoides] y Populus alba.

La evaluación de los tricomas se realizó mediante fotografías digitales de la parte adaxial de hojas maduras de cada clon, las mismas que se utilizaron para la infestación inicial. Para esta evaluación se utilizó una cámara digital de 16 megapíxeles a la cual se le adaptó una lupa con aumento de 60x. El muestreo de las imágenes se realizó en zonas cercanas a la nervadura central y nervaduras secundarias de la parte adaxial de la hoja. Se evaluó la misma hoja cada 5 días durante dos meses. En cada evaluación se cuantificó la cantidad de tricomas de seis observaciones (imágenes) por réplica, de la parte basal, central y apical, tres en la nervadura central y tres en nervaduras secundarias (Figura 1). Para obtener la cantidad de tricomas por mm^{-2} de cada observación se utilizó el *software* ImageJ 1,52p, el cual previamente se calibró la escala macro con 1 mm. de medida conocida lo que determinó una escala de 448,357 pixels. mm^{-1} ; con aspecto de ratio de 1,0. Se duplicó la imagen, y se ajustó en umbral de color en el matiz. La evaluación de los tricomas posteriormente se correlacionó con el número de huevos acumulados por cada clon y réplica.

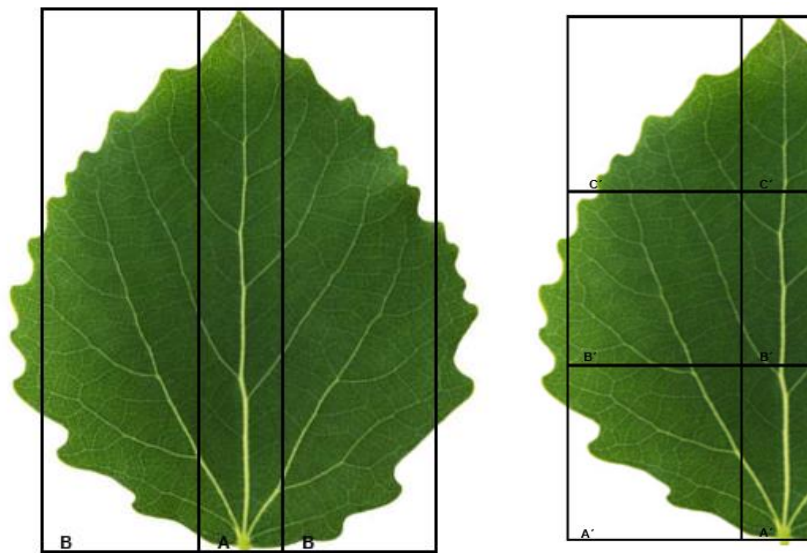


Figura 1. Cuadrícula utilizada para la toma de muestras de tricomas de la parte adaxial de la hoja. categorización de la hoja en dos secciones longitudinalmente en nervadura central (A) y nervadura secundaria (B). Transversalmente en tres secciones basal (A') central (B') y apical (C').

Objetivo específico 2: Establecer la zona de preferencia de oviposición de L. sinuella en las hojas de los clones de híbridos intraespecíficos [(Populus trichocarpa X Populus deltoides) X Populus deltoides] y Populus alba.

Para establecer una relación entre el hábito de oviposición de *L. sinuella* y las zonas de preferencia en las láminas foliares de las estacas de *Populus*, se evaluó el número de nidadas, cantidad de huevos por nidada y ubicación de la nidada en las hojas (nervadura central o secundaria) (figura 1), se observó diariamente utilizando un visor de lupa con luz frontal fría, que contaba con un aumento de 3,2X. Complementariamente se categorizó la ubicación de la nidada evaluando a la ubicación de esta y en su ubicación espacial dentro de la hoja, según cuadrícula de la figura 2.

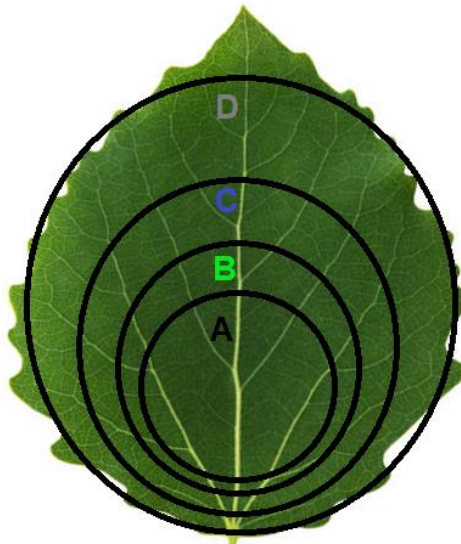


Figura 2. Cuadrícula circular utilizada para establecer la ubicación espacial de las nidadas a nivel intra-hoja de *Populus*. La hoja fue segmentada virtualmente sobre fotografías digitales en cuatro sectores concéntricos (A,B, C, D).

3.5 Análisis de datos

La información obtenida fue analizada en el software STATGRAPHICS Centurion XVI.I en donde, se realizó una correlación entre el número de huevos acumulados y el número de tricomas (mm^2). Adicionalmente se realizó el ANOVA para la variables huevos.nidada⁻¹ y cantidad de

tricomas según su ubicación (Figura 1) dentro de los clones de *Populus*. Al determinar que los supuestos del ANOVA según prueba de normalidad (Anexo, Figura 14) y homogeneidad de varianzas (Anexo, Figura 15) para las variables en estudios, no se cumplieron, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis de significancia $p < 0.05$. Para comparaciones múltiples de los clones de TDxD y *P. alba*; la preferencia de ovipostura (nervadura central o nervadura secundaria) y cantidad de tricomas según su ubicación, al presentarse diferencias significativas, se realizó las pruebas LSD y Tukey con 95% de nivel de confianza. Por último, se utilizó un análisis de categorización mediante tabulación cruzada para la ubicación de la nidada, realizando prueba de independencia chi-cuadrada (X^2) de significancia $p < 0.05$.

4. RESULTADOS

4.1 Correlación de la ovipostura y tricomas de la parte adaxial de la hoja (Objetivo específico 1)

El grado de asociación de las variables huevos acumulados respecto a la cantidad de tricomas presento un modelo lineal del tipo $Y = a + bx + e$, con tendencia negativa. Al realizar el análisis del modelo lineal, se presentó un intercepto de 134.34 ± 0.008 [D.E.=15.38; r^2 ajustado=0.8626; $F=873.7$; $p < 0.0001$]. Por lo tanto, al incrementar o disminuir el valor de la pendiente (-0.24 tricomas), incrementaría o disminuiría en una unidad los huevos acumulados. De igual manera se puede apreciar que la cantidad de tricomas explicaría en un 86,36% ($r^2= 0.8636$) el efecto de la oviposición de *L. sinuella* (Figura 3).

El grado de asociación de las variables huevos acumulados respecto a la cantidad de tricomas únicamente para clones TDxD presento un modelo lineal del tipo $Y = a + bx + e$, con tendencia negativa. Al realizar el análisis del modelo lineal, Se presentó un intercepto de 113.67 ± 0.04 [D.E.=15.22; r^2 ajustado=0.02835; $F=4,24$; $p < 0.0001$]. Por lo tanto, al incrementar o disminuir el valor de la pendiente (-0.098 tricomas), incrementaría o disminuiría en una unidad los huevos acumulados. De igual manera se puede apreciar que la cantidad de tricomas explicaría en un 3.71% ($r^2= 0.0371$) el efecto de la oviposición de *L. sinuella* en clones TDxD (Figura 4).

Se observó una correlación fue significativa entre las variables. Se puede observar que la mayor cantidad de huevos acumulados se encuentran cuando se presentan de 100 a 200 tricomas.mm⁻² para todos los clones TDxD evaluados (materiales con niveles de resistencia y susceptibilidad a la fitofagia de larvas de *L. sinuella*) y entre 400 a 600 tricomas/mm⁻², en el clon de *P. alba* con baja o casi nula ovipostura (Figura 3). Por lo que se puede inferir, que al aumentar la cantidad de tricomas/mm⁻² disminuye la oviposición de *L. sinuella* en diferentes parentales de *Populus*, más no, en los clones de híbrido TDxD evaluados.

