



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**Patrones de herbivoría y coocurrencia de hormigas cortadoras de
hojas en forestaciones y áreas naturales del Bajo Delta del Río
Paraná, Argentina**

Tesis presentada para optar al título de Doctora de la Universidad de Buenos Aires
en el área Ciencias Biológicas

Lic. Nadia Lis Jiménez

Directores de tesis: Dr. Luis Alberto Calcaterra
Dr. Alejandro Gustavo Farji-Brener

Consejero de estudios: Dr. Pablo Ernesto Schilman

Lugar de trabajo: Fundación para el Estudio de Especies Invasivas (FuEDEI)

Fecha de defensa: 27 de Marzo de 2019

Patrones de herbivoría y coocurrencia de hormigas cortadoras de hojas en forestaciones y áreas naturales del Bajo Delta del Río Paraná, Argentina

Resumen. Las hormigas cortadoras de hojas (HCH, géneros *Atta* y *Acromyrmex*) son una de las plagas forestales más importantes debido a los daños económicos que ocasionan tanto por defoliación como por los gastos que implica su control. La región del Bajo Delta del Río Paraná posee extensas plantaciones de sauces (*Salix* spp.) y álamos (*Populus* spp.), hábitat de dos especies simpátricas de HCH, *Acromyrmex lundii* y *Acromyrmex ambiguus*. El objetivo fue estimar el daño y determinar los factores que influyen sobre la preferencia e intensidad de defoliación de estas HCH en forestaciones recién implantadas, así como estudiar factores bióticos y abióticos que puedan explicar la coexistencia de ambas especies de HCH en esta región. Se estudiaron sus patrones de actividad de forrajeo y cosecha en la Estación Experimental Agropecuaria Delta del Paraná- INTA (EEA INTA Delta). En las estaciones extremas presentaron comportamiento similar, forrajeando en invierno en las horas más cálidas y en verano por las noches; mientras que en primavera *A. lundii* acarreó el triple de material vegetal seco (30,1 gr) a lo largo del día. En otoño, *A. lundii* colectó material durante todo el día mientras que *A. ambiguus* solo durante las horas más cálidas. Las temperaturas mínimas y máximas de actividad de forrajeo de las obreras registradas en los senderos se compararon con los límites mínimos (TC_{mín}) y máximos (TC_{máx}) de tolerancia térmica de las obreras de ambas especies en el laboratorio. El intervalo de tolerancia térmica de *A. lundii* fue mayor (3,2- 45,9 °C) y contuvo al de *A. ambiguus* (4,5- 45,0 °C). Las temperaturas mínimas en campo fueron mayores a la TC_{mín} y las máximas fueron menores al TC_{máx}, es decir, las obreras forrajearon siempre dentro de sus límites térmicos. Por otra parte, ambas especies se recuperaron de manera similar luego de permanecer 1 y 3 horas a 0 °C. En laboratorio se analizó la preferencia de *A. lundii* y *A. ambiguus* hacia diferentes clones de sauce y álamo en relación a dos especies nativas de plantas (sauce criollo y ceibo), encontrando que los sauces fueron más seleccionados que los álamos y éstos, a su vez, que el ceibo. Con el fin de determinar estas preferencias a campo, se instaló una plantación con cuatro clones comerciales de sauce en la EEA- INTA Delta y se la siguió durante cinco años. Se observó que el daño en el follaje, producto del ataque de las HCH, afectó negativamente el crecimiento en altura y en diámetro y el volumen de madera producido de los clones, siendo mayor las pérdidas en dos de ellos (76- 93 % de pérdida en volumen de madera al quinto año). Los efectos del daño fueron más importantes durante los tres primeros años, para luego estabilizarse. Se estimó además el nivel de daño económico (11 nidos/ha) y el umbral de acción (3 nidos /ha) para *A. lundii*, en el primer año de una plantación de *Salix nigra* 4 en Entre Ríos. Ambos valores son importantes para el manejo y un requisito fundamental para obtener la certificación forestal (FSC). Por último, se determinó el impacto poblacional de acuerdo a las densidades de nidos por hectáreas en forestaciones, matrices de forestaciones y ambientes naturales. *Acromyrmex lundii* y *A. ambiguus* generaron un impacto anual de 83 y 26 kg/ha de material seco recolectado, respectivamente. Este trabajo aporta datos novedosos de la historia natural de dos especies simpátricas de HCH, e información relevante para su manejo y control en plantaciones forestales del Bajo Delta del Río Paraná, Argentina.

Palabras claves: Bajo Delta del Río Paraná, cuantificación de daño, hormigas cortadoras de hojas, nivel de daño económico, patrones de forrajeo, preferencia, Salicaceae, tolerancia térmica.

Herbivory patterns and cooccurrence of leaf-cutting ants in afforestation and natural areas in the Lower Delta of the Paraná River, Argentina

Abstract. Leaf-cutting ants (LCA, *Atta* and *Acromyrmex* genera) are one of the most important forestry pests due to the economic damages caused by defoliation as well as the costs caused by their control. The Lower Delta of the Paraná River region, habitat of two sympatric species of LCA, *Acromyrmex lundii* and *Acromyrmex ambiguus* has extensive plantations of willows (*Salix* spp.) and poplars (*Populus* spp.). The objective was to estimate the damage and determine the factors that influence the preference and intensity of defoliation of these LCA in newly implanted forestations, as well as to study biotic and abiotic factors that may explain the coexistence of both LCA species in this region. The foraging and harvesting activity patterns of both LCA species were studied in the Agricultural Experimental Station Delta of Parana- INTA (EEA INTA Delta). During extreme seasons, they presented a similar behavior, foraging in winter in the warmest hours and in summer at night; while in spring *A. lundii* carried three times more dry plant material (30.1 gr) throughout the day. In autumn, *A. lundii* harvested throughout the day while *A. ambiguus* only during the warmest hours. The temperatures of initiation and cessation of activity in the field were compared with the minimum (CTmin) and maximum (CTmax) limits of thermal tolerance of the workers of both species measured at the laboratory. The thermal tolerance interval of *A. lundii* was higher (3.2- 45.9 °C) and contained that of *A. ambiguus* (4.5- 45.0 °C). Workers did not reach their thermal limits in the field: minimum temperatures were higher than the CTmin and maximum temperatures were lower than the CTmax. On the other hand, both species recovered similarly after remaining 1 and 3 hours at 0 °C. In the laboratory, the preference of *A. lundii* and *A. ambiguus* was analyzed for different clones of willow and poplar in relation with two native plant species (native willow and ceibo tree), finding that the willows were more selected than poplars and these more than the ceibo tree. In order to determine these preferences in the field, a plantation with four commercial clones of willow was established in the EEA-INTA Delta and studied for five years. It was observed that leaf damage caused by the LCA attack negatively affected the growth in height and diameter and the volume of wood produced by the clones, with greater losses in two of them (76- 93 % loss in wood volume in the fifth year). The damage effects were more important during the first three years of implantation, and then it stabilized. The level of economic damage was estimated (11 nests/ha) and the action threshold (3 nests/ha) for *A. lundii* in the first year of a *Salix nigra* 4 plantation in Entre Ríos. Both values are important for management and a fundamental requirement to obtain a forestry certification (FSC). Finally, the population impact was determined according to the nests densities per hectare in afforestation, afforestation matrix and natural environments. *Acromyrmex lundii* and *A. ambiguus* generated an annual impact of 83 and 26 kg/ha of dry material collected, respectively. This work provides novel data on the natural history of two sympatric species of LCA, and relevant information for their management and control in forest plantations in the Lower Delta of the Paraná River, Argentina.

Keywords: Lower Delta of the Paraná River, damage quantification, foraging patterns, leaf-cutting ants, level of economic damage, preference, Salicaceae, thermal tolerance.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de Buenos Aires por formarme con una educación de calidad y de manera gratuita tanto en mi carrera de grado como en mi formación doctoral.

A mis directores, Luis Calcaterra y Alejandro Farji-Brener por aceptar emprender este proyecto conmigo. Por sus consejos y sus enseñanzas a lo largo de estos cinco años.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por otorgarme una beca que permitió mi manutención durante los cinco años de desarrollo de esta tesis.

A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) por la otorgación de un subsidio que permitió costear los gastos de esta tesis.

A la Fundación para el Estudio de Especies Invasivas (FuEDEI) por brindarme un laboratorio de excelencia en el cual trabajar. A todos y cada uno de mis compañeros y amigos de la FuEDEI con los que fue un placer compartir 5 años de ciencia, risas, ferias, paseos, trabajos y almuerzos. A todos los que me ayudaron desinteresadamente en campo poniendo la mejor onda y buena voluntad: Mariel Guala, Andrés Sánchez Restrepo, Sol Porcel, Cristian Battagliotti, Marina Oleiro y Carolina Mengoni. A los que han cuidado mis plantas y colonias de hormigas mientras estaba en campo, enferma o de vacaciones: Belén Aguirre, Belén Fernández y Claudia Coria. A mi querida Beige Carpet: Ana Faltlhauser, Belén Fernández y Tomás Righetti, es un placer compartir oficina con ustedes, hacen todo más divertido. A Alejandro Sosa por prenderse y acompañarme en todos los proyectos de extensión que se nos presentan. A Guillermo Logarzo por adoptarme para la etapa siguiente de mi formación profesional y por la música y películas compartidas. A Arabella Peard por su ayuda desinteresada con los textos en inglés. A Andrés, mi querido latino, por ser un maestro más y enseñarme sobre el fascinante mundo de las hormigas. A Belén Aguirre, por ser una gran compañera y amiga, con la que es un placer compartir ya sea la carrera como el laboratorio, pero por sobre todo la danza y la música. Gracias Ana Faltlhauser por ser una gran amiga, prestarme tu oído, brindarme consejos, enseñarme alemán y compartir la pasión por la cerveza. Un especial agradecimiento a Fernando Mc Kay por ser un gran soporte y compañero en este último tiempo, transitando juntos la etapa final de nuestros doctorados...te banco!!!! Es hermoso encontrar y reencontrarse con amigos en el labo!!! Gracias a las Belenes, a Falsi y a Male, las quiero muchísimo.

A la Estación Experimental Delta del Paraná del INTA por brindarme la libertad de llevar a cabo mi trabajo de campo en tan hermoso lugar. Gracias a la calidez inmensa de la gente que trabaja allí, en especial a Edgardo Casaubon, Guillermo Madoz, Manuel García Cortes y Teresa Cerrillo, por ayudarme en todo momento y tener la mejor predisposición para cualquier nueva cosa que se me ocurría llevar adelante en campo. Gracias también por las largas charlas y momentos compartidos, los aprecio inmensamente y quedarán en mi corazón para siempre. A Tere gracias también por permitirme trabajar con sus sauces. Muchas gracias, a toda la gente que me ayudo en campo en el mantenimiento de los bloques: Hugo, Silvio, Daniel y muchos más. A Roberto Pellarín por ayudarnos mientras nos hospedábamos en la casita de la experimental. A todos los que me ayudaron con la movilidad hacia la experimental: Silvia Cortizo, Daniel Somma, Sebastián Fernández, Mauro Fernández y Quique Frusso. A Silvia gracias también por donarme los álamos para trabajar.

A las chicas de Agronomía: Daiana Perri, Patricia Fernández y Norma Gorosito por compartir y acompañarme en este hermoso mundo de hormigas y plantaciones. Son personas hermosas, siempre dispuestas a ayudarme y compartir su conocimiento y experiencias conmigo.

A la Reserva Natural Otamendi por permitirme trabajar allí, en especial a Liliana Ciotek y Pablo Giorgis, guardaparques de la reserva allá por los inicios de mi doctorado, por su inmensa ayuda en el campo y su buena onda.

A la gente de ARAUCO Argentina que ayudo en los seguimientos de los ensayos, en especial a Ignacio Fosco y Matías Danna por brindarnos su confianza, la posibilidad de trabajar allí y por su buena predisposición.

A Pablo Schilman por ser mi consejero de estudios y por permitirme destrozarle su laboratorio en mi paso por la fisiología. Gracias inmensas a él y a todo su equipo: Carmen, Francisco y Nacho. Fueron unos meses intensos y muy interesantes de trabajo en Exactas.

A los alumnos de Ecología General del año 2017 por su colaboración en el trabajo de campo en la Reserva Natural Otamendi.

A mis amigos de la vida: Eli, Cuchu y Sabri. Gracias por estar siempre y desde siempre bancando el tener una amiga bióloga. Sé que no es tarea fácil pero siempre se muestran alegres de escucharme divagar sobre la naturaleza.

A mi amigos Exactos, son uno de los mejores regalos que me pudo haber brindado la carrera, sin ustedes nada sería lo mismo. A los Toquetones: Anto, Chu, Maty, Eli, Naty,

Sabri, Romy, Male, Flor, Pame, Day, Pau F., Pau. C, Ale y Rodri. Es maravilloso transitar este camino con ustedes, compartir risas, birras, viajes y la vida misma.

Eli y Naty es hermoso tenerlas de amigas y caminar a la par suya...Las adoro.

Romy seguís siendo una amiga de fierro aún a kilómetros de distancia, te quiero sirenita.

A las Calzas de María Marta: Anto, Chu, Maty, Sabri, Bochi y José, por ser fuente inagotable de diversión, delirios, experiencias alimenticias y porque nunca es un mal momento para charlar con unas cervecitas de por medio.

Anto, amiga adorada, gracias por estar siempre, por ser mi confidente, por nunca juzgarme y por acompañare siempre en las buenas y en las malas. Te adoro con el alma.

Al Chu, mi gran pez personal, no quiero escuchar ninguna historia sin saber que va a tener tu versión esquizofrénica y distorsionada de la realidad.

A Maty, por demostrarme que las primeras impresiones engañan y que puedes encontrar a una de tus personas favoritas en donde menos lo esperas. Gracias por tantos momentos hermosos compartidos, vacaciones y por tan buena música. Te quiero muchísimo.

A las Unas: Lu, Lily y Gaby, por ser grandes amigas y compartir tantos momentos de la vida desde hace tanto tiempo. Gracias Lily por hacerme tía con Helenita.

A mi familia de cuatro patas y alas: a Breta, la perra más dulce y compañera del mundo, fuente inagotable de mimos y amor, y al gordo que me quiere cuando él quiere. También a los que ya no están: a Katy, eterna en mi recuerdo, al Pipi con sus hermosos cantos y Pintitas, mi primer amigo gatuno. Agradecimientos también a los que me han acompañado en el trabajo: a Maru en la FuEDEI y a Mía en la EEA INTA Delta.

Y por último, pero no por eso menos importante, a mi familia: a mi hermana Mili, a mi mamá Any y a mi papá Ponys. Gracias por acompañarme en este camino, por apoyarme y estar presente en todos mis logros personales y científicos, por escucharme y mostrarse interesados siempre que hablo de ciencia, por apasionarse conmigo cuando me ven emocionada con los bichos. Pero por sobre todas las cosas, por criarme como una buena persona, por enseñarme la belleza de las cosas simples, por ser el mejor ejemplo que uno puede tener de esfuerzo, dedicación y trabajo. Gracias Mili por ser la única persona en el mundo que siempre me apoya y confía en mí incondicionalmente. Los amo infinitamente.

*A mi abuela Pocha,
que habría disfrutado mucho con mis logros.*

ÍNDICE

Resumen.	3
Abstract.....	5
AGRADECIMIENTOS.....	7
ÍNDICE	13
 Capítulo I: INTRODUCCIÓN GENERAL	15
Objetivo general	20
Objetivos específicos.....	20
Área de estudio	21
Trabajo en laboratorio.....	23
Especies de hormigas presentes en los sitios de estudio	25
Estructura de la tesis	27
 Capítulo II: PATRONES DE ACTIVIDAD DE FORRAJE Y COSECHA.....	29
Resumen	29
Introducción.....	31
Objetivo específico	33
Materiales y métodos	33
Resultados	36
Discusión.....	42
 Capítulo III: TOLERANCIA TÉRMICA.....	47
Resumen	47
Introducción.....	49
Objetivo específico	51
Hipótesis y predicción.....	51
Materiales y métodos	51
Resultados	56
Discusión.....	61
 Capítulo IV: PREFERENCIA VEGETAL.....	65
Resumen	65
Introducción.....	67
Objetivo específico	68
Materiales y métodos	69

Resultados	75
Discusión.....	75
Capítulo V: CUANTIFICACIÓN DE LA TASA DE DAÑO	79
Resumen	79
Introducción.....	81
Objetivo específico	83
Materiales y métodos	83
Resultados	87
Discusión.....	102
ANEXO.....	107
Capítulo VI: NIVEL DE DAÑO ECONÓMICO Y UMBRAL DE ACCIÓN	111
Resumen	111
Introducción.....	113
Objetivo específico	114
Materiales y métodos	114
Resultados	119
Discusión.....	124
Capítulo VII: IMPACTO POBLACIONAL SOBRE LA VEGETACIÓN	127
Resumen	127
Introducción.....	129
Objetivo específico	130
Materiales y métodos	131
Resultados	133
Discusión.....	137
ANEXO.....	139
Capítulo VIII: CONCLUSIONES GENERALES.....	141
ABREVIATURAS.....	145
BIBLIOGRAFÍA	147

Capítulo I

INTRODUCCIÓN GENERAL



El éxito de una plantación forestal depende en gran medida del control de los insectos plaga. Los insectos, al dañar o consumir diferentes estructuras de la planta, reducen el crecimiento y favorecen el ingreso de hongos y patógenos en los árboles atacados, lo que incrementa la mortalidad produciendo enormes daños económicos. Estos perjuicios no solo se generan por una baja en la producción forestal, sino debido a los gastos que ocasiona su manejo y control (Pérez et al., 2011). Por estos motivos, conocer las causas de la variación en sus niveles de ataque, así como estimar adecuadamente su impacto sobre las plantas, es vital para planificar una adecuada estrategia de control de los insectos plaga (Pérez et al., 2011; Montoya-Lerma et al., 2012; Nickele et al., 2012).

Las hormigas del género *Acromyrmex* y *Atta* (Formicidae: Attini), comúnmente conocidas como hormigas cortadoras de hojas (HCH), ocasionan un gran impacto sobre la vegetación en la región neotropical, superando incluso a mamíferos y a otros insectos como Homópteros y Lepidópteros (Hölldobler & Wilson 1990). En particular, las HCH son consideradas como una de las principales plagas forestales de América (Cherrett 1986; Fowler et al., 1986). Estas hormigas cortan hojas y flores de una gran variedad de especies de plantas, y con ese material vegetal cultivan un hongo simbiote, perteneciente a la tribu Leucocoprineae, en el interior de sus hormigueros (Cherrett et al., 1989; Gruber & Valdix 2003; Wirth et al., 2003; Hölldobler & Wilson 2011; Figura 1.1). El hongo forma unas estructuras específicas ricas en carbohidratos y lípidos, las *gongylidias*, que son el principal alimento de las larvas (Littledyke & Cherrett 1976). Las obreras pueden incorporar una pequeña proporción del hongo a su dieta, pero su fuente de alimentación principal es la savia que obtienen cuando cortan hojas y flores (Littledyke & Cherrett 1976; Cherret et al., 1989; Gruber & Valdix 2003; Wirth et al., 2003). Dependiendo de la densidad y tamaño de sus nidos, la edad de la plantación y las condiciones ambientales en el momento del daño, las HCH pueden llegar a eliminar sectores importantes de plantaciones jóvenes en corto tiempo (FAO 2006). Della-Lúcia (1993) informó que los ataques a árboles de menos de 6 meses de edad causan reducciones de hasta el 32 % en su altura, 25 % en su circunferencia y un 60 % de la producción maderera. Adicionalmente, el control de las HCH puede representar hasta el 75 % del presupuesto total dedicado al manejo de plagas (Vilela 1986; Cantarelli et al., 2008) y es principalmente intenso durante los dos primeros años de iniciada una plantación (Lewis & Norton 1973; Vasconcelos & Cherrett 1997; Cantarelli et al., 2008; Nickele et al., 2012). Sin embargo, las HCH no atacan con la misma intensidad todas las especies de plantas. La elección de las hormigas hacia ciertas especies vegetales puede estar determinada por características propias de las especies de HCH, de las especies de plantas, por la edad de la colonia y por características del ambiente (Hölldobler & Wilson 1990). Por ejemplo, Goitia (2010) analizó la diferencia de corte entre dos especies

simpátricas: *Acromyrmex lundii* y *Acromyrmex heyeri*, concluyendo que la primera prefiere cortar dicotiledóneas mientras que *A. heyeri* corta exclusivamente monocotiledóneas.

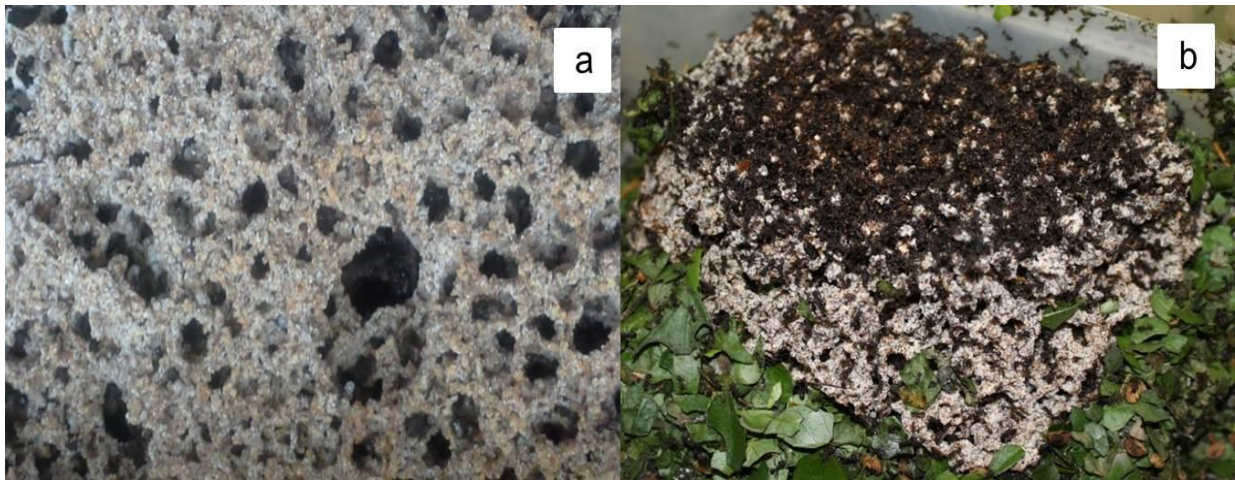


Figura 1.1: Honguera de (a) *Acromyrmex ambiguus* y (b) *A. lundii*, en donde reina, obreras, huevos, larvas y pupas conviven, que funciona como hogar y alimento.

En relación a las características de las plantas, las HCH evitan cortar especies o individuos con altas concentraciones de compuestos químicos defensivos en sus hojas, como también aquellas especies que poseen hojas con altos niveles de defensas físicas, las cuales pueden variar entre especies, individuos de una misma especie e incluso entre hojas de un mismo individuo (Littleddyke & Cherrett 1978; Howard 1987, 1988; Farji-Brener 2001). Dado que las especies forestales son comercialmente seleccionadas, entre otras cosas, por su alta tasa de crecimiento, comúnmente poseen una menor concentración de defensas químicas y físicas que especies de crecimiento lento (Vasconcelos & Cherrett 1995; Farji-Brener 2001). Además, como la mayoría de las especies forestales no son nativas del Neotrópico, no coevolucionaron con las HCH y de esta manera, no desarrollaron defensas específicas contra este tipo de hormigas que producen un alto impacto por defoliación (Montoya-Lerma et al., 2012). Esto convierte a las especies forestales especialmente sensibles al ataque de las HCH.

Por otra parte, la estructura y composición de la comunidad vegetal también afecta la actividad de las HCH (Wirth et al., 2003). La oferta relativa estacional de las especies (e. g., la composición de la comunidad vegetal) y sus estructuras (hojas, flores, frutos) pueden afectar tanto la intensidad del forrajeo como la selección de ciertas especies de plantas. En particular, en el caso de las forestaciones, el tipo de matriz donde la plantación está inmersa es también de gran importancia, ya que puede afectar la densidad de hormigueros y la disponibilidad de sus enemigos naturales. Si la plantación está inmersa en áreas naturales con gran disponibilidad de plantas palatables, las mismas pueden funcionar como fuentes

alternativas de recolección para las HCH (Vasconcelos & Cherrett 1995). En consecuencia, tanto la identidad como la edad de las especies forestales, así como también la matriz que las contiene (i. e., la abundancia relativa de otras especies de plantas preferidas por las HCH) pueden influir sobre los niveles potenciales de daño o las preferencias de las HCH hacia la plantación.

Además, la edad de la colonia influye sobre la selección de las especies vegetales y en los patrones de forrajeo. Colonias jóvenes de *Atta* spp. consumen preferencialmente herbáceas y pequeñas plantas cercanas a los nidos, a las cuales acceden a través de senderos cortos y directos (Kost et al., 2005). A medida que la colonia madura y crece en tamaño, estos recursos efímeros no alcanzan para suplir los requerimientos energéticos y es necesario explorar, mediante un nivel mayor de bifurcaciones de senderos, nuevas fuentes vegetales como especies arbóreas (Kost et al., 2005).

Finalmente, las características del ambiente donde habitan las HCH también afectan la selección de las especies vegetales y la intensidad del daño causado. Variables abióticas como la temperatura, la humedad, las precipitaciones y los pulsos de inundación pueden afectar los patrones de distribución y la abundancia de las colonias de HCH generando picos de actividad o incrementos poblacionales en ciertas épocas del año (e. g., primavera y verano). Uno de los principales factores abióticos que puede influir sobre los patrones de forrajeo de las HCH es la temperatura, determinando por ejemplo, los momentos del día o las estaciones del año en los cuales están más activas recolectando material vegetal. En animales ecto-térmicos como las hormigas, la tolerancia térmica es plástica y está modulada por el ambiente, la ontogenia, la masa corporal del individuo y la aclimatación natural previa, que depende de las tasas de incremento o disminución de la temperatura, entre otros factores (Chown et al., 2009; Nyamukondiwa & Terblanche 2010; Ribeiro et al., 2012). Adicionalmente, si existen dos o más especies que han evolucionado en simpatria, sus patrones de actividad pueden estar modelados para evitar la competencia. Esto provoca que la/s especie/s dominantes forrajeen mayormente a temperaturas más adecuadas para su desarrollo, en general lejanas a sus límites térmicos; mientras que la/s subordinada/s lo hacen mayormente a temperaturas extremas o perjudiciales que en general se encuentran cercanas a sus límites térmicos (Lynch et al., 1980; Cerdá et al., 1998; Bestelmeyer 2000; Nobua Behrmann et al., 2017).

En particular, la región del Bajo Delta del Río Paraná es uno de los más importantes humedales de Argentina (Ramsar 2008) y posee aproximadamente 83.000 ha de cobertura vegetal original que fueron reemplazadas por Salicáceas (Borodowski 2011). Aquí se concentra un importante número de productores de madera del país, siendo un 85 %

plantaciones de sauces (*Salix* spp.) ubicadas en las partes más bajas del terreno, y álamos (*Populus* spp.) plantados mayormente en los albardones (Kandus et al., 2006; Borodowski 2011). Debido a la concentración de plantaciones en el área y a la coocurrencia de dos especies de HCH plaga, *Acromyrmex lundii*, de gran impacto en toda la cuenca del Río Paraná y *Acromyrmex ambiguus*, la región es adecuada para llevar a cabo ensayos con HCH en forestaciones y áreas naturales (Sánchez Restrepo et al., 2019).

Por todos los motivos mencionados, es fundamental comprender mejor el impacto de estas dos especies simpátricas de HCH sobre las forestaciones de salicáceas en el Bajo Delta del Río Paraná. Para ello se debe evaluar la influencia de la especie forestal vegetal y/o clon implantado, su edad y la composición de la matriz en donde la plantación está inmersa sobre el daño causado por las HCH, así como aspectos de su biología, como lo son sus patrones de forrajeo, su tolerancia térmica y su preferencia frente a distintas especies vegetales, que ayuden a explicar su coexistencia en esta región.

Objetivo general

Estudiar el daño por defoliación causado por dos especies simpátricas de hormigas cortadoras de hojas, *A. lundii* y *A. ambiguus*, en plantaciones forestales de salicáceas y en áreas naturales del Bajo Delta del Río Paraná, analizando cómo diferentes factores bióticos y abióticos afectan sus patrones de herbivoría y favorecen su coocurrencia.

Objetivos específicos

1. Estudiar los patrones de actividad de forrajeo y la cosecha de biomasa de *A. lundii* y *A. ambiguus* en el campo a lo largo (i) del día y (ii) del año y determinar el grado de solapamiento temporal.

2. Determinar los límites de tolerancia térmica (temperaturas críticas mínimas y máximas) en el laboratorio de *A. lundii* y *A. ambiguus* y las temperaturas de la actividad de forrajeo en el campo en las estaciones del año más contrastantes (invierno y verano) con el fin de establecer si alguna de las especies forrajea más próximo a sus límites de tolerancia térmica que la otra.

3. Estudiar la preferencia de *A. lundii* y *A. ambiguus* hacia especies exóticas comúnmente utilizadas en plantaciones forestales (sauces y álamos) y especies nativas

presentes en las matrices asociadas y relacionarlo con la dureza de sus hojas, una de las potenciales defensas físicas de las especies vegetales contra la herbivoría.

4. Cuantificar la tasa de daño producido por *A. lundii* y *A. ambiguus* en forestaciones de sauces comerciales en función del efecto de (i) la especie y/o clon forestal cultivado y (ii) la edad de la plantación, con el propósito de establecer cuáles son las especies/clones menos atacados y/o más resilientes al daño y hasta qué edad es necesario controlar a las hormigas en la plantación.

5. Estimar el nivel de daño económico y el umbral de acción causados por *A. lundii*, la especie de HCH más perjudicial de Argentina, durante el primer año de una plantación del clon de sauce negro, Nigra 4, en el sureste de la provincia de Entre Ríos.

6. Determinar el impacto de *A. lundii* y *A. ambiguus* sobre la vegetación a nivel poblacional en función de la densidad de nidos, patrones de actividad de forrajeo y cosecha.

Área de estudio

Los estudios de campo de esta tesis se realizaron en tres sitios (Figura 1.2):

Estación Experimental Agropecuaria Delta del Paraná, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA INTA Delta)

Ubicada en el partido de Campana a orillas del Río Paraná de las Palmas, provincia de Buenos Aires, su extensión está destinada a la producción e investigación forestal, tanto de salicáceas como de pecanes, aunque se combina con trabajos silvo-pastoriles con ganado y apicultura (Figura 1.2). La temperatura puede oscilar entre -3 y 40 °C, con temperaturas medias de 22- 24 °C en enero y oscilaciones entre 8- 12 °C en el mes más frío (Estación meteorológica EEA INTA Delta y EEA INTA Tigre, 2014- 2018). Las precipitaciones anuales promedian los 1.000 mm, siendo las estivales las de mayor intensidad (Estación meteorológica EEA INTA Delta y EEA INTA Tigre, 2014- 2018; Figura 1.3). Adicionalmente, el área está sometido a un régimen constante de inundaciones y vientos del sudeste, que se controlan mediante un sistema de diques y ataja repuntes, realizando de este modo, un manejo efectivo del agua. La EEA INTA Delta posee ambientes donde no se controlan químicamente a las HCH, lo cual hizo factible la realización de diferentes ensayos de campo.

Reserva Natural Otamendi- actualmente Parque Nacional Ciervo de los Pantanos (RNO- PNCP)

La Reserva Natural Otamendi está ubicada en las localidades de Río Luján y Rómulo Otamendi, partido de Campana, en el noreste de la provincia de Buenos Aires (Figura 1.2). Considerada como un sitio Ramsar, fue creada en octubre de 1990, para en 2018 ser declarada parte del nuevo Parque Nacional Ciervo de los Pantanos. Posee una superficie aproximada de 4.088 ha que representan distintas eco-regiones: Delta e Islas del Paraná, Pampa y Espinal (Haene et al., 2003). La RNO- PNCP comprende pastizales de la pampa ondulada y bosques en las zonas más elevadas, mientras que en la zona más baja, pajonales inundables y pastizales salinos. El clima es templado, con condiciones de temperaturas y precipitaciones similares al de la EEA INTA Delta, ya que ambos sitios se encuentran aproximadamente a 7 km, pero separados por el Río Paraná de las Palmas (Figura 1.3). Debido a la cercanía con la EEA INTA Delta, la RNO-PNCP fue considerada una buena opción de matriz natural de plantaciones forestales (pese a la presencia de numerosas especies vegetales exóticas), ya que tampoco se realiza control de las dos especies simpátricas de HCH.

Predio "Isla Victoria"

Perteneciente a la empresa forestal ARAUCO Argentina S. A., la plantación "Isla Victoria" (5.506 ha) está ubicada en Villa Paranacito, cabecera del departamento de Islas del Ibicuy, en el sureste de la provincia de Entre Ríos, Argentina (Figura 1.2). El clima es húmedo templado sin estación seca, aunque las precipitaciones disminuyen en los meses de invierno (Boschetti et al., 2016). La precipitación media anual es de 1.021 mm y la temperatura media anual es de 16 °C, con temperaturas mínimas y máximas de -5 y 39 °C, respectivamente. Debido a la gran cantidad de ríos y arroyos que cruzan la isla, su humedad relativa es alta casi todo el año, alcanzando una media anual de 76 %, con un máximo del 81 % en invierno y un mínimo del 69 % en verano. Los vientos del suroeste disminuyen la velocidad de salida del agua de la cuenca del Río Paraná debido a la pendiente pronunciada, que combinada con la lluvia local y el suministro de agua de la cuenca alta producen periódicamente extensas inundaciones (Silva Busso et al., 2004). En consecuencia, en las plantaciones se realiza un importante manejo del agua, protegiéndolas con diques que impiden el paso del agua durante los períodos de inundación. Este predio fue incorporado por poseer solo a *A. lundii*, la especie plaga de HCH más perjudicial de Argentina (Sánchez Restrepo et al., 2019).

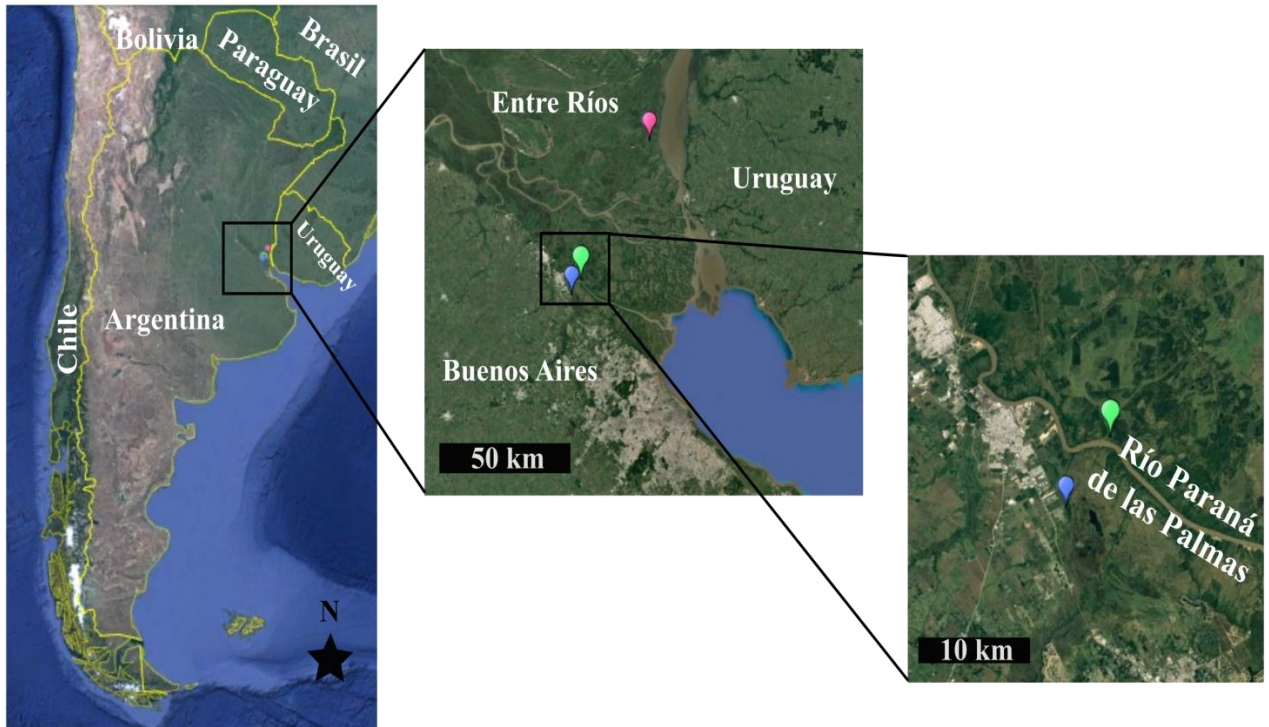


Figura 1.2: Mapa con los tres sitios de estudio de la tesis. En verde se encuentra la EEA INTA Delta y en azul la RNO- PNCP; ambos sitios en el partido de Campana, provincia de Buenos Aires. En rosa se representa “Isla Victoria”, predio de la empresa forestal ARAUCO Argentina S. A., en Villa Paranacito, Entre Ríos.

Trabajo en laboratorio

Los ensayos de laboratorio de esta tesis se llevaron a cabo en la Fundación para el Estudio de Especies Invasivas (FuEDEI) y en el Laboratorio de Eco-Fisiología de Insectos, del Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

FuEDEI

Con el apoyo del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de Argentina, la FuEDEI se creó para reemplazar al Laboratorio Sudamericano de Control Biológico, con 50 años de experiencia en control biológico clásico. A lo largo de su historia, ha investigado las posibilidades de control de más de 44 plagas con un total de aproximadamente 250 enemigos naturales. Actualmente, se llevan a cabo estudios de entomología, botánica,

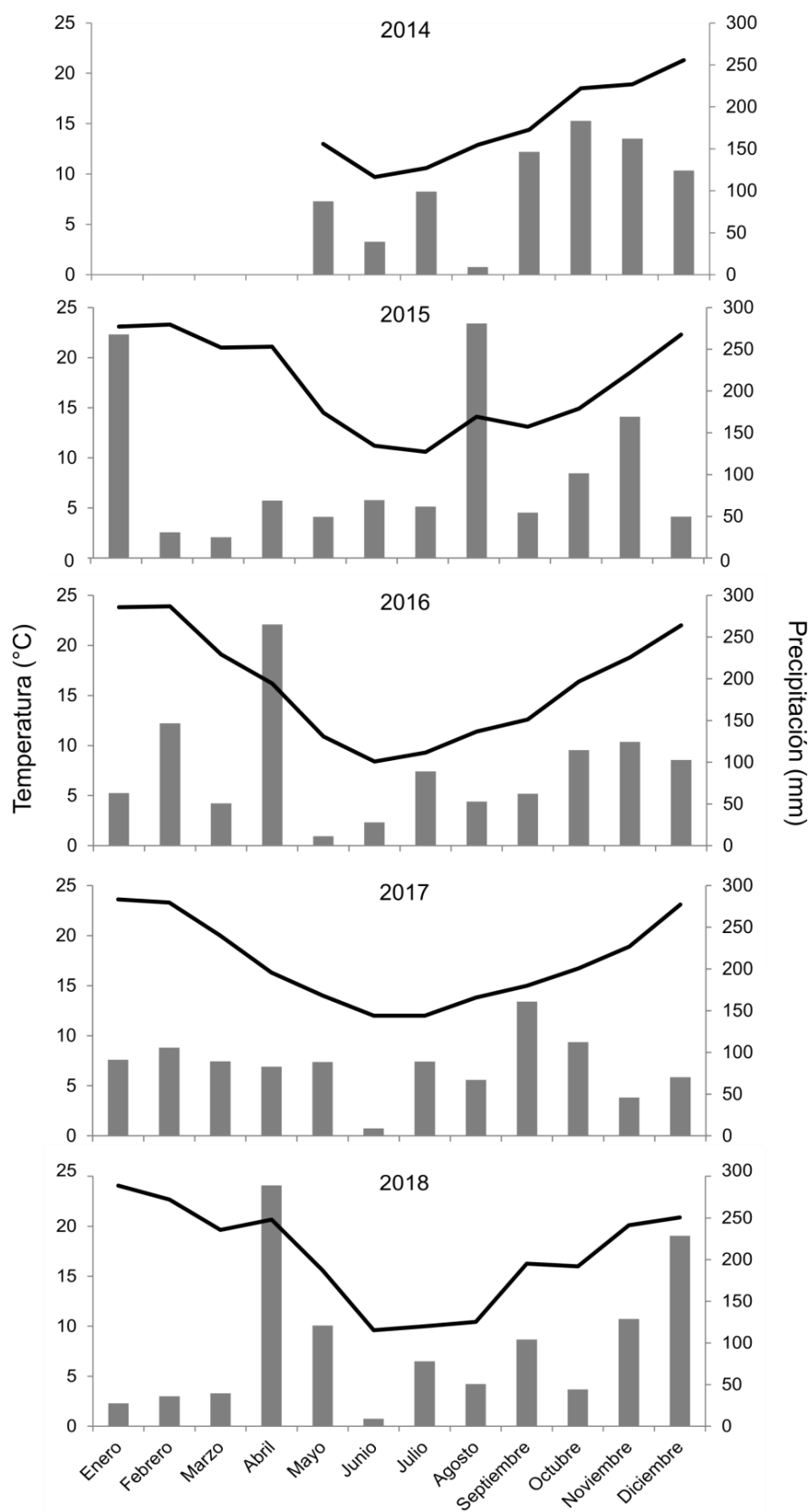


Figura 1.3: Temperaturas medias mensuales (líneas negras) y precipitaciones mensuales (barras grises) durante los años 2014 y 2018 para la EEA INTA Delta y la RNO- PNCP. Los registros fueron obtenidos por estaciones meteorológicas de las EEA INTA Delta y EEA INTA Tigre.

ecología, taxonomía y genética para elaborar estrategias de manejo de especies invasivas incluyendo el desarrollo de agentes de control biológico clásico de malezas e insectos. Además se brinda asesoramiento y apoyo logístico a investigadores e instituciones, generando áreas de cooperación en investigación y experimentación (www.fuedei.org).

Laboratorio de Eco-Fisiología de Insectos

A cargo del Dr. Pablo Schilman, el laboratorio se especializa en eco-fisiología o fisiología ambiental de insectos. Tiene como objetivo conocer las adaptaciones fisiológicas de los insectos a su medio ambiente. En particular, cómo factores abióticos, entre ellos la disponibilidad de agua y la temperatura, afectan el comportamiento, la fisiología de los insectos y las limitantes fisiológicas para su distribución geográfica. Su modelo de estudio en general son las vinchucas, triatomíneos vectores de la enfermedad de Chagas, pero también se trabaja con hormigas y moscas del género *Drosophila* entre otros insectos. Utilizan diversas metodologías como ensayos comportamentales y respirometría de flujo abierto, que permite medir la producción y liberación de dióxido de carbono y agua en tiempo real de pequeños insectos como pueden ser ninfas de vinchucas o una mosca (www.dbbe.fcen.uba.ar).

Especies de hormigas presentes en los sitios de estudio

En la EEA INTA Delta y en la RNO- PNCP se encontraron solo dos especies de HCH pertenecientes al género *Acromyrmex*: *Acromyrmex lundii*, conocida comúnmente como hormiga negra podadora y *Acromyrmex ambiguus* (hormiga renegrida); mientras que en el predio “Isla Victoria” solo se encontró *A. lundii*. Las obreras mayores son generalmente fáciles de diferenciar en campo, ya que *A. lundii* presenta un color negro, con los dos primeros pares de espinas del mesosoma similares en largo y el gáster opaco (Figura 1.4a). Por el contrario, *A. ambiguus* presenta el primer par de espinas más corto que el segundo, cabeza y mesosoma son de color marrón-rojizo y el gáster es negro brillante (Figura 1.4b). Ambas especies parecen estar adaptadas a los pulsos de inundación característicos de los humedales, aunque presentan diferentes estructuras de nido. *Acromyrmex ambiguus* construye un domo bien conspicuo con ramas y hojas secas. Pueden estar asociados a cortaderas, troncos caídos, bordes de caminos o en áreas abiertas (Figura 1.5 a y b). Por el contrario, los nidos de *A. lundii* no poseen domos externos, exhibiendo a nivel del suelo uno o más orificios de ingreso (Figura 1.5 c, d y e). En los sitios de estudio, sus nidos se encontraron usualmente en las bases de árboles o tocones o cercano a ellos, sugiriendo el

posible uso de las raíces como contención de sus nidos; y en bordes de construcciones antrópicas, como cordones de veredas o edificaciones (Figura 1.5 c y e). Esta especie parece estar bien adaptada a tolerar las inundaciones periódicas en el área, en donde se ha observado el movimiento vertical de sus nidos a los árboles hasta que la inundación disminuye (obs. pers.).



Figura 1.4: Vista lateral de una obrera mayor de (a) *Acromyrmex lundii* y (b) *A. ambiguus*. Las flechas rojas señalan el primer y segundo par de espinas del mesosoma que se utilizan para diferenciar las especies.

Si bien ambas especies parecen ser muy comunes en esta región, *A. lundii* está además distribuida en las zonas más altas (libres de inundación) de la cuenca del Río de La Plata y en el centro y norte del país. Esto la convierte en una de las especies más abundantes y ampliamente distribuidas del género, junto con *Acromyrmex lobicornis* y *Acromyrmex striatus*, presentes mayormente en regiones más secas del país, como ser el desierto del Monte y Patagonia (Farji-Brener & Ruggiero 1994; Nobua Behrmann et al., 2017; Sánchez Restrepo et al., 2019).

Existen diversos estudios sobre la biología de *A. lundii* y sobre su hongo simbionte, sus patrones de actividad, cosecha y daño en sistemas agro-productivos debido a su estatus de plaga (Fowler 1978; Vaccaro & Mousques 1997; Achinelli et al., 2006; Giménez 2006; Dans et al., 2009; Folgarait et al., 2011; Martínez et al., 2015). Por el contrario, se sabe muy poco sobre *A. ambiguus*, conociéndose que afecta a cultivares de durazno en una región de humedales en Río Grande do Sul, Brasil (Rosado et al., 2012) y que es considerada potencial plaga en plantaciones de pinos de la provincia de Entre Ríos en base a su alta e intensa tasa de defoliación (Elizalde et al., 2015).



Figura 1.5: Nidos en la RNO-PNCP de (a) y (b) *Acromyrmex ambiguus*: montículos de tierra cubiertos con ramitas y hojas secas; y (c), (d) y (e) *A. lundii* donde con flechas rojas se señala el orificio de entrada al nido y con flechas blancas el sendero de forrajeo.

