

# PROYECTO DE INVESTIGACIÓN APLICADA (SAFO 108)

## Insectos plaga asociados a Salicáceas: herramientas de la ecología aplicadas al manejo

Coordinadora: Dra. Patricia Fernández

# 108

### INTRODUCCIÓN

En la Argentina, el humedal de mayor importancia y extensión es el Delta del Paraná, que cubre una superficie aproximada de 17.500 km<sup>2</sup>. El río Paraná en su curso une áreas subtropicales y templadas, característica única a escala mundial, lo que determina su altísima diversidad biológica. Los humedales son ecosistemas fundamentales para el ser humano, dado que son proveedores de numerosos bienes y servicios ecosistémicos. En estos ecosistemas, el uso de agroquímicos es crítico y altamente contaminante, pudiendo producir importantes desequilibrios en las cadenas tróficas, que a la larga afectan a los sistemas productivos tradicionales.

El sistema de producción predominante en el Delta del Paraná es la forestación con salicáceas. En esta región existen más de 80.000 hectáreas plantadas, de las cuales el 80% corresponde a plantaciones de sauce y el resto a plantaciones de álamo. De las mismas, se estima que unas 60.000 hectáreas (75%) se encuentran bajo manejo. Las especies de hormigas cortadoras de hojas *Acromyrmex ambiguus* y *A. lundii* han sido reportadas causando grandes pérdidas de implantación en álamo (*Populus spp.*) (Achinelli et al. 2006) y sauce (*Salix spp.*). Dependiendo de la edad de la plantación, las condiciones ambientales en el momento del daño y el tamaño del nido, las hormigas cortadoras pueden llegar a eliminar sectores importantes de plantaciones jóvenes en corto tiempo (FAO, 2006). En el caso del sauce (*Salix spp.*) la avispa sierra, *Nematus oligospilus*, de comportamiento errático en el tiempo, es también considerada una de sus principales plagas. En general, tanto para hormigas cortadoras como para avispa sierra, se realiza un manejo intensivo utilizando insecticidas de síntesis, que además de contaminar el ambiente también provocan la muerte de organismos no blanco.

El objetivo general de este proyecto fue el de contribuir al desarrollo de herramientas efectivas de monitoreo y control que ayuden a disminuir el uso de insecticidas de síntesis y puedan utilizarse en un plan de manejo integrado, que en el largo plazo representen una mejora en la economía para el productor y un menor riesgo en la implementación de las mismas. Para ello se estudiaron aspectos bioecológicos de las plagas relevantes para su manejo en plantaciones forestales. En el marco de la ecología química y el comportamiento, se evaluó el uso de semioquímicos (compuestos químicos con función atrayente, kairomonas, o repelente, alomonas) en laboratorio y a campo. También se evaluaron insecticidas alternativos a los tradicionales de síntesis, entre ellos un nanoinsectida a base de alúmina nanoestructurada (NSA) desarrollado recientemente por algunos de los integrantes del grupo. El proyecto se dividió en 2 módulos temáticos: I) hormigas cortadoras de hoja y II) avispa sierra del sauce.

---

INTA EEA Delta del Paraná –  
Paraná de las Palmas y CI Comas S/N.  
Campana, Buenos Aires. Argentina  
pcfernan@agro.uba.ar

## MODULO HORMIGAS CORTADORAS

A partir de nidos de *Acromyrmex ambiguus* colectados en plantaciones forestales en el predio de la EEA Delta del Paraná, se logró el establecimiento y mantenimiento de colonias en condiciones de laboratorio a lo largo de todo el año. Además, utilizando a estas como colonias madre, se prepararon mini-colonias con una fracción de hongo y de hormigas de las diferentes castas de obreras (aprox. 200 individuos). El hongo y las obreras fueron mantenidos en recipientes plásticos redondos, donde además fueron provistos de diferentes tipos de material vegetal. Las mini-colonias preparadas de este modo fueron utilizadas para la evaluación de aceites esenciales y extractos de plantas como repelentes. Además se evaluó la toxicidad y el efecto repelente del nanoinsecticida NSA sobre obreras.