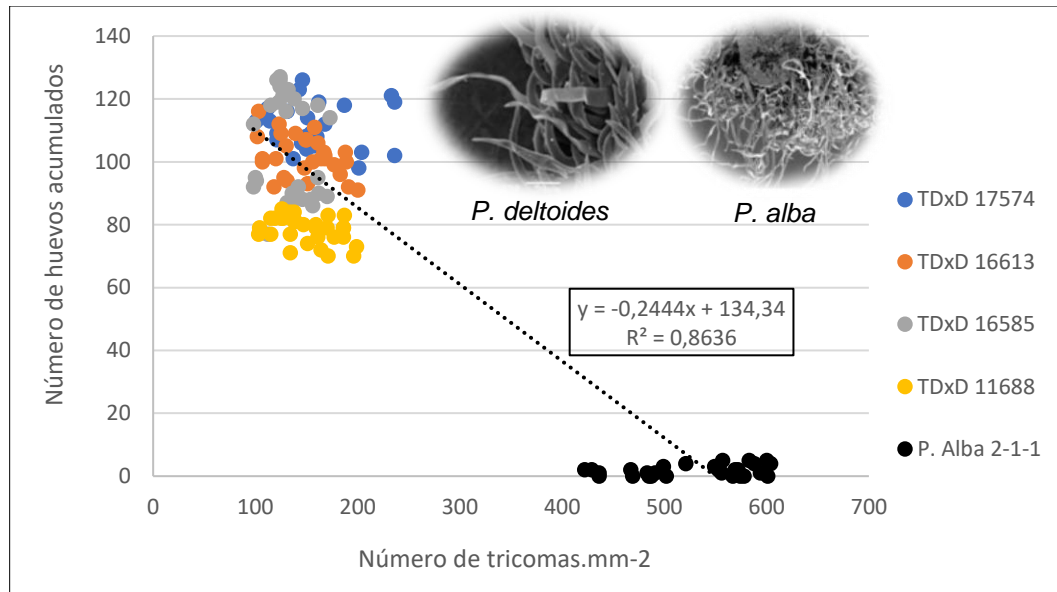


Figura 3. Correlación entre número de huevos acumulados y número de tricomas por hoja (mm^2) para cada clon de híbrido intraespecífico de TDxD y *Populus alba* (Villa Franca).

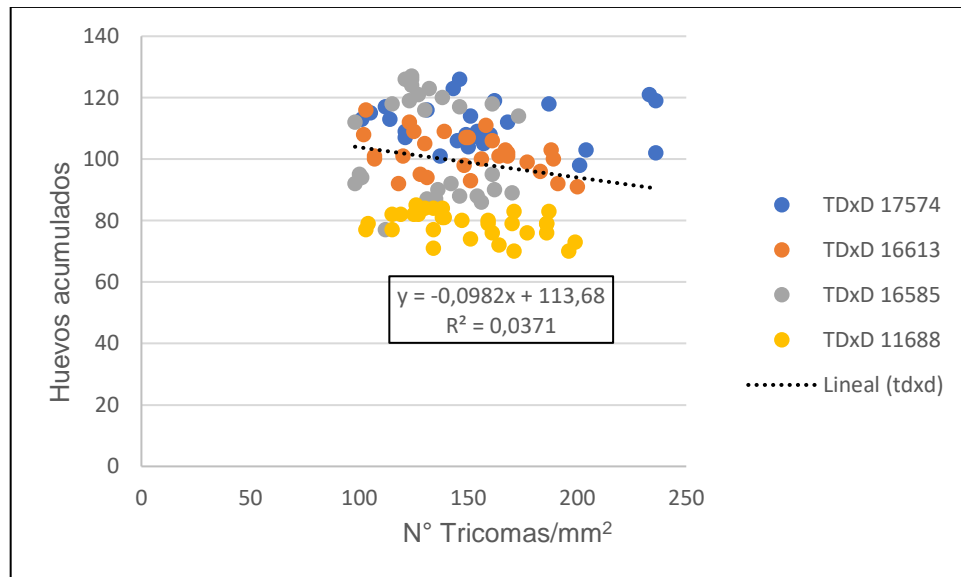


Figura 4. Correlación entre número de huevos acumulados y número de tricomas por hoja (mm^2) para cada clon de híbrido intraespecífico de TDxD.

4.2 Preferencia de oviposición de *L. sinuella* en las hojas de los clones de híbridos intraespecíficos (Objetivo específico 2)

La oviposición de *L. sinuella*, presentó una clara diferencia entre los clones TDxD y *P. alba* indistintamente de la distribución de la nidada (nervadura central o secundaria) (prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, $H=23.60$; $p = 0.0035$). El número de huevos por nidada indistintamente de la distribución fue significativamente mayor en los clones de *Populus* TDxD, con respecto a *Populus alba* (Figura 5).

Al realizar comparación de medias para clones [LSD Fisher; $\alpha=0.05$; $DMS=0.3487$; $e=2.8703$; g.l. =269], no se detectó diferencias significativas entre ellos, pero si con el clon de *P. alba*. Para la distribución de la nidada [LSD Fisher; $\alpha=0.05$; $DMS=0.7998$; $e=2.8703$; g.l.=269], no hubo diferencias significativas entre nervadura central y otras nervaduras (Anexo, Tabla 2). Fue posible evidenciar una menor cantidad de huevos por nidada y huevos acumulados en el clon de *Populus alba* y la mayor cantidad para los clones TDxD, en particular para el clon TDxD 16585 y TDxD 11585 (Figura 5).

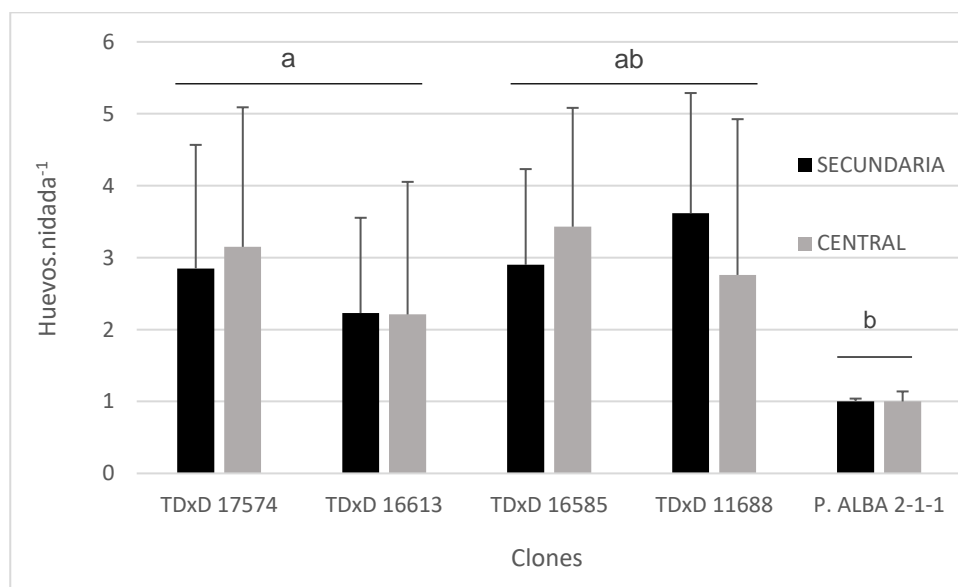


Figura 5. Número de huevos por nidada de *L. sinuella* y su distribución en la hoja (secundaria-central) para cada híbrido intraespecífico de TDxD y *Populus alba* (Villa Franca). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de comparaciones múltiples de LSD ($p < 0,05$).

La cantidad de tricomas en las nervaduras central y nervadura secundaria para los clones TDxD no presentaron diferencias estadísticas significativas. Por otro lado, se pudo determinar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos TDxD y el clon de *P. alba* (Figura 6).