Pese a la importancia de las HCH como plagas forestales, no hay información adecuada que permita estimar el impacto de *A. lundii* y *A. ambiguus* sobre las plantaciones de salicáceas del Bajo Delta del Río Paraná, ni conocer cuáles son los principales factores bióticos y abióticos que influyen sobre sus preferencias e intensidad de defoliación y patrones de coexistencia local. Esta tesis intentará aportar información sobre alguno de estos aspectos.

Estructura de la tesis

La tesis se conforma de ocho capítulos. El presente capítulo brinda una introducción general sobre sistemas forestales y las HCH, los objetivos generales y específicos, y presenta la descripción de las distintas áreas de trabajo y especies de HCH en estudio. En el Capítulo II se describen los patrones de actividad y cosecha de las dos especies simpátricas de HCH presentes en la EEA INTA Delta, a lo largo del día y durante las cuatro

estaciones del año, analizando el efecto de la temperatura y la humedad sobre dichos patrones. En el Capítulo III, se estudian las tolerancias térmicas mínimas y máximas de *A. lundii* y *A. ambiguus*, así como también el tiempo de recuperación luego de una exposición a 0 °C, y su posible relación con el peso de las obreras. En el Capítulo IV se analiza la preferencia en laboratorio de *A. lundii* y *A. ambiguus* hacia clones comerciales de sauce (*Salix* spp.) y álamo (*Populus* spp.), y dos especies vegetales nativas. Se buscará relacionar dicha preferencia con la dureza de sus hojas. En el quinto capítulo se cuantifica el daño de *A. lundii* y *A. ambiguus* hacia cuatro clones de sauce, desde el momento de su implantación como estación hasta mediados del quinto año de vida midiendo altura, diámetro y porcentaje de brotes/ramas dañadas periódicamente. En el Capítulo VI se estima el nivel de daño económico y el umbral de acción de *A. lundii* para el primer año de implantación del sauce negro, *Salix nigra* 4. Ambos valores son requisitos necesarios que deben cumplir los productores para poder certificar una plantación. En el Capítulo VII se integran los patrones de cosecha con diferentes escenarios de densidades para estimar el posible impacto poblacional de estas dos especies plaga de *Acromyrmex* en la vegetación del Delta (sistemas forestales, matrices de forestación y ambientes naturales). En el último capítulo se presentan las conclusiones generales del trabajo de tesis, así como también sus posibles alcances prácticos a la hora de planificar tareas de manejo y control de estas importantes plagas de Argentina.

Capítulo II

PATRONES DE ACTIVIDAD DE FORRAJE Y COSECHA

Resumen

Los momentos del día en que las HCH están activas cortando y acarreado material vegetal para llevar al nido dependen tanto de factores propios de la especie como de factores climáticos. Conocer los patrones de actividad de forrajeo, así como el consumo sobre plantas cultivadas en una matriz de vegetación silvestre es de suma importancia en sistemas forestales. Para ello, se seleccionaron tres nidos de *Acromyrmex lundii* y tres nidos de *A. ambiguus* en una plantación adulta de álamos de la EEA INTA Delta. La actividad de forrajeo fue monitoreada en estos nidos desde el otoño de 2016 al verano de 2017. En cada estación, se registró durante 48 horas, cada 3 horas y por 3 minutos, el número de hormigas con y sin carga, ingresando y saliendo del nido, la temperatura y la humedad relativa. Se tomó en cada instancia toda la carga que acarreaban las obreras al nido. Luego en el laboratorio se la secó en estufa y se la pesó (biomasa seca). El número de obreras cargadas cada 3 minutos se relacionó con la temperatura y la humedad. El peso medio anual de biomasa acarreada fue similar entre las especies (4,9- 6,0 kg/colonia). Sin embargo, hubo diferencias a lo largo del día y entre las estaciones en las dos especies simpátricas del Bajo Delta del Río Paraná. En otoño, ambas especies forrajearon durante todo el día, con mayor intensidad por la tarde colectando un peso medio diario de 3,8 y 6,7 gr por colonia de *A. ambiguus* y *A. lundii*, respectivamente. En invierno ambas especies restringieron su actividad a las horas más cálidas, colectando entre 6,8 y 7,7 gr/día. En primavera, *A. lundii* acarreo el triple de biomasa que *A. ambiguus* (30,3 y 13,1 gr/día, respectivamente), mientras que en verano estuvieron siempre activas pero la intensidad de forrajeo fue mayor por la noche (25,7- 28,8 gr/día). El conocimiento de los patrones de actividad de cada especie de HCH es una herramienta fundamental para su manejo, ya que puede brindar información sobre los momentos del día en los que la probabilidad de que las hormigas recolecten los cebos insecticidas en el campo sea más alta.

Introducción

Las HCH cortan material vegetal para nutrir al hongo simbionte del cual se alimentan (Hölldobler & Wilson 1990). La recolección de este recurso vegetal se lleva a cabo a través de un sistema de senderos de forrajeo que se originan en el nido y se van ramificando a medida que las obreras van seleccionando nuevas plantas para cortar. Una vez que cortan las hojas, flores o frutos, las obreras retornan al nido acarreando los fragmentos vegetales y dejando una marca química en el sendero que indica el camino (Bollazzi & Roces 2011). Esta información, transmitida a las obreras del nido, genera un reclutamiento de hormigas forrajeras que puede ser masivo en los momentos de mayor actividad de la colonia (Bollazzi & Roces 2011). De este modo, se forman largos senderos (entre 20 y 100 m de longitud, dependiendo de la especie de HCH) desde el nido que pueden bifurcarse para llegar a las distintas especies vegetales seleccionadas (Wirth et al., 2003).

Además de factores bióticos propios de cada especie, como su tolerancia térmica (Ribeiro et al., 2012; Capítulo III) o los mecanismos comportamentales para la termorregulación de sus nidos (Bollazzi et al., 2008), la actividad externa de las HCH puede estar moldeada por factores climáticos. Dependiendo del clima donde habitan las HCH (e. g., templado, desértico, subtropical), variables como la temperatura, la humedad y las precipitaciones pueden cobrar mayor o menor importancia (Bollazzi & Roces 2002; Jofré & Medina 2012; Caldato et al., 2016; Nickele et al., 2016; Nobua Behrmann et al., 2017). En regiones que presentan estacionalidad climática, se observó que la actividad de las HCH depende tanto de la temperatura como de la humedad del ambiente. Por ejemplo, Nickele et al. (2016) trabajaron en plantaciones de pino en el estado de Santa Catarina, Brasil, y observaron variaciones estacionales en los patrones de forrajeo de dos especies de *Acromyrmex*: *A. crassispinus* y *A. subterraneus subterraneus*. Sus picos de actividad se presentaron en distintos momentos del día en cada estación del año. En ambas especies, todo tipo de actividad externa al nido cesó por debajo de los 10 °C, indicando una fuerte influencia de la temperatura ambiente sobre el comportamiento de forrajeo (Nickele et al., 2016). En ambientes desérticos, como el desierto del Monte en Argentina, Nobua Behrmann et al. (2017) encontraron que *A. lobicornis* forrajeaba a temperaturas menores que *A. striatus*. En primavera y verano, cuando las temperaturas son muy elevadas, *A. lobicornis* lo hacía por las noches, mientras que *A. striatus* lo hacía durante el día. En otoño ambas especies presentaron una similar actividad diurna, pero solo *A. lobicornis* se mantuvo activa en invierno. Esta diferenciación temporal puede estar relacionada con el hecho de que *A. lobicornis* construye montículos que le permite regular la temperatura interna del nido para soportar temperaturas más extremas (Bollazzi et al., 2008), mientras que *A. striatus*

solo tiene nidos subterráneos sin montículo externo, exponiéndose más a las temperaturas del ambiente. Por el contrario, en ambientes sin estacionalidad térmica, como en las regiones tropicales, donde la variación se da solo por las precipitaciones, la diferencia en la actividad se manifiesta entre épocas secas y húmedas (Farji-Brener 1993). Es por eso que en épocas secas, la obreras forrajea con más frecuencia durante las noches para evitar, por ejemplo, que los fragmentos cortados se sequen (Cherrett 1968). Sin embargo, en estos ambientes, los factores intrínsecos son los que regulan los patrones, ya que se observó que no todos los nidos responden de manera sincronizada (Cherret 1968; Lewis et al., 1974). Factores propios como el microclima de cada nido, los requerimientos nutricionales de las colonias o sus capacidades de reconocer cambios fenológicos en las plantas toman importancia en determinar sus actividades (Lewis et al., 1974; Rockwood 1975; Pilati & Quirán 1996).

Las interacciones inter o intra-específicas pueden complejizar aún más el entendimiento de los patrones de actividad de las HCH. Los patrones de actividad de dos o más especies de HCH en un ambiente pueden estar modelados por una competencia actual o pasada. Esto puede diferenciar sus patrones de forrajeo a modo de evitar su solapamiento temporal (Cerdá et al., 2013). De este modo, especies dominantes deberían forrajear a temperaturas moderadas, es decir alejadas de sus límites de tolerancia térmica, mientras que las especies subordinadas deberían forrajear a temperaturas más extremas, próximas a las temperaturas máximas y mínimas que pueden soportar (Cerdá et al., 1998; Bestelmeyer 2000).

Existen muchos trabajos que estudian los patrones de forrajeo y cosecha en ambientes naturales (Farji-Brener 1993; Pilati et al., 1997; Bollazzi & Roces 2002; Caldato et al., 2016; Nobua Behrmann et al., 2017) y urbanos (Jofré & Medina 2012). Sin embargo, son pocos los que analizan la dieta de especies simpátricas en sistemas productivos, como ser forestaciones comerciales (Nickele et al., 2016). En la región del Bajo Delta del Río Paraná, no se conocen los patrones de forrajeo y cosecha de las dos especies de HCH que coexisten en plantaciones de salicáceas: *A. lundii* y *A. ambiguus*. La importancia de conocer los momentos del día y las estaciones en las cuales estas especies se encuentran más activas removiendo mayor cantidad de material vegetal es fundamental para encarar políticas de manejo y control de HCH en plantaciones forestales.

Objetivo específico

Estudiar los patrones de actividad de forrajeo y cosecha de biomasa de *A. lundii* y *A. ambiguus* en campo a lo largo (i) del día y (ii) del año y determinar el grado de solapamiento temporal.

Materiales y métodos

Diseño experimental

Se estudiaron los patrones de actividad de forrajeo diario y estacional de *A. lundii* y *A. ambiguus* desde mayo de 2016 a marzo de 2017, en la EEA INTA Delta. Se realizó un seguimiento de los nidos de ambas especies durante 48 horas en cada una de las cuatro estaciones: 26 al 28 de mayo (otoño 2016), 11 al 13 de agosto (invierno 2016), 16 al 18 de noviembre (primavera 2016) y 6 al 8 de marzo (verano 2017). Los nidos se seleccionaron en un área de 1,5 ha aproximadamente ubicada en una plantación adulta de 14 años de álamos (*Populus* spp.). Esta área fue seleccionada debido a la ausencia de tareas de control de HCH (Figura 2.1).

En cada estación, se seleccionaron 3 nidos de cada especie, a excepción del verano donde solo se pudieron seguir 2 nidos de *A. lundii*. Cada 3 horas, se buscó el sendero de cada nido que presentó la mayor actividad de forrajeo (Figura 2.2a) y se lo registró a lo largo de 3 minutos. Se contabilizó el número de hormigas pasaban por un punto fijo ubicado a 1 metro de la entrada principal del nido (Nickele et al., 2016; Nobua Behrmann et al., 2017) discriminando entre obreras que ingresaban o salían del nido con o sin carga (Nickele et al., 2016). Se registró también la temperatura ($\pm 0,01$ °C) y la humedad relativa ($\pm 0,1$ %) a nivel del suelo, adyacente al sendero de forrajeo en cada punto de monitoreo con un *data logger* HOBO (Figura 2.2b). Se recolectó además, todo el material vegetal que acarrearón las hormigas hacia el nido durante esos 3 minutos con una pinza de punta fina para interferir lo menos posible en la actividad de las obreras (Farji-Brener & Protomastro 1992). Las cargas se colocaron momentáneamente en un recipiente plástico pequeño con los bordes cubiertos de vaselina para evitar el escape de las HCH que no pudieron ser separadas de su carga hasta finalizar los 3 minutos de conteo. Luego se separó el material vegetal de las obreras y se lo colocó en sobres de papel (Figura 2.2c) para ser transportados hasta el laboratorio en donde el material, mayormente verde, se secó en estufa durante 48 horas a 60 °C y se pesó

en una balanza digital (APX-200, *Denver Instruments*) para obtener su peso seco ($\pm 0,1$ mg) (Pilati & Quirán 1996; Figura 2.2d).

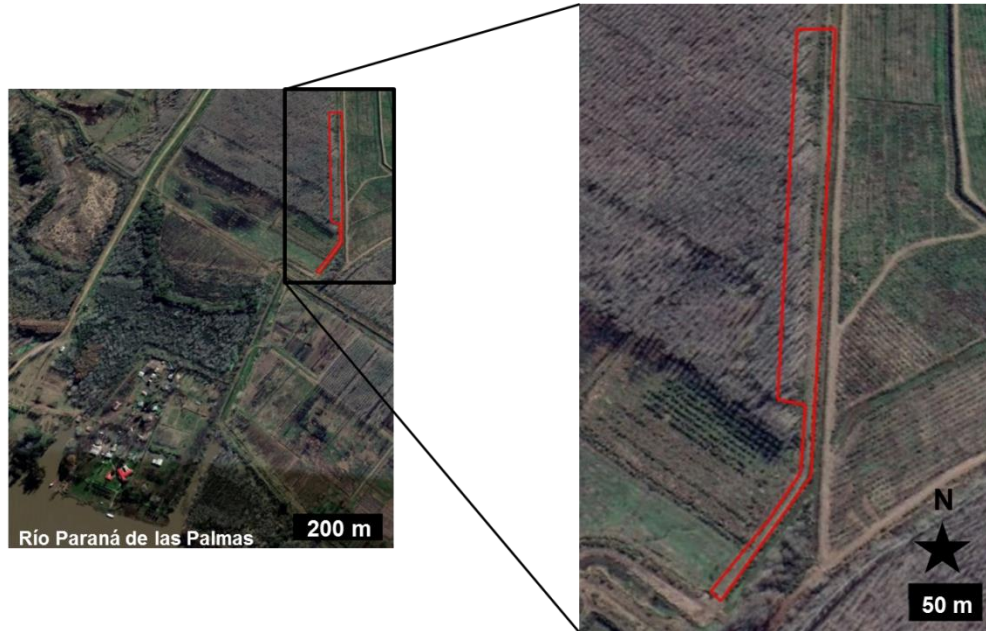


Figura 2.1: Mapa de un sector de la EEA INTA Delta (izquierda). Área sin manejo de HCH de aproximadamente 1,5 hectáreas (polígono rojo) ubicada en una plantación adulta de 14 años de álamos (*Populus* spp., derecha) donde se realizó el monitoreo de la actividad y consumo de los nidos de *Acromyrmex ambiguus* y *A. lundii*.

Análisis de datos

Se graficaron las medias de las cuatro variables de actividad de forrajeo medidas en el campo (obreras con y sin carga, ingresando o saliendo del nido), a lo largo del día (ocho instancias de muestreo) y del año (4 estaciones) por especie de HCH (*A. lundii* y *A. ambiguus*). Las medias de temperatura y humedad fueron incluidas en el gráfico para analizar su relación con los patrones de actividad de ambas especies. Se realizó también un análisis de la correlación entre las hormigas saliendo sin cargas del nido a un tiempo t y las hormigas retornando al nido con carga en el tiempo inmediatamente posterior ($t + 1$). Esto podría dar indicios de que el periodo de horas entre muestreos fue adecuado para representar los cambios a lo largo del día.



Figura 2.2: (a) Sendero principal de forrajeo con obreras de *Acromyrmex* spp. La flecha roja indica el punto a 1 metro de la entrada del nido, en el cual se contabilizaban el número de hormigas con y sin carga, ingresando y saliendo del nido. (b) *Data logger* registrando la temperatura (°C) y la humedad relativa (%) a nivel del suelo adyacente al punto de conteo. (c) Se recogió el material vegetal que cargaban las hormigas con una pinza en un recipiente plástico y se conservó en sobres de papel. Luego el material recolectado se secó durante 48 horas a 60 °C y (d) se pesó en una balanza digital.

Para comparar el número de hormigas con carga ingresando al nido en tres minutos entre *A. lundii* y *A. ambiguus*, se analizaron los datos mediante un modelo lineal generalizado mixto (GLMM) con distribución Poisson. Se utilizó la estación del año (4 niveles: otoño 2016, invierno 2016, primavera 2016, verano 2017), la especie de HCH (*A. lundii* y *A. ambiguus*) y la hora del día (8 eventos de muestreo) como variables fijas independientes, y la identidad de la colonia (réplicas: 3 de cada especie, salvo para *A. lundii* en verano que fueron 2 nidos) y el día de muestreo (2 días) como variables explicativas aleatorias. Se probaron distintos modelos que contemplaron la interacción de los factores fijos y combinaciones con los distintos factores aleatorios con la función *glmer* del paquete *lme4* del programa estadístico R (versión 3.1.5) con la inter-fase de RStudio (versión 1.1.453). Debido a que todos los modelos presentaron sobre-dispersión se los modeló nuevamente asignándole una distribución Binomial negativa con la función *glmmTMB* del paquete homónimo, que solucionó dicho problema. Se optó por el modelo mínimo adecuado según el criterio AIC (el del menor valor) y el más parsimonioso. Luego se realizaron comparaciones de a pares mediante la función *emmeans* del paquete homónimo corrigiendo el error global (R Development Core Team 2018; RStudio 2018). Para

determinar el efecto de la temperatura y la humedad relativa sobre el forrajeo, se realizó una regresión con el número de hormigas ingresando con carga cada 3 minutos en función de la temperatura y la humedad relativa registradas para cada especie.

Para conocer la cosecha por colonia de *A. lundii* y *A. ambiguus*, se relacionó el peso de las cargas colectadas entre las especies de hormigas con las mismas variables explicatorias que se usaron al modelar el número de hormigas con carga, con la función *gls* del paquete *nlme*. Se analizó también el peso anual en función de la especie de HCH como factor fijo y el hormiguero como factor aleatorio con el fin de estimar un impacto anual por colonia de cada especie. Se graficaron los pesos secos medios por hora de las cargas transportadas al nido y se calculó un peso medio diario por estación y por especie.

La temperatura y la humedad relativa a nivel del suelo se correlacionaron a través del coeficiente de Spearman. La temperatura entre estaciones se analizó con un ANOVA luego de una transformación logarítmica en base 10. La humedad relativa entre estaciones se comparó mediante un ANOVA no paramétrico de Kruskal Wallis, ya que los residuos, aún luego de transformaciones, no cumplían los supuestos. Luego se realizaron comparaciones de a pares de Tukey corrigiendo el error global.

Resultados

Patrones de actividad de forrajeo

Los patrones de forrajeo de *A. lundii* y *A. ambiguus* presentaron variaciones a lo largo del día y en las distintas estaciones del año pero fueron similares para ambas especies. (Figura 2.3). El modelo que mejor explicó el patrón de actividad de ambas especies durante el día en las cuatro estaciones del año, fue el que contemplo la estación y el tiempo (instancia de muestreo) como factores fijos y la identidad del hormiguero como factor aleatorio. El hecho de que el modelo no contemple a la especie como factor, significa que las dos especies no presentaron diferencias significativas en sus patrones de actividad, ni a lo largo del día ni durante las diferentes estaciones del año. Sin embargo, existió diferencia en los momentos de actividad según la hora del día ($X^2_7 = 109,11$, $P < 0,0001$) y entre las estaciones del año ($X^2_3 = 28,07$, $P < 0,0001$). En otoño, ambas especies estuvieron activas fuera del nido durante todo el día, con *A. ambiguus* colectando material vegetal de 10:30 a 01:30 y *A. lundii* durante todo el día. El pico de obreras ingresando con carga fue a las 16:30

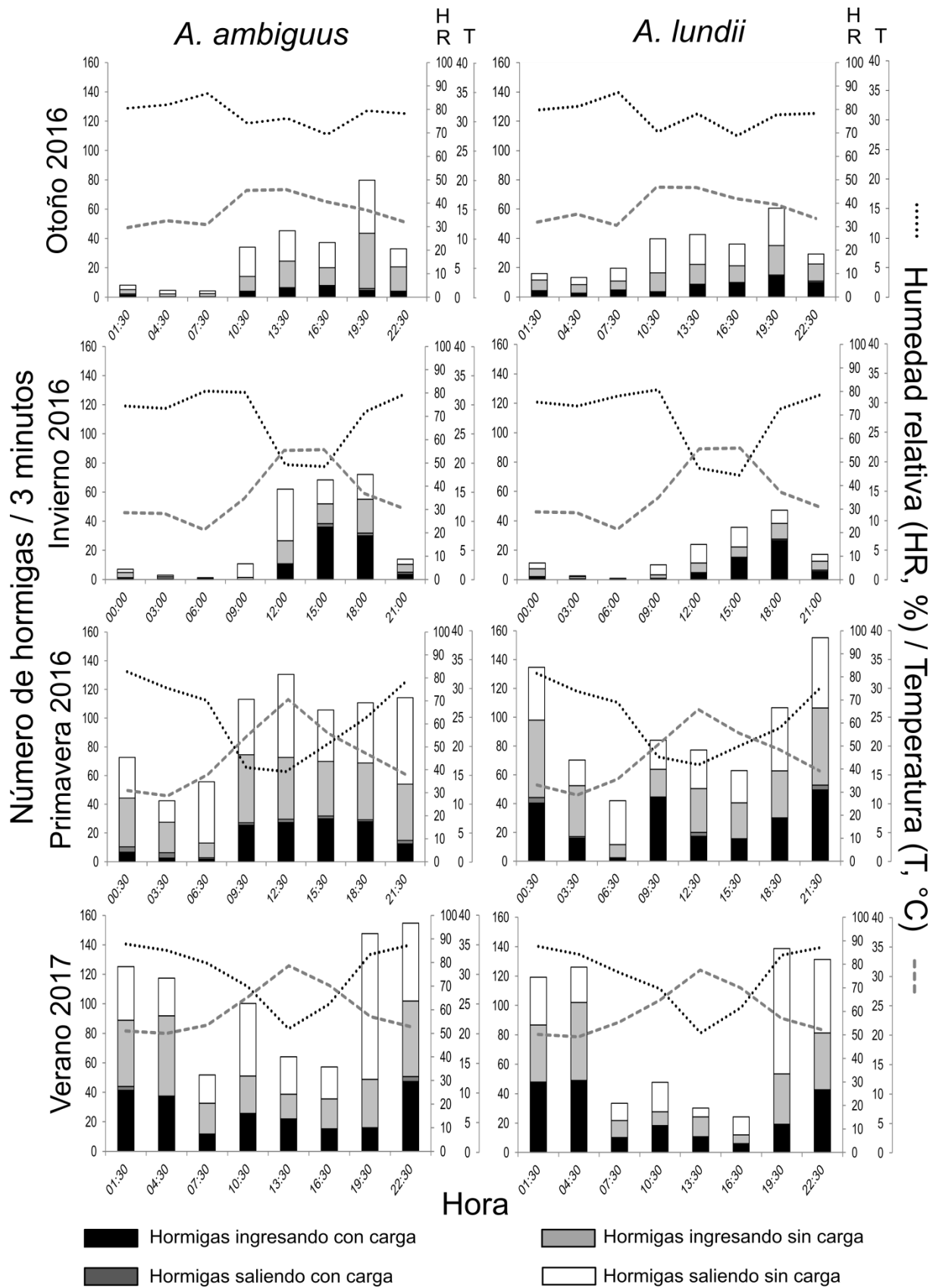


Figura 2.3 : Número de hormigas cargadas con fragmentos vegetales de *Acromyrmex ambiguus* (izquierda) y *A. lundii* (derecha) en función de las horas del día desde otoño de 2016 al verano de 2017, en una plantación de álamos de 14 años de la EEA INTA Delta. Nótese que las escalas del eje x cambian entre estaciones.

para *A. ambiguus* y a las 19:30 para *A. lundii*. En invierno, ambas especies restringieron su actividad a las horas más cálidas del día (12:00 a 21:00), presentando los picos de cosecha a las 15 y 18 h, para *A. ambiguus* y *A. lundii*, respectivamente. En los momentos de menor temperatura registrados en esta estación ($\sim 8^\circ\text{C}$) en las que hubo actividad externa al nido, pocas hormigas circulaban por los senderos de forrajeo caminando de manera extremadamente lenta. Sin embargo, hubo dos eventos de muestreos en que las temperaturas fueron inferiores ($\sim 5\text{-}6^\circ\text{C}$), sin presentar actividad externa al nido por parte de las hormigas. En primavera, las dos especies volvieron a estar activas durante todo el día. *Acromyrmex ambiguus* acarreó material vegetal con mayor intensidad de 09:30 a 21:30, coincidiendo con las temperaturas más cálidas del día, mientras que *A. lundii* tuvo dos picos de máxima actividad de forrajeo, uno a las 09:30 y otro entre las 21:30 y las 00:30 h. Por último, en verano, las hormigas de ambas especies estuvieron activas a lo largo de todo el día. Sin embargo, la actividad de cosecha se concentró durante la noche (21:00 a 04:30), cuando la temperatura bajó a 20°C y la humedad relativa fue mayor al 80 % (Figura 2.3).

En todas las estaciones se observó que en cada instancia de muestreo (hora del día) el número de hormigas sin carga, tanto ingresando como saliendo del nido fue relativamente similar. Analizando el número de hormigas que salían del nido sin carga en un tiempo t , con las hormigas que volvían al nido con carga en un tiempo $t + 1$, se encontró una correlación positiva para ambas especies (*A. lundii*: $r_s = 0,74$, $P < 0,0001$; *A. ambiguus*: $r_s = 0,68$, $P < 0,0001$).

El número máximo de hormigas con carga ingresando al nido se observó en ambas especies de HCH entre los 15 y 16°C en el otoño y entre los 20 y 21°C en el verano. Los picos de ambas especies se dieron a distintas temperaturas en invierno y primavera. Para *A. ambiguus* fue alrededor de los 22°C en invierno y entre 18 y 28°C en primavera, mientras que para *A. lundii* fueron a menores temperaturas, presentando el pico a los 15°C en invierno y entre $13\text{-}15^\circ\text{C}$ y 20°C (dos picos) en primavera (Tabla 2.1).

La relación entre el número de hormigas ingresando con carga al nido con las variables ambientales medidas (temperatura y humedad relativa) varió según la especie y la estación del año. El número de hormigas con carga ingresando al nido estuvo negativamente relacionado con la temperatura durante verano para *A. lundii* ($F_{1,30} = 12,14$, $P = 0,0015$), mientras que para *A. ambiguus* existió una relación positiva en las otras tres estaciones del año: otoño ($F_{1,46} = 8,85$, $P = 0,0047$), invierno ($F_{1,46} = 9,63$, $P = 0,0033$) y primavera ($F_{1,46} = 26,69$, $P < 0,0001$). Las relaciones con la humedad, fueron inversas a lo observado para la temperatura. El número de obreras ingresando al nido de *A. lundii* estuvo positivamente relacionado con la humedad durante verano ($F_{1,30} = 15,26$, $P = 0,0005$),

mientras que para *A. ambiguus* existió una relación negativa en las otras tres estaciones del año: otoño ($F_{1, 46} = 5,76$, $P = 0,0205$), invierno ($F_{1, 46} = 7,40$, $P = 0,0092$) y primavera ($F_{1, 46} = 12,21$, $P = 0,0011$).

Tabla 2.1: Número medio ($\pm$ E.E.) y máximo de obreras de *Acromyrmex lundii* y *A. ambiguus* que ingresan cargadas al nido en cada estación del año. Las letras muestran diferencias entre estaciones y especies.

Estación	Especie	No. obreras/3 min	
		X $\pm$ E.E.	Máximo
Otoño 2016	<i>A. lundii</i>	7,0 $\pm$ 1,0 ^a	25
	<i>A. ambiguus</i>	3,3 $\pm$ 0,7 ^a	19
Invierno 2016	<i>A. lundii</i>	7,0 $\pm$ 2,2 ^a	72
	<i>A. ambiguus</i>	10,3 $\pm$ 2,8 ^a	81
Primavera 2016	<i>A. lundii</i>	26,9 $\pm$ 3,6 ^b	84
	<i>A. ambiguus</i>	16,8 $\pm$ 2,4 ^b	69
Verano 2017	<i>A. lundii</i>	25,4 $\pm$ 4,1 ^b	94
	<i>A. ambiguus</i>	27,0 $\pm$ 3,5 ^b	104

Patrones de cosecha

La mayor cosecha de material vegetal fue realizada por *A. lundii* en primavera (30,1 gr/día) seguido de los valores cosechados en verano por ambas especies (25,7- 28,8 gr/día para *A. lundii* y *A. ambiguus*, respectivamente). Los patrones de cosecha de material vegetal de cada especie de HCH por hora para cada estación se muestran en la Figura 2.4. Por su parte, la Tabla 2.2 resume la cosecha media por día en cada estación y la cosecha anual por colonia de cada especie. Por la alta y positiva correlación entre el número de hormigas que ingresaban cargadas y el peso seco de los fragmentos vegetales transportados al nido en ambas especies (*A. lundii*: $r_s = 0,96$, $P > 0,0001$; *A. ambiguus*: $r_s = 0,94$, $P > 0,0001$), se observa que los picos de cosechas son similares a los picos de hormigas cargadas retornando al nido. En este caso, el modelo que mejor explicó el patrón de cosecha fue el que contempló la especie, la estación y el tiempo (la instancia de muestro) como factores fijos y el hormiguero como factores aleatorios modelando la matriz de correlación mediante la función *corAr1*. La triple interacción ($F_{21, 304} = 0,864$, $P = 0,639$) al igual que la interacción especie- tiempo ($F_{7, 304} = 1,171$, $P = 0,319$) no presentaron diferencias. Sin embargo, las interacciones simples estación- tiempo ($F_{21, 304} = 3,032$, $P < 0,0001$) y especie- estación ($F_{3, 304} = 3,126$, $P = 0,026$) presentaron diferencias. Esto significa, que el peso cosechado por cada especie de HCH demostró variaciones a lo largo del día en cada estación del año, y entre las estaciones para cada especie. Los pesos (secos) del material vegetal colectado

en otoño e invierno no se diferenciaron entre estación ni entre las dos especies de HCH y fueron menores a los de primavera y verano. El peso acarreado por *A. lundii* durante la primavera fue tres veces mayor que el peso acarreado por *A. ambiguus*, pero similar a la biomasa cortada por ambas especies durante el verano (Tabla 2.2). En lo que respecta a los picos de cosecha máxima se concentraron en unas pocas horas en invierno, mientras que en otoño la cosecha estuvo distribuida lo largo del día. La cosecha de primavera y verano siguió un patrón similar al del número de hormigas ingresando con carga. Pese a estas diferencias diarias y estacionales, la biomasa anual cortada por colonia de *A. lundii* y de *A. ambiguus* fue similar ($F_{1, 21} = 0,30$; $P = 0,587$) (Tabla 2.2).

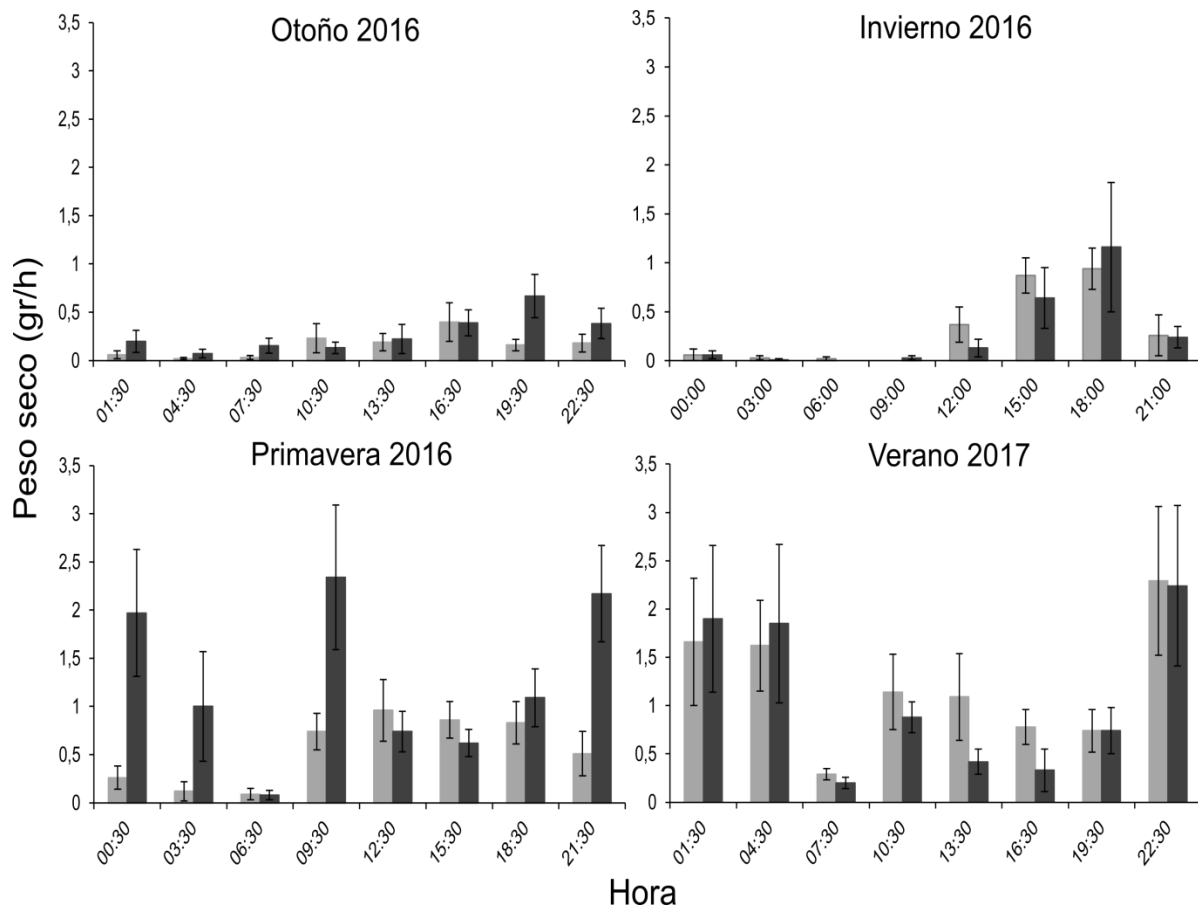


Figura 2.4: Peso seco medio ($\pm$ E.E.) del material vegetal acarreado (gramos por hora) por *Acromyrmex ambiguus* (barras gris claro) y *A. lundii* (barras gris oscuro) hasta el nido en cada estación del año. Nótese que las escalas del eje x cambian entre estaciones.

Tabla 2.2: Peso seco medio ($\pm$ E.E.) de fragmentos vegetales (gr/día) transportados por *Acromyrmex lundii* y *A. ambiguus* en cada estación y peso seco medio anual ($\pm$ E.E.) por colonia (kg/año) desde otoño de 2016 a verano de 2017. Las letras diferentes representan diferencias significativas entre las especies y estaciones.

Estación	<i>A. lundii</i>	<i>A. ambiguus</i>
Otoño 2016	6,7 $\pm$ 1,2 ^a	3,8 $\pm$ 0,9 ^a
Invierno 2016	6,8 $\pm$ 2,5 ^a	7,7 $\pm$ 1,7 ^a
Primavera 2016	30,3 $\pm$ 4,5 ^b	13,1 $\pm$ 1,9 ^a
Verano 2017	25,7 $\pm$ 5,0 ^b	28,8 $\pm$ 4,2 ^b
Anual	6,0 $\pm$ 0,7 ^c	4,9 $\pm$ 0,5 ^c

Por último, si bien no se identificaron a qué especies de plantas pertenecían los fragmentos cortados y transportados por las hormigas hacia el nido, se pudieron determinar algunas especies que estaban siendo cortadas o transportadas por las obreras en el campo. Se observó que cargaban tanto hojas de álamo como sus flores, hongos (no el simbiote), mientras que durante el invierno se encontró una mayor cantidad de material seco y una alta proporción de fragmentos de lirio amarillo (*Iris pseudacorus*), una planta exótica invasora, en la dieta de ambas especies.

Temperatura y humedad relativa

La temperatura y la humedad relativa a lo largo del día en los senderos de forrajeo estuvieron inversamente correlacionadas en todas las estaciones (Tabla 2.3). Las temperaturas medias difirieron entre las estaciones ($F_{4, 459} = 103,14$, $P = 0,0001$; Figura 2.5). Debido a que los días estudiados en invierno fueron particularmente cálidos, la temperatura media del muestreo de invierno fue similar a la media registrada en el muestreo de otoño. A pesar de la similitud, durante las noches de invierno la temperatura de los senderos osciló entre los 8,5 y 11,5°C, alcanzando mínimos de 5,5 °C a las 6:00 h en algunos nidos, mientras que la humedad relativa fue alta (73- 80 %), lo que causó gran cantidad de rocío. Sin embargo, la media estacional de las temperaturas ambiente registradas en la EEA INTA Delta difirieron ($F_{1, 182} = 15,10$, $P < 0,0001$), siendo la temperatura media ($\pm$ E.E.) del otoño (12,9 $\pm$ 0,5) mayor que la temperatura media del invierno (10,7 $\pm$ 0,3) (Figura 1.3 del Capítulo I). La temperatura media de primavera fue menor que la del verano. La humedad relativa media de los días de otoño y de verano superó a la humedad media de invierno y primavera ($H = 81,8$, $P < 0,0001$) (Figura 2.5).

Tabla 2.3: Coeficiente de correlación (r_s) y probabilidad (P) de Spearman entre la temperatura y la humedad relativa en las cuatro estaciones medidos a nivel del suelo a un metro de la entrada de cada nido estudiado en la EEA INTA Delta.

Estación	r_s	P
Otoño 2016	-0,54	<0,0001
Invierno 2016	-0,80	<0,0001
Primavera 2016	-0,70	<0,0001
Verano 2017	-0,80	<0,0001

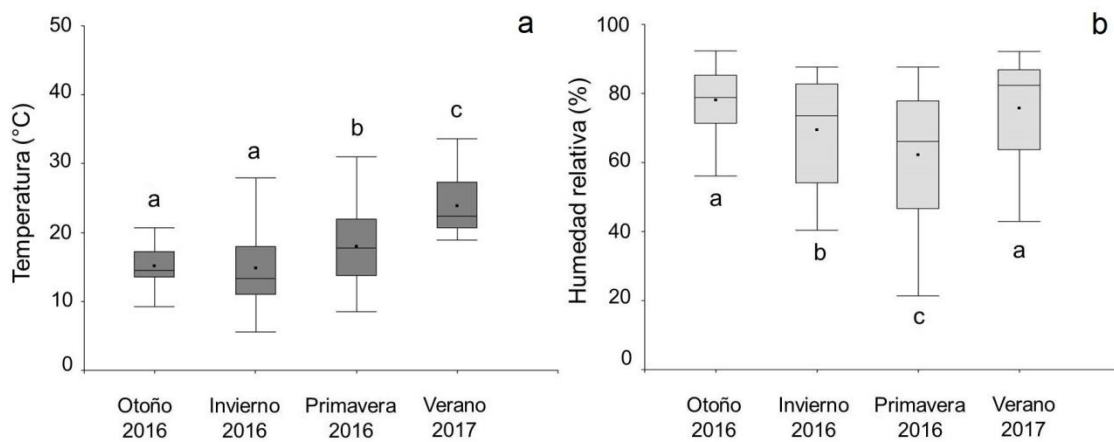


Figura 2.5: Box plot de (a) temperatura y (b) humedad relativa por estación. Las letras representan diferencias significativas entre las estaciones estudiadas para las dos variables ambientales.

Discusión

Existieron variaciones en la actividad de forrajeo a lo largo del día, pero fueron similares para *A. lundii* y *A. ambiguus*, en cada estación del año. Ambas especies de HCH forrajearon durante todo el año y con valores de cosecha anual similares. Estos resultados no permiten suponer que existe algún grado de desplazamiento diario o estacional en los patrones de actividad de forrajeo para estas especies.

La actividad de forrajeo estuvo fuerte y positivamente relacionada con la temperatura, excepto en verano que la relación fue negativa, y en menor medida con la humedad, como lo observado por Nickele et al. (2016) para *Acromyrmex crassispinus* y *A. subterraneus subterraneus* en plantaciones de *Pinus taeda* en el sur de Brasil. Durante otoño y primavera *A. lundii* y *A. ambiguus* estuvieron activas durante todo el día. En invierno ambas especies concentraron su actividad durante el día cuando la temperatura fue más cálida, mientras que

en verano invirtieron este patrón y lo hicieron con mayor intensidad por la noche cuando las temperaturas eran más bajas. Esto mismo encontraron Jofré & Medina (2012) al estudiar los patrones de *A. lobicornis* en una zona urbana de San Luis, en Argentina y Nickele et al. (2016) con *A. crassispinus* y *A. subterraneus subterraneus* en el sur de Brasil. Patrones similares se encontraron con *A. lobicornis* y *A. striatus* (Pilati & Quirán 1996; Nobua Behrmann et al., 2017) con la excepción que en invierno estas especies no presentaron actividad de forrajeo. Esto se explicaría debido a que son estudios realizados en ambientes áridos y semiáridos que presentan muy bajas temperaturas en esta estación. Por otra parte, ninguna de las dos especie estudiadas en esta tesis forrajeó a temperaturas menores a ~8 °C, algo que fue también observado por Nickele et al. (2016) en Brasil. En invierno además, los senderos de forrajeo de la EEA INTA Delta, en su mayoría se encontraron enterrados en el suelo, a 1- 2 cm de profundidad, con una forma de canaleta o “U” en corte transversal, posiblemente para resguardarse de las bajas temperaturas. Esto dificultó su búsqueda durante esta estación, ya que se encontraban tapados completamente por una capa de hojas secas de los álamos. Las dos estaciones más cálidas del año (primavera y verano) presentaron la mayor cantidad de obreras activas en los senderos como en los estudios de Giesel et al. (2013) en *Atta sexdens* en pastizales y Nickele et al. (2016) en plantaciones de pino, ambos trabajos en el sur de Brasil.

El número de hormigas que retornaron al nido sin carga fue alto durante todo el año. Esta actividad podría deberse a tareas de limpieza y mantenimiento de los senderos, refuerzo de señales químicas en el camino, transmisión de información, reclutamiento o a una combinación de ellas (Lewis et al., 1974; Howard 2001; Kost et al., 2005; Bollazzi & Roces 2011; Nobua Behrmann et al., 2017). Por ejemplo, al iniciar la actividad en el exterior del nido, hormigas pioneras (exploradoras) salen a buscar material vegetal para cortar y si encuentran una planta adecuada pueden retornar con o sin carga. Si retornan cargadas con un fragmento pequeño, esto les permitiría regresar a una mayor velocidad para informar al resto de la colonia sobre la fuente vegetal encontrada (Kost et al., 2005; Bollazzi & Roces 2011). En cambio, si vuelven sin carga, las obreras pueden señalizar químicamente con feromonas el sendero y en el camino se encontrarán con otras hormigas a las cuales les transmitirán la información del recurso (Farji-Brener et al., 2010; Bollazzi & Roces 2011). En un ensayo a campo en Florida, Uruguay, se estimó que un 70 % de las obreras de *A. heyeri* que salen por primera vez del nido en busca de material vegetal (fase inicial) hacen contacto con las obreras que regresan al nido cargadas, mientras que en la fase establecida del forrajeo, ese porcentaje disminuye al 20 % (Bollazzi & Roces 2011).

Los patrones de cosecha de *A. lundii* y *A. ambiguus* estuvieron fuertemente relacionados a los patrones de forrajeo, con lo que las variaciones de pesos del material

vegetal colectado por las obreras a lo largo del día en las 4 estaciones fue similar a las variaciones detectadas en el número de obreras ingresando cargadas al nido. El mayor peso colectado por día ocurrió en primavera en colonias de *A. lundii*, recolectando el triple de material vegetal que las colonias de *A. ambiguus*. Esto puede tener una alta relevancia, considerando que esta estación es en la que ocurre la brotación y por eso la de mayor vulnerabilidad de las plantas en general y de las plantaciones forestales en particular. Los pesos obtenidos en las estaciones de mayor cosecha (verano y primavera) en el Bajo Delta del Río Paraná se encuentran dentro del rango de los mencionadas por Pilati et al. (1997) para *A. lobicornis* en pastizales semiáridos de la provincia de La Pampa, pero mayores que los obtenidos para esta especie y *A. striatus* en el Desierto de Monte por Nobua Behrmann (2014). Sin embargo, la cosecha media anual de una colonia de *A. ambiguus* y una de *A. lundii* fueron similares (4,9 y 6,0 kg de biomasa seca, respectivamente).

En esta tesis no se estudió la identidad de las especies vegetales acarreadas y solo se pudo discriminar los fragmentos de lirio, principalmente en invierno, y de hojas y flores de álamos durante el año. Sin embargo, otra investigadora llevo a cabo estimaciones de la disponibilidad de plantas en el área de estudio, identificando las que eran cortadas por *A. lundii* y *A. ambiguus* a lo largo de las 4 estaciones de 2016 (Daiana Perri, investigadora colaboradora de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, com. pers.). Perri observó que cortaban hojas de madre selva (*Lonicera japonica*), acacia negra (*Gleditsia triacanthos*), flor de pajarito (*Fumaria capreolata*), ombucillo (*Phytolacca americana*), ligustrina (*Ligustrum sinense*), vara de oro (*Solidago chilensis*), *Sonchus oleraceus*, *Carduus acanthoides* y *Cirsium vulgare*. Sin embargo, no encontró en el Delta una proporción alta de flores entre los ítems acarreados por hormigas al nido como lo observado por Nobua Berhmann (2014) en el Desierto del Monte, donde el 70- 80 % fueron flores, preferidas por su alto contenido de humedad y baja concentración de compuestos secundarios (Nobua Berhmann 2014). Este trabajo se realizó en una plantación madura, con lo cual puede considerarse que los pesos obtenidos son un nivel basal, y que éstos pueden ser mucho mayores en plantaciones jóvenes, donde las especies forestales con hojas nuevas y sin defensas químicas y/o físicas abundan y no existe una amplia variedad de la vegetación circundante (Littledyke & Cherrett 1978; Howard 1987).