**Búsqueda de repelentes.** En *Acromyrmex spp.* se evaluó el efecto repelente del farnesol sintético, aceite esencial de limón (*Citrus limón*) y tea tree (*Melaleuca alternifolia*) y del extracto metanólico de *Salix nigra* en condiciones de laboratorio y de campo. Los resultados mostraron un fuerte efecto repelente del aceite de tea tree en condiciones de campo, y del farnesol en diferentes concentraciones como repelente de contacto que disminuye la actividad de recolección sobre estacas de *Salix spp.* Actualmente se están desarrollando los ensayos de persistencia en condiciones de semicampo.

**Búsqueda de atrayentes.** Considerando que la naranja es ampliamente utilizada para atraer a las hormigas, se determinó el grado de atracción de las distintas partes de la naranja. Se realizaron ensayos de preferencia con cáscara y pulpa intactas, y con sólo sus volátiles. Los resultados mostraron que los volátiles de la pulpa de naranja fueron significativamente más atractivos que los de la cáscara en condiciones de laboratorio. Luego se puso a punto la recolección y análisis de dichos volátiles por cromatografía gaseosa, con el objeto avanzar en la búsqueda de los semioquímicos responsables de la atracción. Los resultados preliminares muestran diferencias entre los componentes de ambas partes de la fruta. La cáscara posee mayor cantidad y diversidad de componentes. Estos resultados deberán verificarse con un mayor número de muestras. Además, es necesario identificar los mismos utilizando el Espectrómetro de Masas, y luego elegir los candidatos responsables del efecto atrayente y evaluar los estándares de los mismos con las hormigas en un olfatómetro en Y.

**Estrategia que combina atrayentes y repelentes.** Se evaluó en laboratorio la eficacia de la estrategia Estímulo –Repelente (i.e. “Push-Pull”) utilizando estacas de 22 cm de *Salix spp.* El ensayo consiste en presentar en una cuba de plástico (33X46X12 cm), que actúa como arena de forrajeo, dos grupos de estacas, uno representa al cultivo a proteger y está rodeada por un hilo con 50 mg de Farnesol, y un recipiente con avena en la parte superior. El farnesol actúa como estímulo “push”. El otro grupo de estacas representa al estímulo atrayente. Para ello, las estacas poseen además de avena en la parte superior, un recipiente perforado con pulpa de naranja que permite la salida de los volátiles. Este grupo de estacas representa el estímulo “Pull”. La única diferencia entre los dos grupos de estacas son el atrayente en unas y el repelente en las otras.

Se conecta una colonia de hormigas a la arena de forrajeo por medio de un puente de madera, y se cuenta el número de hormigas que cruzan el hilo de cada estaca. Independientemente se realiza un ensayo Control idéntico al anterior pero sin

naranja, para comparar la eficiencia del farnesol solo como repelente, y el farnesol dentro de la estrategia Push-Pull, con un atrayente actuando simultáneamente.

Los resultados mostraron que el número de hormigas que cruzan el hilo con farnesol disminuye en presencia de estacas con volátiles de naranja. De esta manera, la presencia de un atrayente en las cercanías sinergiza el efecto del repelente y sienta las bases para continuar trabajando en la estrategia Push-Pull que nunca ha sido previamente usada en hormigas cortadoras.