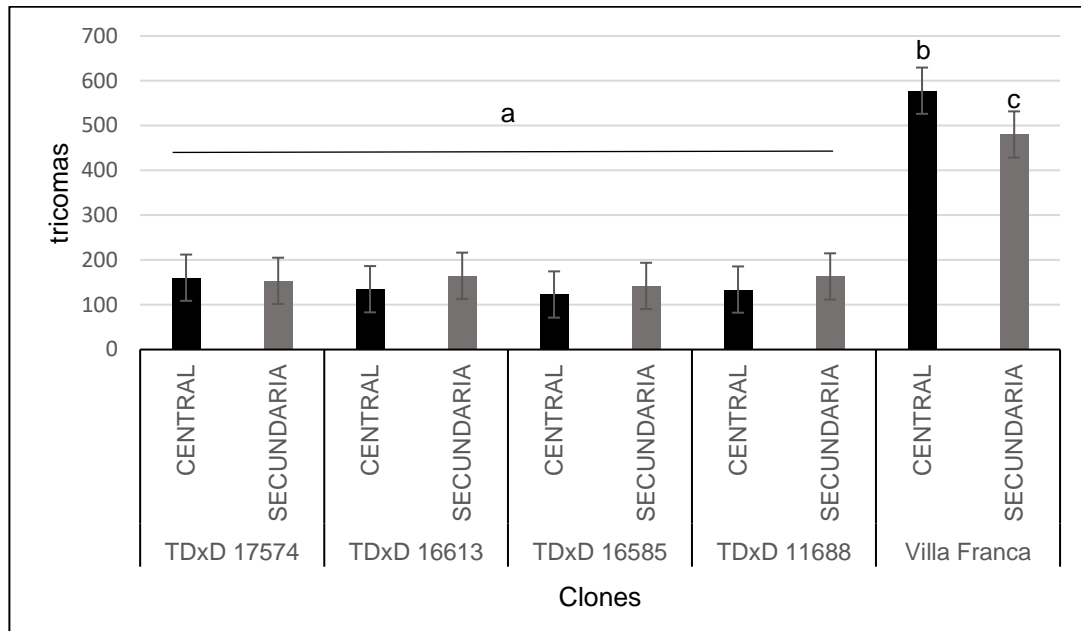


Figura 6. Gráfico que muestra el promedio tricomas por clon, error estándar y resumen estadístico de la cantidad de tricomas para nervadura central y secundaria para cada clon de *Populus*. Las letras indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de comparaciones múltiples de LSD ($p < 0.05$).

El análisis de categorización de la ubicación espacial de la nidada en la hoja en los distintos clones, no fue posible de determinar asociación entre estos, debido a que la prueba de independencia chi-cuadrado (χ^2 ; $valor-p > 0.05$) no determinó relación entre ambas variables. Sin embargo, dentro de la hoja según la escala establecida para la evaluación, se pudo observar que la mayor cantidad de nidadas se distribuyeron en el sector C, A y B, y en menor frecuencia en el sector D según escala preestablecida (Figura 7). Además, pudo observarse que los clones TDxD 17574 y TDxD 16585 presentaron mayor cantidad de nidadas respecto a los demás clones evaluados (Figura 8).

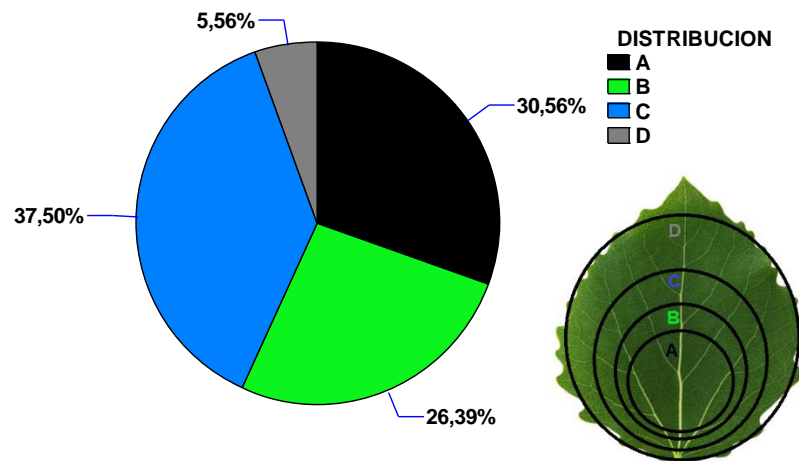


Figura 7. Diagrama de sectores de preferencia de nidadas de *L. sinuella* en las hojas de *Populus* a nivel intra-hoja.

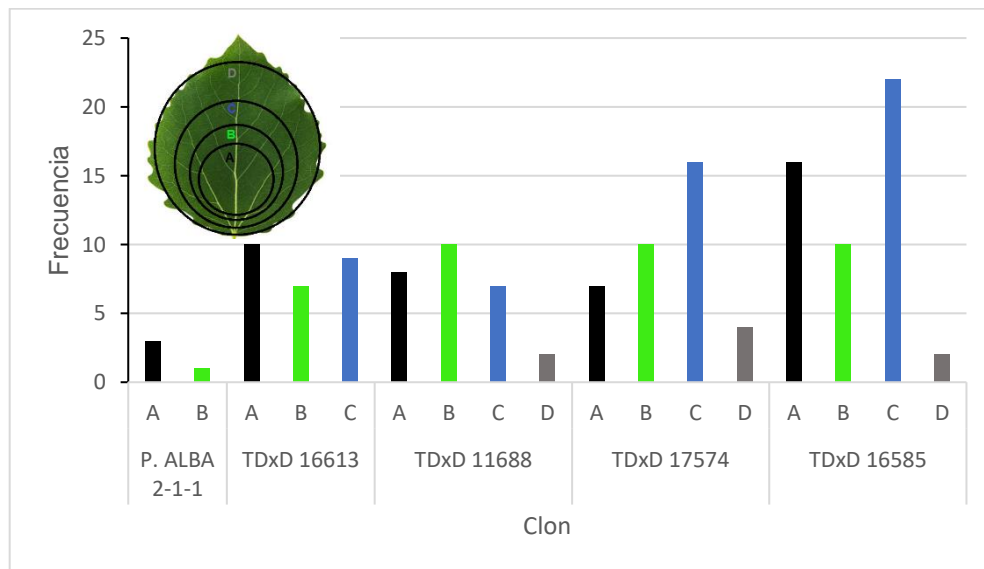


Figura 8. Distribución de frecuencias de nidadas de *L. sinuella* acuerdo a categorización implementada en sector intra-hoja de cada clon de *Populus* evaluado.

5. DISCUSIÓN

5.1 Correlación de la ovipostura y tricomas de la parte adaxial de la hoja (Objetivo específico 1)

Wei *et al.* (2012), determinaron que una de las primeras estructuras contactadas al acercarse fitófagos son los tricomas vegetales, los que son cruciales para la discriminación de hospedadores y la aceptación por parte de estos. De igual manera Alfaro-Tapia *et al.* 2007, expresaron que las características de la cutícula de *Populus* afectan el comportamiento de los fitófagos, como la ubicación, el establecimiento, la aceptación y oviposición en el huésped. Brober (2016), destaca que el barrenador del álamo y el sauce, *Cryptorhynchus lapathi* Linnaeus, la oviposición fue generalmente menor en los clones derivados de *P. alba* puro. Nuestros resultados coinciden con esta información, lo cual expresa la baja ovipostura encontrada en *P. alba*, que presentó mayor cantidad de tricomas/mm² en la parte adaxial de la hoja que los TDxD y menor cantidad de huevos acumulados (Figura 1) y menor cantidad de nidadas (Anexo, Figura 10)

Nuestros resultados presentan similares respuestas a los de un estudio de Handley *et al.* (2005), realizado en *Arabidopsis thaliana* Linnaeus expuesta a fitofagia de *P. xylostella* Linnaeus, en el cual encontraron que el aumento de la densidad de tricomas foliares provocó una disminución de la oviposición, y sugieren que la densidad de tricomas ejerce un mecanismo de resistencia contra este fitófago. Por otro lado, Wagner y Doak (2017) también describen en sus estudios en *M. salicifoliella* Chambers, un patrón de comportamiento similar a nuestros resultados, donde se afectó negativamente el daño foliar provocado en especies de *Salix*, tendencia asociada a que *M. salicifoliella* oviposita un menor número de huevos en especies de *Salix* con mayor densidad de tricomas foliares, describiendo que una defensa eficaz contra el fitófago es la densidad de tricomas. Por lo que los resultados obtenidos (Figura 1) muestran que la presencia y densidad de tricomas foliares puede modificar el comportamiento y rendimiento (i.e. crecimiento, supervivencia y oviposición) de los insectos fitófagos, representando una defensa efectiva. Al igual como describe Dalin y colaboradores (2008), los cuales exponen que los tricomas foliares pueden considerarse un buen agente de defensa de las plantas.