Particularmente, los días de invierno estudiados fueron muy cálidos y esto pudo fomentar una mayor colecta de la normal; o caso contrario, la inercia propia de los días previos del invierno, fueron los que moldearon los patrones de cosecha observados. Por razones logísticas, las fechas de muestreo se seleccionaron en días sin o con muy baja probabilidad de lluvia, aunque en una oportunidad de colecta en otoño se produjo una fina lluvia o garúa. Previo a una tormenta es común ver una actividad alta de recolección de las

HCH para mantener una reserva. Sin embargo, si las obreras mantienen un ritmo bueno y constante de colecta durante unos días, pueden optar por no salir a colectar en los días siguientes aunque las condiciones climáticas sean favorables.

En resumen, los períodos de actividad y los patrones de cosecha anuales fueron similares en ambas especies, modelados principalmente por la temperatura. Pese a algunas pequeñas variaciones entre las especies en las estaciones con temperatura intermedia (otoño y primavera), la actividad fue durante todo el día, mientras que en invierno y verano ambas especies evitaron forrajear en temperaturas extremas (frías o cálidas). Esta ausencia de segregación temporal entre especies, tanto durante el día como durante el año, sugiere un papel menor de la competencia inter-específica en el modelaje de sus actividades. Aparentemente, en las condiciones que presenta en Bajo Delta del Río Paraná, *A. lundii* y *A. ambiguus* pueden convivir en el mismo hábitat sin afectarse de manera negativa aunque esto debería ponerse a prueba en otro trabajo. Por otra parte, y pese a algunas variaciones estacionales, la cantidad de material anual cosechado por nido fue similar entre especies, sugiriendo que ambas pueden afectar de manera pareja a las plantaciones forestales. Los efectos diferenciales dependerán entonces de la densidad relativa de los nidos de cada especie y de la distribución de los mismos (Capítulo VII).

En este capítulo, además de establecer si existen o no diferencias entre los patrones de actividad de forrajeo y de recolección de material vegetal de dos especies simpátricas de HCH, aporta también herramientas útiles para el manejo en sistemas naturales donde se han implantados cultivos o forestaciones. Es importante conocer los momentos del día en el que las obreras se encuentran en su mayor nivel de actividad de forrajeo o la estación en la que colectan una mayor cantidad de material vegetal. Estos serán los momentos más propicios para la aplicación de cebos insecticidas granulados, ya que aumenta la probabilidad de que sean acarreados al nido. *Acromyrmex lundii* generará más daño en las estaciones más cálidas (primavera y verano), mientras que *A. ambiguus* lo hará durante el verano. Sería aconsejable que los cebos en estas estaciones se esparzan en el campo a últimas horas del atardecer. Por un lado, se expondrá al ambiente en los momentos de mayor actividad de las obreras de las HCH y por otro lado, se evita que el producto se dañe bajo el rayo del sol debido a las altas temperaturas durante el día. De este modo, se promueve un uso más consciente de los insecticidas que año a año van camino a su prohibición, reduciendo gradualmente las dosis, y por ende, los daños colaterales al medio ambiente (Montoya-Lerma et al., 2012; Fischer 2015; Zanuncio et al., 2016).

Capítulo III

TOLERANCIA TÉRMICA

Resumen

La temperatura es una de las variables más importantes que afectan los procesos fisiológicos en animales ecto-termos como las HCH. La tolerancia térmica está modulada tanto por factores ambientales como la aclimatación natural previa, la tasa de aumento de la temperatura y las diferencias latitudinales, como por factores propios de la especie y de sus individuos como la ontogenia, la masa corporal y los patrones de actividad diarios y estacionales. El objetivo de este capítulo fue determinar los límites de tolerancia térmica caracterizados por las temperaturas críticas mínimas y máximas (TC_{mín} y TC_{máx}) de *Acromyrmex lundii* y *A. ambiguus* en el laboratorio para compararlos con las temperaturas de actividad de forrajeo en el campo en invierno y verano (Capítulo II). Para ello, se expusieron obreras de todos los tamaños a una rampa de temperatura descendiente (n=30) y ascendente (n=15) de 0,25 °C/min hasta que las hormigas perdieron su función muscular coordinada. A esas temperaturas mínimas y máximas se las consideró como la TC_{mín} y TC_{máx} de cada especie, respectivamente. Además se estudió el tiempo de recuperación (Trec) luego de exponer a obreras de ambas especies durante 1 h (n=32) y 3 h (n=40) a 0 °C. Se registró también la supervivencia de estas obreras a las 24 h del ensayo. La TC_{mín}, TC_{máx} y el Trec se analizaron mediante un ANCOVA incluyendo el peso de las obreras como co-variable. Los intervalos de tolerancia térmica de ambas especies mostraron una fuerte superposición. No obstante, el intervalo de *A. lundii* (3,23- 45,99 °C) fue 2,23 °C más amplio que el de *A. ambiguus* (4,50- 45,03 °C). Las TC_{mín} y TC_{máx} en ambas especies se relacionaron negativa y positivamente, respectivamente, con el peso de las obreras. Tampoco se observaron diferencias entre especies en sus Trec. La mayoría de las obreras se despertaron entre 5 y 10 min luego de 1 h a 0 °C y entre 20 y 30 min luego de 3 h a 0 °C. Solo el Trec luego de 3 h a 0 °C se relacionó con el peso. La exposición al frío no influyó sobre la supervivencia a las 24 h. En el campo, las obreras de ambas especies forrajearon dentro de sus límites térmicos fisiológicos. *Acromyrmex lundii* forrajearon entre los 9,70 y 32,26 °C y *A. ambiguus* entre los 7,87 y 33,66 °C. Estos resultados demuestran que en el Bajo Delta del Río Paraná, estas especies simpátricas solapan sus nichos térmicos y patrones de actividad de forrajeo, sin una aparente relación de dominancia de una sobre la otra.

Introducción

La temperatura es uno de los factores más importantes que afecta los procesos fisiológicos de los animales ecto-termos (Lighton & Turner 2004). En animales ecto-térmicos como las HCH, la tolerancia térmica está modulada por diversos factores. Por un lado, factores ambientales como la aclimatación natural previa, la tasa de aumento de la temperatura y las diferencias latitudinales, mientras que por el otro, factores bióticos propios de la especie y de sus individuos como la ontogenia, la masa corporal del individuo, los patrones de actividad diarios y estacionales (Addo-Bediako et al., 2000; Chown et al., 2009; Nyamukondiwa & Terblanche 2010; Ribeiro et al., 2012). Conocer las temperaturas críticas puede ayudar a identificar nichos térmicos y explicar la coexistencia de especies simpátricas (Lighton & Turner 2004; de la Vega et al., 2015; Ribeiro et al., 2012; de la Vega & Schilman 2018).

El rango de tolerancia térmica está determinado por el nicho fisiológico, sistemático, molecular y celular de los animales, y se delimita por la temperatura crítica mínima (TC_{mín}) y máxima (TC_{máx}), que son las temperaturas dentro de las cuales los individuos presentan actividad motora (Lighton & Turner 2004; Nyamukondiwa & Terblanche 2010). Las TC son aquellas a las cuales los individuos dejan de responder, cesan sus funciones motoras y se convierten en vulnerables (i. e., depredación) (Ribeiro et al., 2012). Para insectos, la TC_{mín} es la temperatura que resulta en la pérdida de la función muscular coordinada, mientras que la TC_{máx} es la temperatura en la cual comienzan los espasmos musculares (Terblanche et al., 2006). Ambas TC son de gran interés ecológico y evolutivo (Lighton & Turner 2004). Las temperaturas mínimas ambientales se dan a mayor latitud alcanzando un máximo en los polos (fuerte gradiente térmico), mientras que las temperaturas máximas ambientales se dan más bien a latitudes medias (sin un gradiente latitudinal marcado). Es por eso que los animales ecto-termos presentan una mayor variación en la TC_{mín} que en la TC_{máx} (Gaston & Chown 1999; Addo-Bediako et al., 2000; Sunday et al., 2011). Además las TC difieren tanto entre especies, como también a nivel poblacional (Pörtner 2001).

Las tasas de incremento y decrecimiento de la temperatura pueden influir sobre los límites de tolerancia térmica alcanzados por una especie, por lo que debe ser tenido en cuenta en modelados de nicho ecológico mecanísticos (de la Vega et. al, 2015; Ribeiro et al., 2012; de la Vega & Schilman 2018). Nyamukondiwa & Terblanche (2010) trabajaron con dos especies de moscas de la fruta, *Ceratitis capitata* y *Ceratitis rosa*, y encontraron que rampas de aumento de temperatura más lentas pueden llevar, mediante un proceso de aclimatación, a TC_{máx} mayores. Por el contrario, Bentley et al. (2016) obtuvieron resultados diferentes en dos especies de hormigas invasoras, *Nylanderia fulva* y *Solenopsis invicta*. En

este caso, ambas especies al ser expuestas a rampas más lentas resultaron en valores menores de $TC_{m\acute{a}x}$, lo cual se puede explicar por el daño del calor acumulado. Esto se relaciona directamente con la aclimatación de los individuos, que puede influir en las mediciones de tolerancia térmica (Bowler & Terblanche 2008). Existen distintas aclimataciones; una aclimatación térmica durante la ontogenia, es decir durante el desarrollo del insecto pre-adulthood (Bowler & Terblanche 2008), y otra que resulta de los cambios propios de temperatura a la que son expuestos los insectos adultos, que es transitoria y reversible (Chown et al., 2007).

El tamaño y el peso de las hormigas también puede afectar las TC (Ribeiro et al., 2012; Bentley et al., 2016). Según la especie de hormiga, la relación entre el peso de las obreras y sus TC puede variar. Ribeiro et al. (2012) encontraron una relación positiva entre el peso y la $TC_{m\acute{a}x}$, que también la observaron Bentley et al. (2016) con *N. fulva* y *S. invicta*. Esto implica que obreras de mayores tamaños alcanzaron mayores $TC_{m\acute{a}x}$, presentando una mayor resistencia a la exposición a altas temperaturas. Además en el trabajo de Bentley et al. (2016), encontraron también una relación negativa entre el tamaño de las obreras y los $TC_{m\acute{i}n}$. Esto significa que obreras de tamaños mayores tolerarían también menores temperaturas, alcanzando $TC_{m\acute{i}n}$ más bajas que obreras de tamaños menores.

Otro parámetro importante relacionado con la tolerancia térmica es el tiempo de recuperación a un coma por frío (*Chill coma recovery*) de un insecto. Se define así, al tiempo que tarda un individuo en recuperarse (T_{rec}) luego de ser expuesto durante un periodo de tiempo a una determinada baja temperatura que le indujo un coma (Sinclair et al., 2015; Russell et al., 2017). Las temperaturas a las que se someten a los insectos para causarles un coma suelen ser variables, generalmente por debajo de sus $TC_{m\acute{i}n}$. Usualmente no causan la muerte, ya que son mucho más altas que sus temperaturas letales mínimas (Sinclair et al., 2015). Sin embargo, la exposición del mismo individuo a varias sesiones de coma, puede generarle daños irreversibles (Sinclair et al., 2015).

De los numerosos trabajos que miden la tolerancia térmica en hormigas (Lighton & Turner 2004; Schilman et al., 2007; Ribeiro et al., 2012; Bentley et al., 2016; Bishop et al., 2016), solo en Ribeiro et al. (2012) trabajaron con HCH (*Atta sexdens rubropilosa*). De existir una partición temporal de los períodos de actividad de forrajeo en especies simpátricas, se supone que las especies dominantes forrajearan a temperaturas alejadas a sus límites de tolerancia térmica, mientras que las especies subordinadas lo harán a temperaturas más próximas a estos (Cerdá et al., 2013). En campo, *A. lobicornis* y *A. striatus* exhibieron diferencias en los nichos térmicos y temporales (como se discutió en el Capítulo II), que puede deberse no solo a relaciones inter-específicas (e. g., competencia) sino también a sus

tolerancias térmicas fisiológicas (no analizadas en el trabajo de Nobua Behrmann et al., 2017), siendo que *A. lobicornis* forrajeó a intervalos de temperaturas menores 10- 35 °C que *A. striatus* (27- 45 °C). Resultados como estos, donde se estudian los rangos de temperatura en los que especies simpátricas de HCH están activas, así como también la tolerancia térmica fisiológica en laboratorio, son fundamentales como punto de partida para intentar comprender la coexistencia de especies simpátricas.

Objetivo específico

Determinar los límites de tolerancia térmica (temperaturas críticas mínimas y máximas) en el laboratorio de *A. lundii* y *A. ambiguus* y las temperaturas extremas de actividad de forrajeo en el campo en las estaciones del año más contrastantes (invierno y verano) con el fin de establecer si alguna de las especies forrajea más próximo a sus límites de tolerancia térmica que la otra.

Hipótesis y predicción

H.1. La actividad de forrajeo diaria de *A. lundii* y *A. ambiguus* está fuertemente relacionada con su tolerancia térmica. Debido a esto, esperamos que las temperaturas de actividad de forrajeo diaria de ambas especies en el campo se encuentren dentro del rango térmico que esas obreras son capaces de tolerar, e igualmente distanciadas de sus extremos (TC_{mín} y TC_{máx}).

Materiales y métodos

Colecta y mantenimiento de las colonias

Se colectaron varias colonias de *A. ambiguus* y solo una de *A. lundii* (debido a la mayor dificultad de su extracción) en la EEA INTA Delta durante el doctorado. Las colonias fueron mantenidas en laboratorio durante varios meses para luego llevar a cabo los estudios de tolerancia térmica y preferencia vegetal (Capítulo IV). Las colonias de *A. ambiguus* fueron extraídas abriendo el montículo con una pala de mano para llegar al centro donde se encuentra la honguera, mientras que en el caso de *A. lundii*, que no posee montículos, sino solo nidos subterráneos, se excavó con una pala de punta en el suelo a unos 20 cm del orificio de entrada hasta poder dar con la honguera. Se extrajo la mayor cantidad de hongo posible, para así aumentar la probabilidad de haber colectado a la reina de la colonia. El

hongo se colocó en un *tupper* plástico, previamente desinfectado con alcohol 96 % para evitar contaminar el hongo simbionte. Este *tupper* se colocó dentro de un *tupper* mayor (48 x 26 x 32 cm, ancho x alto x profundidad), cuyos 10 cm superiores se cubrieron con vaselina, para evitar el escape de las obreras. Mediante 15 cm de manguera cristal de 3,4" de diámetro, se unió el *tupper* contenedor a otro de 15 x 4 x 10 cm, con la tapa modificada con un rectángulo de malla de metal de tramado fino para permitir la ventilación del sistema, que funcionó de basurero de la colonia (Figura 3.1).

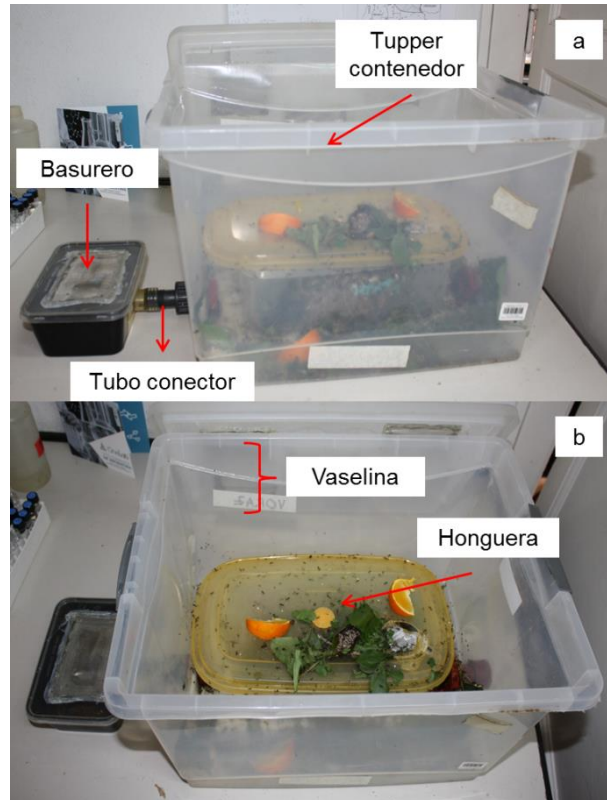


Figura 3.1: (a) Vista lateral y (b) superior de un nido artificial de *Acromyrmex lundii*.

Las colonias fueron mantenidas en cámaras de cría a una temperatura de 25 ± 1 °C, 55 ± 5 % de humedad relativa y un fotoperiodo de 16:8 horas luz:oscuridad. Los tubos de luz fueron cubiertos con papel madera para reducir la intensidad de luz y recrear las condiciones de oscuridad del nido. Se esperó al menos tres meses antes de utilizar las colonias en los ensayos, con el fin de que la gran mayoría de las obreras de la colonia hayan nacido en la cámara de cría, bajo las condiciones controladas y de este modo homogeneizar las condiciones de las obreras dentro de la colonia y entre colonias de las dos especies. Se alimentó diariamente a las colonias con plantas que no fueron utilizadas en los ensayos de preferencia (Capítulo IV), como hojas de rosa china (*Hibiscus rosa-sinensis*), ligustro (*Ligustrum lucidum*), glicina (*Wisteria* sp.), mora (*Morus nigra*), fresno (*Fraxinus* sp.),

entre otras, y según la disponibilidad se les proveía también de flores y frutos de estación. Además, se adicionaron frutas comerciales, tal como naranja, mandarina, manzana y kiwi, y una mezcla de arroz con avena.

Temperatura crítica mínima

Para la medición de la $TC_{mín}$ se utilizó una colonia de cada especie, ya que solo se disponía de una colonia de *A. lundii*, que afortunadamente se encontró en buen estado, mientras que de *A. ambiguus* se eligió la que estaba en mejor estado. Se tomaron al azar 30 obreras de distintos tamaños de cada colonia, esperando representar la variabilidad de los mismos. El dispositivo de medición consistió en una placa metálica (*Sable Systems International*, Las Vegas, NV, USA) que mediante un controlador mantuvo durante 5 min la temperatura constante a 25 °C (condiciones de cría), para luego ir disminuyendo a una tasa constante de 0,25 °C/min, hasta alcanzar la $TC_{mín}$ de cada hormiga. El dispositivo permitió realizar mediciones en simultáneo de cuatro obreras (dos de cada especie) individualizadas en placas de Petri de vidrio con las paredes cubiertas de vaselina para evitar el ascenso de las hormigas por las paredes, y de esta manera, perder el contacto directo con la placa (Figura 3.2). Se consideró la $TC_{mín}$ de cada hormiga a la temperatura a la cual quedó inmovilizada, perdiendo su postura natural (cae de lado). Se corroboró la pérdida del movimiento mediante la no respuesta de la hormiga al contacto con un pincel. Para estudiar la posible relación entre la masa y la $TC_{mín}$, las obreras se pesaron luego de cada ensayo, aprovechando su adormecimiento debido al frío. Las experiencias se realizaron en una cámara fría cuya temperatura oscilaba entre 5 y 8 °C en el Laboratorio de Ecofisiología de Insectos del Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental (DBBE), en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (FCEyN- UBA), durante el mes de julio de 2017.



Figura 3.2: (a) Dispositivo para medir temperatura crítica mínima. Consta de una placa metálica con un controlador de la temperatura. (b) Vista superior de la placa metálica, donde se observan cuatro obreras de *Acromyrmex* spp. individualizadas en placas de Petri con vaselina en sus laterales para evitar el ascenso de las hormigas.

Temperatura crítica máxima

Para medir la temperatura crítica máxima se utilizó un dispositivo diferente al utilizado para medir la TC_{min}, que consta de una cápsula de vidrio en la que se colocaron las obreras de cada especie de a una y se registró el movimiento mediante un sensor infrarrojo y la concentración de dióxido de carbono mediante un analizador de dicho gas (*Sable Systems International*, Las Vegas, NV, USA, Figura 3.3). La cápsula estuvo contenida dentro de una cámara en la cual la temperatura variaba a través del flujo de aire que atravesaba por una serpentina de cobre conectada a una termo-cupla. Mediante un controlador se reguló la temperatura, primero durante 5 min a 25 °C y después incrementándola mediante una rampa de tasa constante similar a la utilizada para medir la TC_{mín}, hasta que la obrera dejara de moverse. Debido a que este método es más preciso que el de TC_{mín}, solo se utilizaron 15 obreras de distintos tamaños para cada especie de los mismos nidos utilizados para TC_{mín}. Se consideró la TC_{máx} en función al cese de la actividad motora y a un punto de inflexión del patrón de la concentración de dióxido de carbono medida en el interior de la cápsula (Figura 3.4). El cálculo de TC_{máx} se realizó según Lighton & Turner (2004) y de la Vega et al. (2015), a través del software *ExpeData* (*Sable Systems International*, Las Vegas, NV, USA). Las hormigas se pesaron inmediatamente antes de los ensayos en una balanza digital, para evitar diferencias de peso por la pérdida de agua.

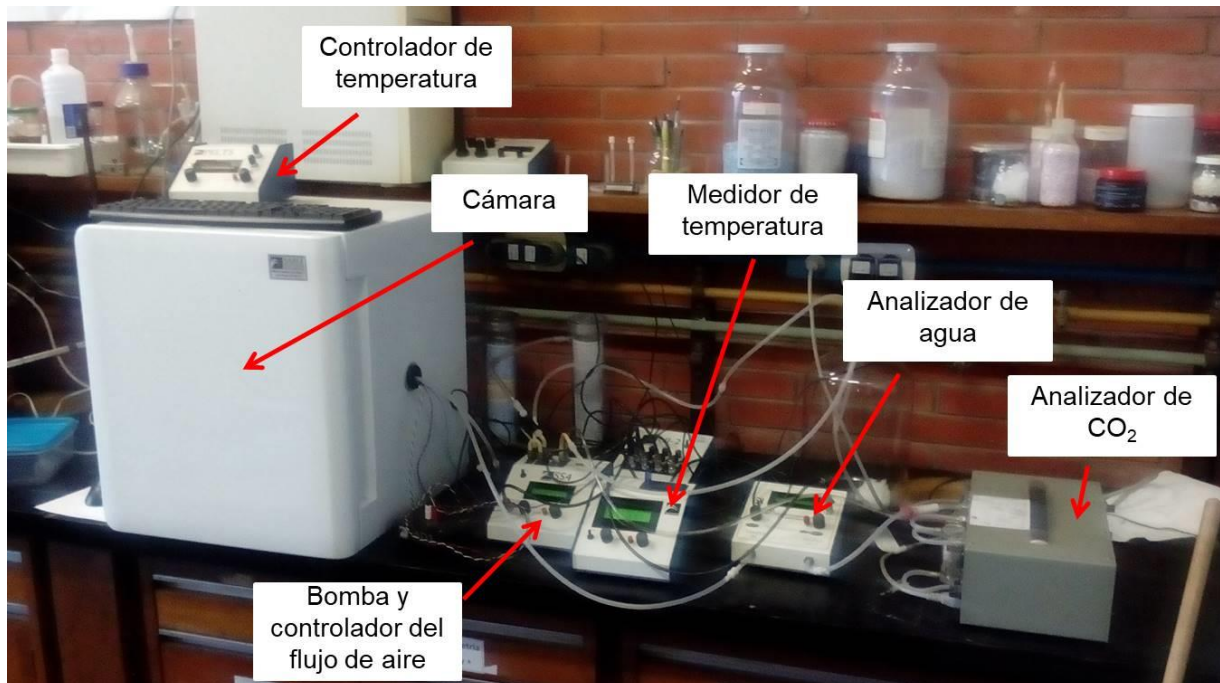


Figura 3.3: Dispositivo para medir temperatura crítica máxima.

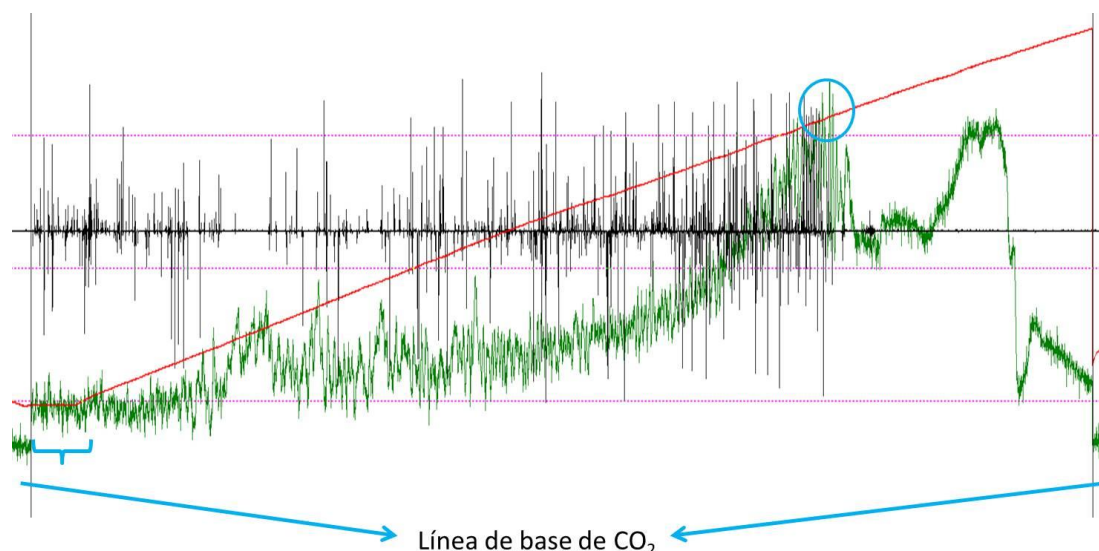


Figura 3.4: Registro de la temperatura crítica máxima (TCmáx) de una obrera de *Acromyrmex lundii* (peso = 8,7 mg). En verde se observa el registro de CO₂ a lo largo del tiempo que duró la medición. En rojo se observa la temperatura constante (25 °C) durante los primeros 5 min (llave celeste) y luego una rampa ascendente de 0,25 °C/min. En negro se registra el movimiento de la obrera dentro de la cápsula. El círculo celeste, indica el punto de inflexión del CO₂, coherente con el cese de la actividad motora, que indica la TCmáx de esa obrera.

Los ensayos de la TCmáx se llevaron a cabo conjuntamente con los de TCmín durante el mes de julio de 2017 en el Laboratorio de Ecofisiología de Insectos del DBBE, FCEyN-UBA.

Temperaturas de forrajeo en campo

De los datos obtenidos en el Capítulo II, se determinaron las temperaturas mínimas y máximas en las que se registró actividad de forrajeo de cada especie en verano e invierno, para compararlas con las temperaturas críticas mínimas y máximas que las obreras fisiológicamente toleran, registradas en éste capítulo.

Tiempo de recuperación al frío

Se seleccionaron al azar obreras de distintos tamaños de cada especie de los mismos nidos utilizados en las mediciones de TC, se las aisló individualmente en tubos de microcentrífuga de 1,5 ml y se las colocó en un *freezer* horizontal a 0 °C, durante 1 h (n = 32) y 3 h (n = 40). Transcurrido el tiempo, se las acomodó sobre sus patas en una cuadrícula hecha en papel para individualizarlas, y se midió el tiempo que transcurrió hasta que cada hormiga se incorporó sobre sus patas y dio un paso. Este tiempo fue considerado como el Trec. Luego cada hormiga fue pesada para estudiar la relación entre el peso y el Trec. Se registró también la supervivencia a las 24 h de la exposición (1 y 3 horas) a los 0 °C. Estos ensayos se llevaron a cabo en la FuEDEI entre mayo y julio de 2018.

Análisis de datos

Los valores de TC_{mín}, TC_{máx} y T_{rec} obtenidos (variable dependiente) en los ensayos se analizaron mediante un ANCOVA, donde la variable independiente fue la especie y la co-variable el peso, mientras que para supervivencia se adicionó el tiempo como otro factor. Las temperaturas se modelaron como normales por la naturaleza de sus datos y porque sus errores cumplieron dicho supuesto. Para todos los análisis se utilizó la función *lm* del paquete *stats* del software R, mediante a inter-fase *RStudio*.

Resultados

Temperatura crítica mínima

La TC_{mín} media ($\pm$ E.E.) de *A. ambiguus* ($4,50 \pm 0,16$ °C) fue mayor que la de *A. lundii* ($3,23 \pm 0,17$ °C) ($F_{1, 57} = 30,32$, $P < 0,0001$). Las obreras de *A. lundii* fueron en promedio más pesadas ($5,57 \pm 0,43$ mg) que las de *A. ambiguus* ($4,42 \pm 0,37$ mg). El modelo que contempló la interacción entre la TC_{mín} y el peso no fue significativo ($F_{1, 56} = 0,08$, $P = 0,78$), lo que implica que las colonias de ambas especies responden de manera similar a la relación entre la TC_{mín} y el peso de sus obreras (pendientes similares entre las dos especies). La regresión sin interacción fue significativa ($F_{2, 57} = 56,81$, $P < 0,0001$, $R^2_{aj} = 0,65$). Tanto el coeficiente de regresión del peso ($t = -7,38$, $P < 0,0001$) como el de la especie ($t = -5,51$, $P < 0,0001$) fueron significativos, indicando la diferencia en las ordenadas de origen entre las colonias de las dos especies (Figura 3.5). Esto indica, que las TC_{mín} de las obreras de pesos muy pequeños (cerca de 0,1 mg, ordenada al origen) se diferencian entre las colonias de ambas especies, siendo el de *A. ambiguus* mayor (diferencias fisiológicas específicas). A pesar de esto, el cambio por unidad de peso afecta de la misma manera a las variaciones en la TC_{mín} de las obreras de *A. lundii* y de *A. ambiguus*. A medida que el peso de las obreras aumente, la TC_{mín} irá disminuyendo y el cambio por unidad será igual para ambas especies de HCH (igual pendiente). En resumen, hormigas más pequeñas tendrán TC_{mín} mayores, es decir, perderán sus funciones motoras coordinadas a mayores temperaturas, mientras que hormigas de mayor peso resistirán más la exposición a las bajas temperaturas alcanzando TC_{mín} menores.

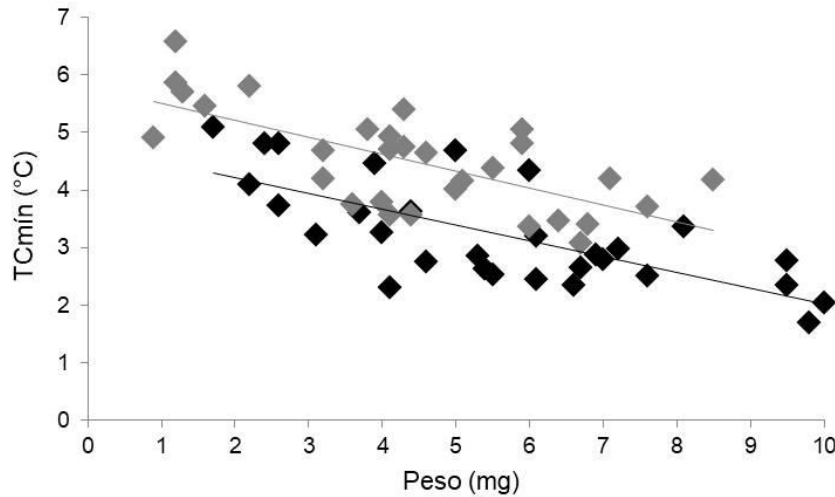


Figura 3.5: Regresión lineal entre la temperatura crítica mínima (TCmín, en °C) y el peso de las obreras (mg) de *Acromyrmex lundii* (rombos negros) y *A. ambiguus* (rombos grises). Las ecuaciones de las rectas son: $TCmín = 5,75 - 0,28 * \text{peso}$ para *A. ambiguus* y $TCmín = 4,80 - 0,28 * \text{peso}$ para *A. lundii*. $R^2_{aj} = 0,65$.

Temperatura crítica máxima

La TCmáx media ($\pm$ E.E.) de *A. ambiguus* ($45,03 \pm 0,24$ °C) fue menor que la de *A. lundii* ($45,99 \pm 0,22$ °C) ($F_{1, 27} = 5,85$, $P = 0,02$). Las obreras de *A. lundii* fueron en promedio más pesadas ($6,11 \pm 0,51$ mg) que las de *A. ambiguus* ($5,04 \pm 0,55$ mg). El modelo que contempló la interacción entre la TCmáx y el peso no fue significativo ($F_{1, 26} = 0,12$, $P = 0,73$), lo que implica que las colonias de ambas especies responden de manera similar a la relación entre la TCmáx y el peso de sus obreras (pendientes similares entre las dos especies). La regresión sin interacción fue significativa ($F_{2, 27} = 9,07$, $P = 0,001$, $R^2_{aj} = 0,36$). Tanto el coeficiente de regresión del peso ($t = 2,76$, $P = 0,01$) como el de la especie ($t = 2,42$, $P = 0,02$) fueron significativos, indicando la diferencia en las ordenadas de origen entre las colonias de las dos especies (Figura 3.6). Esto indica, que las TCmáx de las obreras de pesos muy pequeños (cerca de 0,1 mg, ordenada al origen) se diferencian entre las especies, siendo el de *A. lundii* mayor (diferencias fisiológicas específicas). A pesar de esto, el cambio por unidad de peso afecta de la misma manera a las variaciones de la TCmáx de las obreras de *A. lundii* y de *A. ambiguus*. A medida que el peso de las obreras aumenta, la TCmáx irá aumentando y el cambio por unidad será igual para ambas especies de HCH (igual pendiente). En resumen, hormigas más pequeñas tendrán TCmáx menores, es decir, perderán sus funciones motoras coordinadas a menores temperaturas, mientras que hormigas de mayor peso resistirán más la exposición a las altas temperaturas adquiriendo TCmáx mayores.

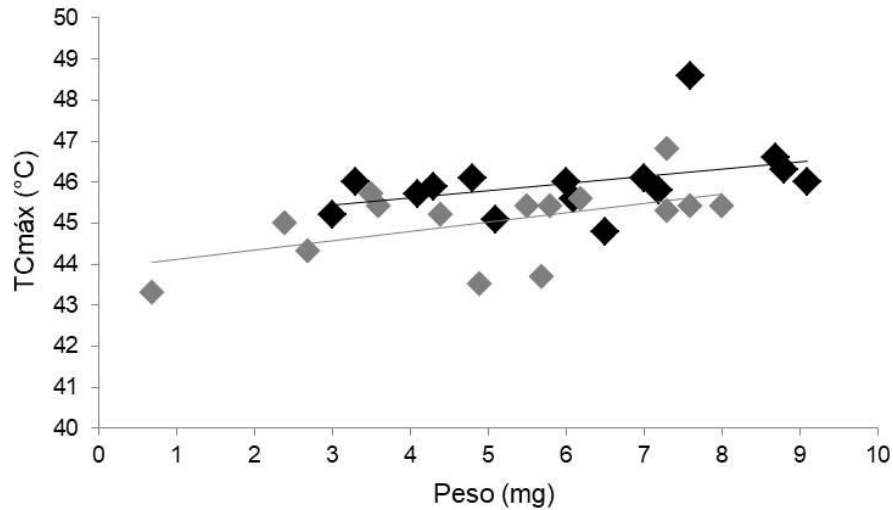


Figura 3.6: Regresión lineal entre la temperatura crítica máxima (TCmáx, en °C) y el peso de las obreras (mg) de *Acromyrmex lundii* (rombos negros) y *A. ambiguus* (rombos grises). Las ecuaciones de las rectas son: TCmáx = 44,73 + 0,20 * peso para *A. lundii* y TCmáx = 43,99 + 0,20 * peso para *A. ambiguus*. $R^2_{aj} = 0,36$.

Temperaturas de forrajeo en campo

En invierno, las temperaturas de forrajeo observadas fueron de entre 9,70 y 24,03 °C para *A. lundii* y entre 7,87 y 27,93 °C para *A. ambiguus* (Figura 3.7), mientras que las temperaturas registradas a nivel del suelo en los senderos cerca de los nidos fueron de 6,23 y 24,03 °C para *A. lundii* y de 5,52 y 27,93 °C para los de *A. ambiguus*. Es decir, que en invierno existieron temperaturas a nivel del suelo menores a las temperaturas de actividad de forrajeo en las cuales las obreras de ambas especies decidieron no salir al exterior del nido. Las temperaturas de forrajeo en el campo durante el verano de 2017 fueron de entre 19,10 y 32,26 °C para *A. lundii* y entre 18,89 y 33,66 °C para *A. ambiguus* (Figura 3.7). Cabe destacar que los intervalos de temperatura medidos a nivel del suelo durante los días de verano para ambas especies de HCH, fueron los mismos que los intervalos de temperatura en los que se observó forrajeo de las HCH. Esto quiere decir que no hubo temperaturas a nivel del suelo mayores o menores en las que no se haya observado actividad de las HCH en verano. Por otro lado, *A. ambiguus* forrajeó en campo a temperaturas más próximas a sus límites de tolerancia térmica (Figura 3.7).

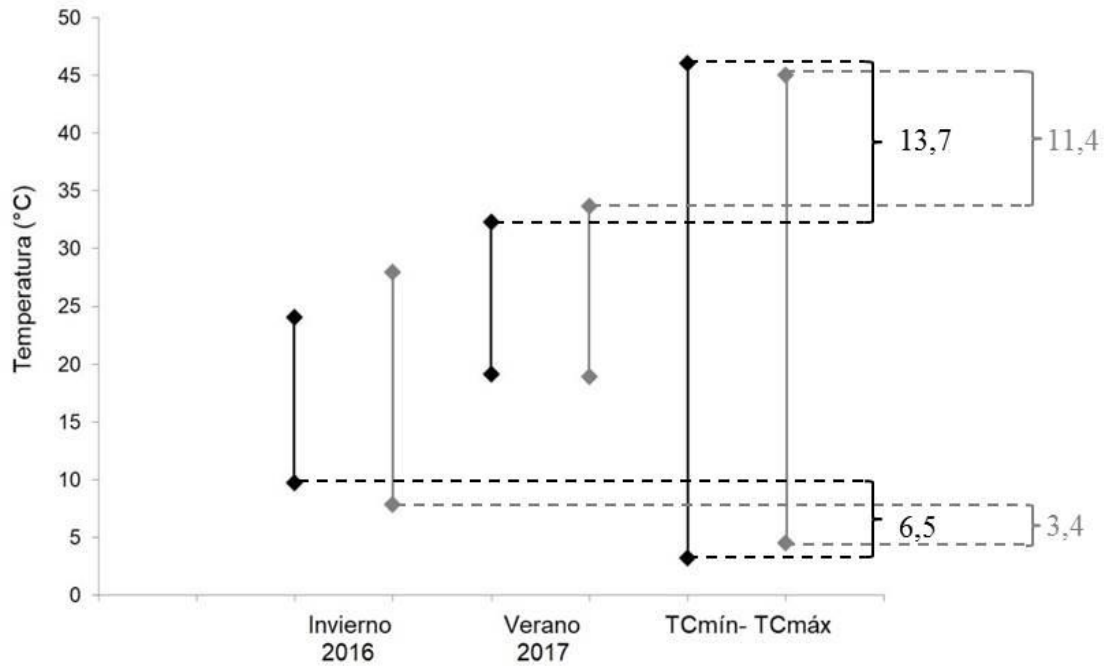


Figura 3.7: Intervalos de temperaturas de forrajeo en invierno de 2016 y verano de 2017 y temperaturas críticas mínimas y máximas (TCmín y TCmáx) de *Acromyrmex lundii* (negro) y *A. ambiguus* (gris). Se representan con llaves las diferencias entre las temperaturas mínimas de forrajeo en campo y las TCmín, y entre las temperaturas máximas de forrajeo en campo y las TCmáx para cada especie de HCH.

Tiempo de recuperación

Las obreras de ambas especies se recuperaron más rápido luego de una hora de exposición a 0 °C que luego de tres horas. El Trec de las obreras de las colonias de ambas especies, luego de que permanecer durante una hora a 0 °C, osciló entre los 3,35 y 16,37 minutos, ubicándose el pico de recuperación entre los 5 y 10 minutos (Figura 3.8). El Trec medio ($\pm$ E.E.) fue menor para *A. ambiguus* ($7,66 \pm 0,54$ min) que para *A. lundii* ($8,07 \pm 0,46$ min). El peso medio ($\pm$ E.E.) de las obreras de *A. ambiguus* ($2,28 \pm 0,16$ mg) fue menor que el de las obreras de *A. lundii* ($3,20 \pm 0,32$ mg). El modelo de regresión de Trec en función del peso y la especie de HCH, que contempló la interacción no fue significativo ($F_{3, 60} = 0,85$, $P = 0,47$), mientras que tampoco lo fue el modelo sin interacción ($F_{2, 61} = 0,61$, $P = 0,55$). Es decir, no hubo efecto ni de la especie ($F_{1, 61} = 0,71$, $P = 0,40$) ni del peso ($F_{1, 61} = 0,51$, $P = 0,48$) para el Trec luego de someter a las obreras durante una hora a 0 °C (Figura 3.9a). Es decir, el Trec luego de 1 hora a 0 °C de ninguna de las especies, presentó relación con el peso de las obreras.

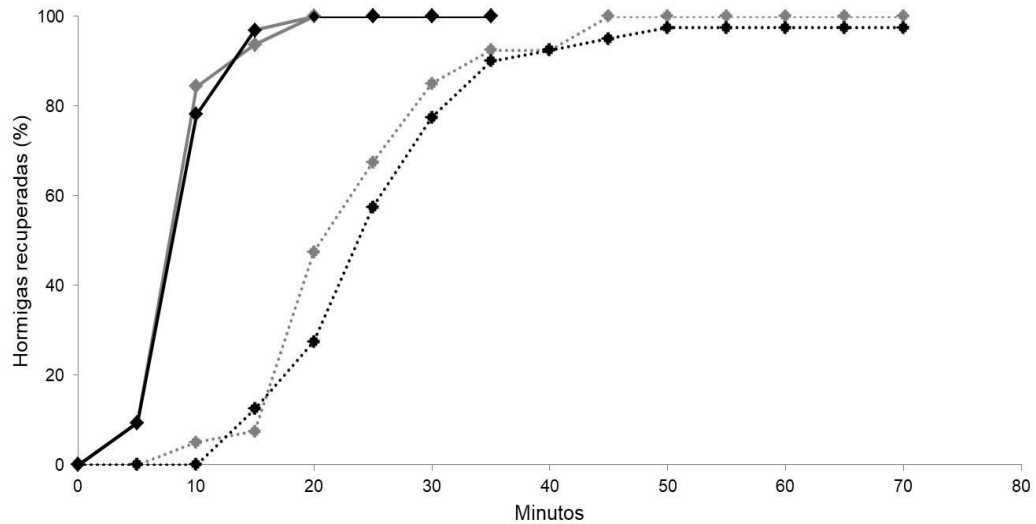


Figura 3.8: Porcentaje de hormigas recuperadas de *Acromyrmex ambiguus* (líneas grises) y de *A. lundii* (líneas negras) en función del tiempo, luego de una (líneas completas, n=32) y tres horas (líneas punteadas, n=40) de ser sometidas a 0 °C.

Las obreras que permanecieron durante tres horas a 0 °C, se recuperaron entre los 13,25 y los 53,49 minutos, presentando el pico de recuperación para las colonias de ambas especies entre los 20 y 30 minutos (Figura 3.8). El Trec medio ($\pm$ E.E.) fue nuevamente menor para *A. ambiguus* ($27,63 \pm 1,24$ min) que para *A. lundii* ($29,57 \pm 1,33$ min). Todas las obreras, salvo una de *A. lundii*, se recuperaron antes de los 70 minutos. El peso medio ($\pm$ E.E.) de las obreras de *A. ambiguus* ($2,20 \pm 0,17$ mg) fueron menor que las obreras de *A. lundii* ($2,82 \pm 0,29$ mg). El modelo de regresión de Trec en función del peso y la especie de HCH que contempló la interacción fue significativo ($F_{3, 75} = 3,08$, $P = 0,03$, $R^2_{aj} = 0,07$), lo que implica una diferencia de pendientes entre las colonias de ambas especies ($t = 2,59$, $P = 0,01$), indicando la diferencia entre las ordenadas de origen (Figura 3.9b). Es decir, el Trec luego de 3 horas de exposición a 0 °C en función del peso de la obreras expuestas, presentó diferentes respuestas para *A. ambiguus* y *A. lundii*. Por un lado, el mínimo Trec de *A. ambiguus* que corresponde a obreras de pesos bajos ($\sim 0,5$ mg) es menor al mínimo Trec de *A. lundii* para obreras de tamaños similares (Figura 3.9b), indicando un retardo en la recuperación de esta última especie (Figura 3.8). Por otra parte, el cambio por unidad de peso de las obreras, afecta de manera diferencial el Trec de las colonias de cada especie. A medida que el peso de las obreras de la colonia de *A. ambiguus* aumenta, el Trec aumenta (relación positiva), mientras que a medida que el peso de obreras de la colonia de *A. lundii* aumenta, el Trec disminuye (relación negativa) (Figura 3.9b).

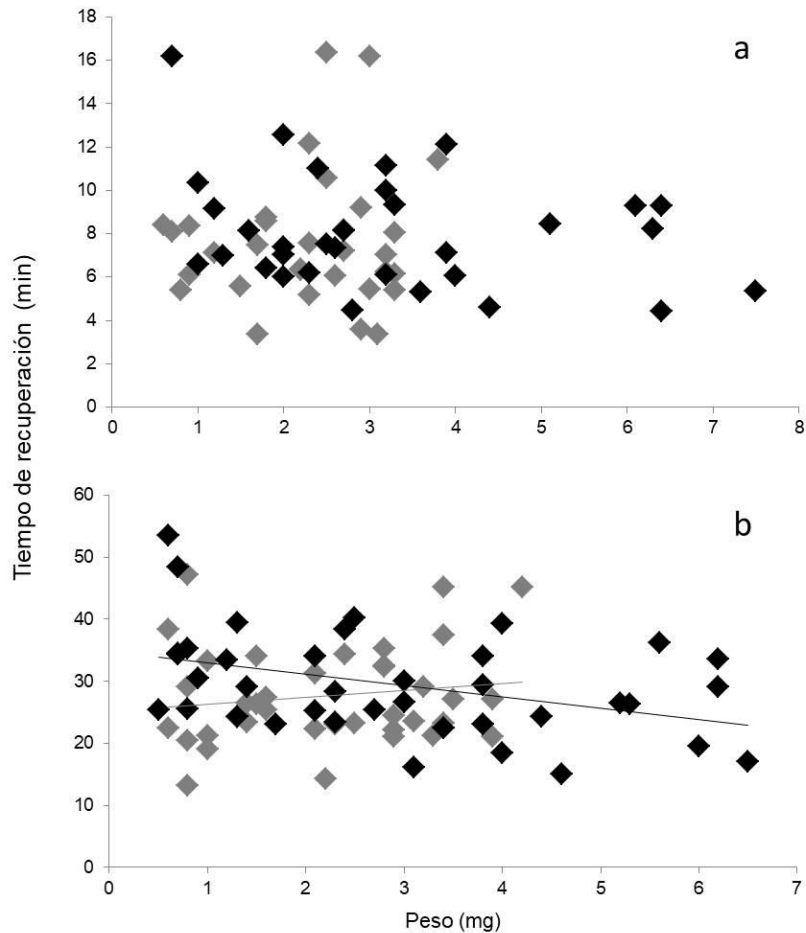


Figura 3.9: Tiempo de recuperación (Trec, en minutos) luego de (a) una hora y (b) tres horas a 0 °C de obreras de *Acromyrmex ambiguus* (rombos grises) y de *A. lundii* (rombos negros) en función de su peso (miligramos).