Efecto de la alúmina nanoestructurada (NSA). La toxicidad de la NSA sobre hormigas obreras y su efecto repelente fue determinada en condiciones de campo y laboratorio en caminos de forrajeo y en cebos alimenticios. Primero se colocaron papeles de filtro sobre caminos de forrajeo establecidos. En cada nido se eligieron dos caminos: control (papel de filtro solo) y tratado (papel de filtro con 30 mg NSA). Luego de media hora de colocado el papel de filtro en cada camino se evaluó el tráfico sobre el papel. Las observaciones se realizaron inmediatamente de colocado el polvo NSA, a la media hora, y a las dos horas. Segundo, se eligieron dos caminos de forrajeo establecidos con un tráfico similar. Se colocó un cebo que consistía en un papel de filtro sobre el cual se colocaban 30 mg de NSA con 30 granos de avena arrollada a unos 5 cm de cada camino. El cebo control tenía 30 granos de avena arrollada sobre el papel de filtro. Se observó la cantidad de granos de avena en el cebo a la media hora, a la hora, y a las 24 horas. Los resultados no mostraron diferencias significativas ni en el número de hormigas en los distintos tratamientos ni en la avena colectada, lo que sugiere que no es repelente ni deterrente alimenticio. Dado que la NSA actúa como insecticida en obreras, estos resultados son interesantes porque abren la posibilidad de idear una estrategia de control donde las hormigas puedan ingresar material contaminado con NSA y eventualmente incorporarlo al hongo simbionte. El efecto de la NSA sobre el hongo simbionte aún debe ser evaluado.

## MODULO AVISPA SIERRA

Comportamiento de búsqueda de hospedador. Se identificaron los genotipos de sauce más y menos susceptibles al daño por avispa sierra de un total de 6 genotipos experimentales y comerciales. Para ello se realizaron ensayos de selección múltiple ofreciéndole a una avispa adulta ramas de estos genotipos y evaluando la preferencia de oviposición. Se determinó que los genotipos más afectados son aquellos con genes de *Salix nigra*, mientras que los menos afectados poseen genes de *S. viminalis*. A partir de estos resultados se avanzó con el estudio de las claves volátiles y de contacto que podrían estar involucradas en la orientación y selección de la planta hospedadora. Se caracterizó la microestructura de las hojas por microscopía óptica y electrónica. Se recolectaron los volátiles emitidos por las plantas con la técnica de espacio de cabeza y se extrajeron las ceras cuticulares mediante lavados con diclorometano. El análisis químico de metabolitos secundarios volátiles y de contacto se realizó por cromatografía gaseosa y líquida de alta resolución. Los resultados muestran diferencias en la composición de volátiles y de ceras cuticulares entre el genotipo más y el menos preferido. Bioensayos de laboratorio en olfatómetro en Y mostraron que la avispa sierra se orienta preferentemente hacia volátiles de *S. nigra*. Este genotipo emite tres veces más compuestos volátiles totales que el genotipo no preferido. Además, emite significativamente más (Z) y (E)- $\alpha$ -ocimeno, undecano y decanal. El efecto de estas sustancias volátiles como kairomonas de atracción deberá ser posteriormente evaluado. No se encontraron diferencias en la micromorfología de los distintos genoti-

pos evaluados. Sin embargo, la composición química de las ceras cuticulares sugiere una mayor diversidad química y la presencia de salicina en *S. nigra* que podrían actuar como claves de contacto para la oviposición de las hembras de avispa sierra.

Evaluación de insecticidas no piretroides. Se evaluaron los insecticidas no piretroides metoxifenocida (regulador de crecimiento), spinosad (neurotóxico), azadiractina (disruptor de la muda) y *Bacillus thuringiensis* var. Aizawai (disruptor de la membrana del intestino medio de insectos) sobre larvas de los estadios 3 y 4 de avispa sierra. Se midió el porcentaje de mortalidad a las 24, 48 y 72 hs luego de su aplicación. De acuerdo a los resultados obtenidos, se sugiere el uso de metoxifenocida, ya que mostró una buena performance y su utilización es relativamente sencilla.

## CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo estimulan la investigación con semioquímicos para el control no contaminante de plagas ya establecidas en plantaciones de cultivo del delta del Paraná. La combinación de distintas estrategias, como el uso de repelentes de hormigas para proteger los cultivos, sumado a la utilización de un atrayente que las dirija hacia un cebo insecticida, son herramientas concretas que pueden comenzar a probarse en condiciones de campo. En el caso de la avispa sierra, se avanzó con la caracterización de kairomonas de atracción con posibilidad de incluirlas en trampas para monitoreo y se propuso la utilización de insecticidas no piretroides, más amigables con el ambiente.