Por otra parte, se ha determinado en otros estudios que las ceras epicuticulares de la superficie de las hojas (Justus *et al.*, 2000) y/o metabolitos secundarios puedan afectar la oviposición (Philippe & Bohlmann, 2007). Estas características en conjunto con la densidad de tricomas podrían dar una mejor respuesta a la preferencia en la oviposición. Por lo que se necesitan más experimentos para poder determinar la importancia de la densidad de tricomas, la

composición química y los rasgos de la superficie de la hoja para la preferencia de oviposición de *L. sinuella*.

5.2 Preferencia de oviposición de *L. sinuella* en las hojas de los clones de híbridos intraespecíficos (Objetivo específico 2)

Kagata y Ohgushi (2002), determinó en su estudio de oviposición de *L. sinuella* sobre distintas especies de *Salix*, que el tamaño de la nidada está afectado en gran medida por el tamaño de la hoja. Lo anterior y al usar en nuestro experimento hojas de similar envergadura pudo condicionar la cantidad de nidadas, distribución de la nidada y los huevos por nidada de nuestros resultados, ya que nuestros datos no dieron preferencia en el sitio de oviposición entre los clones evaluados (Figura 6). Por otra parte, destacan que *L. sinuella* pudo ser afectada por químicos volátiles emitidos por las hojas de las plantas hospedera lo que podría afectar el comportamiento de oviposición de este lepidóptero. Ello puede explicar la menor cantidad de huevos acumulados (Figura 3) y huevos por nidada en el clon de *P. alba* (Anexo, Tabla 2), el cual presenta mayor cantidad de tricomas (Figura 1), los cuales pueden exudar metabolitos secundarios (Weinhold & Baldwin, 2011) que puedan afectar el comportamiento de oviposición.

Según Hervé (2015), en su estudio en el comportamiento de la oviposición del escarabajo *Meligethes aeneus* Fabricius, determinaron que para la selección del hospedero las hembras utilizan señales para determinar ciertas características analizando de esta forma la “calidad” de la planta huésped, y de esta manera ajustar los huevos en cada nidada. Lo anterior puede dar respuesta a la diferencia en nuestras observaciones entre los clones TDxD y *P. alba* (Figura 4). Estas características pueden ser químicas y/o visuales, además de actuar a distancia (e.g. compuestos volátiles, tamaño o arquitectura de la hoja) y/o por contacto (e.g. metabolitos primarios y secundarios dentro y en la superficie de los tejidos vegetales, densidad de tricomas, grosor o dureza del tejido), según lo anterior y al presentar mayor cantidad de tricomas en los clones de *P. alba* (Figura 1) es que se puede dar explicación a la baja preferencia por parte de *L. sinuella* (Anexo, Figura 10), y a su vez a una menor cantidad de huevos por nidada en estos clones (Figura 4). Ramírez et al. (2004), señalan que los híbridos con parentales *P. trichocarpa* o *P. deltoides* presentan factores fisiológicos que permitirían desarrollar grandes poblaciones de pulgones. Híbridos de álamo con parentesco de *P. deltoides* también se han descrito como susceptibles a otras plagas del orden Coleóptera y Lepidóptera, lo que podría también dar explicación a la mayor presencia de huevos en los clones de híbridos intraespecíficos TDxD (Anexo, Figura 11).

Vercher *et al.* (2008), en su estudio de oviposición evaluando *Ph. citrella* en cítricos, reportó que cuando las poblaciones son escasas, los huevos tienden a depositarse al azar en las hojas, pero en altas densidades de población los huevos tienden a estar fuertemente agregados. Debido a lo anterior, puede que los adultos de *L. sinuella* empleados en la infestación del experimento, determinan que el hábito de oviposición de esta no sería causada por un factor genético del hospedero. Ello se sustenta por la evidencia, ya que no existe diferencias en el hábito de ovipostura (Anexo, Figura 12) entre los clones promisorios de TDxD determinados como resistentes y/o susceptibles a fitofagia por larvas de *L. sinuella* (Anexo, Figura 13). Queda por determinar si se presenta lo mismo con otros cruzamientos interespecíficos de *Populus*.

Nuestros resultados pudieron verse alterados por el crecimiento en cámara de crecimiento controlada, debido a que un estudio de Lenzian y Baur (2020), describe que en superficies foliares de *Xanthium strumarium* Linnaeus, el desarrollo en campo presento mayor cantidad de tricomas en la superficie adaxial, respecto a las hojas desarrolladas en ambientes controlados.

Los resultados del presente estudio sugieren que existiría un mecanismo de antixenosis en clones de híbridos intraespecíficos [(*Populus trichocarpa* X *Populus deltoides*) X *Populus deltoides*] y *Populus alba* ante la presencia de poblaciones de *L. sinuella* en ambientes controlados.

6. CONCLUSION

Los resultados del experimento indican que existe una correlación lineal con tendencia negativa entre número de huevos acumulados y número de tricomas/mm² para cada clon de *Populus* TDxD y *Populus alba* (Villa Franca). Es decir, que al aumentar la densidad de tricomas en la superficie adaxial de la hoja de *Populus* disminuye la cantidad de huevos de *L. sinuella*.

No se encontraron diferencias en la distribución de la nidada para los clones de *Populus* TDxD y *Populus alba*. Por otro lado, el número de huevos por nidada no difiere entre híbridos intraespecíficos de *Populus* TDxD.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Alfaro-Tapia, A., Verdugo, J. A., Astudillo, L. A., & Ramírez, C. C. (2007). Effect of epicuticular waxes of poplar hybrids on the aphid *Chaitophorus leucomelas* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Applied Entomology*, 131(7), 486–492. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2007.01169.x>
- Allegro, G., & Agustin, S. (2000). Recent advances in poplar resistance to insect pests in Europe (1992 – 1999),. *International Poplar Commisiion*, 6.
- Allegro, G., Picco, F., & Bazzani, R. (2007). Il punteruolo del pioppo negli impianti da biomassa: un rischio da non sottovalutare. *Sherwood Foreste Ed Alberi Oggi*, 129, 13–16.
- Arru, G. M. (1966). I più importanti Insetti minatori delle foglie di Pioppo nell' Italia settentrionale. *Boll. Zool. Agr. Bachic.*, 8(2), 41–74.
- Babmorad, M., Azizkhani, E., Omid, R., & Farashiani, E. (2007). Poplar lace bug (*Monosteira unicostata*) damage on different poplar species and clones in Karaj. *Iranuan Journal of Forest and Range Protection Research*, 4, 103–112.
- Baker, W. . (1972). *EASTERN FOREST INSECTS* (U. S. D. of Agriculture (ed.); MISCELLANE).
- Bakulin, V. T. (2005). Poplars damaged by the leafminer moth in the urban plantations of Novosibirsk, in Dekorativnoe sadovod- stvo Sibiri. *Russian Academy of Agricultural Sciences*, 40.
- Baryshnikova, S. V., & Bolshakov, L. V. (2004). *Microlepidoptera of Tula Province. 15. Families Bucculatricidae, Gracillariidae and Lyonetiidae (Hexapoda: Lepidoptera)*, in *Biologicheskoe raznoobrazie Tul'skogo kraya na rubezhe vekov (Biodiversity of Tula Region at the Turn of the Century)* (Issue 4).
- Battaglia, G., Boykin, W., Holcombe, W., Moriarty, L., Nolte, W., Robertson, S., & C., W. (1980). Georgia Poultry Industry Research, Final Report: Project A-2464. *Georgia Institute of Technology*, 223.
- Bingaman. (1991). Leaf age heterogeneity among selected *Populus* clones : 1 Influences on feeding and oviposition preferences of adult *Chrysomela scripta* F (Coleoptera : Chrysomelidae): 2 Correlations of preferences with foliar phenolic glycoside profiles. In *Iowa State University*.
- Bingaman, B. R., & Hart, E. R. (1992). Feeding and oviposition preferences of adult cottonwood leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) among *Populus* clones and leaf age classes.