Durante la exposición de 1 h no hubo relación entre el Trec y el peso, pero si existió relación en la exposición

durante 3 h. Las ecuaciones de las rectas son: *A. ambiguus*: $Trec = 25,17 + 1,12 * peso$;

A. lundii: $Trec = 34,79 - 1,82 * peso$. $R^2_{aj} = 0,07$.

Supervivencia

La supervivencia de las obreras de las colonias de ambas especies de HCH a las veinticuatro horas de ser expuestas por una y tres horas a 0 °C fue del 100 %, con la excepción de *A. ambiguus* que fue del 97 % cuando permaneció una hora en frío (solo una obrera que pesaba 3 mg no sobrevivió). Estos resultados indicarían que a esta temperatura y en estos tiempos de exposición no habría un efecto negativo del frío en la supervivencia de las obreras aclimatadas a 25 °C.

Discusión

La actividad de forrajeo diaria de *A. lundii* y *A. ambiguus* estuvo fuertemente relacionada con su tolerancia térmica. Las colonias de las dos especies presentaron

diferentes intervalos de tolerancia térmica (TC_{mín} - TC_{máx}), siendo el de *A. lundii* de mayor amplitud (3,23- 45,99 °C) y conteniendo al de *A. ambiguus* (4,50- 45,03 °C). Esto se correspondió con los intervalos de actividad de forrajeo en campo. Las colonias de ambas especies presentaron una TC_{mín} 2- 3 °C menor a la temperatura mínima medida a nivel del suelo registrada en los senderos de forrajeo. Los intervalos de temperatura de forrajeo de ambas especies no se superpusieron completamente. El espectro de temperaturas de la colonia de *A. ambiguus* comprendió temperaturas levemente menores que el de la colonia de *A. lundii*. *Acromyrmex lobicornis* y *A. striatus* presentaron diferencias mayores en sus intervalos en el Desierto del Monte, en Argentina, lo que resultó en una menor superposición (Nobua Behrmann et al., 2017). Esto demuestra una diferenciación importante del nicho térmico entre las especies simpátricas, distinto a lo observado en los resultados de este capítulo. Esto podría implicar que las condiciones ambientales y la oferta de recursos vegetales del Bajo Delta del Río Paraná permiten que ambas especies coexistan temporalmente, sin mostrar evidencias de una potencial competencia. Esto puede cambiar en otros ambientes o regiones del país, en especial en zonas cercanas a los límites de distribución de *A. ambiguus*, donde esta especie no es tan abundante como *A. lundii* (Farji-Brener & Ruggiero 1994; Sánchez Restrepo et al., 2019).

Las colonias de ambas especies respondieron de manera similar a las variaciones en sus TC_{mín} y TC_{máx} en relación al peso. Es importante aclarar que las TC obtenidas en este estudio se obtuvieron con una rampa de incremento/disminución de la temperatura de 0,25 °C/min y con una aclimatación previa de más de tres meses a 25,0 °C. De esta manera, los resultados podrían variar con otras rampas y temperaturas de aclimatación. Esto se vio en estudios con dos especies de moscas de la fruta del género *Ceratitis*, en donde aclimataciones a mayores temperaturas, incrementaron la TC_{máx}, mientras que aclimataciones a menores temperaturas disminuyeron las TC_{mín} (Nyamukondiwa & Terblanche 2010). Esto se debe a las diferencias en la plasticidad fenotípica entre especies o incluso entre poblaciones de una misma especie expresadas luego de un período de aclimatación, generando obreras que resistan más y alcancen límites térmicos más extremos (Calosi et al., 2008; Nyamukondiwa & Terblanche 2010). Para determinar si estas dos especies de HCH son capaces de expresar una mayor plasticidad térmica se deberían replicar estos ensayos con aclimataciones a distintas temperaturas (e. g., 15, 20, 30 °C).

Como en otras especies con obreras polimórficas, el peso presentó gran variación en ambas especies. En los ensayos de esta tesis se contemplaron todos los pesos posibles de obreras de las colonias, inclusive las más pequeñas que en trabajos como el de Ribeiro et al. (2012) no se tuvieron en cuenta, ya que ellas no saldrían del nido a explorar o recolectar material vegetal, exponiéndose a las temperaturas ambientes. El peso medio de las obreras

de la colonia de *A. lundii* fue mayor al de las obreras de la colonia de *A. ambiguus*. Debido a que se encontró relaciones entre el peso y las TC, es posible que *A. lundii* alcance valores más extremos de TC (menores TC_{mín} y mayores TC_{máx}) debido a su mayor peso y no solo por su condición fisiológica. No obstante, dado un mismo peso de obrera, los valores de TC de *A. lundii* fueron más extremos que los de *A. ambiguus*. Esto podría presentar evidencias con respecto a diferencias fisiológicas entre las dos especies de HCH.

La edad del individuo es otra variable importante que influyen sobre las tolerancias térmicas (Bowler & Terblanche 2008). En este capítulo, dicho factor no fue tomado en cuenta ya que implicaría tener colonias más pequeñas o sub-colonias, en las que uno pudiese ir aislando obreras a medida que eclosionan, para realizar un seguimiento más individual o de cohorte. Esto último trae dos inconvenientes importantes. Por un lado, los huevos y las pupas se encuentran dentro del entramado del hongo, con lo cual ir controlando pupas por eclosionar (son color café, contra el resto de pupas blanquecinas), implica estar removiendo y desarmando la estructura del hongo, lo que puede afectar el comportamiento natural de la colonia y estresar a las obreras. Por otro lado, la forma de separarlas una vez identificadas también puede ser complicada, ya que las obreras sobreviven pocos días aisladas de la colonia. Por todas estas razones, el efecto de la edad de las hormigas sobre su tolerancia térmica no pudo ser evaluado en esta tesis.

En lo que respecta a los tiempos de recuperación, si bien *A. ambiguus* evidenció un Trec menor que *A. lundii*, las colonias de ambas especies presentaron una tasa de supervivencia similar luego de una y tres horas de ser expuestas a 0 °C. Con tiempos mayores y temperaturas menores de exposición estas diferencias podrían incrementarse. Desafortunadamente no se pudo realizar el ensayo con condiciones más extremas debido a que las colonias empezaron a decaer abruptamente, hasta agotarse todo su hongo y disminuir la cantidad de obreras. Pese a permanecer en cámaras de cría, durante los inviernos, todas las colonias manifestaron un decrecimiento normal del tamaño de su hongo, para luego recuperarse durante el inicio de la primavera. Esto podría deberse a la calidad y variedad del alimento, que es menor durante la época invernal. En este caso, pudo haber ocurrido una contaminación en la cámara que afectó la sanidad del hongo, lo que llevó a la muerte de 4 colonias (*A. lundii*, y otras tres especies: *A. lobicornis*, *Acromyrmex hispidus* y *A. crassispinus*) en el periodo de un mes y medio. Ante la imposibilidad de disponer de nuevas colonias, ya que esto requeriría esperar 2- 3 meses a que se aclimaten a 25 °C y que haya una renovación prácticamente total de sus obreras, no se pudieron probar otros tiempos de exposición al frío, otras temperaturas más bajas que 0 °C, ni realizar los controles de los ensayos de supervivencia aislando hormigas por 24 h sin someterlas al frío. Por otro lado, no se observó relación entre el Trec y el peso de las obreras luego de que

ambas especies fueran expuestas durante una hora a 0 °C, pero si se encontró una relación positiva (*A. ambiguus*) y negativa (*A. lundii*) luego de tres horas de exposición. Cabe mencionar que estos ensayos se realizaron en conjunto con otras tres especies de HCH; dos especies simpátricas (*A. lobicornis* y *A. crassispinus*) de una localidad de la provincia de Córdoba y una especie (*A. hispidus*) de Itacurubí de la Cordillera, Paraguay (datos no publicados). Luego de ser expuestas una hora a 0 °C, las 5 colonias se comportaron relativamente de manera similar. No obstante, a las tres horas se empezó a diferenciar el patrón de Trec de acuerdo a las distintas localidades. Las obreras de *A. lundii* y *A. ambiguus* se recuperaron antes que las obreras de *A. lobicornis* y *A. crassispinus* (que lo hicieron de manera similar) y por último las de *A. hispidus*, cuya colonia se encontraba a una latitud menor.

Los trabajos de tolerancia térmica, además de aportar información valiosa sobre las características de cada especie de HCH estudiada, son de suma importancia en el modelado de nichos ecológicos y en estudios evolutivos, en vista de cambios inminentes de temperatura en el mundo debido al calentamiento global. En este escenario, las especies con baja plasticidad térmica o baja tolerancia a altas temperaturas ambientales serán las más afectadas, ya que estos factores determinaran también la amplitud de su área de distribución geográfica (Calosi et al., 2008; de La Vega & Schilman 2018). En este sentido, este trabajo aporta información novedosa sobre la tolerancia térmica fisiológica y los límites de temperaturas dentro de los cuales las obreras forrajea y están activas fuera del nido de dos especies de HCH consideradas potenciales plagas. Estos datos se podrán emplear para el modelaje de sus distribuciones ante un escenario de cambio climático, información geográfica que tiene valor tanto conceptual como aplicado.

Capítulo IV

PREFERENCIA VEGETAL

Resumen

Las HCH cortan ciertas especies vegetales para llevar al nido y nutrir al hongo simbiote dentro de una gran variedad de plantas disponibles en el ambiente. Las obreras evitan cortar especies de plantas con altas concentraciones de compuestos químicos defensivos en sus hojas, así como también evitan cortar plantas con defensas físicas, como hojas muy duras o con tricomas. Con el fin de estudiar la preferencia trófica de *Acromyrmex lundii* y *A. ambiguus* sobre cuatro especies o clones forestales de sauces (Americano, Géminis, Nigra 4 y Yaguareté), cuatro clones de una especie de álamo (Australiano, Carabelas, Guayracá y Ñacurutú) y dos especies de árboles nativos, el Ceibo (*Erythrina crista-galli*) y el Sauce criollo (*Salix humboldtiana*, único sauce nativo), se llevó a cabo un ensayo, en el que se expuso a una colonia de cada especie de HCH, a todas las combinaciones posibles de a pares de estas plantas (2- 4 gr. de cada una). Luego de una hora se determinó la planta más consumida según el peso removido y se generó un ranking de preferencias para cada especie de HCH. A su vez, se midió la dureza de las hojas con un penetrómetro y se confeccionó un *ranking* que fue comparado con el *ranking* de preferencia mediante una regresión simple. Ambas especies de HCH prefirieron a los sauces (incluido el *S. humboldtiana*) más que a los álamos, y a las salicáceas en general, más que al Ceibo. La preferencia por las especies de plantas no estuvo relacionada con el grado de dureza de sus hojas. De esta manera, es probable que la selección de las plantas se deba a una combinación de defensas químicas y calidad nutricional de sus hojas más que a su dureza.

Introducción

Las HCH deben seleccionar las plantas que cortan para llevar al nido dentro de una gran variedad disponible en el ambiente (Howard 1987, 1988; Wirth et al., 2003). La oferta relativa de las especies de plantas puede afectar tanto la intensidad del forrajeo (Capítulo II) como la selección de ciertas especies vegetales. La decisión de cual planta cortar es compleja, ya que no solo depende de la elección individual de las obreras sino también de la aceptación del hongo (Hölldobler & Wilson 1990). Si la selección de las hormigas no es la adecuada para el hongo, la colecta de esa planta se detiene horas más tarde, ya que las jardineras dejarán de procesar el material cortado (Herz et al., 2008; Arenas & Roces 2017).

Las hormigas del género *Acromyrmex* muestran una gran plasticidad forrajera, pudiendo cambiar de una estrategia selectiva (i. e., consumir una especie en mayor proporción a su abundancia) a oportunista (i. e., consumir una especie en función de su abundancia) durante el año (Franzel & Farji-Brener 2000; Nobua Berhmann 2014). Esto representaría una regulación *bottom up* o “desde abajo” del sistema. De este modo, el impacto de las HCH debería ser menor cuando se comportan como oportunistas debido a que cortarán plantas en función de su disponibilidad en el ambiente, mientras que cuando se comporten como especialistas, seleccionarán solo plantas en baja abundancia relativa, afectando desproporcionalmente la estructura de la comunidad vegetal (Nobua Berhmann 2014).

Varias características de las plantas determinan su probabilidad de ser cortadas por las HCH. Por un lado, las HCH prefieren hojas con mayor concentración de nutrientes (Berish 1986). Por otra parte, evitan cortar especies o individuos con altas concentraciones de compuestos químicos defensivos en sus hojas, como fenoles, alcaloides, taninos, terpenos, glicósidos fenólicos y resinas entre otros (Howard 1987, 1988; Farji-Brener & Protomastro 1992; Boeckler et al., 2011; Medina et al., 2012). Sin bien las características químicas suelen ser las más estudiadas, las propiedades físicas también cumplen un rol en la selección de plantas por parte de los herbívoros (Howard 1988; Nichols-Orians et al., 1989; Vincent 1991; Goitia 2010). Entre ellas, estructuras como los tricomas y la dureza de las hojas correspondiente a tejidos lignificados y fibrosos, son difíciles de digerir o cortar por los insectos defoliadores y herbívoros en general (Howard 1988). Por ejemplo, la presencia de tricomas en las hojas afecta la decisión de las HCH por cortar una planta, ya que les impide obtener información mediante el tacto de sus antenas respecto de la dureza de las hojas o el acceso a la hoja para un corte de prueba (Howard 1988). Diferencias en la dureza del material cortado, se observó en el caso de dos especies simpátricas, *A. lundii* y *A. heyeri*, en tres departamentos de Uruguay. La primera corta dicotiledóneas y en menor

proporción pastos, y la segunda es exclusiva de monocotiledóneas (Goitia 2010). La elección de *A. lundii* puede responder a que las dicotiledóneas son menos duras que los pastos, pudiendo dejar el corte de éstos últimos confinado a la limpieza de los senderos. Esto se correlaciona con una menor masa muscular cefálica y en consecuencia, menor fuerza de sus mandíbulas, además de una técnica de corte (en semi-círculo) muy diferente a la de *A. heyeri* (Goitia 2010). Por su parte, *A. heyeri* presenta más fuerza en sus mandíbulas moviéndolas al mismo tiempo y cerrándolas a modo de tenaza, realizando cortes transversales al eje de los pastos. Debido a su fuerza, las obreras de *A. heyeri* podrían cortar tanto mono como dicotiledóneas, no obstante acortan su nicho a las especies vegetales con las hojas más duras. En resumen, la dureza de las hojas puede ser una variable relevante que afecte la decisión de las HCH en cortar o no una especie vegetal.

En el sistema de estudio, Ingenieros agrónomos y Genetistas seleccionan cuales especies forestales implantar, entre otras cosas, porque presentan una tasa mayor de crecimiento. Pero esta mayor tasa de crecimiento generalmente se asocia con una menor concentración de defensas químicas y físicas (Vasconcelos & Cherrett 1995; Farji-Brener 2001). Lo mismo se observa en especies de plantas pioneras que asignan menos recursos a la defensa y tienen un estado nutritivo superior al de especies tolerantes a la sombra (Farji-Brener 2001). Además, como la mayoría de las especies forestales no son nativas del Neotrópico no co-evolucionaron con las HCH y de esta manera, no desarrollaron defensas específicas contra este tipo de hormigas (Montoya-Lerma et al., 2012). Esto convierte a las especies forestales en especialmente sensibles al ataque de las HCH. En el campo, pequeños productores del Delta e investigadores de la EEA INTA Delta observan que algunos clones son más preferidos que otros por las HCH (e. g., Americano). Sin embargo, no se disponen de datos rigurosos que prueben estas diferencias en el campo (Capítulo V) ni en el laboratorio. Este capítulo intentará abordar esta falencia a través de experimentos de preferencia en laboratorio.

Objetivo específico

Estudiar la preferencia de *A. lundii* y *A. ambiguus* hacia especies exóticas comúnmente utilizadas en plantaciones forestales (sauces y álamos) y especies nativas presentes en las matrices asociadas y relacionarlo con la dureza de sus hojas, una de las potenciales defensas físicas de las especies vegetales contra la herbivoría.

Materiales y métodos

Diseño experimental

Los experimentos se llevaron a cabo en la FuEDEI entre noviembre de 2016 y mayo de 2017 entre las 10:00 y las 14:00 horas, momento de mayor actividad de las colonias en el laboratorio, según ensayos previos. Para realizar los ensayos de preferencia se seleccionaron: 4 clones de sauce (dos comúnmente utilizados: Americano y Nigra 4; y dos nuevos: Géminis y Yaguareté), cuatro clones de álamos (Australiano, comúnmente utilizado, y tres nuevos: Carabelas, Guayracá, Ñacurutú) y dos especies nativas: Ceibo (*Erythrina crista-galli*) y Sauce criollo (*Salix humboldtiana*), el único sauce nativo (Tabla 4.1 y 4.2). Los clones utilizados poseían entre 1,5 y 2,5 años de edad, mientras que la edad de las dos especies nativas se desconocía aunque eran plantas de tamaño pequeño (Figura 4.1).

Un clon es el resultado de la selección de un individuo consecuencia de la cruce de dos individuos de la misma o de distintas especies. Esto significa que como resultado de la cruce de los parentales, se obtienen semillas que se plantan. Estos individuos crecen y si uno de ellos se diferencia ampliamente del resto, por mayor tasa de crecimiento o por alguna otra característica de interés comercial es seleccionado. Con el individuo seleccionado se realizan nuevos estacones o esquejes que pasan a ser clones del individuo original. La reproducción de este único individuo original, se incrementa exponencialmente hasta que se registra como clon, se le brinda un nombre y puede ser usado para su comercialización (Ing. Agr. Teresa Cerrillo, investigadora de la EEA INTA Delta, com. pers.).

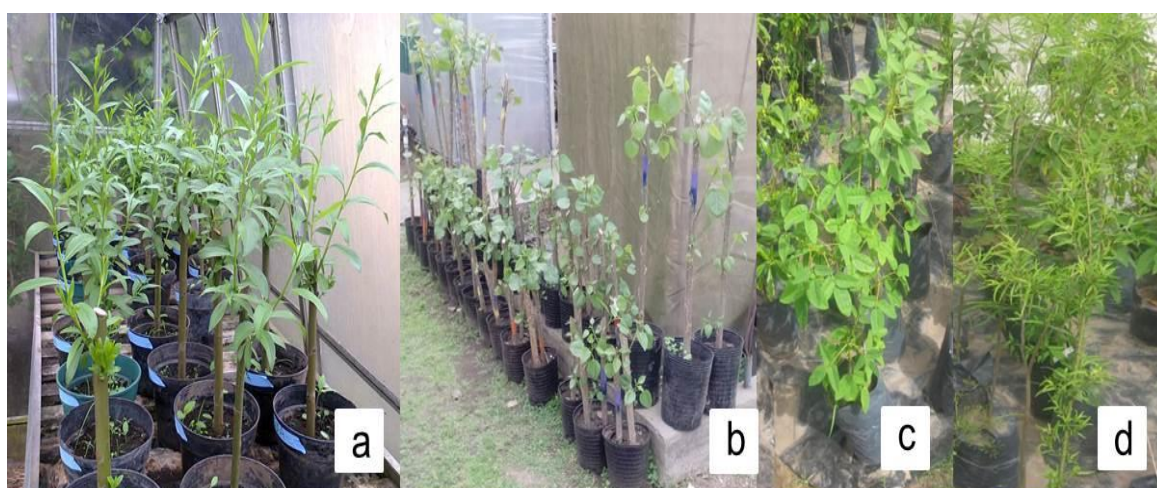


Figura 4.1: Plantas utilizadas en las pruebas de opción de a pares en laboratorio. (a) clones de sauce (*Salix* spp.), (b) clones de álamo (*Populus deltoides*), (c) Ceibo (*Erythrina crista-galli*) y (d) Sauce criollo (*Salix humboldtiana*).

Tabla 4.1: Clones de sauce (*Salix* spp.) utilizados en las pruebas de a pares. Fuente: www.inta.gob.ar

Nombre (Nombre común)	Especie	Características
Soveny Americano (Americano)	<i>Salix babylonica</i> variedad <i>sacramenta</i> Técnico obtentor: Desconocido	-origen Rusia / Estados Unidos -sexo femenino -fuste ramificado -brotación y caída de hojas temprana -tolerancia al anegamiento y vuelco alta -bajo vigor inicial, crecimiento muy lento (hasta el quinto año) -madera de mala calidad -uso para papel
Géminis INTA CIEF (Géminis)	<i>Salix matsudana</i> NZ 694 Técnico obtentor: Ing. Agr. Teresa Cerrillo	-origen China -sexo femenino -fuste recto y cilíndrico -brotación y caída de hojas media/tardía -tolerancia al anegamiento y vuelco regular -crecimiento regular, rápido a partir de 4 años -excelente capacidad de rebrote -madera blanca -uso sólido y para papel
Alonzo Nigra 4 INTA (Nigra 4)	<i>Salix nigra</i> Técnico obtentor: Ing. Agr. Abelardo Alonzo y Ing. Agr. Carlos Piussan	-origen desconocido -sexo masculino -fuste recto y de buena calidad -brotación y caída de hojas muy tardía -tolerancia al anegamiento y vuelco buena -crecimiento rápido, alto vigor inicial -madera rojiza -uso para tableros de partículas
Yaguareté INTA CIEF (Yaguareté)	<i>Salix alba</i> SI64-004 Técnico obtentor: Ing. Agr. Teresa Cerrillo	-origen Italia -sexo masculino -fuste recto y cilíndrico -brotación y caída de hojas media -tolerancia al anegamiento y vuelco muy buena -crecimiento regular, rápido a partir de 4 años -excelente capacidad de rebrote -madera blanca -uso sólido y para papel y por su alta flexibilidad tiene potencial mimblero -alto valor paisajístico y apícola por su abundante floración

Tabla 4.2: Clones de álamo (*Populus deltoides*) utilizados en las pruebas de a pares. Fuente: www.inta.gob.ar

Nombre (Nombre común)	Especie	Características
Australiano 129/60 (Australiano)	<i>Populus deltoides</i> Técnico obtentor: Dr. Lindsay Prior y Dr. Rudolf Willing	-origen Australia / Estados Unidos -sexo femenino -fuste recto y cilíndrico -brotación muy temprana -crecimiento muy rápido -madera blanca -uso sólido (aserrado y debobinado) y para triturado (tableros de partículas y papel)
Carabelas INTA (Carabelas)	<i>Populus deltoides</i> Técnico obtentor: Ing. Agr. Silvia Cortizo	-origen Estados Unidos -sexo masculino -fuste recto y cilíndrico -brotación muy tardía -crecimiento muy rápido -excelente capacidad de rebrote -madera blanca -uso sólido (aserrado y debobinado) y para triturado (tableros de partículas y papel)
Guayracá INTA (Guayracá)	<i>Populus deltoides</i> Técnico obtentor: Ing. Agr. Silvia Cortizo	-origen Estados Unidos -sexo masculino -fuste recto -brotación normal a tardía -terrenos altos
Ñacurutú INTA (Ñacurutú)	<i>Populus deltoides</i> Técnico obtentor: Ing. Agr. Silvia Cortizo	-origen Estados Unidos -sexo femenino -fuste recto -brotación normal a tardía -terrenos altos

Los ensayos consistieron en un diseño de opción de a pares (Pirk 2007) con una colonia de *A. lundii* y una de *A. ambiguus*; las mismas utilizadas en el Capítulo III. A cada colonia, se le ofreció de a pares en una arena de forrajeo (un *tupper* de plástico de 41,5 x 27,0 x 7,5 cm de largo x ancho x alto, respectivamente) con acceso mediante un puente de alambre (30 x 30 cm de alto y largo), un mismo peso (que varió en cada ensayo entre 2 y 4 gramos dependiendo de la disponibilidad) de hojas de las diez plantas seleccionadas, en todas las combinaciones posibles (Figura 4.2). La presentación de una misma planta en distintas exposiciones de a pares a las colonias estuvo separada por un tiempo de entre 2 y 3 días para evitar posibles acostumbramientos que puedan afectar la selección en cada ensayo. Se dejó a las HCH cortar hasta que una de las especie vegetales o clones se acabara, o hasta una hora después de iniciado el ensayo (Figura 4.3a). Terminada la hora, para determinar cuál fue la especie elegida, se pesó el material vegetal que no fue recolectado (Balanza Econ, *Acculab Sartotius Group*, NY, USA) y se determinó el de menor peso, considerándose a ésta como la especie vegetal preferida de las HCH en dicho ensayo (Figura 4.3b). En los casos en que ambas especies o clones fueron removidos en igual cantidad (peso) se consideró como un “empate”. El número de veces que cada especie o clon vegetal fue más seleccionada (se computó como 1), menos seleccionada (se computó como 0) o seleccionada por igual (el empate se computó como 0,5) en las comparaciones de a pares con las otras especies y clones fue ingresado en una matriz de dos dimensiones (más seleccionadas x menos seleccionadas). A partir de la misma, se calculó la totalidad de veces que cada especie fue más seleccionada, obteniendo así, un *ranking* de las especies de plantas más preferidas por las colonias de *A. lundii* y por *A. ambiguus* (Pirk 2007; Calcaterra et al., 2008). Simultáneamente, se colocaron dos placas de Petri al costado de la arena de forrajeo con un peso conocido menor al usado en los ensayos (0,3- 1,0 gr) para controlar la pérdida de agua de cada especie vegetal. Este valor sirvió para corregir los pesos finales, en el caso que existiera mucha diferencia de peso por desecación entre las dos especies competidoras (Rosado et al., 2012). Entre pruebas se limpió la arena de forrajeo y el puente de alambre con alcohol 96 % para eliminar todo rastro de comunicación química y marcas de las hormigas, que puedan interferir en futuros ensayos.

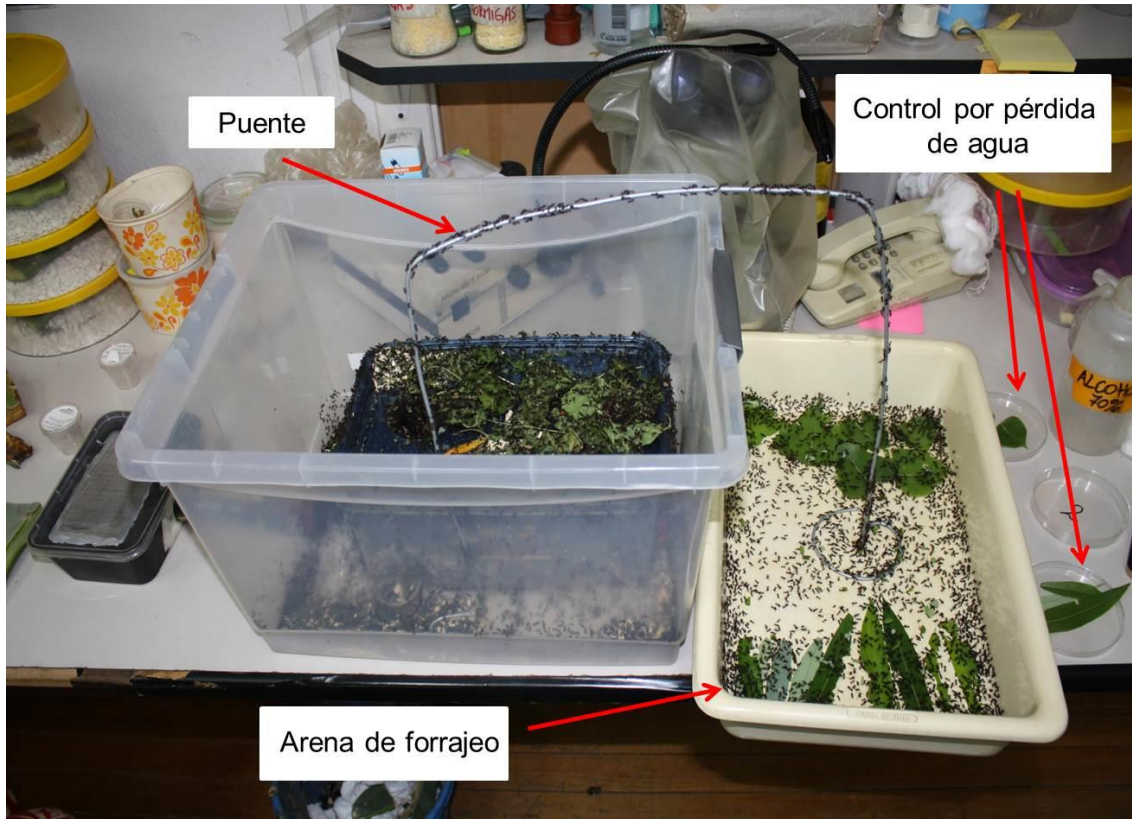


Figura 4.2: Ensayos de opción de a pares de *Acromyrmex ambiguus* con un clon de sauce (*Salix* spp.) delante y un clon de álamo (*Populus deltoides*) detrás en la bandeja. Se observa la colonia y el puente de alambre que le permite a las obreras el acceso a la arena de forrajeo con entre 2 y 4 gramos de hojas de cada clon. Se señalan también con flechas rojas las cajas de Petri con hojas de cada clon vegetal para controlar la pérdida de agua por desecación.



Figura 4.3: (a) Obreras de *Acromyrmex ambiguus* cortando hojas de un clon de sauce (*Salix* spp.) y (b) resto de hojas de un clon de sauce que no fueron acarreadas al nido luego de la hora de duración del ensayo. Se observan los cortes en forma de semi-círculo.

Dureza de las hojas

La dureza de las hojas se midió a través de un penetrómetro *Medio-Line 41002* (*Pesola*, Suiza) cuyo diámetro de la punta es de 1,9 mm. De cada una de las especies vegetales, se tomaron 10 hojas al azar y se las colocó en una placa de aluminio con una trama de 14 x 7 agujeros con una fuente de luz debajo de la misma. Se dispuso el penetrómetro perpendicular a la hoja, y se ejerció presión, hasta que la punta del mismo penetró la hoja (Figura 4.4a). A cada hoja se le realizaron 10 orificios distribuyéndolos en toda su superficie, para abarcar datos de resistencia tanto cerca de las nervaduras, como en los bordes de la hoja (Figura 4.4b). Se registró cada uno de los valores (X) que devolvió el dispositivo y se obtuvo una media por especie y clon vegetal. Eso valores medios de X se ingresaron en la Fórmula 4.1 con el fin de obtener el valor de la fuerza necesaria para atravesar la hoja como medida de dureza de la misma.

$$\text{Fórmula 4.1:} \quad \text{Fuerza (g/mm}^2\text{)} = \frac{X \text{ penetrómetro}}{\text{área circular del penetrómetro}}$$

Siendo el área circular del penetrómetro igual a 2,83 mm².

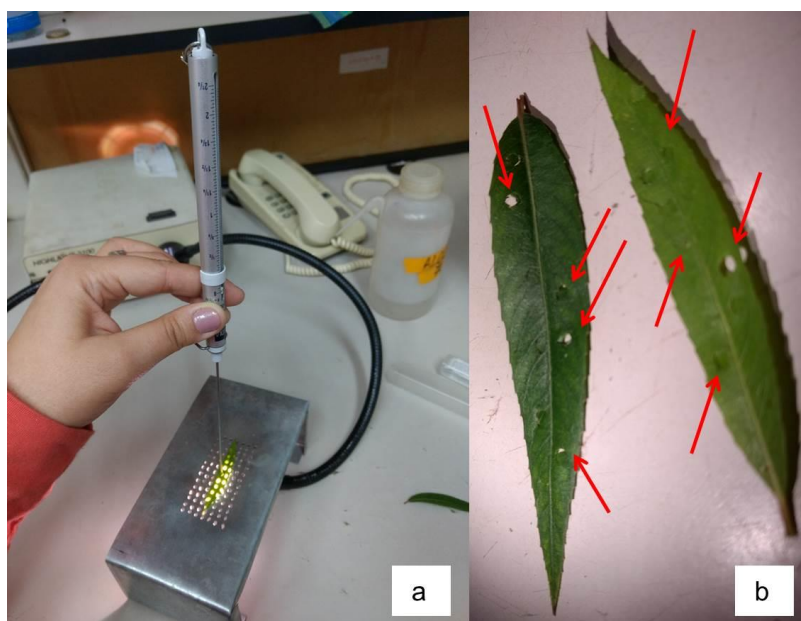


Figura 4.4: (a) Penetrómetro con el que se realizaron las mediciones de dureza en las hojas de las plantas testeadas. (b) Hojas de un clon de sauce (*Salix* spp.) con 10 orificios cada una, realizados por el penetrómetro señalados con flechas rojas.

Análisis de datos

Se realizó una regresión simple con los puestos obtenidos en la matriz de preferencia para cada especie de HCH (variable dependiente) y los valores medios de fuerza obtenidos por especie y clon vegetal a partir de la fórmula 4.1 (variable independiente). Se comparó también la dureza según el origen de la especie vegetal (nativa versus exótica) con un ANOVA no paramétrico de Kruskal Wallis. Además se realizó una correlación entre las preferencias de las dos colonias de HCH sobre las especies vegetales para ver si respondían de igual manera. Se utilizó el *software Infostat* (<http://www.infostat.com.ar>).

Resultados

El origen de la especies (exóticas versus nativas) no explicó su preferencia de corte. Los ensayos de preferencia mostraron que los sauces, tanto los clones comerciales como la única especie de sauce nativa, fueron siempre más preferidos que los clones de álamos, mientras que las salicáceas (sauces y álamos) fueron siempre más preferidas que el Ceibo, la otra especie nativa utilizada en los ensayos (sauces > álamos > Ceibo). Las colonias de ambas especies de HCH presentaron un similar *ranking* de especies vegetales seleccionadas ($r_s = 0,86$, $P = 0,0014$) (Tabla 4.3). No hubo diferencia entre la dureza de las hojas de las plantas nativas (Sauce criollo y Ceibo) y la de las hojas de los clones exóticos ($H = 0,61$, $P = 0,533$). Además, la dureza de las hojas no explicó la preferencia de las HCH ($F_{1,8} = 1,58$, $P = 0,244$ para *A. lundii* y $F_{1,8} = 1,07$, $P = 0,332$ para *A. ambiguus*). Las hojas más blandas pertenecieron al clon Nigra 4 y fue seleccionado en cuarto y tercer lugar por *A. lundii* y *A. ambiguus*, respectivamente. El Ceibo (nativa) fue el de mayor dureza de sus hojas y el menos seleccionado por las HCH. La otra especie nativa utilizada en los ensayos de opción de a pares, el Sauce criollo *Salix humboldtiana*, fue el séptimo en dureza, sin embargo, fue el preferido por *A. ambiguus* y el tercero de *A. lundii*.

Discusión

Las salicáceas (los clones comerciales de sauces y álamos, más el sauce nativo) fueron más preferidas que el Ceibo. Dentro de las salicáceas, los sauces (incluido el nativo) fueron más preferidos que los álamos. Por otra parte, la dureza de las hojas de las especies y clones estudiados no explicó la preferencia de la colonia de *A. lundii* ni de la de *A. ambiguus* en el laboratorio.

Tabla 4.3: Valores y puesto obtenidos en los ensayos de a pares entre las 10 plantas analizadas para *Acromyrmex lundii* y *A. ambiguus*. Los valores de fuerza como medida de dureza se muestran en la última columna y se ordenaron de mayor a menor valor. Con * se señalan las dos especies nativas.

		<i>Acromyrmex lundii</i>		<i>Acromyrmex ambiguus</i>		Dureza	
Especies		Valor	Puesto	Valor	Puesto	Valor (gr/mm ²)	Puesto
Sauces	Géminis	8,0	1	6,5	3	39,29	3
	Americano	7,0	2	7,0	2	53,75	2
	Yaguareté	7,0	2	7,0	2	34,91	6
	Sauce criollo*	6,5	3	7,5	1	34,13	7
	Nigra 4	5,0	4	6,5	3	25,37	10
Álamos	Carabelas	3,5	5	3,0	4	31,91	9
	Australiano	3,0	6	3,0	4	38,73	5
	Ñacurutú	2,5	7	2,0	5	39,15	4
	Guayracá	2,5	7	1,5	6	33,25	8
	Ceibo*	0,0	8	1,0	7	76,00	1

El origen de las especies (exóticas versus nativas) no explicó la preferencia de las HCH. Sin embargo, esta conclusión debe ser confirmada con la inclusión de más especies nativas para determinar con más certeza el papel del origen sobre las preferencias de estas especies de HCH. La dureza de las hojas tampoco explicó los patrones de preferencia de las HCH. El Ceibo fue la planta de mayor dureza en sus hojas y la menos seleccionada, lo que podría indicar una preferencia de las HCH hacia hojas más blandas. Sin embargo, la planta de hojas más blandas (Nigra 4) no fue la especie más seleccionada, revelando que algún otro factor debe estar influyendo sobre las preferencias, como por ejemplo la presencia de metabolitos secundarios o variaciones en la calidad nutritiva foliar. Daiana Perri (investigadora colaboradora de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, com. pers.) realizó ensayos de preferencia en laboratorio similares a los de este capítulo con colonias de *A. ambiguus* de la EEA INTA Delta. Perri utilizó el clon Americano y seis especies, una de ellas nativa, que conforman la matriz de vegetación espontánea de la EEA INTA Delta. Encontró que las hojas de ligustrina (*Ligustrum sinense*) y del falso índigo (*Amorpha fruticosa*), ambas exóticas, fueron seleccionadas por las obreras de *A. ambiguus* por sobre las del clon Americano, mientras que la nativa malva celeste (*Monteiroa glomerata*), la madre selva (*Lonicera japonica*), el ombucillo (*Phytolacca americana*) y el lirio (*Iris pseudacorus*) quedaron por debajo del Americano. Esto demuestra que hay plantas en la vegetación espontánea que pueden ser tanto o más preferidas por las HCH que un clon comercial de sauce extensamente utilizado en el Delta.

La edad de las plantas también influye sobre la posible selección de las HCH, ya que se comprobó que la palatabilidad de las hojas puede variar a lo largo de su vida (Howard 1987, 1988). En esta tesis, se trabajó con clones de 1,5 y 2,5 años de vida, salvo las dos especies nativas cuyas edades se desconocen, pero se trataron de plantas de tamaño pequeño (Figura 4.1). Si bien no se consideraron como dos factores separados en el estudio a las hojas nuevas y a las hojas maduras, se trató de incluir similar cantidad de hojas de cada categoría de cada planta en las pruebas de opción para equilibrar esta posible fuente de variación. Sería interesante poder realizar las pruebas discriminando la edad de las plantas, enfrentando por ejemplo, hojas de un ejemplar de uno y de cuatro años de vida de la misma especie, poniendo a prueba si efectivamente las HCH pueden diferenciar hojas del mismo clon o especie pero con distintos años de vida. Una de las dificultades que presenta este tipo de pruebas es contar con todas las especies vegetales en un buen estado junto con las colonias de HCH saludables y estables con buen ritmo de corte, durante los meses que duran las pruebas, para poder satisfacer todas las exposiciones de a pares necesarias para completar la matriz de preferencia.

En resumen, ni el origen de las especies ni la dureza de las hojas determinaron la preferencia de corte de las HCH. Otros factores no estudiados, como el contenido nutricional o las defensas químicas, pueden tener entonces más influencia sobre la selección de las especies vegetales. Para obtener resultados más robustos y generales sería recomendable incluir en los ensayos más especies nativas presentes en las matrices que rodean a las forestaciones de salicáceas. Además de estudiar la dureza de las hojas y los metabolitos secundarios que pueden interferir en la selección de las HCH, es importante también realizar las pruebas con un número mayor colonias de cada especie de HCH. Estos ensayos deben ser también realizados en el campo en donde las HCH disponen de más opciones de plantas para seleccionar. De este modo, se podría discernir si la ausencia de preferencia entre especies o clones de salicáceas observada en laboratorio se da también en el campo. Esto se estudiará en el capítulo próximo.

Capítulo V

CUANTIFICACIÓN DE LA TASA DE DAÑO

Resumen

Las HCH son consideradas plagas por el daño que provocan en una gran cantidad de cultivos de interés económico, como sistemas agro-productivos y forestales. En Argentina, la región del Bajo Delta del Río Paraná, de gran relevancia forestal debido a la producción de salicáceas, es una de las más afectadas por dos especies de HCH: *Acromyrmex lundii* y *A. ambiguus*. Sin embargo, no hay trabajos que cuantifiquen el daño por herbivoría ni las pérdidas en la producción de madera que causan estas especies, en función de la edad de la plantación y la especie/clon de sauce implantado. Para estudiar este efecto se instalaron 15 bloques en un predio sin control de HCH en la EEA INTA Delta en 2014. Cada bloque se conformó de 2 estacas de 4 especies/clones (Americano, Géminis, Nigra 4 y Yaguareté), una con y otra sin exclusión de HCH. Se estimó el daño en follaje, altura y diámetro de cada ejemplar cada 30- 60 días desde octubre de 2014 hasta mayo de 2017 y luego 3 muestreos más hasta diciembre de 2018. El daño causado en el follaje por las HCH fue intenso en todos los clones sin exclusión (24 % en promedio) durante los primeros dos años, para luego estabilizarse en el tercer año; mientras que el daño en las estacas con exclusión fue siempre más bajo (7 %), demostrando la eficacia de la barrera física. La pérdida en altura y diámetro fue mayor en Americano (70 % en ambas variables), seguido por Géminis (50 y 60 %, respectivamente), Yaguareté (40 y 50 %) y por último, Nigra 4 (45 y 40 %). La supervivencia de los clones con exclusión fue mayor al 80 %, mientras que la de los ejemplares sin exclusión fue menor al 50%. Como consecuencia de la pérdida de follaje causada por las HCH, que redujo la altura y el diámetro de las plantas, la pérdida en volumen de madera a los 1.537 días de iniciado el ensayo fue del 93 % para Americano (0,03- 0,4 m³), 76 % para Géminis (0,2- 1,2 m³) y 65 % para Yaguareté (0,3- 1,0 m³) y 51 % para Nigra 4 (0,5- 1,1 m³) en los 15 bloques. Este es el primer trabajo que demuestra con valores concretos que las HCH producen diferentes niveles de daño en las diferentes especies/clones forestales de sauce y que los primeros tres años de la plantación son los más susceptibles al ataque de las HCH. Si bien los clones nuevos (Géminis y Yaguareté) fueron muy atacados por las HCH, ellos produjeron entre 2 y 3 veces más volumen de madera (de similar calidad) que Americano a los 4,5 años. La utilización de estos clones menos sensibles al ataque de las hormigas permitiría reducir las dosis de insecticidas usadas en la actualidad en los dos primeros años de la plantación. El uso de las barreras demostró ser altamente efectivo para evitar el daño causado por las HCH y debería ser recomendado en sistemas silvo-pastoriles que usan estacones o guías de más de 1,5 m de altura.

Introducción

Las HCH son uno de los más importantes herbívoros de la región Neotropical, superando incluso a mamíferos y a otros insectos como homópteros y lepidópteros (Hölldobler & Wilson 1990). Son consideradas plagas por el daño que provocan en una gran cantidad de cultivos de interés económico como plantaciones de café, cacao, cítricos, caña de azúcar, viñedos y forestaciones (Cantarelli et al., 2008; Pérez et al., 2011; Donatti et al., 2012; Montoya-Lerma et al., 2012; Sánchez Restrepo et al., 2019). Por este motivo, el estudio de los patrones de forrajeo de las HCH y la cuantificación de sus daños por herbivoría son vitales para diseñar estrategias de manejo y control de las HCH.

Dependiendo de la densidad y tamaño de sus nidos, la edad de la plantación y las condiciones ambientales en el momento del daño, las HCH pueden llegar a eliminar sectores importantes de plantaciones jóvenes en corto tiempo (FAO 2006; Pérez 2009). Della-Lúcia (1993) informó que los ataques a árboles jóvenes (plántulas o estacas) de menos de 6 meses de edad causan reducciones de hasta el 32 % de su altura, 25 % en su circunferencia y un 60 % de la producción maderera. En plantaciones de eucaliptos (*Eucalyptus* spp.), se observaron pérdidas del 19 % en diámetro y el 12 % en altura (Matrangolo et al., 2010) y entre 16 y 42% de pérdida en volumen de madera producida cuando el daño en el follaje superó el 75 % (Zanuncio et al., 1999). La mortalidad se presentó luego de 3 defoliaciones consecutivas de HCH, pudiendo alcanzar el 30 % en áreas donde la densidad fue de 200 nidos/ha (Mendes Filho 1979).

Otra de las plantaciones comerciales más afectadas por las HCH son las de pino (Hernández & Jaffé 1995; Araújo et al., 1997). Hernandez & Jaffé (1995) trabajaron en plantaciones menores a 10 años de *Pinus caribaea* en Venezuela, donde densidades mayores a 30 nidos/ha de *Atta laevigata* tuvieron un efecto negativo sobre el volumen producido, reduciendo a la mitad la producción. Por otra parte, solo 5 nidos/ha de *Atta sexdens* en plantaciones de *Pinus* spp, provocó 14 % de pérdida en volumen de madera (Naccarata 1983). En la revisión de Montoya-Lerma et al. (2012), se citan varios trabajos que determinaron niveles de defoliación de entre el 14 y 50 % en plántulas de coníferas en plantaciones de Brasil y Venezuela. Una defoliación intensa causada por *A. crassispinus* en plantaciones de *Pinus taeda* en Brasil, puede causar una reducción del 13 % en altura, 20 % en diámetro y una mortalidad de entre 4- 8 % por hectárea en los primeros 30 días de la plantación (Nickele et al., 2012). En resumen, todos estos trabajos aportan evidencias de que las HCH tienen importantes efectos negativos sobre las plantaciones forestales, tanto por reducción en la producción de madera como por el costo de su manejo y control. El

control de las HCH puede representar hasta el 75 % del presupuesto total dedicado al manejo de plagas (Vilela 1986; Cantarelli et al., 2008) y es principalmente intenso en los primeros años de iniciada una plantación, pudiendo relajarse la presión de manejo en plantaciones adultas (Lewis & Norton 1973; Vasconcelos & Cherrett 1997; Cantarelli et al., 2008; Nickele et al., 2012).