Environmental Entomology, 21(3), 508–517. <https://doi.org/10.1093/ee/21.3.508>

- Bouyaiche, M., & Nef, L. (1987). Relation entre les attaques de *Phyllocnistis suffusella* Zell., la croissance et la composition minerale des feuilles de peuplier. *International Symposium on Crop Protection*, 52(2a), 259–266.
- Chapman, R. . (1985). Structure of the digestive system. In *In Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology* (Vol. 4, pp. 165–205).
- Chumakov, L. S., & Lozinskaya, O. V. (2015). Ecological assessment of damage to planted poplars by the poplar leafminer *Lithocolletis populifoliella*. *Ekol. Vestn.*, 1(94).
- Collet, D. M. (2004). *Willows of Interior Alaska* (Y. F. N. W. R. US Fish and Wildlife Service (ed.)).
- Collingel, D. B., Kragh, K. M., Mikkelsen, J. D., Nielsen, K. K., Rasnssen, U., & Vad, and K. (1993). Plant chitinases. *The Plant Journal*, 3(1), 31–40. <https://doi.org/10.1139/b94-132>
- Coyle, D. R., Nebeker, T. E., Hart, E. R., & Mattson, W. J. (2005). Biology and management of insect pests in North American intensively managed hardwood forest systems. *Annual Review of Entomology*, 50, 1–29. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.50.071803.130431>
- Coyle, McMilin, J. D., Hall, R. B., & Hart, E. . (2002). *Deployment of tree resistance to insects in short-rotation Populus plantations*. In *Mechanisms and deployment of resistance in trees to insects* (M. R. Wagner, K. M. Clancy, T. D. Paine, & F. Lieutier (eds.); Issue 9). Kluwer Academic. <https://doi.org/10.1007/0-306-47596-0>
- Ekbohm, B. (1998). Clutch size and larval performance of pollen beetles on different host plants. *OIKOS*, 83(1), 56–64.
- Emden, V. (2017). *Host-plant resistance* (Aphids as). CABI. <http://centaur.reading.ac.uk/72415/>
- Ermolaev, I. (2019). Ecological mechanisms of nonperiodical population wave: A case study of the poplar leafminer – *Phyllo norycter populifoliella* (Lepidoptera, Gracillariidae), Zh. Obshch. Biol., 2019, vol. 80, no. 6, p. 451. *Obshch. Biol.*, 80(6), 451.
- Ermolaev, I. V., Rubleva, E. A., Rysin, S. L., & Kozhenkova, A. A. (2020). Trophic Specialization of the Poplar Leafminer *Phyllonorycter populifoliella* (Treitschke, 1833) (Lepidoptera, Gracillariidae). *Entomological Review*, 100(3), 287–300. <https://doi.org/10.1134/S0013873820030021>
- Fisher, A. E. I., Hartley, S. E., & Young, M. (2000). Direct and indirect competitive effects of foliage feeding guilds on the performance of the birch leaf-miner *Eriocrania*. *Journal of*

- Animal Ecology*, 69(1), 165–176. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2000.00384.x>
- Frolov, D. N. (1948). The poplar leafminer as a landscaping pest in Irkutsk. *Gos. Univ. Ser. Biol.*, 3(2), 1.
- Fuentes, E. (2017). Situación actual y manejo de plagas en manzano. *Boletín Técnico Pomáceas*, 17(2), 2–4.
- Fuentes, E. (2020). Polilla del álamo y otras plagas en fruticultura Polilla del Álamo (*Leucoptera sinuella*) y otras plagas emergentes en fruticultura. *Boletín Técnico POMÁCEAS*, 2–4.
- González, W. L., Ramírez, C. C., Olea, N., & Niemeyer, H. M. (2002). Host plant changes produced by the aphid *Sipha flava*: Consequences for aphid feeding behaviour and growth. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 103(2), 107–113. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2002.00964.x>
- Handley, R., Barbara, E. and, & Jon, A. (2005). Variation in trichome density and resistance against a specialist insect herbivore in natural populations of *Arabidopsis thaliana*. *Ecological Entomology*, 30, 284–292.
- Harrell, M. O., Benjamin, D. M., Berbee, J. G., & Burkot, and T. R. (1982). Consumption and utilization of leaf tissue of tissue-cultured *populus x euramericana* by the cottonwood leaf beetle, *chrysomela scripta* (coleoptera: chrysomelidae). *The Canadian Entomologist*, 114, 743–749. <https://doi.org/10.4039/Ent114743-8>
- Harris, J. W. E., & Coppel, H. C. (1967). The poplar-and-willow borer, *Sternochetus* (=Cvyptorhynchus) *lapathi* (Coleoptera: Curculionidae), in British Columbia. *The Canadian Entomologist*, 99, 411–418.
- Haugen, D. A. (1985). Oviposition preference of the cottonwood leaf beetle, *Chrysomela scripta* F., on poplar clones, *Populus* spp. In *Iowa State University*.
- Herms, D. A., & Mattson, W. J. (1992). The dilemma of plants: To grow or defend. *Quarterly Review of Biology*, 67(3), 283–335. <https://doi.org/10.1086/417659>
- Hervé, M. R., Garcia, N., Trabalon, M., Le Ralec, A., Delourme, R., & Cortesero, A. M. (2015). Oviposition Behavior of the Pollen Beetle (*Meligethes aeneus*): A Functional Study. *Journal of Insect Behavior*, 28(2), 107–119. <https://doi.org/10.1007/s10905-015-9485-5>
- Hogg, E. H., Brandt, J. P., & Kochtubajda, B. (2002). Growth and dieback of aspen forests in northwestern Alberta , Canada , in relation to climate and insects. *Canadian Journal of Forest Research*, 32, 823–832. <https://doi.org/10.1139/x01-152>

- Isebrands, J. G., & Richardson, J. (2014). *Poplars and Willows Trees for Society and the Environment*. CABI and FAO.
- James, R. R., & Newcombe, G. (2000). Defoliation patterns and genetics of insect resistance in cottonwoods. *Canadian Journal of Forest Research*, 30(1), 85–90.
<https://doi.org/10.1139/x99-192>
- Justus, K. A., Dossdall, L. M., & Mitchell, B. K. (2000). Oviposition by *Plutella xylostella* (Lepidoptera : Plutellidae) and Effects of Phylloplane Waxiness. *Journal of Economic Entomology*, 93(4), 1152–1159.
- Kagata, H., & Ohgushi, T. (2002a). Effects of Multiple Oviposition on Clutch Size in a Leaf mining Moth, *Paraleucoptera sinuella* (Lepidoptera Lyonettidae). *Entomological Science*, 5(4), 407–410.
- Kagata, H., & Ohgushi, T. (2002b). Oviposition stimuli for host plant recognition and clutch size determination in a leaf-mining moth. *Ecological Entomology*, 27(5), 622–625.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2002.00439.x>
- Kagata, H., & Ohgushi, T. (2004). Conflict between optimal clutch size for mothers and offspring in the leaf miner, *Leucoptera sinuella*. *Ecological Entomology*, 29(4), 429–436.
<https://doi.org/10.1111/j.0307-6946.2004.00623.x>
- Kearsly, M. J. C., & Whitham, T. G. (1998). The developmental stream of cottonwoods affects ramet growth and resistance to galling aphids. *Ecology*, 79(1), 178–191.
[https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1998\)079\[0178:tdsoca\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1998)079[0178:tdsoca]2.0.co;2)
- Klepzig, K. D., Robison, D. J., Smalley, E. B., & Raffa, K. F. (1997). Effects of feeding by two folivorous arthropods on susceptibility of hybrid poplar clones to a foliar pathogen. *The Great Lakes Entomologist*, 30(3), 99–104.
- Kogan, M., & Ortman, E. F. (1978). Antixenosis-A New Term Proposed to Define Painter's "Nonpreference" Modality of Resistance. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 24(2), 175–176. <https://doi.org/10.1093/besa/24.2.175>
- Koricheva, J. (2002). Meta-Analysis of Sources of Variation in Fitness Costs. *Ecology*, 83(1), 176–190.
- Kosola, R., Dickmann, I., Paul, E., & Parry, D. (2001). Repeated insect defoliation effects on growth , nitrogen acquisition , carbohydrates , and root demography of poplars. *Oecologia*, 129, 65–74. <https://doi.org/10.1007/s004420100694>
- Kuroko, H. (1964). Revisional studies on the family Lyonetiidae of Japan (Lepidoptera). *Esakia*,

4, 1–61.

- Lawrence, S. D., & Novak, N. G. (2006). Expression of poplar chitinase in tomato leads to inhibition of development in Colorado potato beetle. *Biotechnology Letters*, 28(8), 593–599. <https://doi.org/10.1007/s10529-006-0022-7>
- Lendzian, K., and Baur, P. (2020). BIOLOGY OF TARGET SURFACES. ResearchGate, 1, 1-13.
- Mattson, Hart, E. A., & Volney, W. J. A. (1997). *Poplar Culture in North America*.
- Mattson, W., Hart, E., & Volney, W. (2001). *Insect pests of Populus: coping with the inevitable* (D. Dickmann, J. G. Isebrands, J. E. Eckenwalder, & J. Richardson (eds.)).
- McManus, M. L., & McIntyre, T. (1981). *The gypsy moth: research toward integrated pest management* (C. C. Doane & M. L. McManus (eds.); USDA Techn).
- Merritt, S. Z. (1996). Within-plant variation in concentrations of amino acids, sugar, and sinigrin in phloem sap of black mustard, *Brassica nigra* (L.) Koch (Cruciferae). *Journal of Chemical Ecology*, 22(6), 1133–1145. <https://doi.org/10.1007/BF02027950>
- Miñarro, M., & Dapena, E. (2015). La resistencia vegetal como herramienta para el control de plagas : el caso del pulgón ceniciento del manzano. *SEEA*, 1, 18–24.
- Minkenbergh, O. P. J. M., & Ottenheim, J. J. G. W. (1990). Effect of leaf nitrogen content of tomato plants on preference and performance of a leafmining fly. *Oecologia*, 83(3), 291–298.
- Miranda, M., Ralph, S. G., Mellway, R., White, R., Heath, M. C., Bohlmann, J., Constabel, C. P., Biology, F., & Smith, M. (2007). The Transcriptional Response of Hybrid Poplar (*Populus trichocarpa* x *P. deltoides*) to Infection by *Melampsora medusae* Leaf Rust Involves Induction of Flavonoid Pathway Genes Leading to the Accumulation of Proanthocyanidins. *The American Phytopathological Society*, 20(7), 816–831.
- Nef. (1985). Relation entre certaines caractéristiques des peupliers et l'abondance d'insectes phytophages. *Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie*, 99, 160–170.
- Nef. (2007). Stratégies de défense et de compétition de peupliers forestiers et de peupliers pionniers. *BIOLOGIE ET ÉCOLOGIE*, 2, 119–128.
- Nef, L. (1988). Etude quantitative de populations de *Phyllocnistis suffusella* Z. (Lep., Lithocolletidae) en Belgique. *Annales Des Sciences Forestières*, 45(3), 255–264.
- Noël, A., Levasseur, C., Le, V. Q., & Séguin, A. (2005). Enhanced resistance to fungal pathogens in forest trees by genetic transformation of black spruce and hybrid poplar with

- a *Trichoderma harzianum* endochitinase gene. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 67(2), 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2005.09.010>
- Nord, J. C., Grimble, D. G., & Knight, F. B. (1972a). Biology of *Obereoschaumii* (Coleoptera: Cerambycidae) in trembling aspen, *Populus tremuloides*. *ANNALS OF THE ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA*, 65(1), 114–119.
- Nord, J. C., Grimble, D. G., & Knight, F. B. (1972b). Biology of *Saperda inornata* (Coleoptera: Cerambycidae) in Trembling Aspen, *Populus tremuloides*. *ANNALS OF THE ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA*, 65(1), 127–135.
- Painter, R. H. (1958). RESISTANCE OF PLANTS TO INSECTS. *Annu. Rev. Entomol.*, 3, 267–290.
- Paschold, A., Halitschke, R., & Baldwin, I. T. (2007). Co(i)-ordinating defenses: NaCOI1 mediates herbivore-induced resistance in *Nicotiana attenuata* and reveals the role of herbivore movement in avoiding defenses. *Plant Journal*, 51(1), 79–91. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03119.x>
- Philippe, R., & Bohlmann, J. (2007). Poplar defense against insect herbivores. *Canadian Journal Botany*, 85, 1111–1126. <https://doi.org/10.1139/B07-109>
- Poiteau, Ameline, A., Sallé, A., Bankhead-Dronnet, S., & Lieutier, F. (2013). Characterization of antibiosis and antixenosis to the woolly poplar aphid (Hemiptera: Aphididae) in the bark of different poplar genotypes. *Journal of Economic Entomology*, 106(1), 473–481. <https://doi.org/10.1603/EC12127>
- Poiteau, Sallé, A., Lesieur, V., Bankhead-Dronnet, S., Bonnaffoux, M., & Lieutier, F. (2011). Estimating the effect of poplar resistance on the performance of the woolly poplar aphid, *phloeomyzus passerinii*, in various experimental conditions. *Canadian Journal of Forest Research*, 41(6), 1233–1241. <https://doi.org/10.1139/x11-035>
- Ramírez, C. C., Zamudio, F., Verdugo, J. V., & Nuñez, M. E. (2004). Differential susceptibility of poplar hybrids to the aphid *Chaitophorus leucomelas* (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 97(6), 1965–1971. <https://doi.org/10.1093/jee/97.6.1965>
- Romanenko, K. E. (1981). Vrediteli lesozashchitnykh nasazhdenii Kirgizii (Pests of Forest Shelterbelts in Kirghizia). *ILim*.
- Sachkov, S. A. (1989). On morphology and biology of the poplar moth *Lithocolletis populifoliella* Treitschke (Lepidoptera, Gracillariidae). *Gos. Univ.*, 30.
- Sadeghi, A., Damme, E. J. M. Van, & Smaghe, G. (2009). Evaluation of the susceptibility of the