En Argentina, las HCH son consideradas plaga desde 1907 (Bonetto 1959). En especial, las especies del género *Acromyrmex* son responsables de los mayores perjuicios en la agricultura con pérdidas de plantas estimadas entre el 10 y 30% en lino, girasol y sorgo en la etapa inicial de éstos cultivos en la provincia de Entre Ríos (Anglada et al., 2013). Sin embargo, existen pocos trabajos que cuantifican los daños ocasionados en plantaciones forestales de Argentina. Un estudio en plantaciones de *Pinus* spp. en la provincia de Corrientes, reveló que las hormigas del género *Acromyrmex* causaban una reducción del 17 % del diámetro, 12 % de la altura y una pérdida del 21 % de las plántulas durante los primeros 65 días de vida (Cantarelli et al., 2008). El ataque se mantuvo alto durante los primeros dos años, para luego disminuir al tercero. Los daños causados por la HCH además afectan a la resistencia de las plantas y las vuelven más susceptibles al ataque de otros insectos lo que incrementa su mortalidad (Cantarelli et al., 2008). Otros trabajos más recientes mencionan a *A. lobicornis* como una plaga potencial en plantaciones de pinos en el norte de la Patagonia (Pérez et al., 2011) y a *A. ambiguus* en la provincia de Entre Ríos (Elizalde et al., 2015) a causa de su tasa de defoliación.

Las mayores extensiones de bosques naturales y cultivados de Argentina se ubican en la región mesopotámica, la de mayor relevancia forestal por la producción de pinos, eucaliptos y salicáceas (Cantarelli et al., 2008; Borodowski 2011; Sánchez Restrepo et al., 2019). En esta región se encuentra también la mayor riqueza de HCH (de 12 a 3 especies a lo largo de un gradiente latitudinal norte-sur), aunque solo 2- 3 especies son localmente problemáticas, como es el caso de *A. lundii* y *A. ambiguus* que afectan la producción de salicáceas en el Bajo Delta del Río Paraná (Sánchez Restrepo et al., 2019). Al presente, no existen estudios que estimen los daños y las pérdidas que causan estas dos especies simpátricas de HCH en plantaciones de sauces y álamos en esta región. La cuantificación del daño es importante para determinar con rigurosidad cuáles son en realidad las especies de HCH que efectivamente alcanzan el estatus de plagas en los sistemas forestales, ya que la visión de los productores es que todas las HCH son plaga en sus plantaciones. Como consecuencia de este pensamiento, se hace un uso excesivo de insecticidas químicos (e. g., fipronil, sulfluramida), lo que resulta en un alto costo económico y ambiental por su toxicidad y su falta de especificidad (Montoya et al., 2012; Della-Lúcia et al., 2013). Por eso, conocer

el daño que causan las HCH en forestaciones de salicáceas puede ayudar a visualizar la problemática real y promover métodos más racionales para su control.

Objetivo específico

Cuantificar la tasa de daño producido por *A. lundii* y *A. ambiguus* en forestaciones de sauces comerciales en función del efecto de (i) la especie y/o clon forestal cultivado y (ii) la edad de la plantación, con el propósito de establecer, cuáles son las especies/clones menos atacados y/o más resilientes al daño de estas HCH y hasta qué edad de la plantación es necesario controlar las hormigas.

Materiales y métodos

Diseño experimental

En agosto de 2014 se estableció un ensayo con un diseño en bloques en un sector de la EEA INTA Delta en la que no se controla a las HCH y sin tareas posteriores de mantenimiento de la vegetación espontánea (Figura 5.1). Se utilizaron 4 especies/clones de sauce (*Salix* spp.): dos ampliamente utilizados en la región (Americano y Nigra 4) y dos nuevos recientemente lanzados al mercado (Yaguareté y Géminis) (Capítulo IV). Se plantaron un total de 120 estacas (30 de cada clon) de 2 años de edad y 1,5 metros de largo (enterrando 50 cm) en un área de una hectárea aproximadamente. Las estacas se dispusieron en 15 bloques (separados aproximadamente 10 metros entre sí), cada uno conteniendo 2 ejemplares de cada clon; uno con exclusión de HCH y otro sin exclusión ubicados a 2 metros de distancia uno del otro y a 2 metros de los otros clones (8 estacones por bloque, Figura 5.2). La exclusión consistió en una barrera de plástico externa deslizante con una goma espuma en la parte interna rodeando el estacón a 50 cm del suelo que impide el ascenso de las hormigas. Los bloques se encuentran rodeados de vegetación espontánea nativa y exótica en pleno crecimiento que incluían algunas especies forestales previamente cortadas. Dentro de los bloques se cortó periódicamente la vegetación para evitar que las HCH la utilicen como puente para sortear las barreras y acceder a las estacas de los clones con exclusión.

Para caracterizar el daño se midieron 3 variables: el porcentaje de follaje dañado (brotes y ramas con hojas atacadas) por *A. lundii* y *A. ambiguus*, la altura y el diámetro del tronco de la estaca (luego árbol) a nivel del suelo (Cantarelli et al., 2008; Pérez et al., 2011). Durante los dos primeros años de crecimiento de la plantación (2014- 2015 y 2015- 2016), cuando el daño es más

intenso, el porcentaje de follaje dañado y la altura se midieron cada 20/30 días, mientras que el diámetro se midió cada 60 días (Figura 5.3).

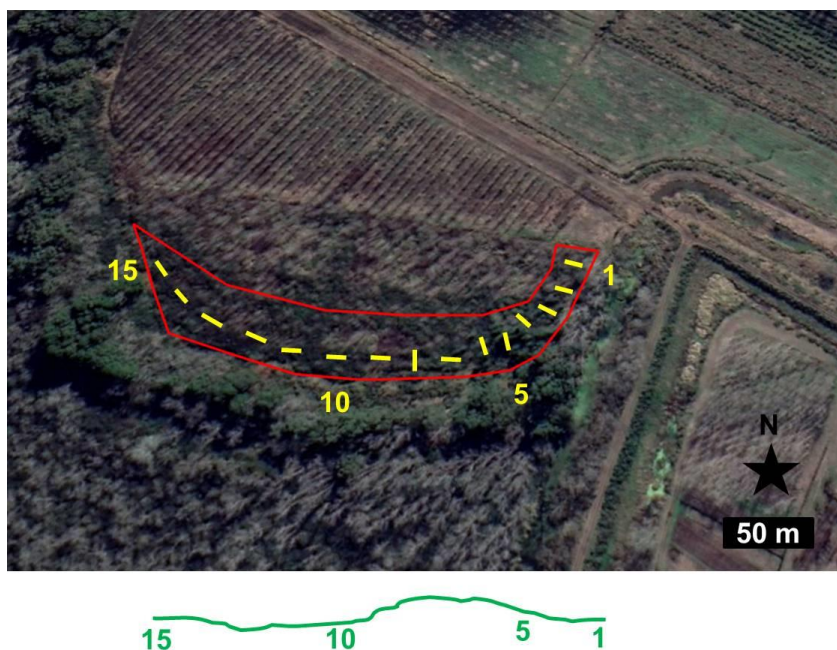


Figura 5.1: Ensayo instalado en un sector de una hectárea (en rojo) en la EEA INTA Delta. Se implantaron 15 bloques (en amarillo), cada uno con 8 estacas de 4 clones de sauce (*Salix* spp.) de 1,5 metros de largo. Debajo, en verde, se grafica el perfil topográfico en el que están ubicados los bloques, siendo los bloques del 5 al 9 más altos y por ende, menos húmedos que el resto.

Americano	Americano
Géminis	Géminis
Nigra 4	Nigra 4
Yaguareté	Yaguareté

Figura 5.2: Esquema de un bloque experimental con 8 estacas, 2 por cada uno de los 4 clones de *Salix* spp., una con exclusión (una barrera anti-hormigas de goma espuma y acetato por fuera) y otra sin exclusión (sin barrera). La estaca de cada clon que contuvo la barrera fue asignada al azar.

El porcentaje de daño se estimó contabilizando brotes y ramas de cada estaca, identificando cuales poseían hojas con daño y cuáles no. Al tercer año, se espaciaron las mediciones de porcentaje de follaje dañado y de altura cada 60 días y la medición de diámetro cada 60- 90 días. La manera de estimar el porcentaje de daño en el follaje se cambió debido a que el tamaño de los

árboles dificultó mucho el conteo de sus ramas. A partir de ese momento, se realizó una estimación visual cualitativa del porcentaje de follaje dañado en general, sin considerar el número de hojas o ramas. En el inicio del cuarto año de la plantación se realizaron solo dos muestreos, uno en agosto y otro en noviembre de 2017, en donde solo se midió el diámetro. En el quinto año, se realizó una última medición en diciembre de 2018 de la altura y el diámetro de los árboles. A lo largo del ensayo, se registró también la mortalidad de las estacas o árboles, ya sea por daño atribuible a HCH (plantas que habían sido muy dañadas) o por otros factores, tales como sequía o daños de otros animales. Se consideró un individuo como muerto a los dos muestreos siguientes del indicio de daño de HCH o de sequía de hojas y ramas, para tener certeza de que no se recuperó. En casos de mortalidad por caída, daño accidental durante las tareas de corte de la vegetación interna del bloque u otras causas, se consideró como fecha de muerte de la planta a la fecha del muestreo en donde se descubrió el daño. Se siguió el ensayo a lo largo de 1.537 días mediante 40 instancias de muestreo (Tabla 5.1 del Anexo).



Figura 5.3: Medición a campo durante el primer año de la plantación experimental en la EEA INTA Delta. Se observa la vegetación recién cortada en el interior del bloque y cómo la matriz espontánea alrededor va creciendo.

Análisis de datos

Para todas las variables medidas, el daño atribuido a las HCH resultará de la diferencia de los valores de los individuos con exclusión menos los valores sin exclusión. La diferencia en la pérdida del follaje, se verá indirectamente reflejado en la altura y el diámetro, a través de los cuales se obtendrá la estimación de pérdida en volumen de madera, que contempla la mortalidad.

Para los análisis de follaje dañado, altura y diámetro, se utilizaron como factores fijos el clon (4 niveles: los 4 clones), la exclusión (2 niveles: con o sin barrera) y el tiempo (el número de

niveles dependió del año y de la variable) y como factor aleatorio el bloque. El daño en el follaje se modeló mediante un GLMM, año por año de la plantación (durante los dos primeros años) debido a que entre años de plantación hay 2- 3 meses (junio, julio, agosto) donde no hubo registro de datos debido a la ausencia de hojas en los árboles. Se modeló por la naturaleza de la variable mediante una distribución binomial (número de brotes o ramas dañados, número de brotes o ramas no dañados) con la función *glmer* del paquete *lme4* con el *software* R mediante la interfase RStudio. El tercer año se analizó de manera similar pero se utilizó como variable respuesta el porcentaje visual obtenido como proporción de un total. En el cuarto y quinto año no se contabilizaron las hojas y ramas dañadas por lo que no se pudo hacer análisis de datos (Tabla 5.1 del Anexo). Se realizaron un total de 32 estimaciones de daño entre el 2014 y el 2018 y se utilizaron 12 tiempos para modelar el primer año de la plantación, 11 tiempos para el segundo y 7 tiempos para el tercer año. Los dos tiempos restantes pertenecen al periodo del primer otoño- invierno (2015) y no se usaron para el modelado ya que las hojas no estaban presentes debido al inicio de la época de caída y no a causa de daño de HCH. La altura y el diámetro se analizaron de manera similar, año por año, durante los 3 primeros años, solo que con una distribución normal por la naturaleza de los datos utilizando la función *gl*s del paquete *nlme*. En el cuarto año se analizó solo el diámetro con una instancia de muestreo y en el quinto año, se analizaron la altura y el diámetro con solo una medición de cada variable mediante la función *gl*s del paquete *nlme*. En todos los análisis se optó por el modelo mínimo adecuado según el criterio AIC (el del menor valor) y el más parsimonioso. Se realizaron comparaciones de a pares controlando el error global con la función *emmeans* del paquete homónimo. Se realizaron un total de 31 muestreos de altura entre el 2014 y el 2018, utilizando 12 de ellos para modelar el primer y segundo año, 5 para el tercer año y 1 para el quinto año de la plantación. Por su parte, el diámetro se registró en 17 oportunidades entre el 2014 y el 2018, utilizando 5 registros para el modelado del primer y segundo año, 4 para el tercer año y 1 para el cuarto y quinto año, respectivamente. Se calcularon porcentajes de pérdida de altura y diámetro por muestreo a partir de la media de cada variable por clon con exclusión, considerada como la máxima posible a obtenerse y a partir de ese valor, calculando que pérdida porcentual representaba la media de cada clon sin exclusión. Se modeló también la supervivencia de los clones con un análisis de Kaplan- Meier. Por último, para estimar la pérdida en madera de cada clon, se estimaron los volúmenes del fuste usando las alturas y los diámetros de los ejemplares con y sin exclusión. Si bien los cálculos de volúmenes de árboles se realizan generalmente con la fórmula de Smalian que contempla la altura del fuste principal desde la base hasta el menor diámetro aprovechable (generalmente 5 cm, investigadores de la EEA INTA Delta, com. pers.), como los árboles del experimento siguen en pie, esta altura no se pudo medir. La altura que se registró a lo largo del ensayo fue la total por lo que se realizó una estimación del volumen de madera de cada individuo a partir del área de un cono.

Resultados

A lo largo del ensayo, cada clon expuso sus diferencias en cuanto al tiempo de brotación, la caída de sus hojas y el color y forma de crecimiento de sus hojas y ramas. Yaguareté y Nigra 4 fueron los clones con caída de hojas más temprana (mayo) y brotación más tardía (fines de septiembre), mientras que Géminis y Americano perdieron sus hojas recién en junio y comenzaron su brotación a principios de septiembre. En cuanto a la apariencia, Yaguateré se diferenció fácilmente por sus ramas de una tonalidad más anaranjada/amarillenta (lo que le otorgó su nombre) y Americano por sus hojas más redondeadas. Ambos clones presentaron mayor ramificación que Géminis (intermedio) y Nigra 4, que generalmente presentó un buen fuste recto con uno o dos ejes principales y hojas más alargadas y de un verde con reflejos rojizos, junto a un tronco de color grisáceo.

Daño en el follaje

El modelo que mejor explicó la evolución del daño durante el primer año ($X^2_1 = 22,61$, $P < 0,0001$) y el segundo año ($X^2_1 = 5,77$, $P = 0,0163$) fue el que contempló solo la exclusión como factor fijo y el bloque como efecto aleatorio. Esto indica una diferencia entre las estacas con y sin barrera anti-HCH, independientemente del clon. El tercer año presentó mejor ajuste al mismo modelo pero sin presentar diferencias significativas en la exclusión ($X^2_1 = 0,120$, $P = 0,729$). En la Figura 5.4 se observa el porcentaje de daño en el follaje (brotes y ramas) de las estacas (luego árboles) implantados en 2014 hasta el tercer año (mediados de 2017). Se visualiza que las estacas con exclusión presentaron menor porcentaje de daño que las estacas sin la barrera anti-HCH. Durante los dos primeros años, los patrones de daño fueron variables, con fuertes picos y valles, mientras que al tercer año, el daño disminuyó en todos los clones y se estabilizó en valores más bajos, salvo en el clon Americano sin exclusión que continuó con valores de daños altos, aunque esta diferencia no fue detectada por el modelo (Figura 5.4). El daño promedio en el follaje a lo largo de los tres primeros años fue del 24 % para los 4 clones sin exclusión, mientras que solo del 7 % para los clones con exclusión. Esta reducción del porcentaje de daño demuestra la efectividad de la barrera física. El hecho de que el daño no haya sido del 0 % en los clones con exclusión se debe a que en algunas oportunidades las HCH lograron atravesar la superficie deslizante de la barrera o utilizaron la vegetación espontánea que crecía junto a los sauces a modo de puente para sortearla (Figura 5.5). El daño de *A. lundii* y *A. ambiguus* en todos los clones fue notable por su forma semi-circular y generalmente comenzaba en el ápice de las estacas y árboles para luego ir descendiendo, dejando las ramas completamente desprovistas de hojas (Figura 5.5).

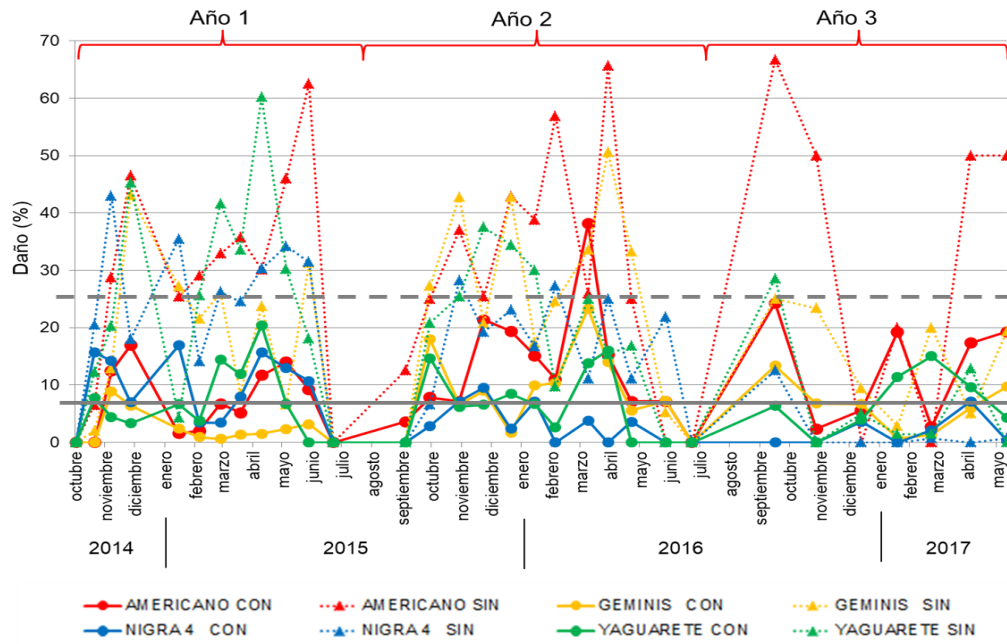


Figura 5.4: Porcentaje de brotes y ramas con daño de HCH durante los primeros tres años en una plantación experimental en la EEA INTA Delta. En gris se muestran los porcentajes de daño promedio de los cuatro clones con exclusión (línea completa, 7 %) y sin exclusión (línea punteada, 24 %) a lo largo de los tres primeros años.



Figura 5.5: Daños en los distintos clones de *Salix* spp. en una plantación experimental iniciada en 2014 en la EEA INTA Delta. Se observan en las distintas imágenes el daño causado por las HCH de forma semi-circular.

Este daño se observó principalmente en los individuos sin exclusión, aunque en algunas oportunidades se visualizó en los individuos con exclusión, ya que las hormigas sortearon las barreras o usaron la vegetación circundante como puente para atravesarla.

Altura

Las alturas de las estacas, y posteriormente los árboles, difirieron entre los distintos clones con y sin exclusión de HCH a lo largo del tiempo. Los análisis de los tres primeros años presentaron un mejor ajuste al mismo modelo que explica el patrón de variación de la altura en el tiempo. El modelo contempló el clon, la exclusión y el tiempo como factores fijos y el bloque como factor aleatorio, modelando la matriz de correlación mediante la función *corCompSymm* y la heterocasticidad a través de *varIdent*.

En el primer año de la plantación (2014- 2015), la interacción triple clon- exclusión- tiempo del modelo no fue significativa ($F_{33, 1344} = 0,613$, $P = 0,959$), pero sí las interacciones simples: clon- exclusión ($F_{3, 1344} = 4,962$, $P = 0,002$), clon- tiempo ($F_{33, 1344} = 19,160$, $P < 0,0001$) y exclusión- tiempo ($F_{11, 1344} = 18,347$, $P < 0,0001$). Las comparaciones de a pares para la interacción clon- exclusión mostraron alturas mayores en los cuatro clones con exclusión de HCH que en los sin exclusión. Para la interacción clon- tiempo, las dos primeras mediciones no mostraron diferencias entre los cuatro clones. Sin embargo, a partir del tercer muestreo (noviembre), Americano se diferenció de los otros 3 clones, presentando una menor altura. La interacción exclusión- tiempo, mostró que en el inicio de la plantación, las estacas con y sin exclusión fueron similares en altura. A partir de los 40 días, comenzaron a evidenciarse diferencias entre las estacas con (mayor altura) y sin (menor altura) exclusión. Es decir, el análisis global del primer año indica que a partir de noviembre, la altura de todos los clones, a excepción de Americano, fue mayor para las estacas con barreras que para las que no la poseían.

En el segundo año (2015- 2016), la triple interacción clon- exclusión- tiempo no fue significativa ($F_{33, 1344} = 0,147$, $P = 1,000$), pero sí lo fueron las interacciones simples: clon- exclusión ($F_{3, 1344} = 4,429$, $P = 0,004$), clon- tiempo ($F_{33, 1344} = 3,119$, $P < 0,0001$) y exclusión- tiempo ($F_{11, 1344} = 10,722$, $P < 0,0001$). Las comparaciones de a pares para la interacción clon- exclusión presentaron diferencias en todos los clones entre plantas con y sin exclusión. Esto significa que las alturas de las estacas con exclusión fueron mayores que la de las estacas sin la barrera en los cuatro clones de sauce. Los diferentes clones no mostraron diferencias en la altura en los primeros tres muestreos (septiembre a noviembre). Sin embargo, a partir de finales de diciembre, Americano comenzó a crecer menos en altura que el resto de los clones. Para la interacción exclusión- tiempo, en las dos primeras mediciones (septiembre de 2015) no hubo diferencias entre estacas con exclusión y sin exclusión para ninguno de los clones. Sin embargo, a partir de octubre, las estacas con exclusión alcanzaron alturas mayores que las estacas sin exclusión en todos los clones. Los

cuatro clones no presentaron diferencias en altura hasta diciembre, momento en que Americano empezó a expresar un menor crecimiento en altura que los otros 3 clones.

En el tercer año (2016- 2017), ni la triple interacción ($F_{12, 560} = 0,095$, $P = 1,000$) ni la interacción clon- tiempo ($F_{12, 560} = 1,006$, $P = 0,442$) fueron significativas. Solo las interacciones entre clon- exclusión ($F_{3, 560} = 3,699$, $P = 0,012$) y exclusión- tiempo ($F_{4, 560} = 3,222$, $P = 0,013$) fueron diferentes. Nuevamente, la interacción clon- exclusión mostró diferencias entre los individuos con y sin exclusión para todos los clones, mostrando alturas mayores en los árboles con barrera. Por su parte, la interacción exclusión- tiempo, reveló que todos los árboles sin exclusión, sin importar el clon, no se diferenciaron entre ellos en el tiempo pero si presentaron alturas menores que los árboles con exclusión. Las alturas de los árboles de los distintos clones que poseían la barrera anti-HCH, no se diferenciaron entre ellos de dos tiempos consecutivos, pero si con el resto de los tiempos. En resumen, al tercer año las barreras, evitando el daño de las HCH a los árboles que las poseían, mostraron su efectividad expresado en una mayor altura de los árboles con barrera por sobre los árboles sin barrera para los cuatro clones estudiados, y esta diferencia fue mayor a medida que avanzaba el tiempo.

Al quinto año, el modelo contempló el clon y la exclusión como factores fijos, y el bloque como factor aleatorio, modelando la matriz de correlación mediante la función *corCompSymm* con el bloque. La interacción entre clon- exclusión no fue significativa ($F_{3, 112} = 0,735$, $P = 0,534$), pero el efecto de cada uno de los factores sí: clon ($F_{3, 112} = 23,500$, $P < 0,0001$) y exclusión ($F_{1, 112} = 91,366$, $P < 0,0001$). Las comparaciones de a pares demostraron que los árboles del clon Americano se diferenciaron de los otros tres clones presentando la menor de las alturas, mientras que los árboles de Géminis y Yagareté no se diferenciaron entre ellos pero sí con los de Nigra 4, cuyos ejemplares presentaron la mayor de las alturas. En cuanto a la exclusión, los árboles con barrera presentaron alturas significativamente mayores a las de los árboles sin exclusión.

Si bien al final del ensayo (diciembre de 2018) todos los clones tuvieron al menos un ejemplar con más de 9 metros de altura, en promedio Nigra 4 fue el clon que presentó la mayor altura, seguido por Géminis y Yagareté y por último, el clon Americano (Figura 5.6 y 5.7). Nigra 4, Géminis y Yagareté presentaron ejemplares que alcanzaron a mitad del quinto año los 14- 15 m de altura, mientras que Americano alcanzó casi los 10 m. Las alturas medias que alcanzaron los distintos clones que sobrevivieron hasta el quinto año se muestran en la Figura 5.6. La mayor pérdida en altura al final del ensayo (diciembre de 2018) fue en el clon Americano con casi un 70 %, seguido por Géminis (50 %), Nigra 4 (45 %) y Yagareté (40 %) (Figura 5.8 y 5.9).

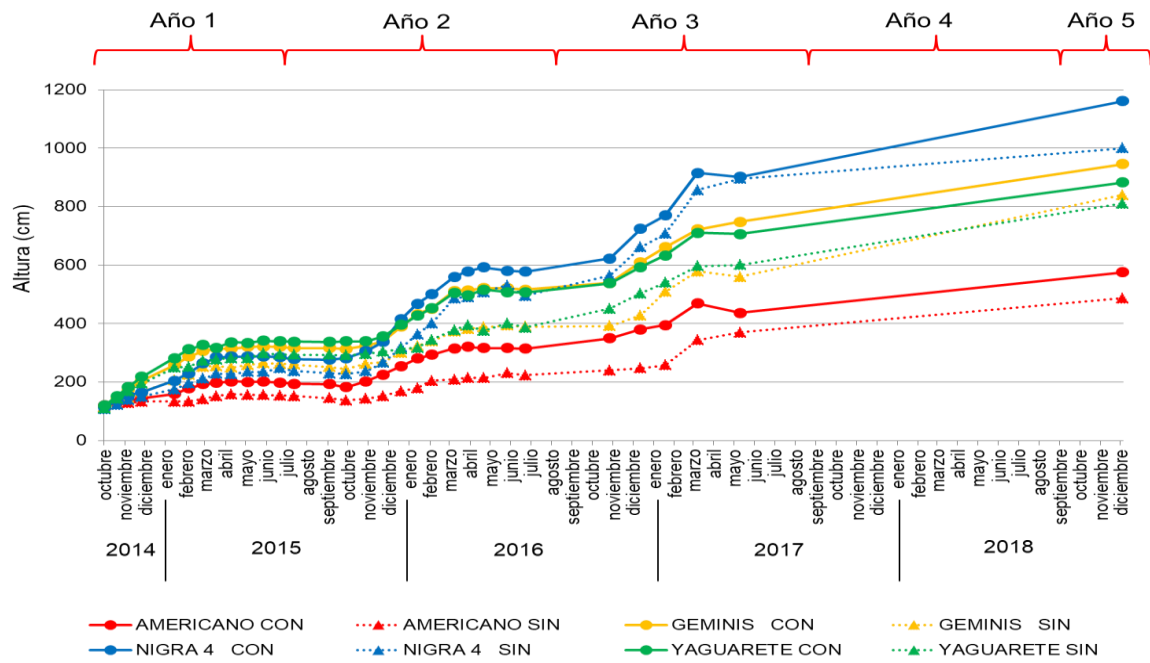


Figura 5.6: Medias de crecimiento en altura de las estacas/árboles (vivos) de los cuatro clones de *Salix* spp. con y sin exclusión de HCH a lo largo de los cinco años de ensayo en la plantación experimental en la EEA INTA Delta.

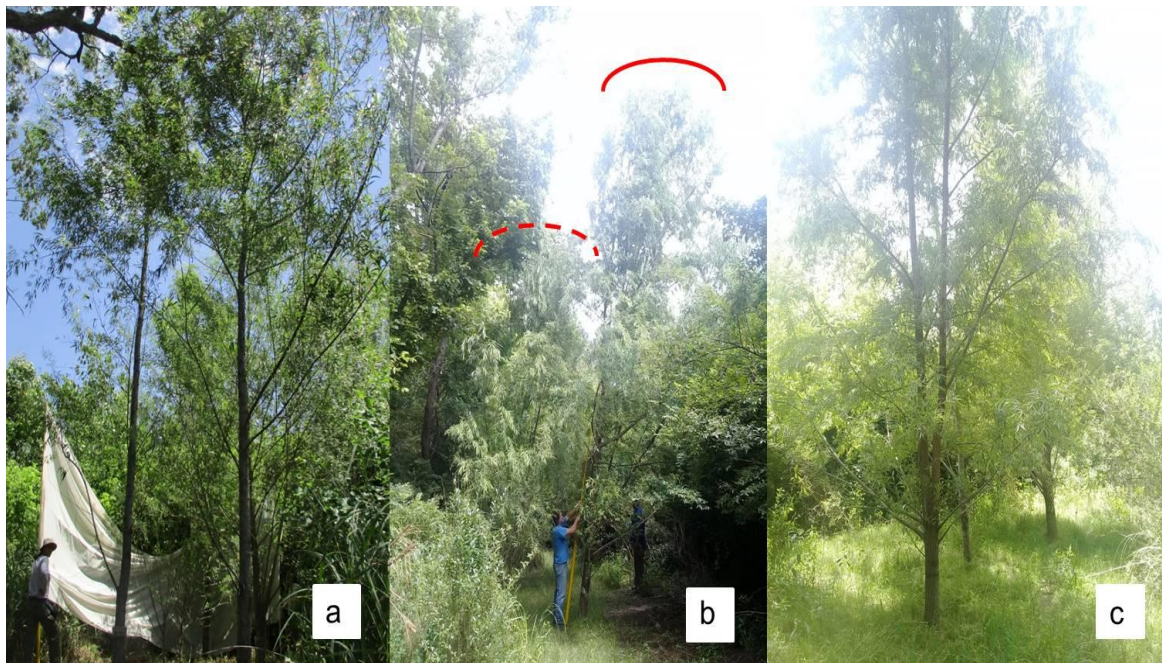


Figura 5.7: Alturas de distintos clones de *Salix* spp. con y sin exclusión de HCH. (a) Altura alcanzada por ejemplares de Nigra 4 al cuarto año. (b) Diferencias de alturas (rojo) de Yaguaréte con (línea completa) y sin (línea punteada) exclusión al quinto año. (c) Alturas alcanzadas por Yaguaréte, Geminis y Nigra 4 con exclusión al quinto año.

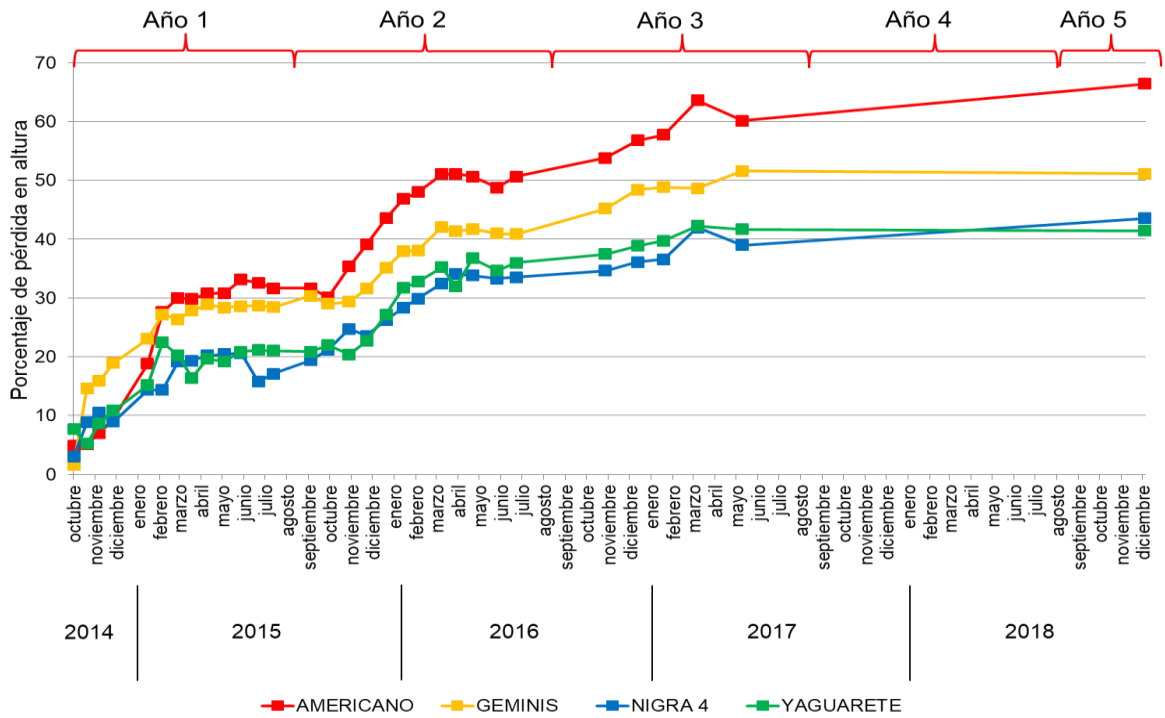


Figura 5.8: Evolución de la pérdida en altura de las estacas/árboles de cuatro clones de *Salix* spp. a lo largo de cinco años de ensayo en la plantación experimental en la EEA INTA Delta. Los valores corresponden a la diferencia porcentual en altura registrada entre los individuos con y sin exclusión de HCH para cada clon.



Figura 5.9: Diferencia en altura de los cuatro clones de *Salix* spp. con (línea completa) y sin (línea punteada) exclusión de HCH en la EEA INTA Delta. (a) Nigra 4, (b) Yaguareté, (c) Americano y (d) Géminis.

Diámetro

La principal diferencia entre los diámetros se dio entre los árboles con y sin barrera anti-HCH, mostrando la mayor diferencia entre Americano (menor diámetro) y los otros 3 clones. Los tres primeros años modelados mostrando el mejor ajuste al mismo modelo que explicó los patrones de la altura en el tiempo, mientras que el cuarto y quinto año el diámetro respondió al mismo modelo que explicó la altura al quinto año.

En el primer año de la plantación (2014- 2015), la interacción triple clon-exclusión-tiempo ($F_{12, 560} = 0,102$, $P = 1,000$) y las interacciones simples clon- exclusión ($F_{3, 560} = 1,475$, $P = 0,220$) y clon- tiempo ($F_{12, 560} = 1,623$, $P = 0,0811$) no fueron significativas, pero la interacción exclusión- tiempo si lo fue ($F_{4, 560} = 10,803$, $P < 0,0001$). Las comparaciones de a pares mostraron que no hubo diferencia en el diámetro de las estacas con y sin exclusión en los dos primeros muestreos (octubre- fines de noviembre), mientras que en los tres muestreos restantes los clones con exclusión presentaron siempre diámetros mayores. Esto significa, que a partir de febrero de 2015, las estacas que poseían la barrera anti-HCH presentaron diámetros mayores que las estacas sin barreras, sin importar a que clon pertenecieran, mostrando que la barrera anti-HCH ejerce un efecto en el crecimiento del diámetro de las estacas.

En el segundo año (2015- 2016) ni la triple interacción clon- exclusión- tiempo ($F_{12, 560} = 0,136$, $P = 0,999$) ni la interacción clon- exclusión ($F_{3, 560} = 1,188$, $P = 0,314$) presentaron diferencias significativas, pero sí las simples clon- tiempo ($F_{12, 560} = 1,839$, $P = 0,039$) y exclusión- tiempo ($F_{4, 560} = 11,838$, $P < 0,0001$). Las comparaciones de a pares para la interacción clon- tiempo no presentaron diferencias significativas en los árboles hasta enero de 2016 (479 días de iniciado el ensayo), pero durante el resto del segundo año los árboles del clon Americano (con y sin exclusión) presentaron un menor diámetro diferenciándose de la respuesta de los otros 3 clones. Por su parte, las comparaciones de a pares para la interacción exclusión- tiempo presentaron mayores diámetros en los árboles con exclusión que en los árboles sin barrera anti-HCH en cada tiempo estudiado. Además, entre los árboles sin exclusión no hubo diferencias en los diámetros medidos entre septiembre de 2015 y junio de 2016, es decir presentaron una tasa baja de crecimiento a lo largo del año. Sin embargo, se diferenció un aumento significativo de diámetro que fue aumentando durante el mismo periodo de tiempo en los árboles con exclusión (solo presentaron semejanzas con el tiempo inmediatamente posterior). El crecimiento del diámetro fue mayor en los árboles con exclusión y en Géminis, Nigra 4 y Yagueté.

En el tercer año, ni la triple interacción ($F_{9, 448} = 0,156$, $P = 0,998$) ni las interacciones simples clon- tiempo ($F_{9, 448} = 0,885$, $P = 0,538$) y clon- exclusión ($F_{3, 448} = 1,091$, $P = 0,353$)

fueron significativas. Solo la interacción exclusión- tiempo fue significativa ($F_{3, 448} = 6,316$, $P = 0,0003$). Nuevamente, como los 2 primeros años, los diámetros de los árboles sin exclusión no se diferenciaron a lo largo del tiempo (los cuatro muestreos). Sin embargo, los árboles con exclusión presentaron un diámetro significativamente mayor de enero a abril que de septiembre a noviembre (los primeros meses de crecimiento). Esto, podría indicar que el diámetro empieza a crecer con mayores tasas en el tercer año, producto de la ausencia de daño de las HCH, gracias a la presencia de las barreras físicas. Mientras que el daño en el follaje de los árboles expuestos a las HCH, afecta negativamente el crecimiento del diámetro aletargándolo.

Al cuarto año y quinto año, la interacción entre clon- exclusión no fue significativa ($F_{3, 112} = 0,561$, $P = 0,642$ y $F_{3, 112} = 0,784$, $P = 0,506$, respectivamente), pero el efecto de cada uno de los factores sí lo fue: clon ($F_{3, 112} = 3,319$, $P = 0,023$ y $F_{3, 112} = 7,818$, $P = 0,0001$, respectivamente) y exclusión ($F_{1, 112} = 22,797$, $P < 0,0001$ y $F_{1, 112} = 78,212$, $P < 0,0001$, respectivamente). Las comparaciones de a pares demostraron que los árboles del clon Americano se diferenciaron de los otros tres clones presentando los menores diámetros, mientras que entre los árboles de Géminis, Nigra 4 y Yaguareté no hubieron diferencias. En cuanto a la exclusión, tal como lo observado con la altura, los árboles que presentaron la exclusión anti- HCH presentaron un diámetro medio mayor a los que no poseían la exclusión.

Los ejemplares de Géminis, Nigra 4 y Yaguareté presentaron los mayores diámetros medios al final del ensayo (diciembre de 2018), con ejemplares que superaron los 20 cm de diámetro (Figura 5.10). Sin embargo, un árbol de Americano (con exclusión) fue el de mayor diámetro en su base alcanzando los 29 cm. En lo que respecta al porcentaje de pérdida en diámetro a diciembre de 2018, la mayor pérdida nuevamente se observó en el clon Americano con casi un 70 %, seguido por Géminis con un 60 %, Yaguareté con un 50 % y Nigra 4 con un 40 % de pérdida en diámetro (Figura 5.11 y 5.12).

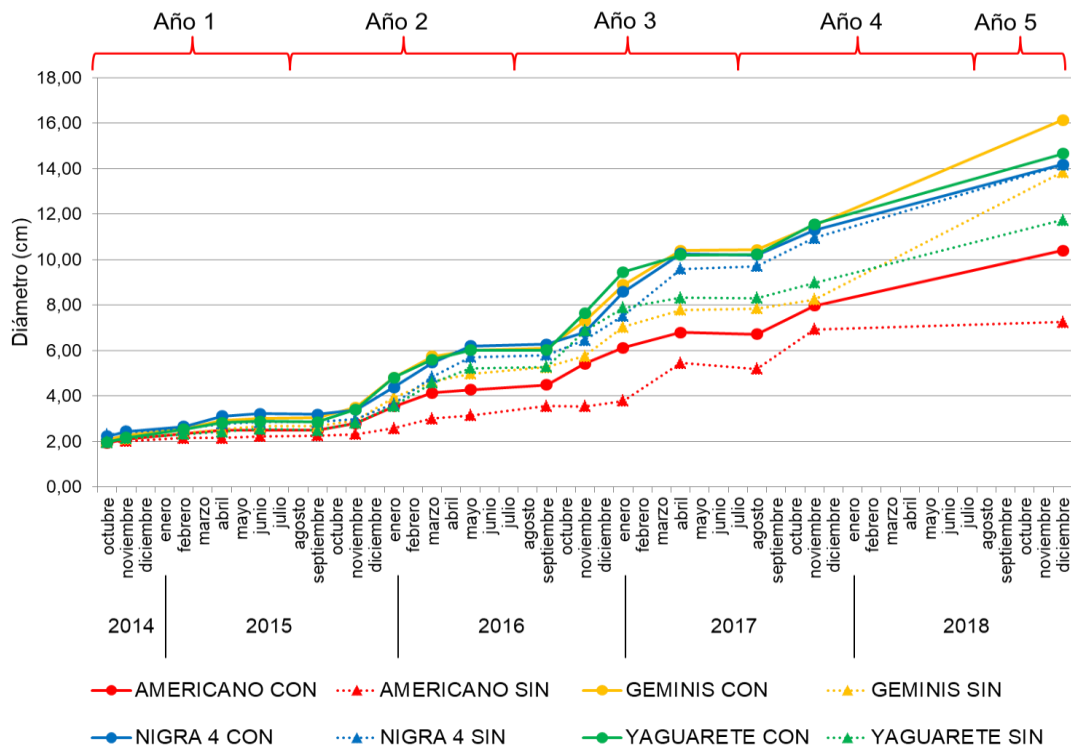


Figura 5.10: Medias de crecimiento en diámetro de las estacas/árboles (vivos) de cuatro clones de *Salix* spp. con y sin exclusión de HCH a lo largo de los cinco años de ensayo en una plantación experimental en la EEA INTA Delta.

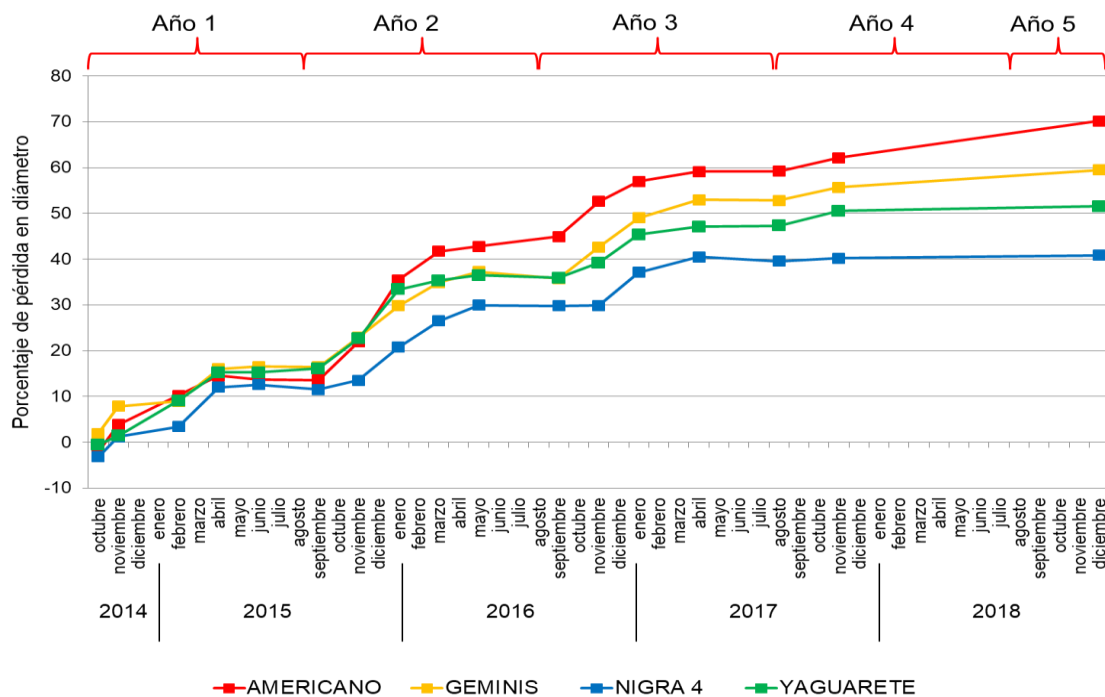


Figura 5.11: Evolución de la pérdida en diámetro de las estacas/árboles de los cuatro clones de *Salix* spp. a lo largo de los cinco años de ensayo en una plantación experimental en la EEA INTA Delta. Los valores corresponden a la diferencia porcentual en diámetro registrada entre los individuos con y sin exclusión de HCH para cada clon.

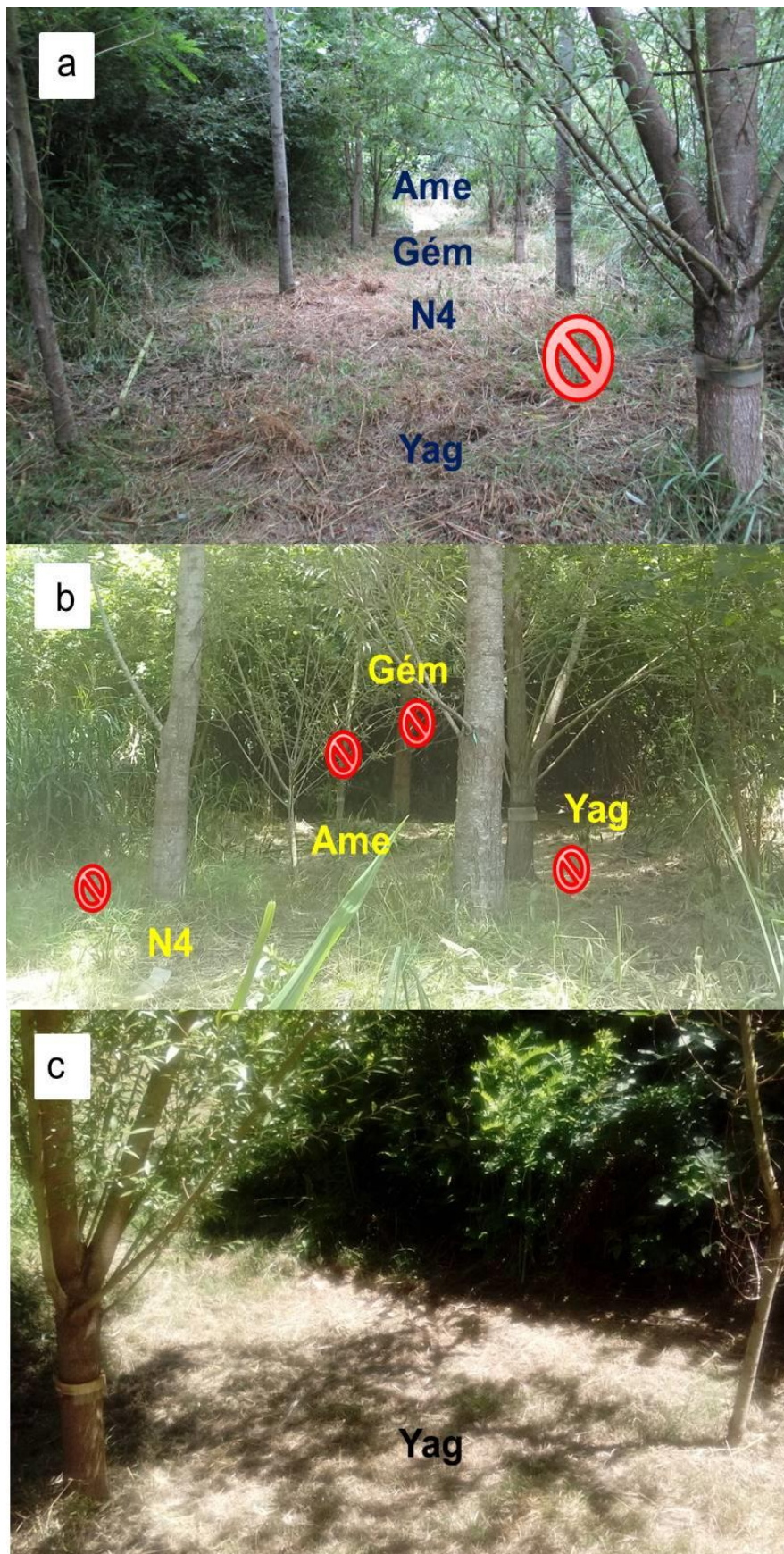


Figura 5.12: Diferencia en diámetro en las estacas/árboles de los cuatro clones de *Salix* spp. con y sin exclusión de HCH en diciembre de 2018 en una plantación experimental en la EEA INTA Delta.