- pea aphid , *Acyrtosiphon pisum* , to a selection of novel biorational insecticides using an artificial diet. *Journal of Insect Science*, 9(65), 1–8.
- Sadeghi, N.A., R.-M., & Moharramipour, S. (2007). A study on the incidence of woolly poplar aphid, *Phloemyzus passerinii* (Hom.: Aphididae) on poplar species and clones in Hamedan province, Iran. *Journal of Entomological Society of Iran*, 26(2), 47–59.
- Sandoval, Ide, Rothmann, Zúñiga, Bosch, & Peragallo. (2019). Detección de *Leucoptera sinuella* (Reutti) (Lepidoptera: Lyonetiidae) en Chile, con la identificación de algunos parasitoides asociados Detection. *Revista Chilena de Entomología*, 45(1), 65–77.
- Selikhovkin, A. (2010). Specific features of population dynamics of the poplar leafminer *Phyllonorycter populifoliella* Tr. (Gracillariidae). *Akad*, 192, 220.
- Selikhovkin, A., Egorov, A., Sitnikova, D., & Mamaev, N. (2020). Occurrence of Leaf Miners *Phyllonorycter populifoliella* (Treirschke) and *Ph. pastorella* (Zeller) (Lepidoptera, Gracillariidae) on Different Species of Poplars. *Entomological Review*, 100(3), 301–306. <https://doi.org/10.1134/S0013873820030033>
- Solomon, J. D. (1995). *Guide to insect borers of North American broadleaf trees and shrubs* (Forest Ser).
- Stehr, F. W., & Cook, E. . (1968). *A revision of the genus Malacosoma Hu"bner in North America (Lepidoptera: Lasiocam- pidae): systematics, biology, immatures, and parasites*. U.S. National Museum Bulletin 276. Smithsonian Institute Press.
- Strauss, S. Y., Rudgers, J. A., Lau, J. A., & Irwin, R. E. (2002). Direct and ecological costs of resistance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution*, 17(6), 278–285. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)02483-7](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02483-7)
- Tomescu, R., & Nef, L. (2007). Leaf eating insect damage on different poplar clones and sites. *Annals of Forest Science*, 64(1), 99–108. <https://doi.org/10.1051/forest:2006093>
- Välimäki, S., & Heliövaara, K. (2007). Hybrid aspen is not preferred by the large poplar borer (*Saperda carcharias*). *Arthropod-Plant Interactions*, 1, 205–211. <https://doi.org/10.1007/s11829-007-9023-2>
- Vercher, R., Farias, A., Marzal, C., Soto, A., Tena, A., & Garcia-Marí, F. (2008). Factors influencing adult female oviposition in the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella*. *Agricultural and Forest Entomology*, 10(1), 45–51. <https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2007.00352.x>
- Wagner, & Doak, P. (2017). Oviposition , larval survival and leaf damage by the willow leaf blotch miner , *Micrurapteryx salicifoliella* , in relation to leaf trichomes across 10 *Salix*

- species. *Ecological Entomology*, 42(5), 1–7. <https://doi.org/10.1111/een.12431>
- Wei, J., Yan, L., Ren, Q. I. N., Li, C., Ge, F., & Kang, L. E. (2012). Antagonism between herbivore-induced plant volatiles and trichomes affects tritrophic interactions. *Plant, Cell and Environment*, 36, 1–13. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02575.x>
- Weinhold, A., & Baldwin, I. T. (2011). Trichome-derived O-acyl sugars are a first meal for caterpillars that tags them for predation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(19), 7855–7859. <https://doi.org/10.1073/pnas.1101306108>
- White, J. (1993). Black Poplar: the Most Endangered Native Timber Tree in Britain. *Forestry Authority Research Inform.*, 239.
- Zucker, W. V. (1982). How Aphids Choose Leaves : The Roles of Phenolics in Host Selection by a Gall-forming Aphid Author (s): William V . Zucker Published by : Ecological Society of America HOW APHIDS CHOOSE LEAVES : THE ROLES OF PHENOLICS IN HOST SELECTION BY A GALLING APHID '. *Ecology*, 63(4), 972–981.

8. ANEXOS

8.1 Gráficos y tabla complementarios para tricomas en laminas foliares y distribución de las nidadas.

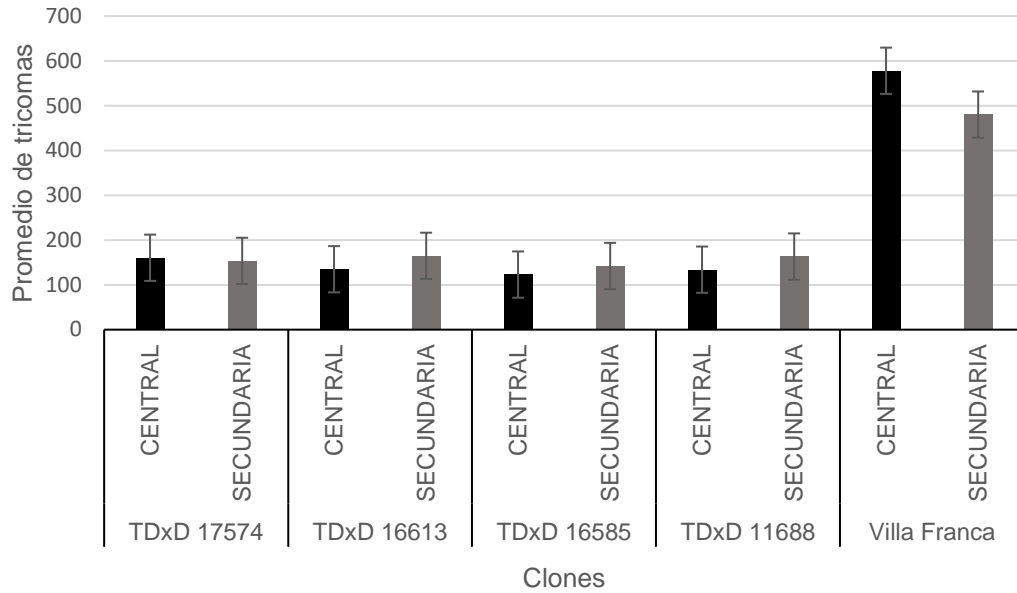


Figura 9. Gráfico que muestra el promedio tricomas por clon y de la cantidad de tricomas para nervadura central y secundaria para cada clon de *Populus*.

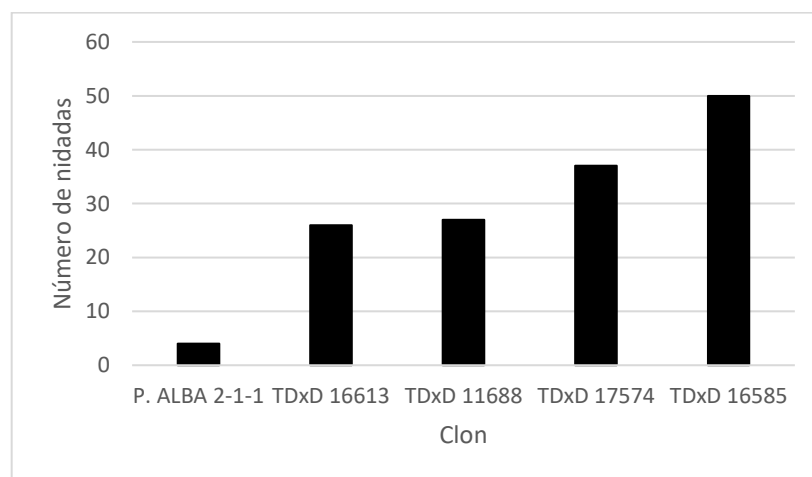


Figura 10. Gráfico de frecuencias respecto de la distribución espacial del total de las nidadas de los cinco clones evaluados de *Populus*.

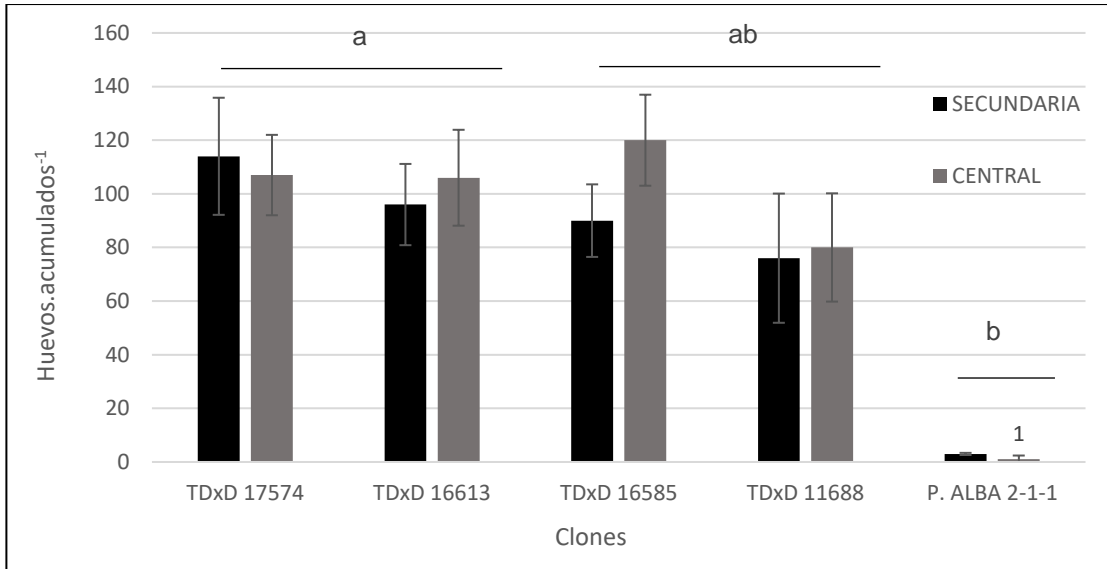


Figura 11. Número de huevos acumulados y su distribución en la hoja (secundaria-central) para cada híbrido intraespecífico de TDxD y *Populus alba* (Villa Franca).