Supervivencia

La supervivencia de los ejemplares de los cuatro clones que contaron con exclusión de HCH fue siempre mayor al 80 %, mientras que los ejemplares sin exclusión disminuyeron su supervivencia a partir de los 100 días, alcanzando una supervivencia del 50 % a los aproximadamente 600 días, con la excepción de Nigra 4 que tuvo una supervivencia del 65 % (Figura 5.13). En 6 bloques, solo sobrevivieron los ejemplares con la barrera física anti-HCH (Figura 5.14). La principal causa de mortalidad fue el ataque de las HCH (63,6 %), aunque se presentaron otras causas como sequía, daño por moto-guadaña mientras se mantenía corta la vegetación interna de los bloques o caída de estacas por ganado (Tabla 5.1). En diciembre de 2018, solo un bloque de los 15 originales permaneció con los 8 árboles vivos (Figura 5.1 y 5.2 del Anexo). La mayor mortalidad se observó en los ejemplares sin barrera de Americano y Géminis (entre 75- 80 %) a diciembre de 2018 (Figura 5.13).

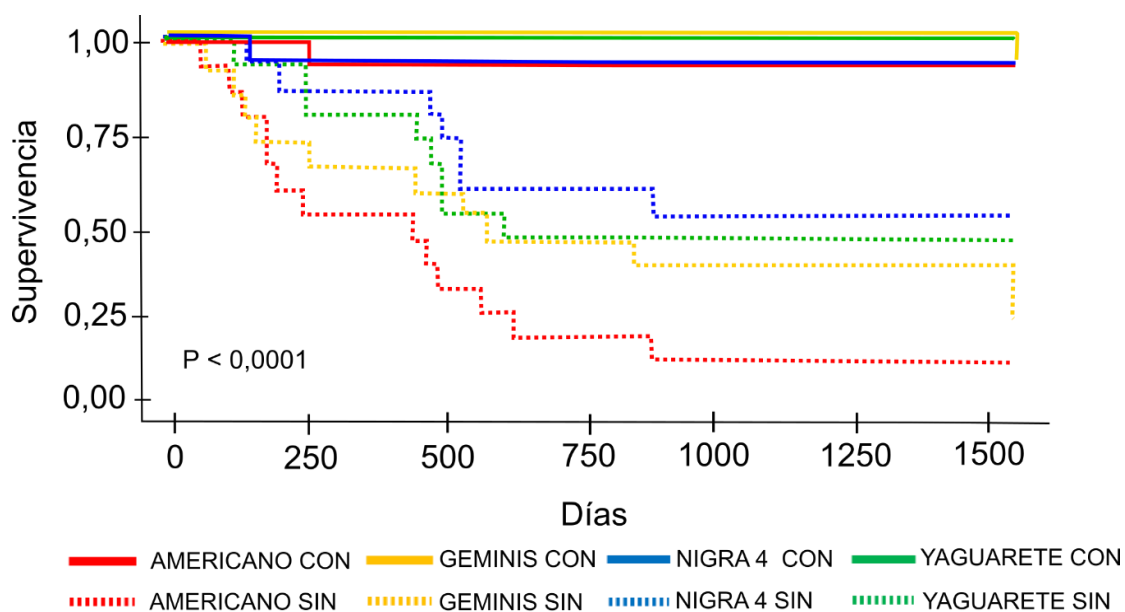


Figura 5.13: Supervivencia de los cuatro clones con y sin exclusión de HCH a lo largo de los 1.537 días de ensayo experimental en la EEA INTA Delta.



Figura 5.14: A causa de la mortalidad de las estacas/árboles, varios bloques quedaron incompletos, como es el caso del Bloque 6, en el cual solo quedaron los 4 árboles que poseen la exclusión. (a) Invierno de 2015, (b) Primavera de 2017.

Tabla 5.1: Número de estacas muertas de cada clon con y sin exclusión de HCH luego de 5 años, de un total de 15 estacas iniciales para cada tratamiento. Los números entre paréntesis representan las estacas muertas a las cuales no se les pudo atribuir mortalidad debido al daño causado por las HCH.

Clon- Exclusión	Año					Total
	1°	2°	3°	4°	5°	
Americano Sin	7 (4)	5 (1)	1	0	0	13 (5)
Géminis Sin	4	3	1	0	2 (2)	10 (2)
Yaguareté Sin	3	5 (1)	0	0	0	8 (1)
Nigra 4 Sin	2	5 (3)	1 (1)	0	0	8 (4)
Americano Con	1 (1)	0	1 (1)	0	0	2 (2)
Nigra 4 Con	1	0	0	0	0	1
Yaguareté Con	0	1 (1)	0	0	0	1 (1)
Géminis Con	0	0	0	0	1 (1)	1 (1)
Total	18 (5)	19 (6)	4 (2)	0	3 (3)	44 (16)

Volumen

El volumen total obtenido de los árboles en el quinto año del ensayo (diciembre de 2018) difirió entre los cuatro clones. El mayor volumen lo alcanzó Nigra 4 con 0,5 m³ y 1,1 m³ para los árboles sin y con exclusión de HCH, respectivamente, seguido por Géminis (0,2 y 1,2 m³), Yaguareté (0,3 y 1,0 m³) y Americano (0,03 y 0,4 m³) (Figura 5.15). La mayor pérdida de volumen se obtuvo en los clones Americano con una reducción del 93 % y en Géminis (83 %) debido a la ausencia de la exclusión. Sin embargo, Géminis produjo el triple de volumen final que Americano (en los árboles con exclusión). Nigra 4 y Yaguareté produjeron similares volúmenes finales en sus ejemplares con exclusión reduciendo un 55 y 70 % respectivamente, el volumen final de la madera producida por los árboles que no presentaron la exclusión (Figura 5.15).

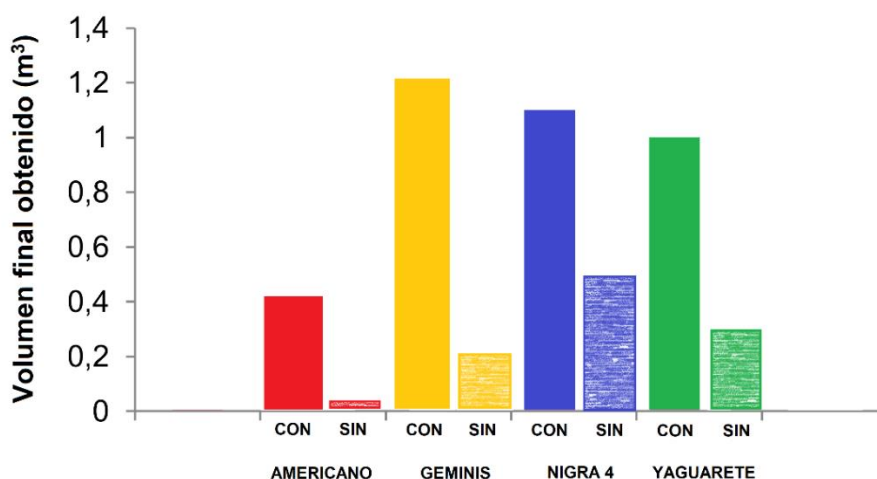


Figura 5.15: Volumen final obtenido (n=15) para cada uno de los 4 clones de *Salix* spp. con y sin exclusión de hormigas cortadoras a lo largo de los cinco años del ensayo en una plantación experimental en la EEA INTA Delta.

En cuanto a la evolución a lo largo de los años, el porcentaje de pérdida en volumen, al finalizar el primer año del ensayo fue aproximadamente del 50 % para los clones Americano y Géminis. Al segundo año, la pérdida de volumen de Americano creció a mayor tasa que los clones restantes. Sin embargo, los cuatro clones incrementaron la pérdida en volumen entre el primer y el tercer año del ensayo, para estabilizarse en todos los clones entre el cuarto y el quinto (Figura 5.16).

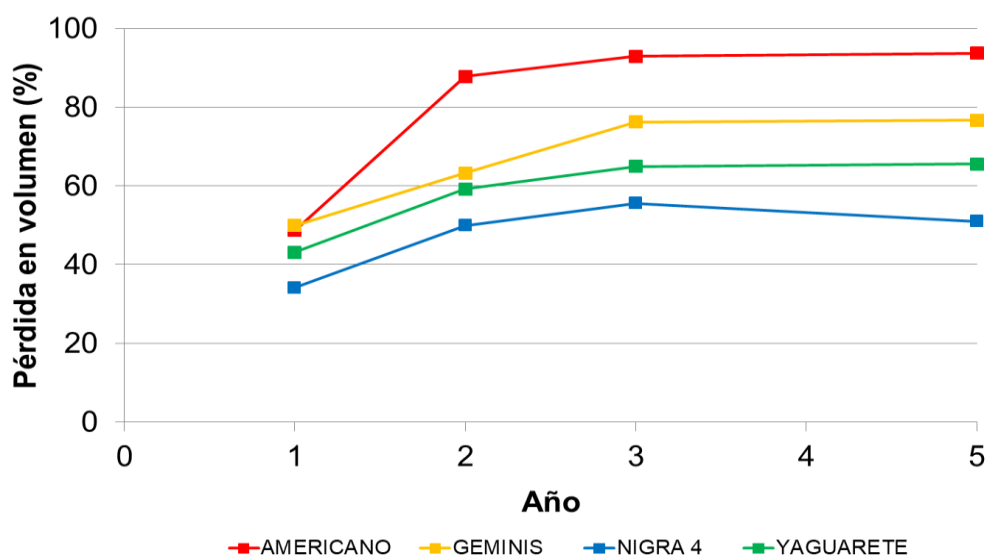


Figura 5.16: Porcentaje de pérdida de volumen de los 4 clones de *Salix* spp. a lo largo de los cinco años del ensayo en una plantación experimental en la EEA INTA Delta.

Otras plagas detectadas

Se observó la presencia con frecuencia de diversos lepidópteros sobre los cuatro clones plantados como el comúnmente conocido “bicho canasto” (*Oiketicus* sp.) (Figura 5.17a) y larvas de la familia Geométridae (Figura 5.17e) indistintamente de si las estacas/árboles poseían o no la exclusión. Dado que la puesta de los huevos por la mariposa se da de manera aérea (sin necesidad de traspasar la barrera física), se consideró que los daños que podrían causar a ejemplares con y sin barrera anti-HCH serían similares para ambos. Además, se detectó larvas de otro lepidóptero (Figura 5.17b) en enero de 2017, pero solo sobre el clon Géminis y un adulto oviponiendo en un ejemplar de Nigra 4 cercano a un posible capullo propio (Figura 5.17g y h). El daño de los lepidópteros fue muy distinto al producido por las HCH, ya que cortan de manera irregular y no en forma de semi-círculo; esto favoreció su distinción en campo. También se encontraron capullos de otros insectos (Figura 5.17c, d, i y j) y huevos eclosionados, posiblemente de un hemíptero (Figura 5.17f). Pese a que en la EEA INTA Delta se detectó la presencia de la avispa sierra, una amenaza importante en la zona, nunca se vio daño ni evidencia de la presencia de la misma en el ensayo.

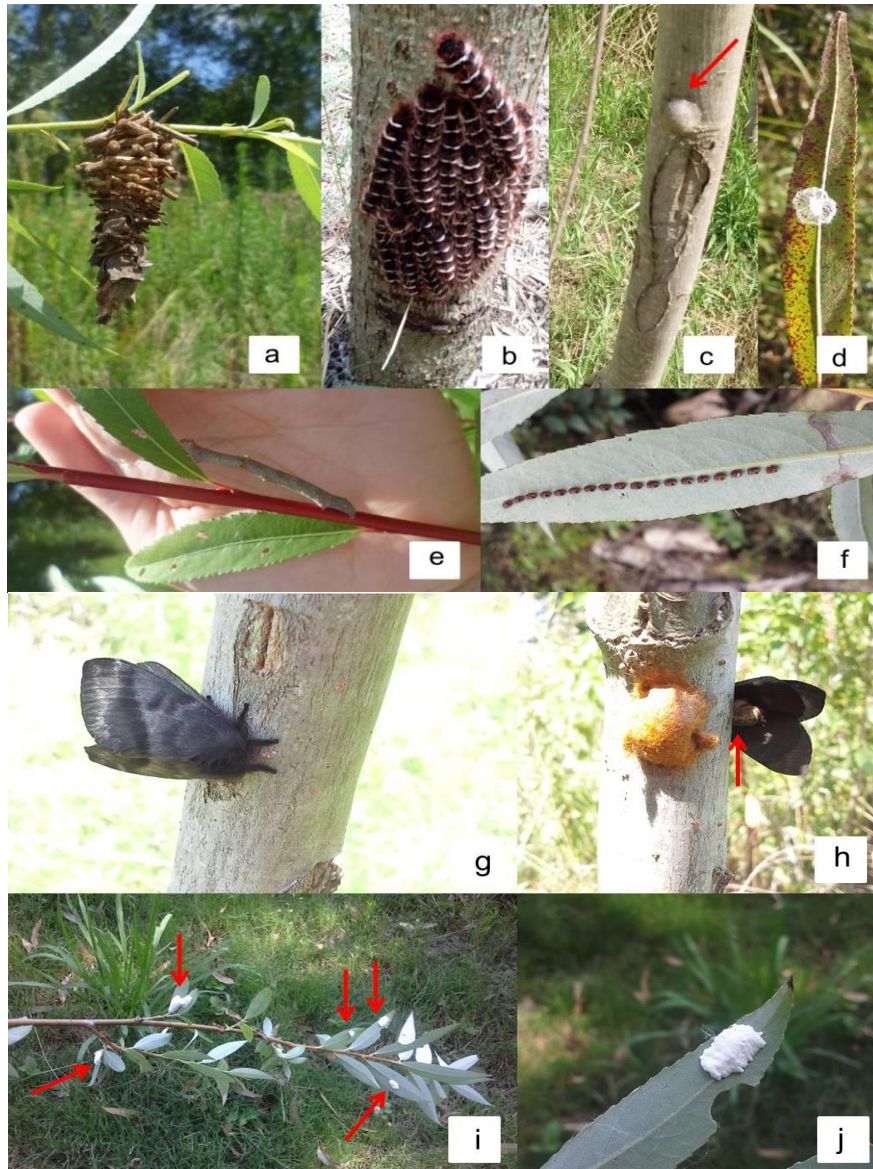


Figura 5.17: (a) Capullo de *Oiketicus* sp., comúnmente conocido como “bicho canasto”, (b) larvas gregarias de Lepidóptera sobre un árbol del clon Géminis, (c) y (d) capullos de insectos, (e) larva de la familia Geometridae, (f) huevos posiblemente de hemíptero, (f) y (g) polilla oviponiendo en un ejemplar de Nigra 4 y capullo posiblemente suyo, (i) y (j) capullos de huevos sobre ejemplar de Yaguareté.

Hubo también daño de mamíferos, como ser el de los ciervos de los pantanos que mordisquearon la corteza de los troncos, y en algunos casos, daño de vacas que ingresaron al sector y tiraron una estaca (Nigra 4 sin exclusión) y doblaron ramas, arrancando incluso algunas de ellas (Figura 5.18).



Figura 5.18: (a) descortezamiento en la base del tronco de *Salix* spp. (b) y (c) rasgado de la corteza producido posiblemente por mordidas de ciervos de los pantanos. (d) y (e) daño producido por el ingreso de vacas al predio, que doblaron y quebraron ramas.

Discusión

El daño causado por *A. lundii* y *A. ambiguus* en el follaje fue similar en los cuatro clones de sauce implantados en este ensayo, al igual que en las pruebas de opción de a pares realizadas en el laboratorio (Capítulo IV). Sin embargo, este daño tuvo un efecto indirecto distinto en cada uno de los cuatro clones. Esta diferencia entre clones se expresó claramente en la pérdida en altura, diámetro, volumen y en la mortalidad. Americano fue el clon más afectado, seguido por Géminis, Yaguareté y por último, Nigra 4.

Daño directo en el follaje

El daño directo en el follaje fue variable en los distintos clones, pero en general muy intenso durante los primeros dos años, para luego estabilizarse a partir del tercer año. Este mismo patrón se observó en otros trabajos (Lewis & Norton 1973; Cantarelli et al., 2008; Nickele et al., 2012). La evolución del daño a lo largo de los primeros 2 años solo evidenció diferencias entre árboles con y sin exclusión para HCH, pero no entre los cuatro clones estudiados. Lamentablemente, no se pudo discriminar entre el daño de *A. lundii* y *A. ambiguus*, porque si bien en oportunidades se las vio cortando distintos clones, la

mayoría del daño sobre el follaje no ocurría durante los momentos de registro de datos, ya que también el momento de mayor daño varía durante el día de acuerdo a la estación del año (Capítulo II). De esta manera, no se pudo determinar si en el campo alguna de estas dos especies de HCH presentaba preferencia por algún clon en particular, algo que no se observó en los ensayos de laboratorio (Capítulo IV). Por otra parte, hubiese sido interesante conocer las densidades de los nidos de cada una de estas especies de HCH en el sector del ensayo, para poder atribuir el daño observado a una densidad poblacional (Capítulo VII).

Altura y diámetro

Las mayores alturas fueron alcanzadas por Nigra 4, que a su vez fue el clon que tuvo un porcentaje menor de pérdida en altura. Esto indicaría que además de tener una tasa alta de crecimiento, fue el clon menos afectado por el daño de las HCH. En campo, se observó que los ejemplares de Nigra 4 eran atacados por las HCH cuando el resto de los clones ya presentaban un daño alto. Esto podría interpretarse como una menor preferencia hacia este clon, sin embargo, esto no fue detectado en el modelo que explicó la evolución del daño en el tiempo. Los siguientes clones que alcanzaron mayor altura fueron Yagueté y Géminis, pero este último obtuvo mayor pérdida en porcentaje de altura, superada solo por Americano que además presentó la menor altura media. Esto indica que si bien Americano fue más afectado que Géminis por el daño de las HCH, además posee una tasa mucho menor de crecimiento en altura. Esto fue corroborado por la Ing. Agr. Teresa Cerrillo, de la EEA INTA Delta (com. pers.). En campo, Géminis y Americano eran frecuentemente atacados por HCH, incluso en ejemplares con barreras. El porcentaje de pérdida en diámetro presentó la misma tendencia que la altura. Es decir, el daño en el follaje afectó de manera similar la pérdida en altura y diámetro de los 4 clones (Americano>Géminis>Yagueté>Nigra 4), aunque no exactamente en la misma magnitud.

Supervivencia

La supervivencia de los ejemplares con barreras anti-HCH fue siete veces mayor que la de los ejemplares sin la exclusión. A los 600 días de comenzado el ensayo (~18 meses), la mortalidad alcanzó el 50 % en los clones sin exclusión. Esto nuevamente muestra la efectividad de la barrera en este tipo de ensayos. Una gran diferencia que se distinguió en campo fue la resiliencia de los árboles del clon Géminis. Mientras que a las estacas y árboles del clon Americano les costaba recuperarse luego de un fuerte ataque, las estacas de Géminis se recuperaban más rápido ante el mismo daño. Esto denota una dualidad para Géminis, porque si bien el clon es atacado frecuentemente por las HCH, tiene una muy

buena recuperación a ataques y una tasa alta de crecimiento tanto en altura como en diámetro.

Volumen

Las pérdidas en altura y diámetro de las estacas/árboles de los distintos clones como consecuencia del daño directo en el follaje, se trasladaron también en la pérdida en volumen de madera potencial que se puede obtener año a año en la plantación. Se observó que la pérdida de volumen fue mayor en Americano y Géminis, y aumentó durante los primeros 2-3 años para al cuarto-quinto comenzar a estabilizarse. Por el contrario, Yagareté y Nigra 4 resultaron con menores pérdidas y mayor estabilidad a lo largo de los años. Es importante destacar, que si bien Americano es el clon comercial que ha sido históricamente más usado en la región del Bajo Delta del Río Paraná, los volúmenes de cosecha fueron entre 2 y 3 veces menores al resto de los clones. Este clon tuvo la tasa más baja de crecimiento en altura y diámetro durante los primeros años, que pudo deberse en parte a un menor rendimiento en las zonas más altas (menos inundables) del sitio de instalación del ensayo (Ing. Agr. Teresa Cerillo, com. pers.). De hecho, el árbol del clon Americano que mejor desempeño tuvo a los 5 años perteneció al bloque (15) que estaba ubicado topográficamente en una parte baja.

Implicancias para el manejo de las HCH

Todas las variables medidas en los cuatro clones con y sin exclusión presentaron un patrón similar a lo largo de los 5 años del ensayo. En base a toda la información que se obtuvo sobre el daño directo e indirecto causado por *A. lundii* y *A. ambiguus* en los cuatro clones estudiados, podemos concluir que Nigra 4 fue el clon menos afectado por las HCH. Presenta un buen crecimiento, no es muy dañado por las HCH, genera sin manejo alguno un fuste principal, tiene baja mortalidad y presenta bajo porcentaje de pérdida de volumen de madera. Sin embargo, para los fines madereros, su color es oscuro y suele quebrarse fácilmente (investigadores de la EEA INTA Delta, com. pers.). Géminis, por su parte, presenta un rápido crecimiento, respuesta intermedia al ataque de las HCH y pese a tener un alto porcentaje de pérdida de madera, fue capaz de producir un buen volumen. Yagareté podría ser un buen candidato por su alta tasa de crecimiento y si bien tiene una gran ramificación, en plantaciones comerciales se suelen realizar podas para ir “guiando” a los árboles a que desarrollen un solo tronco o fuste principal. Esto no se realizó en este ensayo, ya que se consideró que interferiría como un posible daño artificial. Para que la poda no afecte a un clon más que a otro, se debería realizar de manera similar en los 4 clones, algo que es difícil de lograr.

Un hecho importante a destacar es la eficacia de las barreras físicas utilizadas, ya que evitaron en promedio un 76 % del daño causado por las HCH en las estacas y árboles con exclusión. Es interesante entonces, evaluar la factibilidad de utilizar barreras físicas a gran escala. Si bien puede implicar un alto costo y no ser 100 % efectivas, quizá se puede aplicar en un perímetro exterior de varias filas para impedir el ingreso de las HCH presentes en la matriz de vegetación espontánea durante los primeros dos años en los cuales el impacto de las HCH es mayor. Sin embargo, no se pueden usar barreras de manera efectiva en las estacas de 70 cm debido a su pequeño tamaño, que suelen ser las comúnmente utilizadas para iniciar una plantación. En cambio, serían factibles de usar en estacones de 150 cm como los utilizados en este ensayo o en otros ensayos como el que se está llevando a cabo en la EEA INTA Delta, con guías de 2 o 3 metros de largo (Capítulo VII). En este último ensayo se observó que el daño de las hormigas es bajo y que no existió mortalidad a causa del daño de las HCH (Casaubon et al., 2018). Por ende, para que las barreras funcionen correctamente es necesario utilizar estacas iguales o mayores a 1,5 m o guías como material de implantación. A la utilización de estacones y guías, se le puede complementar con una estrategia enmarcada en un sistema silvo-apícola-pastoril, en donde se deja crecer libremente la vegetación espontánea del predio (Pérez 2009; Montoya- Lerma et al., 2012; Nickele et al., 2012; Casaubon et al., 2018). Esto, por un lado genera una mayor oferta y disponibilidad de alimento para las hormigas, y a su vez, se puede aprovechar las pasturas para el ganado, ya que como las guías son grandes y el follaje está a una altura elevada, no hay riesgo de que las vacas las tumben o se alimenten de su follaje. De esta manera, también pueden instalarse colmenas entre las líneas de plantación. Estas son técnicas alternativas al uso intensivo de pesticidas, que se están intentando promover dentro de la comunidad de productores locales del Delta, junto con otras estrategias de manejo como el uso del agua. Mediante la utilización de diques o ataja-repentes y bombas, se maneja el ingreso y egreso del agua en las parcelas plantadas. Los campos que son naturalmente inundados durante las crecidas del Río Paraná, mostraron poco daño atribuible a las HCH, ya que sus nidos no persisten en estas condiciones y deben ser mudados. Mientras que campos que ejercen mucho manejo del agua, solo con canales de irrigación, poseen una mayor carga de nidos de HCH, que son un peligro potencial para las plantaciones jóvenes (Ing. Agr. Edgardo Casaubon y Guillermo Madoz, investigadores de la EEA INTA Delta, com. pers).

En resumen, no se evidenciaron preferencias en campo de las HCH hacia los cuatro clones de sauce implantados en la EEA INTA Delta. Sin embargo, el daño directo causado por las HCH en el follaje afectó diferencialmente el crecimiento en altura, diámetro y volumen y en la supervivencia de los distintos clones. Americano y Géminis fueron los

clones con mayores pérdidas, seguidos por Yaguareté y por último, Nigra 4. A pesar de esto, Géminis presentó un gran crecimiento en volumen al quinto año, equiparable a Yaguareté y Nigra 4. La barrera anti-HCH resultó ser una herramienta física efectiva para evitar el daño de las HCH en el follaje de los estacones/árboles de los cuatro clones. En el próximo capítulo se estudiará la relación entre las pérdidas potenciales en volumen en relación a la densidad de nidos y el costo de su control para determinar el nivel de daño económico y el umbral de acción en el Bajo Delta del Río Paraná de la especie de HCH más perjudicial de Argentina.

ANEXO

Tabla 5.1anexo: Fechas de muestreos de la plantación de sauces, días desde la implantación y con una X se indica cual variable se midió en cada instancia, desde el 2014 al 2018 en una plantación experimental de la EEA INTA Delta.

Fecha	Días desde la implantación	Diámetro	Altura	Daño
02/10/2014	20	X	X	X
21/10/2014	39		X	X
07/11/2014	57		X	X
27/11/2014	77	X	X	X
15/01/2015	126		X	X
05/02/2015	147	X	X	X
27/02/2015	169		X	X
19/03/2015	189		X	X
10/04/2015	211	X	X	X
05/05/2015	235		X	X
28/05/2015	258		X	X
22/06/2015	283	X	X	X
13/07/2015	304		X	X
04/09/2015	357	X	X	X
29/09/2015	382		X	X
29/10/2015	402		X	X
09/11/2015	413	X		
23/11/2015	427		X	X
21/12/2015	455		X	X
14/01/2016	479	X	X	X
04/02/2016	500		X	X
09/03/2016	534	X	X	X
29/03/2016	554		X	X
22/04/2016	579		X	X
27/05/2016	614	X	X	X
23/06/2016	641		X	X

16/09/2016	726	X		X
28/10/2016	768		X	X
17/11/2016	788	X		
13/12/2016	814		X	X
19/01/2017	851	X	X	X
23/02/2017	886			X
08/03/2017	899		X	
04/04/2017	926	X		X
11/05/2017	963		X	X
16/08/2017	1060	X		
23/11/2017	1160	X		
05/12/2018	1537	X	X	

Bloque 14: Figura 5.1 y 5.2 del Anexo.

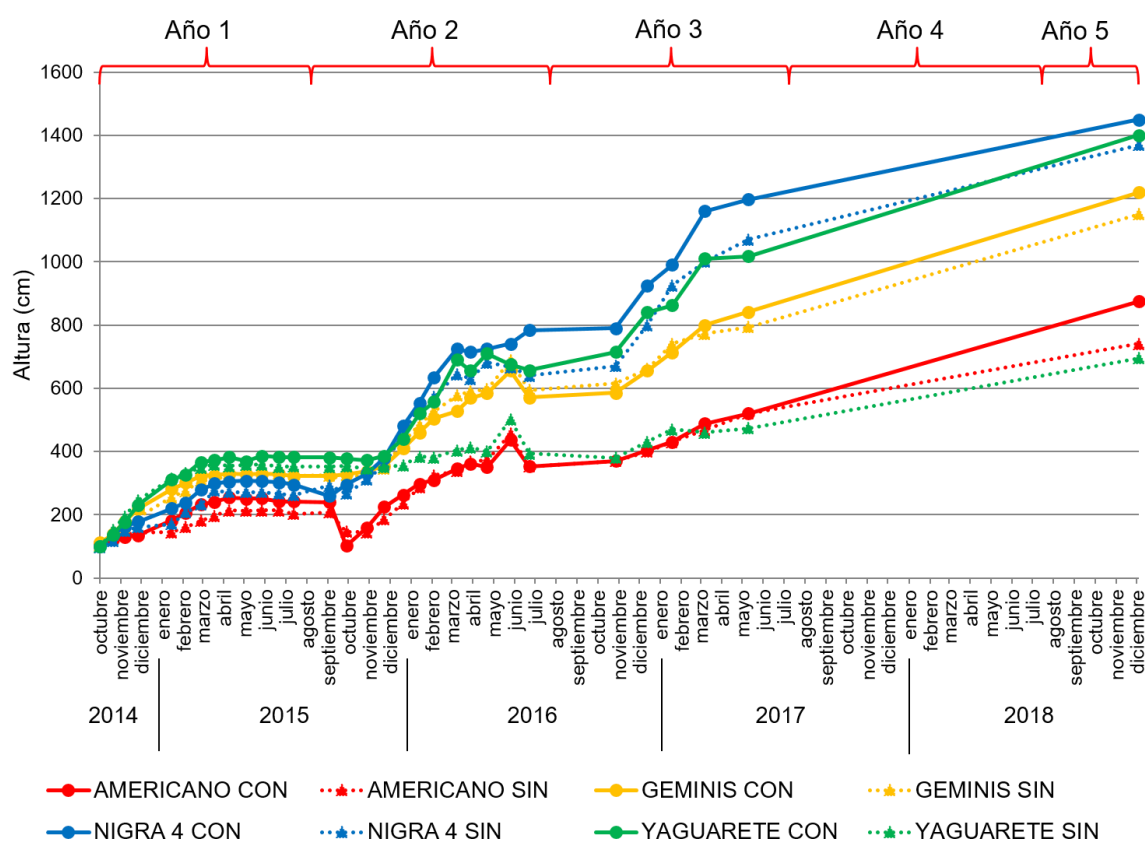


Figura 5.1anexo: Altura de los árboles del único bloque que a la última medición permaneció completo. Se muestran los cuatro clones de *Salix* spp. con y sin exclusión para hormigas cortadoras de hojas desde octubre de 2014 a diciembre de 2018, en una plantación experimental de la EEA INTA Delta.

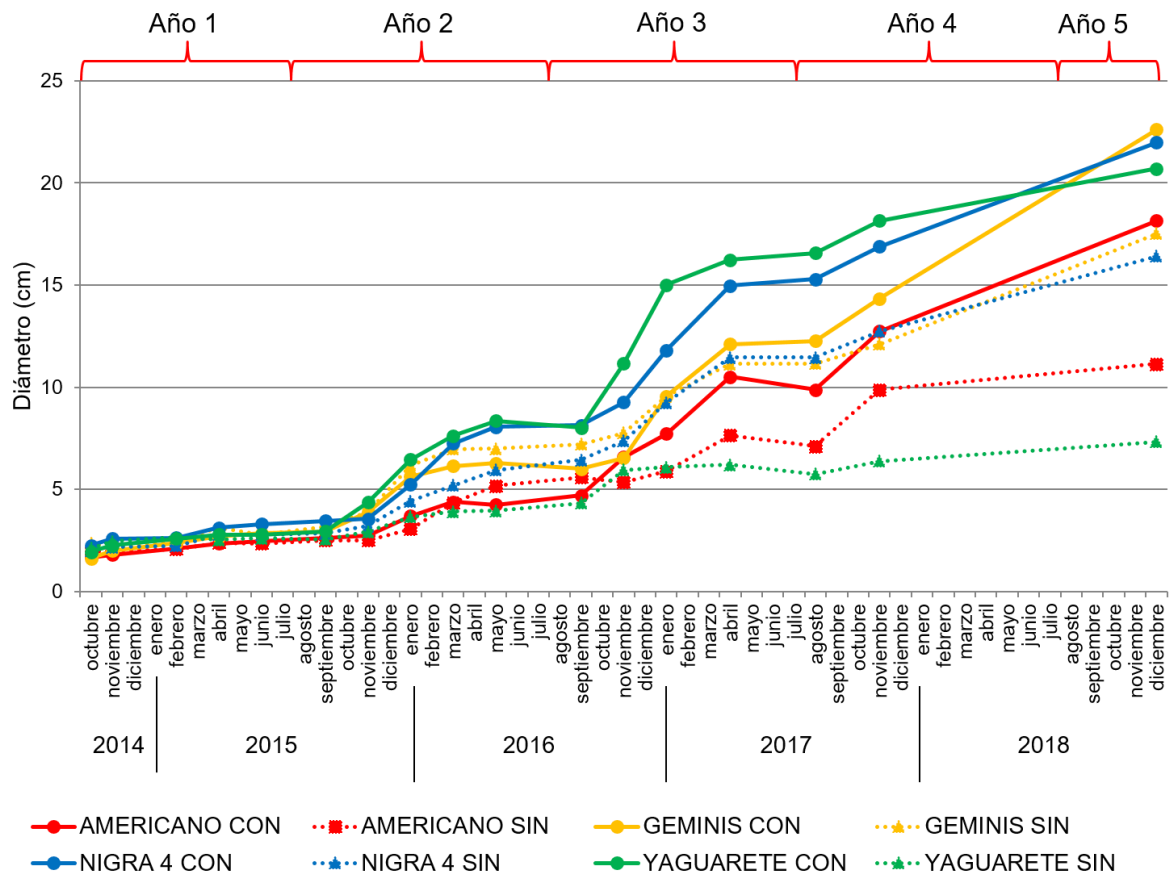


Figura 5.2anexo: Diámetro de los árboles del único bloque que a la última medición permaneció completo. Se muestran los cuatro clones de *Salix* spp. con y sin exclusión para hormigas cortadoras de hojas desde octubre de 2014 a diciembre de 2018, en una plantación experimental de la EEA INTA Delta.

Capítulo VI

NIVEL DE DAÑO ECONÓMICO Y UMBRAL DE ACCIÓN

Resumen

Los pesticidas son comúnmente utilizados para controlar especies de HCH que atacan grandes extensiones de plantaciones de sauces en Argentina. Sin embargo, no hay información sobre la densidad de nidos de HCH o umbral de acción (UA) a la cual se deben iniciar las medidas de manejo, para evitar que la plaga alcance el nivel de daño económico (NDE), es decir, la densidad de nidos de HCH por hectárea a la cual la pérdida en la producción de madera se iguala al costo de controlar a las HCH. Estos valores son necesarios actualmente para que una plantación pueda certificarse ante el Forest Stewardship Council (FSC). El objetivo de este capítulo es estimar el NDE y el UA para *Acromyrmex lundii* en el primer año de una plantación de Nigra 4 en el sudeste de la provincia de Entre Ríos. Para ello, se instalaron 7 parcelas experimentales que poseían diferentes densidades de nidos de *A. lundii*. En cada parcela se colocó 60 estacas de 60- 70 cm de altura, ubicadas en 4 filas de 15 estacas. El número de plántulas sanas, dañadas y muertas fueron periódicamente registradas. Todas las plantas de cada parcela fueron cosechadas y pesadas, convirtiendo el peso a unidades de volumen al finalizar el experimento (260 días). Se determinó un coeficiente de daño a partir de una regresión entre la pérdida de volumen de madera y la densidad de nidos en cada parcela. El NDE estimado fue de 11 nidos/ha, mientras que el UA para una producción rentable (hasta 5 % de pérdida en volumen) del primer año de la plantación fue de 3 nidos/ha. Si bien estos valores son para el sistema Nigra 4- *A. lundii* en Villa Paranacito en el primer año, la metodología para su cálculo puede utilizarse en cualquier otro sistema productivo. Estos valores podrían ser relevantes para la planificación de un manejo más adecuado, en el que se reduzcan dosis y gastos de insecticidas, transformando al sistema y al manejo de plagas en entornos más amigables, tal como lo exige la FSC para otorgar su certificación.

Introducción

El método comúnmente utilizado para el control de HCH en América del Sur es el uso de pesticidas como fipronil, sulfluramida, deltametrina y fenitrotión (Montoya-Lerma et al., 2012; Fischer 2015). Debido a su efecto negativo sobre el medio ambiente, estos insecticidas fueron prohibidos en las plantaciones forestales certificadas (Zanuncio et al., 2016). Sin embargo, en Argentina el fipronil y la sulfluramida obtuvieron una derogación de su prohibición por cinco años a partir de abril de 2016, con la condición de que las dosis de aplicación se reduzcan en un 5 % cada año (Forest Stewardship Council 2016). Empresas brasileñas han adoptado sistemas de monitoreo para estimar el número de nidos de HCH (para *Acromyrmex* spp.) o su superficie (para *Atta* spp.) por hectárea con el objetivo de reducir la aplicación de insecticidas (Zanuncio et al., 2016). Un protocolo de aplicación más eficiente ayudaría a reducir la cantidad de químicos aplicados en las plantaciones, lo cual sería positivo económicamente para los productores y ecológicamente para el medio ambiente.

Se conoce poco sobre el efecto de la densidad de colonias de HCH sobre la producción de especies forestales (Zunino 1971; Hernández & Jaffé 1995; Zanetti et al., 2003; Calegario et al., 2005; Souza et al., 2011). Hernández & Jaffé (1995) correlacionaron el volumen perdido de madera en las plantaciones de pino caribeño (*Pinus caribaea*) con diferentes densidades de nidos de *Atta laevigata* en Venezuela, pero no determinaron el nivel de daño económico (NDE). El NDE es la densidad de nidos de HCH por hectárea (o la superficie total ocupada por nidos por hectárea en el caso de nidos grandes como los de *Atta* spp.) a la cual la pérdida en la producción de madera se iguala al costo de controlar las hormigas. Solo a principios de este siglo, Zanetti et al. (2000, 2003) y después de Souza et al. (2011) determinaron el NDE para *Atta* spp. en plantaciones de *Eucalyptus* spp. de 2- 7 años de edad en Brasil con diferentes niveles de productividad, pero sin considerar la identidad de las especies de HCH que causaron el daño. Actualmente, se desconoce el NDE para especies de *Acromyrmex*, que son las principales plagas forestales en el sur de Sudamérica (Sánchez Restrepo et al., 2019).

El daño causado por especies de *Acromyrmex* a los ecosistemas productivos (e. g., plantaciones forestales, viñedos) se ha reportado en Argentina desde 1907, cuando se las declaró plagas (Bonetto 1959). *Acromyrmex lundii* es la especie más perjudicial en la cuenca baja del río Paraná, compartida por Argentina y Uruguay (Zolessi & Gonzalez 1978), donde ataca intensamente plantaciones de sauces (*Salix* spp.) y álamos (*Populus* spp.) (Kandus et al., 2006; Borodowski 2011). Sin embargo, más de un siglo después de que algunas especies de

Acromyrmex fueran declaradas plagas en Argentina; no hay estimaciones publicadas aún sobre su NDE y umbral de acción (UA).

El UA es la densidad de nidos a la cual se debe iniciar una acción de manejo para evitar que la plaga alcance los valores del NDE. Es un parámetro comúnmente utilizado que permite tomar decisiones sobre cuándo usar o no una estrategia de control en los programas de manejo de plagas para reducir, y optimizar en el mejor de los casos, la cantidad de insecticidas utilizados (Della Lúcia & Vilela 1993). El uso inadecuado de pesticidas ha llevado a restricciones en la producción y posterior comercialización de madera en los mercados internacionales, debido a la contaminación con pesticidas del medio ambiente y la madera, y al aumento de los costos que disminuyen su rentabilidad (Zanuncio et al., 2016). Determinar el daño causado por HCH es un requisito para que las empresas forestales puedan certificar sus plantaciones frente al Forest Stewardship Council (FSC) (Isenring & Neumeister 2010; Montoya-Lerma et al., 2012; Zanuncio et al., 2016). Para esto, deben informar los valores estimados de NDE y UA y de este modo, justificar la necesidad de continuar aplicando pesticidas químicos para el control de HCH.

Objetivo específico

Estimar el NDE y UA causados por *A. lundii*, la especie de HCH más perjudicial de Argentina, durante el primer año de una plantación del clon de sauce negro, Nigra 4, en el sureste de la provincia de Entre Ríos.

Materiales y métodos

Sitio de estudio

El ensayo se realizó en una plantación del predio "Isla Victoria", perteneciente a ARAUCO Argentina S. A., Villa Paranacito, en el sureste de la provincia de Entre Ríos, Argentina (ver Capítulo I). En este sitio, solo está presente *A. lundii*, que fue la especie con mayor actividad en primavera, momento de rebrote de los sauces (Capítulo II). Se seleccionó un parche de 12 ha (33° 39'S, 58° 35'O, 8 msnm, Figura 6.1) que contenía una plantación de álamos (*Populus deltoides*) de 14 años, la cual se taló en 2016, para instalar una plantación experimental del clon de sauce negro, Nigra 4.

Diseño experimental

En agosto de 2016, se establecieron siete parcelas experimentales de Nigra 4 en sitios con distintas densidades de nidos de *A. lundii*. Cada parcela de 360 m² contenía 60 estacas de 75 cm de altura (la mitad de largo de las utilizadas en el Capítulo V), distribuidas en 4 filas de 15 estacas cada una. Las estacas son la forma más común de reproducción de especies forestales, existiendo estaqueros específicos, que cada año se podan y se cortan del largo necesario de acuerdo al uso que vayan a tener (investigadores de la EEA INTA Delta, com. pers.). Una parcela fue instalada en un sector lindero al parche donde se habían controlado químicamente los nidos aplicando pesticida. El control químico consistió en dos aplicaciones de porta cebos, comúnmente denominados *mipis* (*micro porta iscas* en portugués). Una aplicación sistemática de 200 *mipis*/ha de 10 gr, cada una conteniendo una dosis de 0,5 gr de sulfluramida y una segunda aplicación focalizada solo si se detectaban nidos o plantas dañadas por *A. lundii* (aplicación a demanda). Las seis parcelas restantes se instalaron en el parche, donde no hubo control de *A. lundii*, de manera tal de obtener parcelas con diferentes densidades de nidos en ellas (Figura 6.1).

Densidad de nidos

La densidad de las colonias (nidos/ha) se midió a través de la inspección visual recorriendo en todo el parche (12 ha). Los nidos de *A. lundii* usualmente no tienen montículos visibles sino una o varias entradas/salidas (Capítulo I), por lo que se consideró un nido como todos los orificios agrupados en un mismo área de 2 m de diámetro. Todos los nidos encontrados en el parche fueron geo-referenciados usando un GPS *Garmin Etrex* y mapeados usando *Q GIS* (versión 3.2). Se registró también la ubicación de los nidos en relación con la topología del suelo (1- bajo e inundado, 2- alto y seco y 3- zanja y borde del camino) y la ubicación dentro del parche (1- troncos de árboles vivos, 2- tocones y 3- suelo). La densidad de nidos en cada una de las siete parcelas se estimó en un área mayor y geométricamente similar de 2.500 m², centrada en la parcela. Algunos nidos se encontraron específicamente dentro de las parcelas, y otros en este área mayor, que se proyectó para incluir todos los nidos con el potencial de acceder a las estacas de cada parcela y atacarlas (estimado en ~ 20 m para *A. lundii* en este sitio, obs. pers.).

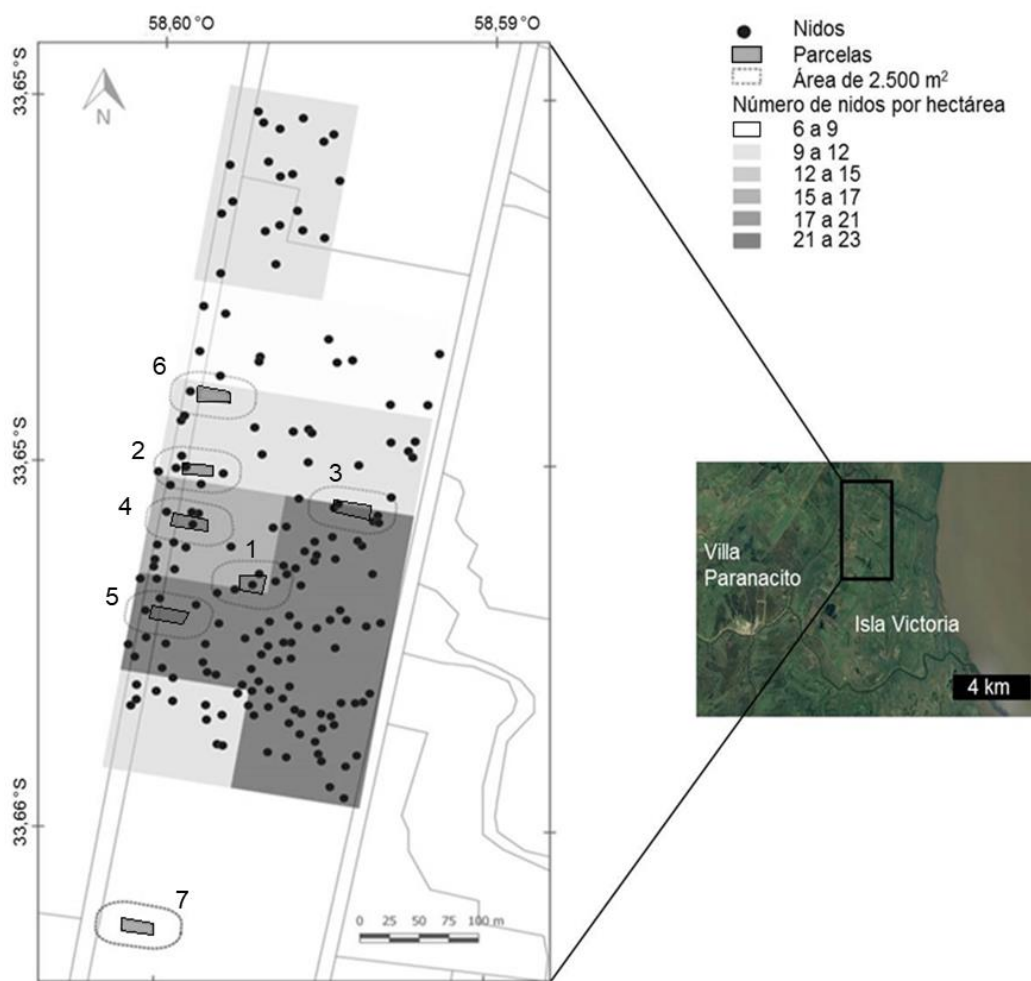


Figura 6.1: Ubicación de la plantación en el predio "Isla Victoria" en la provincia de Entre Ríos, Argentina (derecha). Parche de 12 hectáreas de Nigra 4 donde se establecieron 6 parcelas experimentales con distintas densidades de nidos (1- 6) y una parcela en la zona con manejo (7), es decir, sin nidos de *Acromyrmex lundii* (izquierda). Las parcelas se muestran en gris, con un área en línea punteadas de 2.500 m² (un cuarto de hectárea). Los nidos están representados por puntos negros y las densidades relativas de cada hectárea del parche están representadas en escala de grises.

Progreso del daño

El número y porcentaje de plantas sanas y dañadas por las HCH se registró periódicamente (7, 24, 49, 85, 156 y 260 días desde la implantación) en cada parcela desde septiembre de 2016 hasta mayo de 2017. Ante la dificultad de saber si una estaca estaba definitivamente muerta luego de un ataque, ya que podía rebrotar incluso después de una defoliación completa, la mortalidad solo se consideró una vez que la planta se había deshojado

por completo sin indicios de nuevas hojas verdes durante al menos un mes. Se calcularon y trazaron los porcentajes acumulados de plantas dañadas y muertas en cada fecha de monitoreo del experimento.

En mayo de 2017, todas las plantas vivas de cada una de las siete parcelas se cortaron a nivel del suelo (biomasa aérea) y se pesaron en el mismo día (peso fresco) (Figura 6.2). El volumen perdido de madera (VPM, m³/ha, Ecuación 6.1) en cada parcela se estimó a partir del volumen total de madera cosechado en la parcela con control de *A. lundii* (Vm, volumen máximo esperado sin daño de HCH), menos el volumen total de madera cosechada en cada una de las seis parcelas de área similar, pero con densidades de nidos de HCH superiores a cero (Vx):

$$VPM = Vm - Vx \quad (\text{Ecuación 6.1})$$

El VPM por plantas muertas se estimó como el volumen medio de madera cosechada por estaca en la parcela sin nidos. Por lo tanto, fue posible discriminar el volumen de madera perdido entre las plantas muertas y las plantas dañadas que sobrevivieron al ataque de las hormigas.



Figura 6.2: (a) Corte, (b) transporte y (c) pesaje de las plantas de Nigra 4 presentes en las 7 parcelas experimentales a los 9 meses de implantadas (agosto de 2016- mayo de 2017), lo que corresponde con el primer año de crecimiento de la plantación.

Nivel de daño económico

El NDE se calculó utilizando el VPM total (plantas dañadas y muertas) atribuible al ataque de *A. lundii* al final del experimento y la densidad de nidos en las siete parcelas como en Norton (1976) y Nabirye et al. (2003) usando la Ecuación 6.2:

$$NDE = CA / (CD \times VP \times EC) \quad (\text{Ecuación 6.2})$$

donde CA es el costo por hectárea de cada aplicación para controlar a *A. lundii* (US\$/ha); CD es el coeficiente de daño, que representa el VPM por hectárea causado por una colonia ($\text{m}^3/\text{ha}/\text{nido}$); VP es el valor de la producción de madera (US\$/ m^3) y EC es la eficiencia de la medida de control (porcentaje de reducción del daño). Por lo tanto, el NDE se expresa en nidos/ha (densidad de nidos de *A. lundii*). El CA de la primera aplicación que es sistemática es de 35 US\$/ha (ARAUCO Argentina S. A. 2017, com. pers.). Varía según el valor del producto químico (plaguicida), la dosis, el equipo utilizado y el personal dedicado a la aplicación.

El CD es el componente fundamental del NDE y el más difícil de establecer de manera realista. Se refiere a la pérdida en la cantidad de madera (m^3) por hectárea que causa, por defoliación, una colonia de *A. lundii* en la plantación. En términos numéricos, el CD es igual a la pendiente en una regresión simple entre el VPM y la densidad de nidos de cada parcela (Pedigo 1996). El CD debe calcularse en cada etapa o año del desarrollo de una forestación. En este caso, el CD se calculó para el primer año.

El VP se estimó utilizando tres factores de conversión de peso a volumen (0,80, 0,90 y 0,94) sobre la base de un precio de mercado de 48 US\$/ton (ARAUCO Argentina S. A. 2017), que generalmente está sujeto a las fluctuaciones del mercado. Estos tres factores se obtuvieron considerando las únicas estimaciones disponibles realizadas por Christian Carazzo (ARAUCO Argentina S. A. 2016) para *Salix babylonica* x *Salix alba* ("Ragonese 131/27- INTA") y por María Elena Atencia para *Salix babylonica* var. *sacramenta* (Sauce Americano) (INTI- CITEMA 2003) y para el sauce nativo *Salix humboldtiana*. Los factores de conversión corresponden al día en que las plantas fueron cosechadas, cuando la madera es más pesada porque contiene más agua que la madera seca.

La EC se refiere a la eficacia, expresada en proporción, de la reducción efectiva de colonias (nidos/ha) con cada aplicación durante el tiempo deseado (e. g., primer año de la plantación). Debido a que es difícil conocer un porcentaje exacto de la eficacia de la primera aplicación sistemática del pesticida en el campo, se consideraron siete escenarios para el cálculo (0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95 y 1,00). Los factores que influyen sobre la EC a menudo se asocian con el producto (i. e., pesticida seleccionado, dosis, efecto residual y calidad), la aplicación (i. e., método, equipo, tiempo y especie vegetal), la plaga (i. e., factibilidad de recibir la dosis y su grado de resistencia al pesticida), el estado de desarrollo de la planta y las condiciones ambientales en el momento de la aplicación. Por lo tanto, la eficacia de cada aplicación dependerá, además de las características específicas del producto y la plaga, de las

habilidades que tenga el personal para poner el químico en contacto con las obreras y especialmente con la reina de la colonia de *A. lundii*.

Umbral de acción

Se calculó como la densidad de nidos que garantiza una mortalidad igual o menor del 5 % de las plantas, que es la máxima tolerada por ARAUCO Argentina S. A. para la producción de madera en la plantación "Isla Victoria". Se estimó utilizando la ecuación de una regresión lineal simple entre la mortalidad causada por *A. lundii* y la densidad de sus nidos en cada una de las siete parcelas.

Resultados

Densidad de nidos

Se encontró un total de 167 nidos en las 12 ha recorridas, dando una densidad media de 13,9 nidos/ha en todo el parche. Los nidos se ubicaron en su mayoría cerca de los troncos de árboles vivos o de tocones (88 %) y en zonas bajas o inundables (63,4 %) (Tabla 6.1, Figura 6.1). Sin embargo, si tenemos en cuenta los nidos atribuidos a cada una de 6 parcelas de Nigra 4 sin control de *A. lundii*, las densidades varían entre 8 y 28 nidos/ha, dando una media de 18,7 $\pm$ 3,4 ($\pm$ E.E.) (Tabla 6.2). En la parcela control, efectivamente no se observó la presencia de ningún nido, ni de obreras forrajeando dentro o en los alrededores de la misma.

Plantas dañadas y mortalidad

Durante el primer año de la plantación (nueve meses de crecimiento), se perdió el 90,3 % de la producción potencial de madera como resultado de los altos niveles de herbivoría, que causaron daños altos y mortalidad a las plantas (Tabla 6.2). De este porcentaje, el 28,1 % se atribuyó al daño causado en las plantas que sobrevivieron a los ataques al final del experimento. El 62,2 % restante corresponde a la mortalidad de las plantas (224/360 estacas) en cada una de las seis parcelas sin control químico de *A. lundii*. El número medio ($\pm$ E.E.) de plantas muertas por parcela fue de 37,3 $\pm$ 9,9. No se registraron daños por otras plagas forestales (e. g., bicho canasto, avispa sierra).

Tabla 6.1: Número (y porcentaje) de nidos de *Acromyrmex lundii* encontrados en el parche de 12 hectáreas en el predio “Isla Victoria”, Entre Ríos, perteneciente a la empresa forestal ARAUCO Argentina S. A. Los nidos fueron clasificados según la topología del suelo y la ubicación dentro del parche.

Ubicación	Topología del suelo			Total
	Bajo e inundado	Alto y seco	Zanja y borde del camino	
Tocón	100 (59,7)	27 (16,2)	11 (6,3)	138 (82,2)
Base de tronco	6 (3,7)	0	3 (2,1)	9 (5,8)
Suelo	0	15 (8,9)	5 (3,1)	20 (12,0)
Total	106 (63,4)	42 (25,1)	19 (11,5)	167 (100,0)

El peso medio ($\pm$ E.E.) de la pérdida de madera en las seis parcelas con presencia de *A. lundii* fue de $2,08 \pm 0,12$ toneladas/ha con respecto a la parcela sin HCH. Esta pérdida de peso representa una pérdida de volumen promedio ($\pm$ E.E.) de $2,60 \pm 0,15$, $2,31 \pm 0,13$ y $2,20 \pm 0,13$ m³/ha para un factor de conversión peso-volumen de 0,80, 0,90 y 0,94, respectivamente (Tabla 6.2). El VPM de Nigra 4 (m³/ha) al final del primer año de la plantación se relacionó positivamente con la densidad de nidos de *A. lundii* para todos los factores de conversión de peso a volumen ($F_{1,5} = 9,49$, $P = 0,03$, $R^2 = 0,65$, Tabla 6.2, Figura 6.3).

Tabla 6.2: Número de nidos, mortalidad de estacas, peso y volumen perdido en cada una de las seis parcelas de 60 estacas de Nigra 4, sin control químico para *Acromyrmex lundii*.

Parcela	Densidad (nidos/ha)	Mortalidad (% del total)	Peso perdido (toneladas/ha) (%)	Volumen perdido por factor de conversión (m ³ /ha)		
				0,80	0,90	0,94
1	28,0	100,0	2,30 (100,0)	2,88	2,56	2,45
2	28,0	89,7	2,26 (98,3)	2,83	2,51	2,40
3	20,0	54,2	2,12 (92,2)	2,65	2,36	2,26
4	16,0	100,0	2,30 (100,0)	2,88	2,56	2,44
5	12,0	12,9	1,55 (67,4)	1,94	1,72	1,65
6	8,0	16,4	1,93 (83,9)	2,41	2,14	2,05
Media	18,7	62,2	2,08 (90,3)	2,60	2,31	2,21

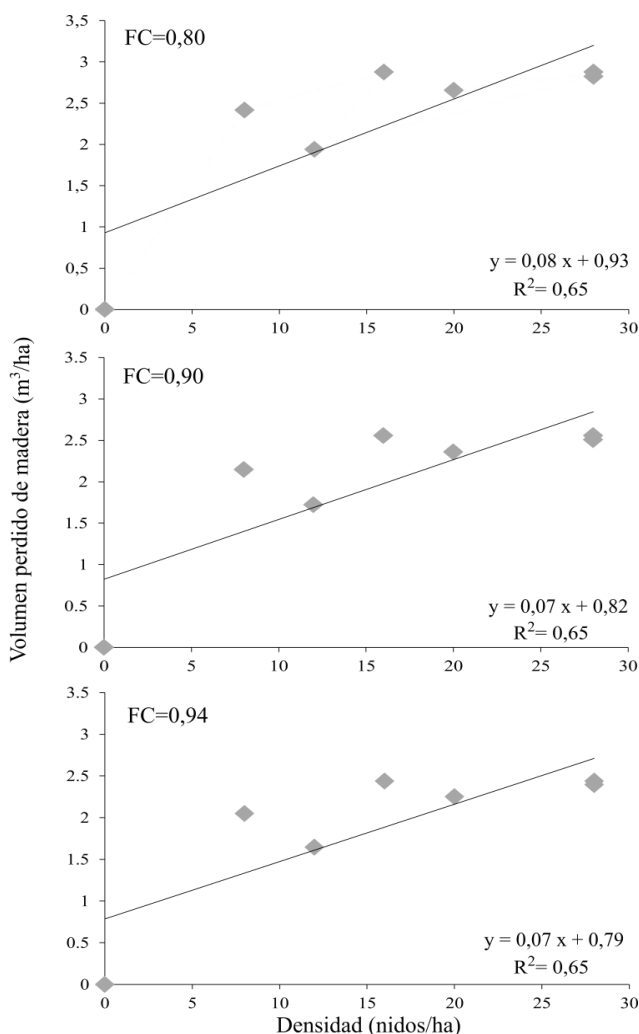


Figura 6.3: Volumen de madera perdido de Nigra 4 (m³/ha) en función de la densidad (nidos/ha) de *Acromyrmex lundii* en las siete parcelas experimentales con tres factores de conversión de peso a volumen (FC). La pendiente de esta relación es el coeficiente de daño tal como se usa en Pedigo (1996) para definir el nivel de daño económico.

Progreso del daño

Se observó un porcentaje medio acumulado alto (> 60 %) de plantas dañadas (vivas y muertas) a los 50 días desde la implantación. Hacia el final de la primavera, más del 85 % de las plantas habían sido atacadas (Figura 6.4). El porcentaje acumulado de plantas dañadas por parcela también se relacionó positivamente con la densidad de nidos por parcela ($F_{1, 5} = 5,53$, $P = 0,06$, $R^2 = 0,53$).

Las primeras plantas muertas en las diferentes parcelas se registraron entre 89 y 156 días después del inicio del experimento, variando del 5 % en la parcela 6 al 100 % en las parcelas 1

y 4. Durante el otoño de 2017, la mortalidad acumulada fue baja (13 y 17 %) en parcelas con baja densidad (12 y 8 nidos/ha, respectivamente) y alta (54 y 90 %) en parcelas con densidades mayores (20 y 28 nidos/ha, respectivamente). No hubo plantas dañadas, ni mortalidad registrada para la parcela 7. La mortalidad acumulada al finalizar el ensayo en cada parcela, se relacionó con su densidad de nidos ($F_{1,5} = 13,13$, $P = 0,01$, $R^2 = 0,72$, Figura 6.4 y 6.5).

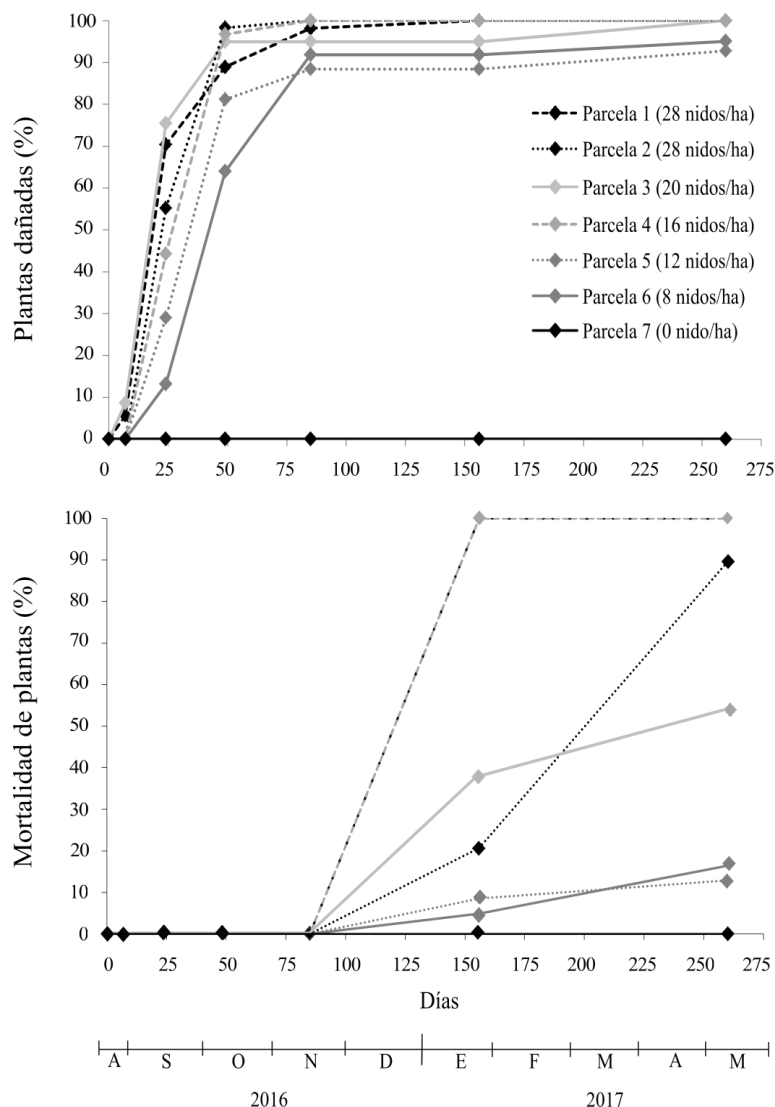


Figura 6.4: Porcentaje acumulado de plantas dañadas (arriba) y mortalidad (abajo) de estacas de Nigra 4 durante el primer año de crecimiento, como consecuencia del ataque de *Acromyrmex lundii* en siete parcelas experimentales, desde agosto de 2016 a mayo de 2017 (260 días de medición).

Nivel de daño económico

El NDE en el primer año de una plantación de sauce negro se estimó entre 7,19 y 14,28 nidos/ha (promedio ~ 11 nidos/ha) considerando los tres factores de conversión de peso a volumen de madera (0,80, 0,90 y 0,94) y siete escenarios de eficacia del control (entre 70 y 100 %) en la primera aplicación (Tabla 6.3). La reducción del volumen de madera por nido de *A. lundii* fue de entre 0,07- 0,08 m³/ha.

Tabla 6.3: Niveles de daño económico (NDE) de *Acromyrmex lundii* para el primer año de una plantación de Nigra 4 en el sudeste de la provincia de Entre Ríos, Argentina. Los NDE se estimaron considerando siete posibles escenarios de eficacia del control por insecticidas (en proporción) y tres factores de conversión de peso a volumen de la madera.

Se resaltan el valor mínimo, medio y máximo de NDE.

Eficacia del control	Factor de conversión peso-volumen		
	0,80	0,90	0,94
0,70	10,28	13,00	14,28
0,75	9,59	12,14	13,33
0,80	8,99	11,38	12,50
0,85	8,46	10,71	11,76
0,90	7,99	10,11	11,11
0,95	7,57	9,58	10,52
1,00	7,19	9,10	10,00

Umbral de acción

El UA que garantiza una mortalidad del 5 % de las plantas, que serán reemplazadas en el segundo año de la plantación, se calculó en 2,60 nidos/ha (~ 3 nidos/ha) (Figura 6.5). Esta es la densidad de nidos aceptada por ARAUCO Argentina S. A. para una producción de madera rentable. Esta densidad es alrededor de un 30 % del NDE medio obtenido en este ensayo.

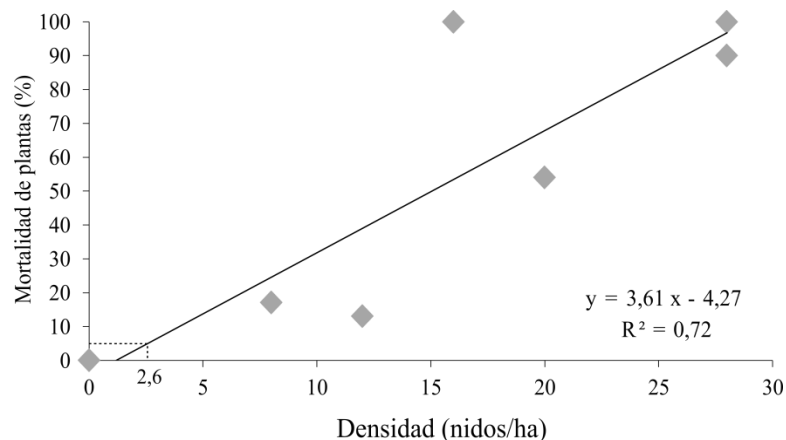


Figura 6.5: Mortalidad de estacas de Nigra 4 en función a la densidad de nidos de *Acromyrmex lundii* en siete parcelas experimentales. Esta relación se utiliza para definir el Umbral de Acción o densidad de nidos (2,6 nidos/ha) a la cual iniciar las estrategias de manejo de la plaga. Esta densidad corresponde al 5 % de plantas muertas aceptadas por ARAUCO Argentina S. A., que serán reemplazadas en la plantación al inicio del segundo año.

Discusión

La densidad calculada de *A. lundii* en las seis parcelas experimentales de Nigra 4 (18,7 nidos/ha) y en el parche completo de 12 ha (13,9 nidos/ha) sin manejo con insecticidas fue similar a la densidad máxima de *Atta* spp. (8- 16 nidos/ha) encontrada en plantaciones de especies de *Eucalyptus* spp. en Minas Gerais, Brasil (Zanetti et al., 2000). Además, fue más alta que la obtenida para *A. crassispinus* (4 nidos/ha) en plantaciones de *P. taeda* en Santa Catarina, Brasil (Nickele et al., 2009), pero menor que la observada por Hernández & Jaffé (1995), Buratto et al. (2012) y Nickele et al. (2015) (30 nidos/ha para *A. laevigata*, 26 y 28 nidos/ha para *A. crassispinus*, respectivamente) en plantaciones similares. Sin embargo, es difícil estimar y comparar adecuadamente densidades de nidos debido a que la mayoría de las plantaciones forestales estudiadas tienen algún tipo de manejo de HCH.

El volumen de madera perdido por hectárea (90,3 %) al final del primer año de la plantación de Nigra 4 fue más elevado que el 50 % reportado por Hernández & Jaffé (1995) para plantaciones de *P. caribaea* de 6- 10 años atacadas por *A. laevigata* en Venezuela. Sin embargo, ambas coinciden en la correlación negativa observada entre el daño y la edad de la plantación (Hernández & Jaffé 1995).

Como se discutió en el capítulo anterior, los niveles de daño suelen ser altos en los primeros 30 a 60 días de iniciada la plantación (Cantarelli et al, 2008; Buratto et al., 2012;

Nickele et al., 2012). Estudios en una plantación de *Eucalyptus grandis*, no mostraron mortalidad pese a la alta defoliación total durante el primer año que ocasionó una disminución en el crecimiento (Mastrangelo et al., 2010). No obstante, si el daño permanece elevado durante 2 o 3 años consecutivos, generalmente resulta en la muerte del árbol (Lewis & Norton 1973; Mendes Filho & Suiter Filho 1979). En el capítulo anterior, los resultados mostraron que Nigra 4 fue el clon que presentó la menor tasa de mortalidad atribuible al daño no solo por *A. lundii* sino también por *A. ambiguus*. La diferencia podría deberse a que las estacas plantadas en el Capítulo V eran el doble de largas (150 cm), la disponibilidad de las plantas presentes en el área era mayor, ya que la matriz no fue eliminada, y existían otros tres clones incluidos en el ensayo que las HCH podían atacar.

El análisis de regresión mostró que la densidad de nidos por hectárea respondió como una variable adecuada para estimar la influencia de *A. lundii* sobre la producción de madera de Nigra 4. Resultados similares fueron encontrados por Hernández & Jaffé (1995) y Hernández et al. (1999) para *A. laevigata* en plantaciones de pino y por Zanetti et al. (2000, 2003) para *A. sexdens rubropilosa* en plantaciones de eucalipto.

La reducción del volumen de madera de sauce causada por *A. lundii* (nido/ha) fue de 0,07-0,08 m³/ha. Se observó un valor similar para las especies de *Atta*, donde un nido por hectárea resulta en una reducción de entre 0,04 y 0,13 m³/ha en la producción de madera de *Eucalyptus* spp. (Souza et al., 2011). Sin embargo, las pérdidas de volumen de madera serían menores en el caso de clones con mayores tasas de crecimiento o para el mismo clon en sitios con mayor productividad (Souza et al., 2011). Este aspecto es importante porque se pueden tomar mejores decisiones basadas en el análisis de costo/beneficio para el control de plagas. Por otro lado, el daño puede aumentar la producción de madera de árboles no defoliados al reducir la competencia entre plantas dañadas y no dañadas en áreas con baja infestación de HCH (Zanetti et al., 2000).

El NDE determinado para *A. lundii* en el primer año de la plantación de Nigra 4 en el bajo Delta del Río Paraná (~ 11 nidos/ha) fue similar al NDE reportado por Zanetti et al. (2003) para *Atta* sp. en el segundo año de plantaciones de *Eucalyptus* spp. en Brasil (9- 13 nidos/ha), siendo que los nidos de *Atta* suelen tener tamaños muchísimo mayores a los nidos de especies de *Acromyrmex*, y por ende, mayores demandas que suplir. El NDE aumentaría hasta alcanzar un máximo al tercer año para luego ir decreciendo. Este tiempo suele coincidir con el momento en que se relaja el manejo de HCH en las plantaciones ya que el daño tiende a ser bajo y estable (investigadores de la EEA INTA Delta y productores de la zona).

El UA para una producción de madera rentable de Nigra 4 en "Isla Victoria", esto significa como máximo un 5 % de plantas muertas al final del primer año de crecimiento según criterios de ARAUCO Argentina S. A., fue de ~ 3 nidos/ha de *A. lundii*. Esto significa que para evitar pérdidas considerables en las plantaciones, se debe ejecutar la aplicación del pesticida si la densidad de nidos es igual o superior a 3 nidos/ha. En las 12 ha del parche estudiado, la menor densidad detectada fue de 6 nidos/ha, por lo que cualquier plantación instalada allí bajo esa carga de nidos no produciría volúmenes de madera rentable para la empresa.

Implicancias para el manejo de HCH

Este es uno de los primeros trabajos realizado en Argentina que estima el NDE para una especie de HCH, requisito de la FSC para justificar el uso de pesticidas tóxicos para el medio ambiente como el fipronil y la sulfluramida. Conocidos estos parámetros, el próximo paso sería conocer la factibilidad de la logística necesaria para encontrar, identificar y contar el número de nidos de HCH presentes en cada sistema de clon o especie forestal de las plantaciones del Bajo Delta del Río Paraná. La época de siembra de Salicáceas en el hemisferio sur tiene lugar durante el invierno (julio a septiembre), cuando las HCH disminuyen o reducen su actividad (Capítulo II), lo que dificulta la búsqueda de sus nidos. Además, *A. lundii* no forma nidos conspicuos con montículos, lo que los hace más difíciles de encontrar, siendo los senderos de forrajeo un buen indicio de su ubicación. Este problema podría resolverse marcando los nidos en temporadas de mayor actividad, como el verano o la primavera, donde podemos encontrar entradas de nidos siguiendo sus senderos, pero nuevamente requiere logística y tiempo, y en algunos casos (e. g., inundaciones extremas) los nidos pueden moverse a sitios más favorables. De todos modos, cada región forestal del país debe ser manejada de acuerdo con las características de cada especie y/o clon forestal y cada especie de HCH presente en el sitio. Esto demuestra la necesidad de desarrollar estudios para comprender mejor cada sistema y de este modo, planificar y racionalizar los recursos utilizados para el control de las HCH, y plagas en general, en tanto no existan alternativas efectivas y ambientalmente seguras, tal como lo exige la FCS para emitir su certificación.

Capítulo VII

IMPACTO POBLACIONAL SOBRE LA VEGETACIÓN

Resumen

La densidad y distribución de nidos de HCH dependen de características propias de la especie y del ambiente donde se establecen. El impacto que las poblaciones de HCH generen sobre las plantas dependerá de los patrones de actividad de forrajeo y cosecha, del tamaño y requerimientos nutricionales de las colonias y de la composición de la comunidad vegetal del entorno. Con el fin de determinar el impacto poblacional de *Acromyrmex lundii* y *A. ambiguus* sobre la vegetación del Bajo Delta del Río Paraná, se estimaron las densidades de ambas especies en tres sitios: Estación Experimental Agropecuaria Delta del Paraná (EEA INTA Delta) y la Reserva Natural Otamendi (RNO- PNCP) en Buenos Aires e “Isla Victoria” en Entre Ríos. Con las densidades y los pesos del material vegetal seco acarreado por día en cada estación del año, obtenidos en el Capítulo II, se estimaron posibles escenarios de impacto poblacional. El mayor impacto sobre la vegetación lo produciría *A. lundii* en primavera con 421 gr/día*ha de material seco recolectado considerando la densidad encontrada en “Isla Victoria” de 13,9 nidos/ha. En cambio, *A. ambiguus* generaría un impacto mayor durante el verano consumiendo 155 gr/día*ha en ambientes con una densidad de 5,4 nidos/ha como la estimada en la EEA INTA Delta. Estos niveles de consumo diario de *A. lundii* y *A. ambiguus* representarían un total de 83 y 26 kg/ha, respectivamente, de material seco al año. Esto demuestra que si bien a nivel de cada colonia el consumo anual no difirió entre las dos especies de HCH, al considerar la densidad de sus colonias, *A. lundii* tiene un impacto considerablemente mayor que *A. ambiguus*. Dado que estos valores están basados en el consumo de plantas presentes en una plantación de álamos de 14 años de edad, con un sotobosque poco diverso, es probable que el consumo de biomasa sea aún mayor en una plantación forestal de menor edad. Estos resultados pueden ser de utilidad para diseñar estrategias de manejo y control de HCH en el Bajo Delta de Río Paraná.

Introducción

La densidad y distribución de los nidos de las HCH dependen de características propias de la especie y del ambiente en donde se establecen. Existen especies que prefieren áreas abiertas, como pastizales y otras que le son favorables ambientes más cerrados como bosques o selvas (Jiménez et al., 2018). Así como hay especies que nidifican y se distribuyen de manera agregada, al azar o uniformemente (Begon et al., 2006). Varios trabajos proponen que la densidad de nidos de HCH es mayor en sitios perturbados como ambientes destinados a diversas actividades agrarias (Fowler 1983), bosques de sucesión temprana (Vasconcelos & Cherrett 1995) y bordes de bosques (Urbas et al., 2007; Wirth et al., 2007). Las densidades de nidos pueden variar en especies del género *Acromyrmex* entre un mínimo de 2 y 4 nidos/ha en ambientes perturbados y plantaciones de *Pinus taeda*, respectivamente (Claver 2000; Nickele et al., 2009) a 2.000 nidos/ha de *A. landolti* (Fowler et al., 1986). Esta última especie, que posee nidos muy pequeños (Sousa-Souto et al., 2013), varió su densidad a lo largo del tiempo de acuerdo al cultivo de especies forrajeras implantado en el este de Colombia. Con una de las especies forrajeras, *A. landolti* aumentó su densidad 10 veces luego de tres años de iniciado el cultivo, mientras que con la otra disminuyó un 30 % en el mismo periodo de tiempo (Lapointe et al., 1993). En resumen, la densidad de nidos es un aspecto dinámico que depende de las características de las especies y de las condiciones abióticas y bióticas de su entorno.

El impacto que genere una población de HCH sobre la vegetación dependerá de la especie de HCH, de sus patrones de actividad de forrajeo y cosecha, del tamaño y requerimientos nutricionales de la colonia y de la comunidad vegetal del entorno (Nobua Behrmann 2014). Algunos trabajos estudiaron la relación entre el nivel de defoliación y la densidad de hormigueros (Hernández & Jaffe 1995; Zanetti et al., 2003). Zanetti et al. (2003) encontraron una relación proporcional negativa entre la densidad de nidos y la productividad de plantaciones de eucaliptos en Brasil. El daño causado por defoliación de 4 nidos/ha de *Atta sexdens rubropilosa* fue del 14 % en plantaciones de eucaliptos y de pinos (Amante 1967). En plantaciones de eucaliptos, la densidad de *Atta* spp. alcanzó valores medios de 200 nidos/ha, produciendo un 30 % de pérdidas de árboles (Mendes Filho 1979). Mientras que en plántulas de coníferas en Venezuela, solo 0,5 colonia por hectárea de *Atta* spp. causó un 48 % de mortalidad y una reducción de un 40 % del crecimiento del volumen (Jaffé 1986). En términos de biomasa seca total cortada y acarreada al nido por las obreras, *A. landolti* puede generar un

impacto sobre la vegetación de 84 kg/ha al año (Fowler et al., 1986). En resumen, la densidad de nidos va a determinar fuertemente el nivel de impacto de las HCH sobre la vegetación.

En Argentina existen algunos estudios sobre el impacto de *A. lobicornis* sobre la vegetación. *Acromyrmex lobicornis* es la especie de HCH de distribución más austral y la única especie presente en la Patagonia, donde es considerada plaga potencial en forestaciones (Farji-Brener & Ruggiero 1994; Pérez 2009; Sánchez Restrepo et al., 2019). Allí está presente tanto en la estepa, como en sitios perturbados por el hombre, pudiendo alcanzar densidades de 54 nidos/ha (Farji-Brener 1996). Según su densidad, esta especie puede consumir entre 11 y 40 kg/ha*año en el Desierto del Monte (Claver 2000). Posteriormente, Nobua Behrmann (2014) estudio en este sistema el impacto de *A. lobicornis* y *A. striatus*. Ella concluyó que si bien *A. lobicornis* presentó una tasa de herbivoría por colonia 4 veces mayor que *A. striatus*, como ésta última tuvo una densidad de nidos 4 veces más alta, el impacto poblacional de ambas especies fue similar. Ambas recolectaron un promedio de 70- 72 kg/ha*año, casi el doble de lo observado por Claver (2000), lo que representa un 20 % de la producción anual de biomasa en el Desierto del Monte. A pesar de la importancia de conocer la densidad y el impacto poblacional de las HCH sobre los cultivos productivos, especialmente de las más perjudiciales como *A. lundii* (Sánchez Restrepo et al., 2019), no hay estudios realizados hasta la fecha sobre *A. lundii* y *A. ambiguus*, dos especies habitualmente simpátricas en plantaciones de salicáceas del Bajo Delta del Río Paraná. Si bien *A. lundii* es considerada una las principales especies plaga de HCH (Zolessi & Gonzalez 1978; Sánchez Restrepo et al., 2019), solo un trabajo describió como plaga potencial a *A. ambiguus* en plantaciones de pinos de la provincia de Entre Ríos en base a su alta e intensa tasa de defoliación (Elizalde et al., 2015).

Objetivo específico

Determinar el impacto poblacional de *A. lundii* y *A. ambiguus* sobre la vegetación, en función de la densidad de colonias y los patrones de actividad de forrajeo y cosecha.

Materiales y métodos

Densidad de nidos

Se estimó la distribución espacial y densidad de nidos de *A. lundii* y/o *A. ambiguus* en base a datos de esta tesis y datos de trabajos no publicados realizados por colegas, debido a la ausencia de estimaciones publicadas de estas especies de HCH en este u otro sistema. Se usaron tres sitios para estimar el impacto: (i) forestaciones de salicáceas (ambiente forestal: predio “Isla Victoria”, ARAUCO Argentina S. A.), (ii) matriz vegetal en la que se halla inmersa la forestación (ambientes naturales adyacentes a forestaciones: EEA INTA Delta) y (iii) ambientes naturales libres de forestaciones (un área protegida cercana a la EEA INTA Delta: RNO-PNCP).

Predio “Isla Victoria” (forestación)

Se utilizó la densidad estimada en el Capítulo VI para un sector de 12 ha sin manejo de HCH dentro del predio “Isla Victoria” perteneciente a la empresa ARAUCO Argentina S. A.

EEA INTA Delta (matriz de forestación)

En un área de 3,5 ha en la EEA INTA Delta (Figura 7.1), el Ing. Agr. Edgardo Casuabón instaló un ensayo con guías (material de implantación de 2 a 3 metros de largo) de distintos clones de sauce. En la plantación, lindera al ensayo instalado para la cuantificación de la tasa de daño (Capítulo V), las guías se implantaron manteniendo la vegetación espontánea del lugar. En agosto de 2017, Edgardo y colaboradores recorrieron la totalidad del área y registraron todos los montículos de *A. ambiguus*. Si bien en esta zona también está presente *A. lundii*, sus nidos fueron más difíciles de localizar debido a la densa vegetación y al hecho de que no construyen montículos. De esta manera, se optó por no contabilizarlos en las estimaciones de densidad.

RNO- PNCP (ambiente natural)

La estimación de la densidad de colonias en la RNO- PNCP se realizó en dos instancias: una a mediados de 2014 y otra en junio de 2017. Durante la primer estimación se recorrieron todos los senderos de la reserva, registrando todos los nidos de *A. ambiguus* y *A. lundii* que se encontraron hasta 5 metros a cada lado del sendero. También se registraron los nidos que se observaron en los alrededores del casco de la reserva. Durante la segunda estimación, se

realizó un muestreo sistematizado en el interior del pastizal bajo y el bosque de talas cercanos al casco de la reserva. Se muestreó por inspección visual a lo largo de 5 transectas lineales de entre 50-100 metros de largo según lo que permitía el paisaje, separadas al menos 50 metros entre sí. Se contabilizó y geo-referenciaron todos los nidos de HCH en una franja de barrido de 5 metros a cada lado de la transecta, buscando posibles indicios de actividad (e. g., entradas/bocas de nidos, senderos con y sin obreras forrajeando, basureros, etc.) (Modificado de Nobua Behrmann 2014).



Figura 7.1: Parcela de 3,5 hectáreas alledaña a forestaciones sin manejo de hormigas cortadoras de hojas que mantiene la vegetación espontánea de la matriz.

Impacto sobre la vegetación

Se realizaron estimaciones del impacto forrajero sobre la vegetación con los datos de las densidades obtenidos en los tres sitios y los pesos medios del material seco acarreado por día por colonia de *A. lundii* y *A. ambiguus* en cada estación del año y el peso medio anual por colonia obtenidos en el Capítulo II. Para conocer el impacto, se multiplicó la densidad de cada lugar por el peso medio diario por estación y el peso medio anual colectado por cada especie, con el supuesto de que las tasas de colecta se mantienen constantes durante los días de cada estación, para las colonias de cada especie y en los distintos sitios estudiados.

Resultados

Predio “Isla Victoria” (forestación)

Un total de 167 nidos de *A. lundii* fueron registrados durante 2016 en las 12 ha de la plantación de Nigra 4, lo que representa una densidad de 13,9 nidos/ha (Figura 7.2). Los nidos dentro del área se encontraron en su mayoría ubicados más cerca de árboles viejos o tocones de árboles de muertos (88 %) o en tierras bajas e inundables (63,4 %) (Tabla 6.1 del Capítulo VI).

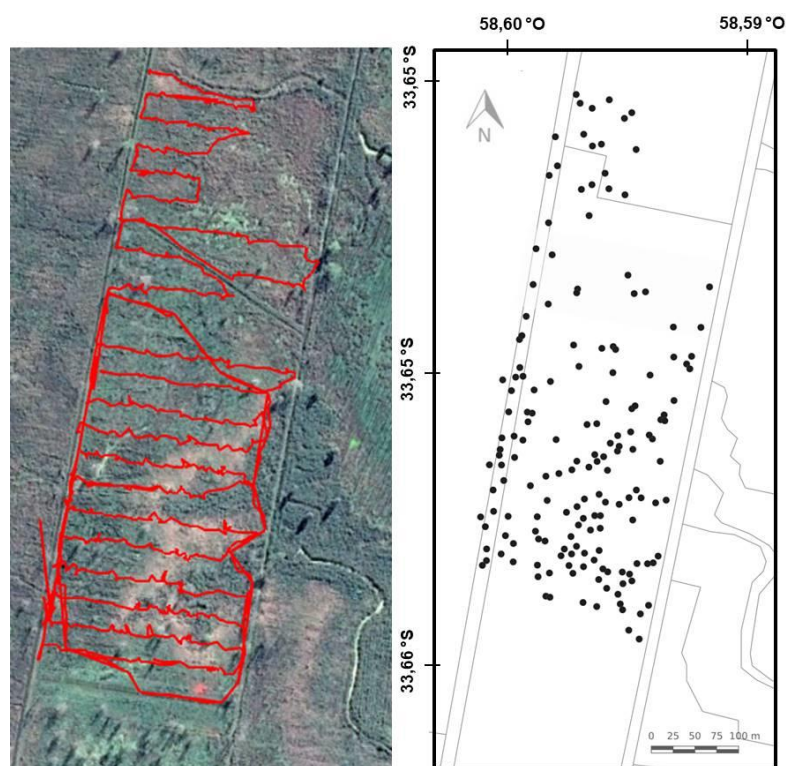


Figura 7.2: Recorrido realizado para censar todos los nidos presentes en las 12 hectáreas de la plantación de Nigra 4 del predio “Isla Victoria” en 2016 (izquierda) y la ubicación espacial de los nidos (puntos negros) encontrados dentro de la plantación (derecha).

EEA INTA Delta (matriz de forestación)

Se contabilizaron 19 nidos de *A. ambiguus* en las 3,5 hectáreas de la parcela lindera al área donde se instaló el ensayo del Capítulo V, lo que representa una densidad de 5,4 nidos/ha (Ing. Agr. Edgardo Casaubon, EEA INTA Delta, com. pers.).

RNO- PNCP (ambiente natural)

En el muestreo de 2014, se encontraron 9 y 15 nidos de *A. lundii* y *A. ambiguus*, respectivamente, en un área de aproximadamente 15 ha (Figura 7.3 y Tabla 7.1 del Anexo). Esto representa una densidad de 0,6 y 1 nidos/ha de *A. lundii* y *A. ambiguus*, respectivamente. Los nidos de *A. lundii* se encontraron en su mayoría en la base de los troncos de árboles en el bosque de talas cercano al casco de la RNO- PNCP y en la base de una edificación de la reserva. Se observó que la entrada a los nidos era a través de un orificio simple al que llegaban uno o más senderos de forrajeo. Por el contrario, los nidos de *A. ambiguus* se encontraron en su mayoría en áreas abiertas de pastizales o en bosques más abiertos pero rara vez asociados a la base de los troncos (Figura 1.5 en el Capítulo I). En el muestreo de 2017, se encontraron 16 nidos de *A. lundii* y 3 de *A. ambiguus* en un área de aproximadamente 5 ha (Figura 7.4). Esto da como resultado una densidad de 3,2 y 0,6 nidos/ha, respectivamente.

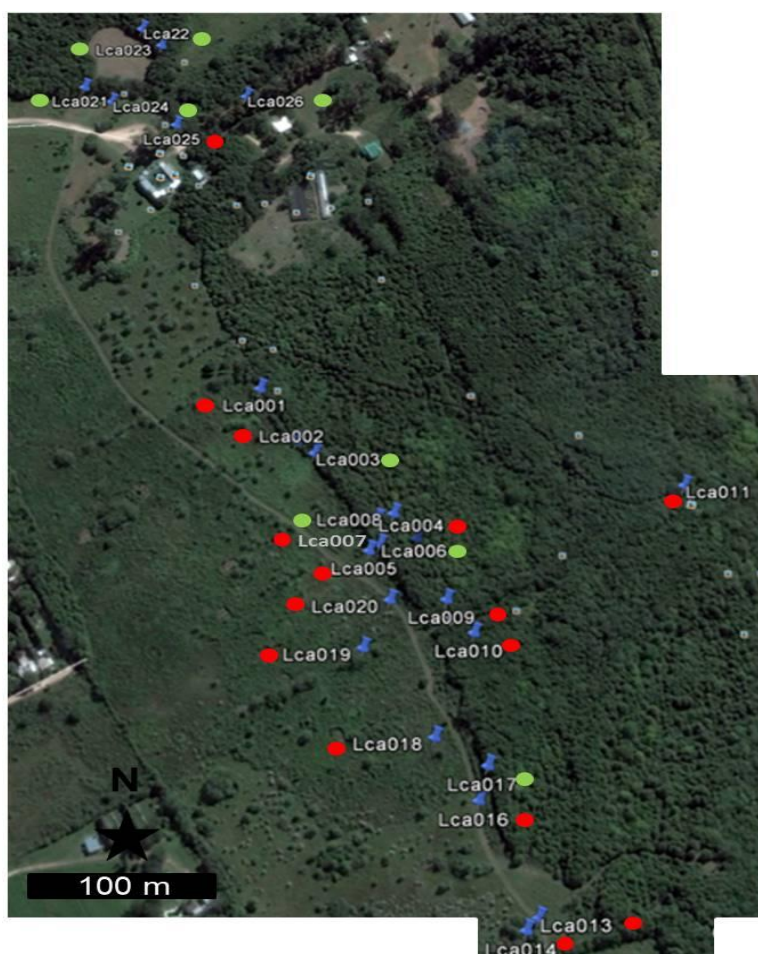


Figura 7.3: Ubicación espacial de los nidos (*clips celestes*) de las especies estudiadas; *Acromyrmex lundii* (puntos verdes) y *A. ambiguus* (puntos rojos) encontrados en la RNO- PNCP en 2014.

Si se unen ambos muestreos, considerando una única vez a los nidos que se mantuvieron a lo largo de los tres años (Tabla 7.1 del Anexo) se contabilizan 20 nidos de *A. lundii* y 17 de *A. ambiguus* en un área de 20 ha aproximadamente. Esto implica una densidad de 1 y 0,9 nidos/ha, respectivamente.



Figura 7.4: Ubicación espacial de los nidos (globos rosas) de *Acromyrmex lundii* (A. l) y los de *A. ambiguus* (A. a) encontrados en las cinco transectas realizadas (líneas rojas) en un área de 5 ha aproximadamente (polígono rojo).

Los 4 nidos ubicados en la parte inferior derecha fueron encontrados durante el recorrido de la RNO- PNCP, en 2017.

Impacto sobre la vegetación

La estimación de los posibles impactos de la herbivoría de *A. lundii* y *A. ambiguus* a nivel poblacional, se realizó en base a las densidades de los tres sitios estudiados (EEA INTA Delta, RNO- PNCP 2014- 2017 y predio “Isla Victoria”) y las tasas de cosecha obtenidas a lo largo de las cuatro estaciones del año y anualmente (Tabla 7.1).