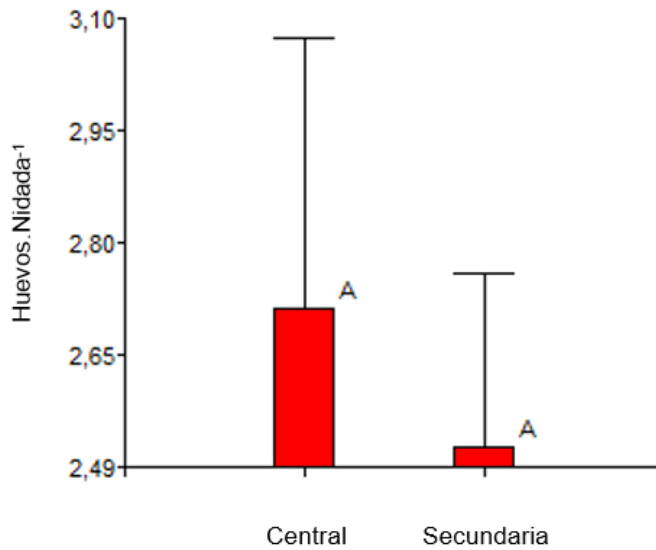


Figura 12. Número de huevos por nidada y su distribución en todos los tratamientos evaluados. Las letras indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de comparaciones múltiples de LSD ($p < 0,05$).

Tabla 2. Número de huevos por nidada y su distribución en híbridos intraespecíficos TDxD y *Populus alba* (Villa Franca).

Tratamiento	Distribución nidada (nervadura)	Huevos por nidada ¹
TDxD 795	Central	2,76 ± 2,26 a ²
TDxD 795	Secundaria	3,62 ± 1,66 a
TDxD 808	Central	3,43 ± 1,65 a
TDxD 808	Secundaria	2,90 ± 1,35 a
TDxD 782	Central	3,21 ± 1,88 ab
TDxD 782	Secundaria	2,23 ± 1,32 ab
TDxD 499	Central	3,15 ± 1,94 ab
TDxD 499	Secundaria	2,85 ± 1,72 ab
Villa Franca	Central	1 ± 0,01 b
Villa Franca	Secundaria	1 ± ,01 b

± error estándar

ⁱ P<0,05 significación estadística

ⁱⁱ letras distintas en la misma columna corresponden a diferencias significativas con la prueba de Tukey α=0,05

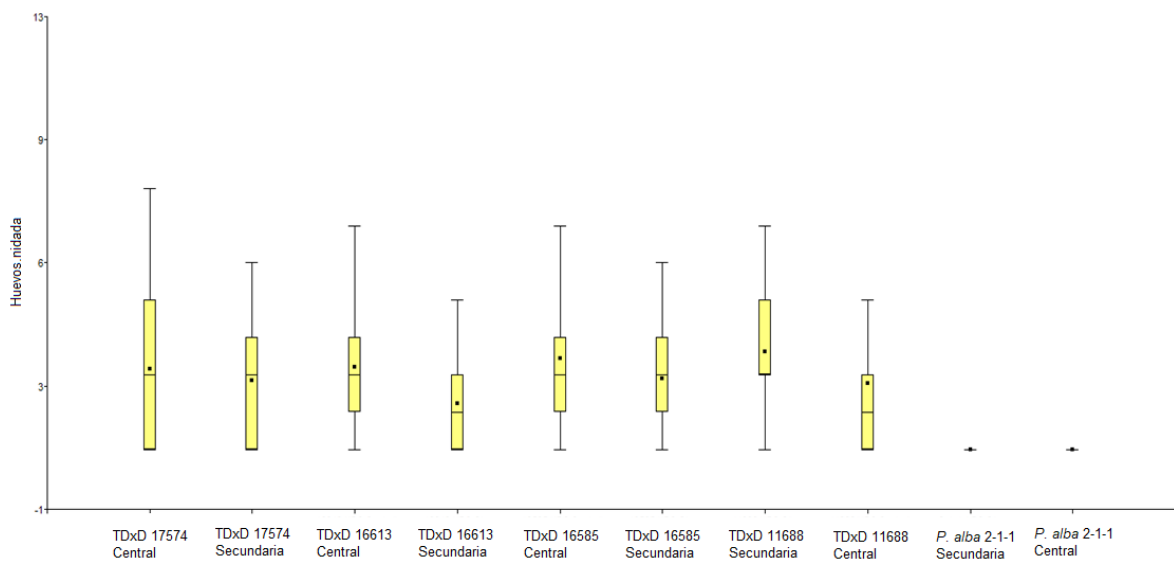


Figura 13. Gráfico de cajas y bigotes para huevos por nidada y distribución (central-secundaria) para los tratamientos TDxD y *P. alba*.

8.2. Gráficos complementarios del análisis y pruebas estadísticas.

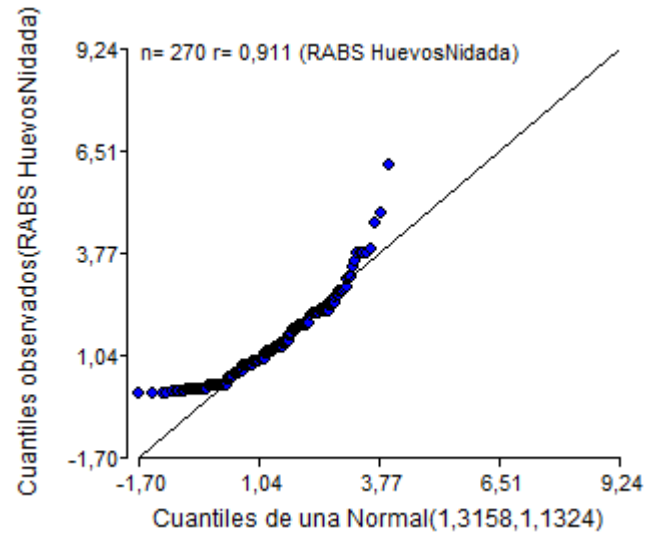


Figura 14. Gráfico cuantil-cuantil para huevos por nidadas (normalidad).

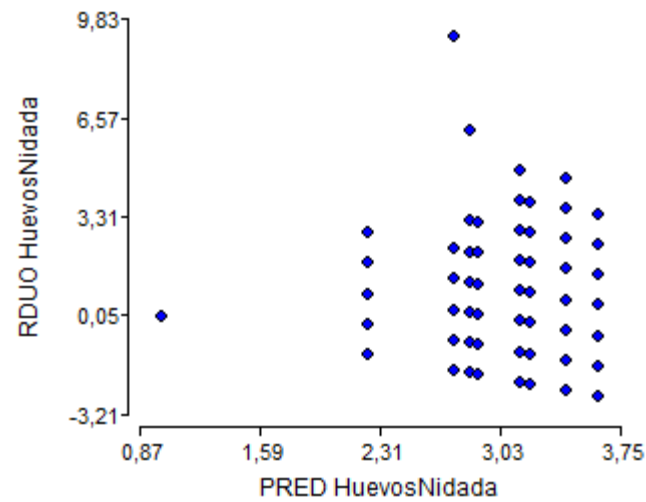


Figura 15. Gráfico de residuos Vs predicho, para huevos por nidada (homogeneidad de varianzas).