El mayor impacto que *A. lundii* podría producir sobre la vegetación sería durante el período primavera- verano (357- 421 gr/día*ha) considerando la densidad poblacional registrada en el predio “Isla Victoria” (forestación), mientras que el menor impacto sería de

~ 3,42- 6,93 gr/día*ha en otoño- invierno con las densidades registradas en la RNO- PNCP (ambiente natural). Por su parte, *A. ambiguus* tendría su mayor impacto en verano con 155 gr/día*ha de biomasa seca colectada con la densidad registrada en la EEA INTA Delta (matriz de forestación) y su menor impacto en otoño (6,7 gr/día*ha) con la densidad registrada en la RNO- PNCP (ambiente natural). Anualmente el impacto máximo alcanzado por ambas especies sería de 83 y 26 kg/ha para *A. lundii* y *A. ambiguus*, respectivamente.

Tabla 7.1: Peso medio diario (gr/día*ha) recolectado por las poblaciones de *Acromyrmex lundii* y *A. ambiguus*, y anual (kg/año*ha) desde otoño de 2016 a verano de 2017, en los tres sitios de estudio: EEA INTA Delta, RNO- PNCP y predio “Isla Victoria”.

Estación	Sitio	<i>Acromyrmex lundii</i>	<i>Acromyrmex ambiguus</i>
Otoño 2016	EEA INTA Delta	-	20,52
	RNO- PNCP	6,70	3,42
	Predio “Isla Victoria”	93,13	-
Invierno 2016	EEA INTA Delta	-	41,58
	RNO- PNCP	6,80	6,93
	Predio “Isla Victoria”	94,52	-
Primavera 2016	EEA INTA Delta	-	70,74
	RNO- PNCP	30,30	11,79
	Predio “Isla Victoria”	421,17	-
Verano 2017	EEA INTA Delta	-	155,52
	RNO- PNCP	25,70	25,92
	Predio “Isla Victoria”	357,23	-
Anual	EEA INTA Delta	-	26,46
	RNO- PNCP	6,00	4,41
	Predio “Isla Victoria”	83,40	-

Los sitios y formas de nidificación difirieron entre las especies. *A. ambiguus* construyó nidos con domos cubiertos de ramas, generalmente en ambientes abiertos como los pastizales de la RNO- PNCP o en plantaciones en ambientes abiertos, como las estudiadas en la EEA INTA Delta. Por el contrario, *A. lundii* solo presentó nidos subterráneos con una entrada a nivel del suelo, anidando generalmente en la base de los árboles o tocones, en ambientes más cerrados, como los bosques de talas de la RNO- PNCP o plantaciones maduras del predio “Isla

Victoria”. Además se la encontró también asociada a edificaciones humanas, aprovechando bordes de cimientos o cordones.

Discusión

Acromyrmex lundii tuvo un impacto mucho mayor sobre la vegetación que *A. ambiguus* en el Bajo Delta del Río Paraná. El consumo anual a nivel de la colonia no difirió entre ambas especies (Capítulo II). Sin embargo, cuando la densidad de colonias fue considerada, el impacto de *A. lundii* fue mucho mayor, dado que su densidad máxima fue casi el triple que la densidad máxima de *A. ambiguus*. La cosecha anual por hectárea de ambas especies se encuentra dentro del rango de consumo de biomasa de *A. lobicornis* en el Desierto del Monte (Claver 2000; Nobua Behrmann 2014). En este capítulo, el mayor impacto se dio en un ambiente forestal, donde la oferta de especies vegetales es la menor de los 3 sistemas, debido a que se elimina toda la vegetación circundante, presentando solamente los clones comerciales que suelen ser altamente seleccionadas por las HCH. Es de suma importancia para conocer el impacto de las HCH, el sistema o el ambiente en el que estén inmersas. No se genera el mismo impacto en un ambiente natural o un pastizal que en un sistema productivo (e. g., forestal, vitivinícola, frutícola). Ambientes menos perturbados, como las matrices de forestación (EEA INTA Delta), presentaron impactos intermedios, y esto se corresponde a que hay una mayor oferta de plantas para seleccionar, ya que la matriz de vegetación espontánea (nativa y exótica) no es removida. El menor impacto ocurrió en el ambiente natural, donde no existe manejo alguno ni de vegetación ni de las HCH. Los valores reales de impacto sobre la vegetación pueden llegar a ser mayores, ya que como se discutió en el Capítulo II, los valores de consumo a nivel colonia se estimaron en una plantación adulta. Plantaciones forestales recién implantadas (por sus hojas blandas y nutritivas con bajo contenido de metabolitos secundarios) o ambientes más diversos como pastizales con mayor oferta de especies vegetales podrían incrementar las tasas de consumo debido a la mayor calidad o cantidad de material vegetal disponible para estas dos especies simpátricas de *Acromyrmex*. Cuando la colecta sea oportunista, el impacto de las HCH será menor porque cortaran en función de lo disponible, mientras que cuando presenten preferencia, al concentrarse en unas pocas especies menos abundantes, su actividad podrá afectar la estructura de la comunidad (Nobua Behrmann 2014).

Si bien ambas especies están presentes en dos de los tres sitios estudiados (los de más al sur), solo en uno de ellos se pudo medir la densidad de ambas especies, comprobando que

se encuentran en similar abundancia. Sería interesante observar si la relación entre las densidades de ambas especies se mantiene similar como en la RNO-PNCP o si una de las dos domina el ambiente como en el predio “Isla Victoria”. En la EEA INTA Delta, la densidad de *A. lundii* no se pudo medir debido a la dificultad de poder visualizar tanto los senderos como los orificios de ingreso a los ellos por la abundante vegetación. Por el contrario, los nidos de *A. ambiguus* eran fáciles de encontrar ya que son más conspicuos por poseer un montículo por encima de la superficie del suelo. Cuando se recorría la plantación adulta de 14 años de álamos de la EEA INTA Delta utilizada para estudiar los patrones de actividad de forrajeo y cosecha (Capítulo II) se encontró generalmente un número mayor de nidos de *A. ambiguus*, hasta 2:1 en algunas estaciones. Esto podría implicar una mayor densidad de colonias de *A. ambiguus* que de *A. lundii*, o simplemente que los nidos de *A. ambiguus* son más conspicuos y fáciles de ubicar. No obstante, muchos de los nidos, sin importar la especie, se localizaron a partir de sus senderos activos de forrajeo. Los senderos presentaron aspecto similar en las dos especies y eran seguidos hasta encontrar el ingreso al nido. En otoño e invierno esta tarea se dificultó debido a que los nidos quedaron tapados por un colchón de hojas secas.

La RNO- PNCP fue un claro ejemplo de la diferenciación de ambientes de nidificación de las dos especies. En la primer búsqueda de nidos en 2014, se recorrieron los senderos de la reserva que contemplaron pastizales altos y bosques de talas, y se encontró mayor proporción de nidos de *A. ambiguus* que de *A. lundii* (2:1). Esta relación se invirtió y creció cuando se llevó a cabo el muestro del año 2017, siendo *A. lundii* 5 veces más abundante que *A. ambiguus*. Al unir las dos instancias de registro en la reserva, las densidades de las dos especies fueron similares. Esto indica la importancia de realizar muestreos contemplando todos los posibles micro-hábitats, ya que las especies pueden presentar distintas preferencias de nidificación. No contemplar esto puede llevar a cometer errores de sobre o sub-estimación de densidades. Estos errores pueden transferirse a las estimaciones de impacto poblacional de las HCH sobre la vegetación llegando a conclusiones equívocas, que afectarían posibles decisiones y estrategias de manejo y control de HCH. En resumen, las estimaciones de daño en plantaciones forestales deben considerar tanto el consumo por nido como la densidad de los mismos para poseer información fidedigna que permita un adecuado plan de manejo y control de las HCH.

ANEXO

Tabla 7.1 anexo: Nidos de *Acromyrmex ambiguus* y *A. lundii* registrados (geo-referenciados) en el 2014 en la Reserva Natural Otamendi (actual Parque Nacional Ciervo de los Pantanos). Entre paréntesis, se enuncia la correlación con los nidos registrados en 2017. La tabla corresponde a las Figuras 7.3 y 7.4.

<i>Acromyrmex ambiguus</i>	<i>Acromyrmex lundii</i>
Lca001	Lca003
Lca002	Lca006
Lca004	Lca008
Lca005	Lca017
Lca007	Lca021 (A. l 1 en 2017)
Lca009	Lca022 (A. l 9 en 2017)
Lca010	Lca023 (A. l 8 o A. l 11 en 2017)
Lca011	Lca024 (A. l 13 o A. l 14 en 2017)
Lca013	Lca026 (A. l 17 en 2017)
Lca014	
Lca016	
Lca018	
Lca019	
Lca020	
Lca025 (A. a 2 en 2017)	

Capítulo VIII

CONCLUSIONES GENERALES

En esta tesis se estudiaron diferentes aspectos de la biología de dos especies simpátricas de HCH, *A. lundii* y *A. ambiguus*, en forestaciones y áreas naturales del Bajo Delta del Río Paraná. Se integraron aspectos de su historia natural, como sus patrones de forrajeo, cosecha y tolerancias térmicas, con otros de índole más aplicada, como sus efectos sobre plantaciones forestales. Los patrones de forrajeo de estas dos especies de HCH fueron similares y con variaciones a lo largo del día y de las estaciones. En otoño e invierno las obreras forrajearon durante las horas más cálidas, mientras que en primavera y verano lo hicieron durante todo el día, pero con mayor intensidad por la noche cuando la temperatura descendía. Si bien existieron diferencias entre las TC_{mín} y TC_{máx} de *A. lundii* y *A. ambiguus*, los intervalos de tolerancia térmica presentaron una gran superposición. Esta similitud fisiológica puede explicar el comportamiento a lo largo del día y de las estaciones en el campo. El tiempo de recuperación de ambas especies luego de un coma causado por frío fue también similar. En resumen, tanto los patrones de actividad como las tolerancias térmicas de *A. lundii* y *A. ambiguus* obtenidos en esta tesis, no avalan la existencia de una segregación temporal (Capítulo II) o térmica (Capítulo III), sugiriendo un papel menor de la competencia inter-específica en el modelaje de sus actividades. Si bien ambas especies parecen ser capaces de coocurrir localmente en el Bajo Delta del Río Paraná sin afectarse de manera negativa, esto podría estar relacionado con una aparente diferencia en la selección del hábitat de nidificación. *Acromyrmex lundii* fue más común en lugares más cerrados como bosques, anidando generalmente en la base de sus troncos (micro-hábitat), mientras que *A. ambiguus* lo fue en ambientes más abiertos como pastizales. Si esta segregación espacial es confirmada, el tipo de hábitat y/o micro-hábitat tendría un rol más importante que la competencia para explicar la coexistencia de estas dos especies de HCH en los sitios de estudio.

En relación a aspectos aplicados, se estudió la preferencia de *A. lundii* y *A. ambiguus* sobre distintos clones comerciales de sauces y álamos, tanto en laboratorio como en campo. En laboratorio se observó que prefieren a las cuatro especies/clones exóticas y comerciales de

sauce (y a la única especie de sauce nativa, *Salix humboldtiana*) por sobre los cuatro clones exóticos y comerciales de álamo (*Populus deltoides*), y el ceibo (la otra especie nativa ofrecida) (Capítulo IV). Sin embargo, ni en laboratorio ni en campo se evidenció una preferencia de las HCH por alguna especie/clon de sauce en particular. No obstante, el daño producido en el follaje afectó de manera diferencial a cada uno de los cuatro clones comerciales implantados. Americano y Géminis fueron los más afectados con pérdidas de ~70 y 50 % en altura y 70 y 60 % en diámetro, respectivamente, a inicios del quinto año de la plantación. Además el daño por defoliación resultó en una gran pérdida de volumen de madera producida en los cuatro clones (entre 51 y 94 %), principalmente como consecuencia de la gran mortalidad acumulada a lo largo de los años de los árboles que no contaron con la protección anti-HCH (entre 40- 80 %). Por otra parte, si bien Nigra 4 fue el clon menos afectado en la plantación experimental de la EEA INTA Delta, cuando se estimó su daño en la plantación del predio “Isla Victoria” en Entre Ríos, el daño fue muchísimo mayor. Esto puede analizarse desde varios puntos de vista. Por un lado, son plantaciones instaladas en distintos sitios, separados aproximadamente por 70 km y afectadas por distintas especies (el predio “Isla Victoria” solo tuvo presencia de *A. lundii*). Esto puede influir sobre las condiciones de crecimiento de los individuos de Nigra 4 y en el daño que le produzcan las obreras de *A. lundii*. Por otro lado, y tal vez con mayor relevancia, hay que considerar el sistema de plantación. En la EEA INTA Delta, se plantaron estacas de 150 cm (estacones) del clon Nigra 4 junto con otros 3 clones (Americano, Géminis y Yaguareté), rodeados a su vez de vegetación espontánea tanto nativa como exótica. En contraposición, en el predio “Isla Victoria”, se plantaron estacas más pequeñas (de 70 cm), solo de Nigra 4 lo que representa una menor variedad de elección para *A. lundii*. Además, no había matriz vegetal al inicio de la implantación ya que se había aplicado previamente un herbicida (menor oferta vegetal total). Estas diferencias se vieron reflejadas, entre otras cosas, en el porcentaje de plantas de Nigra 4 muertas durante el primer año de la plantación, que fue solo del 10 % en la EEA INTA Delta (Capítulo V), mientras que en el predio “Isla Victoria” fue del 62 % (Capítulo VI). El volumen de madera perdido en el primer año también varió entre ensayos como consecuencia de la defoliación producida por *A. ambiguus* y/o *A. lundii*. El volumen de madera perdido fue del 34 % en el ensayo de la EEA INTA Delta, mientras que en el predio “Isla Victoria” fue del 90 %.

La asociación entre el daño y la densidad, permitió estimar el impacto real que causan las poblaciones de estas dos especies de HCH sobre la vegetación del Bajo Delta del Río Paraná contemplando su distribución y la relación de densidad de nidos de cada especie (Capítulo VII). Adicionalmente, la relación entre las pérdidas de volumen, mayormente causadas por

mortalidad asociada a HCH y las densidades de las colonias permitió realizar estimaciones del nivel de daño económico y del umbral de acción para *A. lundii*, ambos parámetros necesarios para obtener y mantener la certificación forestal otorgada por la FSC (Capítulo VI). Esto implica que las medidas de control deberían ser iniciadas en el primer año de una plantación de Nigra 4 con una densidad de 3 nidos/ha (umbral de acción). Esto evitaría que la mortalidad haga inviable la producción, pese a que el nivel de daño económico indica que una densidad de 11 nidos/ha produciría daños equivalentes a los costos de su control. No obstante, estos valores son específicos para este lugar y para *A. lundii* y Nigra 4 en el primer año de la plantación. De esta manera, la información obtenida tiene una mayor utilidad para confirmar con datos el impacto real de las poblaciones de HCH, más que para ser utilizada como herramienta de manejo en forma generalizada. La factibilidad de que pequeños, medianos e incluso grandes productores o empresas forestales puedan obtener estos datos en cada caso es muy baja y la implementación, aun conociendo estos valores, muy poco práctica o aplicable en el campo como para que sirva para establecer una medida que permita la reducción del uso de insecticidas como medidas de manejo.

Otras estrategias de manejo y/o control alternativas al uso de cebos insecticidas pueden ser utilizadas, como el uso de barreras anti-HCH, la presencia de vegetación espontánea en la plantación (i. e., una mayor oferta relativa de vegetación), el uso de otros materiales de implantación (e. g., estacas de 150 cm, guías de 2- 3 m), intercalar en la plantación hileras de otros clones más seleccionados que el clon de interés, insertar la plantación en un sistema silvo-pastoril o el uso de entomo-patógenos (e. g., géneros *Metarhizium* y *Beauveria*, Hughes et al., 2004) y hongos antagonistas al hongo simbiote (e. g., *Escovopsis* sp., Haeder et al., 2009). Mientras tanto, conocer las estaciones del año y los momentos del día donde cada especie se encuentra más activa, puede ayudar a elaborar planes de manejo donde el uso de insecticidas sea más dirigido y puntual, siendo distribuidos en el campo en los momentos del día y las estaciones del año con mayor probabilidad de ser recolectado por las obreras de las HCH cuando salen a forrajear. La aplicación de una o varias de estas estrategias puede ayudar a la eliminación gradual del uso de insecticidas tóxicos, requisito de la FSC para que las maderas producidas entren al mercado. En resumen, esta tesis aporta información hasta ahora desconocida de la historia natural de dos especies simpátricas de HCH, y datos útiles para implementar planes adecuados de control y manejo en plantaciones forestales de la región del Bajo Delta del Río Paraná.

ABREVIATURAS

% = porcentaje

°C = grados centígrados

" = pulgadas

± = más / menos

ANOVA= Análisis de la varianza

ANCOVA= Análisis de la covarianza

cm = centímetros

com. pers. = comunicación personal

HCH = hormigas cortadoras de hojas

et al. = abreviación del latín *et alii* que significa "y otros"

EEA INTA Delta = Estación Experimenta Agropecuaria Delta del Paraná del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

e. g. = abreviación del latín *exempli gratia* que significa "por ejemplo"

FuEDEI = Fundación para el Estudio de Especies Invasivas

GLMM = Abreviación en inglés de *Generalized linear mixed models* (Modelos Lineales Generalizados Mixtos)

gr = gramos

gr/mm² = gramos por milímetro cuadrado

ha = hectárea

h = hora / horas

i. e. = abreviación del latín *id est* que significa "es decir"

Ing. Agr. : Ingeniero/a Agrónomo

km = kilómetros

m = metros

m² = metros cuadrados

mg = miligramos

mm = milímetros

min = minutos

obs. pers. = observación personal

RNO- PNCP = Reserva Natural Otamendi, actualmente Parque Nacional Ciervo de los Pantanos

spp. = especies de determinado género

sp. = especie no especificada de un determinado género

S. A. = Sociedad Anónima

BIBLIOGRAFÍA

- Achinelli, F., Gennari, A., Prada, E., & Marlats, R. (2006). Eficacia de aplicaciones de alfacipermetrina 6 % SC en la prevención del daño por ataques de las hormigas cortadoras *Acromyrmex lundii* y *A. ambiguus* en plantaciones de álamo de la pampa húmeda. *Actas Jornadas de Salicáceas 2006*. 191–198.
- Addo-Bediako, A., Chown, S. L., & Gaston, K. J. (2000). Thermal tolerance, climatic variability and latitude. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 267(1445), 739–745. <https://doi.org/10.1098/rspb.2000.1065>
- Amante, E. (1967). Prejuízos causados pela formiga saúva em plantações de *Eucalyptus* e *Pinus* no Estado de São Paulo. *Silvicultura*, 6, 355–363.
- Anglada, M. M., Saluso, A., Ermácora, O., Maidana, A., Dans, D., & Decuyper, C. (2013). Hormigas podadoras: Estudios bioecológicos y alternativas de manejo en sistemas agrícolas y vegetación de monte en Entre Ríos. *Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento*, 3(3), 1–19.
- Araújo, M. S., Della-Lúcia, T. M. C., & Mayhé-nunes, A. J. (1997). Levantamento de Attini (Hymenoptera, Formicidae) em povoamento de *Eucalyptus* na regioao de Paraopeba, Minas Gerais, Brasil. *Revta Bras. Zool.*, 14(2), 323–328. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81751997000200006>
- Arenas, A., & Roces, F. (2017). Avoidance of plants unsuitable for the symbiotic fungus in leaf-cutting ants: Learning can take place entirely at the colony dump. *Plos One*, 12(3), e0171388. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171388>
- Begon, M., Townsend, C. R., & Harper, J. L. (2006). Ecology: from individuals to ecosystems. *Blackwell Pub.*, 4th ed., 738 pp.
- Bentley, M. T., Hahn, D. A., & Oi, F. M. (2016). The thermal breadth of *Nylanderia fulva* (Hymenoptera: Formicidae) is narrower than that of *Solenopsis invicta* at three thermal ramping rates: 1.0, 0.12, and 0.06 °C/min. *Environmental Entomology*, 45(4), 1058–1062. <https://doi.org/10.1093/ee/nvw050>
- Berish, C. (1986). Leaf-cutting ants (*Atta cephalotes*) select nitrogen-rich forage. *American Midland Naturalist*, 115, 268–276.
- Bestelmeyer, B. T. (2000). The trade-off between thermal tolerance and behavioural dominance in a subtropical South American ant community. *Journal of Animal Ecology*, 69, 998–1009.
- Bishop, T. R., Robertson, M. P., Van Rensburg, B. J., & Parr, C. L. (2016). Coping with the cold: minimum temperatures and thermal tolerances dominate the ecology of mountain ants. *Ecological Entomology*, 42(2), 105–114. <https://doi.org/10.1111/een.12364>
- Boeckler, G. A., Gershenzon, J., & Unsicker, S. B. (2011). Phenolic glycosides of the Salicaceae and their role as anti-herbivore defenses. *Phytochemistry*, 72(13), 1497–1509. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.038>

- Bollazzi, M., Kronenbitter, J., & Roces, F. (2008). Soil temperature, digging behaviour, and the adaptive value of nest depth in South American species of *Acromyrmex* leaf-cutting ants. *Oecologia*, 158(1), 165–175. <https://doi.org/10.1007/s00442-008-1113-z>
- Bollazzi, M., & Roces, F. (2002). Thermal preference for fungus culturing and brood location by workers of the thatching grass-cutting ant *Acromyrmex heyeri*, (May). *Insectes Sociaux*, 49(2), 153–157. <https://doi.org/10.1007/s00040-002-8295-x>
- Bollazzi, M., & Roces, F. (2011). Information needs at the beginning of foraging: Grass-cutting ants trade off load size for a faster return to the nest. *PLoS ONE*, 6(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017667>
- Bonetto, A. A. (1959). Las hormigas cortadoras de la provincia de Santa Fe (géneros *Atta* y *Acromyrmex*). Ministerio de Agricultura y Ganadería, Provincia de Santa Fe, Argentina. Direccion General de Recursos Naturales. Argentina. 89 pp.
- Borodowski, E. (2011). Estado de situación del cultivo de sauce en el Delta del Paraná. Jornada Técnica sobre el Sauce en el Delta Entrerriano.
- Boschetti, N., Díaz, E. L., Quintero, C. E., Duarte, O., Romero, E. C., Emacora, O., Villanova, G., Díaz, R. D., Valenti, R. A., Carñel, G., & Guelperin, P. (2016). Diagnóstico de las condiciones del sistema socio-productivo y ambiental del sector entrerriano del Delta del río Paraná. *Ciencia, Docencia y Tecnología*. 6(6).
- Bowler, K., & Terblanche, J. S. (2008). Insect thermal tolerance: What is the role of ontogeny, ageing and senescence? *Biological Reviews*, 83(3), 339–355. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2008.00046.x>
- Buratto, D. A., Cardoso, J. T., Rolim, F. A., & Filho, W. R. (2012). Avaliação dos danos causados por formigas-cortadeiras do gênero *Acromyrmex* (Hymenoptera) aos plantios de *Pinus taeda* no planalto sul-catarinense. *Floresta*, 42(4), 683–690. <https://doi.org/10.5380/rf.v42i4.23710>
- Calcaterra, L. A., Livore, J. P., Delgado, A., & Briano, J. A. (2008). Ecological dominance of the red imported fire ant, in its native range. *Oecologia*, 156, 411–421.
- Caldato, N., Forti, L. C., Bouchebti, S., Lopes, J. F. S., & Fourcassié, V. (2016). Foraging activity pattern and herbivory rates of the grass-cutting ant *Atta capiguara*. *Insectes Sociaux*, 63(3), 421–428. <https://doi.org/10.1007/s00040-016-0479-x>
- Caldato, N., Forti, L. C., Camargo, R. D. S., Santos Lopes, J. F., & Fourcassié, V. (2016). Dynamics of the restoration of physical trails in the grass-cutting ant *Atta capiguara* (Hymenoptera, Formicidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 60(1), 63–67. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2015.10.001>
- Calegario, N., Daniels, R. F., Maestria, R., & Neiva, R. 2005. Modeling dominant height growth based on nonlinear mixed-effects model: a clonal *Eucalyptus* plantation case study. *For. Ecol. Manag.*, 204, 11–20.
- Calosi, P., Bilton, D. T., & Spicer, J. I. (2008). Thermal tolerance, acclimatory capacity and vulnerability to global climate change. *Biology Letters*, 4(1), 99–102. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2007.0408>

- Cantarelli, E. B., Costa, E. C., Pezzutti, R., & Oliveira, L. D. S. (2008). Quantificação das perdas no desenvolvimento de *Pinus taeda* após o ataque de formigas cortadeiras. *Ciencia Florestal*, 18(1), 39–45. <https://doi.org/10.1515/HF.2008.085>
- Casaubon, E., Perri, D., Jiménez, N., Gorosito, N. & Fernández, P. (2018). Manejo de hormigas cortadoras en la etapa de instalación de un sistema silvoapícolapastoril de sauces en el Bajo Delta del Río Paraná. IV Congreso Nacional de Sistemas Silvopastoriles. Libro digital ISSN: 1667-4014. 327 p.
- Cerdá, X., Retana, J., & Cros, S. (1998). Critical thermal in Mediterranean limits ant species : between mortality risk and foraging performance. *Functional Ecology*, 12(1), 45–55.
- Cerdá, X., Arnan, X., & Retana, J. (2013). Is competition a significant hallmark of ant (Hymenoptera : Formicidae) ecology ? *Myrmecological News*, 18, 131–147.
- Cherrett, J. M. (1968). The foraging behaviour of *Atta cephalotes* L. (Hymenoptera, Formicidae). *The Journal of Animal Ecology*, 37(2), 387–403.
- Cherrett, J. M. (1986). The biology, pest status and control of leaf-cutting ants. *Agricultural Zoology Reviews*, 1, 1–28.
- Cherrett, J. M., Powell, R. J., & Stradling, D. J. (1989). The mutualism between leaf-cutting ants and their fungus. *Insect-fungus interactions*, 93–120.
- Chown, S. L., Jumbam, K. R., Sørensen, J. G., & Terblanche, J. S. (2009). Phenotypic variance , plasticity and heritability estimates of critical thermal limits depend on methodological context. *Functional Ecology*, 23(1), 133–140. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01481.x>
- Chown, S. L., Marais, E., Terblanche, J. S., Klok, C. J., Lighton, J. R. B., & Blackburn, T. M. (2007). Scaling of insect metabolic rate is inconsistent with the nutrient supply network model. *Functional Ecology*, 21(2), 282–290. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01245.x>
- Claver, S. (2000). Ecología de *Acromyrmex lobicornis* (E.) (Hymenoptera: Formicidae) en la reserva de Biosfera de Ñacuñán, Provincia Biogeográfica del Monte, preferencia de hábitat, abundancia de colonias, uso de los recursos y patrones de actividad. Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata, La Plata.
- Dans, D., Anglada, M. M., & Maidana, A. (2009). Caracterización del daño de hormigas cortadoras en el cultivo de sorgo (*Sorghum* spp.). *Revista Científica Agropecuaria*, 13(1), 7–15.
- de la Vega, G. J., Medone, P., Ceccarelli, S., Rabinovich, J., & Schilman, P. E. (2015). Geographical distribution, climatic variability and thermo-tolerance of Chagas disease vectors. *Ecography*, 38(8), 851–860. <https://doi.org/10.1111/ecog.01028>
- de La Vega, G. J., & Schilman, P. E. (2018). Ecological and physiological thermal niches to understand distribution of Chagas disease vectors in Latin America. *Medical and Veterinary Entomology*, 32(1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/mve.12262>
- Della-Lúcia, T. M. C. (1993). As Formigas Cortadeiras. Vicoça, Brasil: Folha de Vicoça.
- Della Lúcia, T. M. C., & Vilela, E. F. (1993). Métodos atuais de controle e perspectivas. En: As formigas cortadeiras. T. M. C. Della Lúcia (Ed). Editora Folha de Viçosa, Viçosa. 190 p.

- Della-Lúcia, T. M. C., Gandra, L. C., & Guedes, R. N. C. (2013). Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. *Pest Management Science*, 70(1), 14–23. <https://doi.org/10.1002/ps.3660>
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2016). InfoStat. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- Donatti, M. R., Loeck, A. E., & Ricalde, M. P. (2012). Ocorrência de ninhos de formigas cortadeiras em área de vinhedo no Rio Grande do Sul, Brasil. *Bo. San. Veg. Plagas*, 38, 257–267.
- Elizalde, L., Fernández, M. A., Guillade, A. C., & Folgarait, P. J. (2015). Know thy enemy: interspecific differences of pine consumption among leafcutter ants in a plantation. *Journal of Pest Science*, 89(2), 403–411. <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0702-y>
- FAO (2006). Manual de campo. Plagas y Enfermedades de Eucaliptus y Pinos en el Uruguay. Proyecto Pct/Uru/3002 Apoyo a la Defensa y Protección de las Plantaciones Forestales en el Uruguay, 173 p.
- Farji-Brener, A. G. (1993) Influencia de la estacionalidad sobre los ritmos forrajeros de *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae) en una sabana tropical. *Biol. Trop.*, 41, 897–899.
- Farji-Brener, A. G. (1996). Posibles vías de expansión de la hormiga cortadora de hojas *Acromyrmex lobicornis* hacia la Patagonia. *Ecología Austral*, 6, 144–150.
- Farji-Brener, A. G. (2001). Why are leaf-cutting ants more common in early secondary forests than in old-growth tropical forests? *Oikos*, 92(1), 169–177. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2001.920120.x>
- Farji-Brener, A. G., & Protomastro, J. (1992). Patrones de forrajeros de dos especies simpátricas de hormigas cortadoras de hojas (Attini, *Acromyrmex*) en un bosque subtropical seco. *Ecotropicos*, 5(1), 32–43.
- Farji-Brener, A. G., & Ruggiero, A. (1994). Leaf-cutting ants (*Atta* and *Acromyrmex*) inhabiting Argentina: patterns in species richness and geographical range sizes. *Journal of Biogeography*, 21(4), 391–399. <https://doi.org/doi:10.2307/2845757>
- Farji-Brener, A. G., Amador-Vargas, S., Chinchilla, F., Escobar, S., Cabrera, S., Herrera, M. I., & Sandoval, C. (2010). Information transfer in head-on encounters between leaf-cutting ant workers: food, trail condition or orientation cues? *Animal Behaviour*, 79(2), 343–349.
- Fischer, M. (2015). Forest Health: Leaf-cutting Ant. Texas A&M Forest Service, Lufkin, TX. <http://texasforestservice.tamu.edu/LeafCuttingAnt/>
- Folgarait, P. J., Gorosito, N., Poulsen, M., & Currie, C. R. (2011). Preliminary in vitro insights into the use of natural fungal pathogens of leaf-cutting ants as biocontrol agents. *Current Microbiology*, 63, 250–258. <https://doi.org/10.1007/s00284-011-9944-y>
- Forest Stewardship Council (2016). List of approved derogations for use of “highly hazardous” pesticides. <https://ic.fsc.org/file-download.list-of-approved-derogations-for-use-of-highly-hazardous-pesticides.a-2651.pdf>.
- Fowler, H. G. (1978). Foraging trails of leaf-cutting ants. *New York Entomological Society*, 86(3), 132–136.

- Fowler, H. G. (1983). Latitudinal gradients and diversity of the leaf-cutting ants (*Atta* and *Acromyrmex*) (Hymenoptera: Formicidae). *Revista de Biología Tropical*, 31(2), 213–216. <https://doi.org/10.1080/01650528309360626>
- Fowler, H. G., Pereira-da-Silva, V., Forti, L. C., & Saes, N. B. (1986). Population dynamics of leaf-cutting ants: A brief review. En C. Lofgren & R. K. Vander Meer (Eds.), *Fire ant and leaf-cutting ants: biology and management* (pp. 123–145). Westview Press, Boulder, Colorado.
- Franzel, C., & Farji-Brener, A. G. (2000). ¿Oportunistas o selectivas? Plasticidad en la dieta de la hormiga cortadora de hojas *Acromyrmex lobicornis* en el noroeste de la Patagonia. *Ecología Austral*, 10(2), 159–168.
- Fundación para el Estudio de Especies Invasivas. FuEDEI. www.fuedei.org.ar
- Gaston, K. J., & Chown, S. L. (1999). Elevation and climatic tolerance: a test using dung beetles. *Oikos*, 86, 584–590.
- Giesel, A., Boff, M. I. C., & Boff, P. (2013). Seasonal activity and foraging preferences of the leaf-cutting ant *Atta sexdens piriventris* (Santschi) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology*, 42(6), 552–557. <https://doi.org/10.1007/s13744-013-0160-2>
- Giménez, R. (2006). Las plagas de las Salicáceas: Principales preocupaciones y técnicas de manejo disponibles. Jornadas de Salicáceas, Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina, 118–138.
- Goitia, P. A. M. (2010). Relación entre la dureza del material vegetal cortado y la morfología de las obreras en dos especies de hormigas cortadoras: *Acromyrmex heyeri* y *Acromyrmex lundii*. Informe de pasantía. <http://www.bib.fcien.edu.uy/files/etd/pasan/uy24-14813.pdf>.
- Gruber, A. K., & Valdix, J. K. (2003). Control de *Atta* spp. con prácticas agrícolas e insecticidas botánicos. *Manejo integrado de plagas y agroecología*, 67(4).
- Haeder, S., Wirth, R., Herz, H., & Spiteller, D. (2009). Candididin-producing *Streptomyces* support leaf-cutting ants to protect their fungus garden against the pathogenic fungus *Escovopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1–5. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0812082106
- Haene, P. E., Francesco, V., Ostrosky, C., & Giacomo, D. (2003). La Reserva Natural Otamendi: Descripción general. En: Fauna de Otamendi. Inventario de los animales vertebrados de la Reserva Natural Otamendi. E. Haene and J. Pereyra (Eds). Partido de Campana, Provincia de Buenos Aires, Argentina. Temas de naturaleza y Conservación. Aves Argentinas/AOP, 5–16.
- Hernández, J. V., & Jaffé, K. (1995). Dano econômico causado por populações de formigas *Atta laevigata* (F. Smith) em plantações de *Pinus caribaea* Mor. E elementos para o manejo da praga. *An Soc Entomol Brasil*, 24, 287–298.
- Hernández, J. V., Ramos, C., Borjas, M., & Jaffé, K. (1999). Growth of *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae) Nests in Pine Plantations. *The Florida Entomologist*, 82(1), 97. <https://doi.org/10.2307/3495840>

- Herz, H., Hölldobler, B., & Roces, F. (2008). Delayed rejection in a leaf-cutting ant after foraging on plants unsuitable for the symbiotic fungus. *Behavioral Ecology*, 19(3), 575–582. <https://doi.org/10.1093/beheco/arn016>
- Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (2011). *The Leafcutter ants: Civilization by instinct*. New York: W. W. Norton & Company. 160 pp.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. (1990). *The ants*. Harvard University Press, Cambridge. 732 pp.
- Howard, J. J. (1987). Leafcutting ant diet selection: the role of nutrients, water, and secondary chemistry. *Ecology*, 68(3), 503–515.
- Howard, J. J. (1988). Leafcutting and diet selection: relative influence of leaf chemistry and physical features. *Ecology*, 69(1), 250–260.
- Howard, J. J. (2001). Costs of trail construction and maintenance in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 49(5), 348–356. <https://doi.org/10.1007/s002650000314>
- Hughes, W. O., Thomsen, L., Eilenberg, J., & Boomsma, J. J. (2004). Diversity of entomopathogenic fungi near leaf-cutting ant nests in a neotropical forest, with particular reference to *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *Journal of invertebrate pathology*, 85(1), 46–53.
- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. INTA. www.inta.gob.ar
- Isenring, R., & Neumeister, L. (2010). Recommendations regarding derogations to use Alpha-Cypermethrin, Deltamethrin, Fenitrothion, Fipronil and Sulfluramide in FSC certified forests in Brazil. FSC Editor. 99 pp.
- Jaffé, K. (1986). Control of *Atta* and *Acromyrmex* spp. in pine tree plantations in the Venezuelan llanos. En C. S. Lofgren & R. K. Vander Meer (Eds.), *Fire ant and leaf-cutting ants: biology and management*. Boulder, United States: Westview Press. 435 pp.
- Jiménez, N. L., Di Blanco, Y. E., & Calcaterra, L. A. (2018). Ant diversity in the diet of Giant Anteaters, *Myrmecophaga tridactyla* (Pilosa: Myrmecophagidae), in the Iberá Nature Reserve, Argentina. *Mastozoología Neotropical*, 25(2), 001-014. <https://doi.org/10.31687/saremMN.18.25.2.0.16>
- Jofré, L. E., & Medina, A. I. (2012). Patrones de actividad forrajera y tamaño de nido de *Acromyrmex lobicornis* (Hymenoptera: Formicidae) en una zona urbana de San Luis, Argentina. *Ecología Austral*, 71(1–2), 37–44.
- Kandus, P., Quintana, R. D., & Bó, R. F. (2006). *Patrones de paisaje y biodiversidad del Bajo Delta del Río Paraná*. Mapa de ambientes. Pablo Casamajor Ediciones, Buenos Aires.
- Kost, C., Oliveira, E. G., Knoch, T. A., & Wirth, R. (2005). Spatio-temporal permanence and plasticity of foraging trails in young and mature leaf-cutting ant colonies (*Atta* spp.). *Journal of Tropical Ecology*, 21, 677–688. <https://doi.org/10.1017/S0266467405002592>
- Laboratorio de Ecofisiología de Insectos, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. <http://www.dbbe.fcen.uba.ar/objetos/lab-de-ecofisiologia-de-insectos-P990.html>

- Lapointe, S. L., Serrano, M. S., & Villegas, A. (1993). Colonization of two tropical forage grasses by *Acromyrmex landolti* (Hymenoptera: Formicidae) in eastern Colombia. *Florida Entomologist*, 359–365.
- Lewis, T., & Norton, G. A. (1973). Aerial baiting to control leaf-cutting ants (Formicidae, Attini) in Trinidad. III. Economic implications. *Bulletin of Entomological Research*, 63(2): 289–303.
- Lewis, T., Pollard, G. V., & Dibley, G. C. (1974). Rhythmic foraging in the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L.)(Formicidae: Attini). *The Journal of Animal Ecology*, 43(1), 129–141.
- Lighton, J. R. B. & Turner, R. J. (2004). Thermolimit respirometry: an objective assessment of critical thermal maxima in two sympatric desert harvester ants, *Pogonomyrmex rugosus* and *P. californicus*. *Journal of Experimental Biology*, 207(11), 1903–1913. <https://doi.org/10.1242/jeb.00970>
- Littledyke, M., & Cherrett, J. M. (1976). Direct ingestion of plant sap from cut leaves by the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich)(Formicidae, Attini). *Bulletin of Entomological Research*, 66(2), 205–217.
- Littledyke, M., & Cherrett, J. M. (1978). Defence mechanisms in young and old leaves against cutting by the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich)(Hymenoptera: Formicidae). *Bulletin of Entomological Research*, 68(2), 263–271.
- Lynch, J., Balinsky, E., & Vail, S. (1980). Foraging patterns in three sympatric forest ant species, *Prenolepis imparis*, *Paratrechina melanderi* and *Aphaenogaster rudis* (Hymenoptera: Formicidae). *Ecological Entomology*, 5(4), 353–371.
- Martínez, C. L., Riquelme-Virgala, M. B., Santadino, M., de Haro, A. M., & Barañao, J. (2015). Estudios sobre el comportamiento de forrajeo de *Acromyrmex lundii* Guering (Hymenoptera, Formicidae) y su efecto sobre el crecimiento de procedencias de *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae). *Revista Árvore*, 39(1), 189–198.
- Matrangolo, C. A. R., Castro, R. V. O., Della-Lúcia, T. M. C., Lucia, R. M. D., Mendes, A. F. N., Costa, J. M. F. N., & Leite, H. G. (2010). *Eucalyptus* growth under the effect of artificial defoliation. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45(9), 952–957.
- Medina, A. I., Mangione, A. M., & García, M. (2012). Exposure to creosote bush phenolic resin causes avoidance in the leafcutting ant *Acromyrmex lobicornis* (Formicidae: Attini). *Revista Chilena de Historia Natural*, 85(2), 209–218. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2012000200007>
- Mendes Filho, J. D. A. (1979). Técnicas de combate às formigas. EMBRAPA-CNPQ.
- Mendes Filho, J. D. A., & Suiter Filho, W. (1979). Ant combat in CAF. Santa Barbara Agriculture and Forest Company. Brazil. *Circular Técnica-Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (Brazil)*. 76.
- Montoya-Lerma, J., Giraldo-Echeverri, C., Ambrecht, I., & Calle, Z. (2012). Leaf-cutting ants revisited: Towards rational management and control. *International Journal of Pest Management*, 58(3), 225–247. <https://doi.org/10.1080/09670874.2012.663946>
- Naccarata, V. (1983). Evaluacion de daños por bachacos (*Atta* spp.) en plantaciones jóvenes de pino caribe. *Campaña Nacional de Reforestacion*. 16 pp.

- Nabirye, J., Nampala, P., Kyamanywa, S., Ogenga-Latigo, M. W., Wilson, H., & Adipala, E. (2003). Determination of damage-yield loss relationships and economic injury levels of flower thrips on cowpea in eastern Uganda. *Crop protection*, 22, 911–915.
- Nichols-Orians, C. M., & Schultz, J. C. (1989). Leaf toughness affects leaf harvesting by the leaf cutter ant, *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae). *Biotropica*, 80–83.
- Nickele, M. A., Filho, W. R., de Oliveira, E. B., & Iede, E. T. (2009). Densidade e tamanho de formigueiros de *Acromyrmex crassispinus* em plantios de *Pinus taeda*. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 44(4), 347–353. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2009000400003>
- Nickele, M. A., Filho, W. R., de Oliveira, E. B., Iede, E. T., Caldato, N., & Strapasson, P. (2012). Leaf-cutting ant attack in initial pine plantations and growth of defoliated plants. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 47(1), 892–899. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000700003>
- Nickele, M. A., Filho, W. R., & Reis Filho, W. (2015). Population dynamics of *Acromyrmex crassispinus* (Forel) (Hymenoptera: Formicidae) and attacks on *Pinus taeda* Linnaeus (Pinaceae) plantations. *Sociobiology*, 62(3), 340–346. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v62i3.422>
- Nickele, M. A., Reis Filho, W., Pie, M. R., & Penteado, S. do R. C. (2016). Daily foraging activity of *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) leaf-cutting ants. *Sociobiology*, 63(1), 645–650. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v63i1.902>
- Nobua Behrmann, B. E. (2014). Interacciones tróficas entre dos especies simpátricas de hormigas cortadoras y el ensamble de plantas en el Monte Central. Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Nobua Behrmann, B., Lopez de Casenave, J., Milesi, F. A., & Farji-Brener, A. G. (2017). Coexisting in harsh environments: temperature-based foraging patterns of two desert leafcutter ants (Hymenoptera: Formicidae: Attini). *Myrmecological News*, 25, 41–49.
- Norton, G. A. (1976). Analysis of decision making in crop protection. *Agro-ecosystems*, 3, 27–44.
- Nyamukondiwa, C., & Terblanche, J. S. (2010). Within-generation variation of critical thermal limits in adult Mediterranean and Natal fruit flies *Ceratitis capitata* and *Ceratitis rosa*: Thermal history affects short-term responses to temperature. *Physiological Entomology*, 35(3), 255–264. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2010.00736.x>
- Pedigo, L. P. (1996). General models of economic thresholds. Economic thresholds for integrated pest management. University of Nebraska Press, Lincoln. 41–57.
- Pérez, S. P. (2009). Riesgo potencial de la hormigas cortadora de hojas *Acromyrmex lobicornis* para las plantaciones forestales de la Patagonia. Serie Técnica: Manejo Integrado de Plagas Forestales. J. Villacide & J. Corley, (Eds.). Bariloche: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 6.
- Pérez, S. P., Corley, J. C., & Farji-Brener, A. G. (2011). Potential impact of the leaf-cutting ant *Acromyrmex lobicornis* on conifer plantations in northern Patagonia, Argentina. *Agricultural and Forest Entomology*, 13(2), 191–196. <https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2010.00515.x>
- Pilati, A., & Quirán, E. M. (1996). Patrones de cosecha de *Acromyrmex lobicornis* (Formicidae: Attini) en un pastizal del Parque Nacional Lihué Calel, La Pampa, Argentina. *Ecología Austral*, 6, 123–126.

- Pilati, A., Quirán, E. M., & Estelrich, H. D. (1997). Actividad forrajera de *Acromyrmex lobicornis* Emery (Hymenoptera: Formicidae) en un pastizal natural semiárido de la provincia de La Pampa (Argentina). *Ecologia Austral*, 7(2), 49–56.
- Pirk, G. I. (2007). Granivoría por hormigas del género *Pogonomyrmex* en el monte central: consumo de semillas e impacto sobre el banco de suelo. Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Pörtner, H. (2001). Climate change and temperature-dependent biogeography: Oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften*, 88(4), 137–146. <https://doi.org/10.1007/s001140100216>
- QGIS Development Team (2018). QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>
- R Development Core Team (2012). R: A language and environment for statistical computing (Version 3.1.5). R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Ramsar (2008). Declaración de Changwon sobre el bienestar humano y los humedales. X Reunión de la Conferencia de las Partes en la Convención RAMSAR. Changwon, República de Corea.
- Ribeiro, P. L., Camacho, A., & Navas, C. A. (2012). Considerations for assessing maximum critical temperatures in small ectothermic animals: Insights from leaf-cutting ants. *PLoS ONE*, 7(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032083>
- Rockwood, L. L. (1975). The effects of seasonality on foraging in two species of leaf-cutting ants (*Atta*) in Guanacaste province, Costa Rica. *Biotropica*, 7(3), 176–193. <https://doi.org/10.2307/2989622>
- Rosado, J. L. O., Loeck, A. E., Mayer, N. A., Freitas, D. F., Ricalde, M. P., & Gonçalves, M. de G. (2012). Preferência de corte de *Acromyrmex ambiguus* Emery (Hymenoptera, Formicidae) por porta-enxertos de pessegueiros em condições de laboratório. *Revista Brasileira de Biociências*, 10(3), 418–420.
- RStudio (2012). RStudio: Integrated development environment for R (Version 1.1.453). Boston, MA. <http://www.rstudio.org/>
- Russell, A., Johnson, S., Cibils, X., Mc Kay, F., Moshman, L., Madeira, P., Blair, Z., & Diaz, R. (2017). Surveys in Argentina and Uruguay reveal *Cyrtobagous salviniae* (Coleoptera: Curculionidae) populations adapted to survive temperate climates in southeastern USA. *Biological Control*, 107, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.01.010>
- Sánchez Restrepo, A. F., Jiménez, N. L., Confalonieri, V. A. & Calcaterra, L. A. (2019). Distribution and diversity of leaf-cutting ants in Northeastern Argentina: species most associated with forest plantations. *International Journal of Pest Management*. <https://doi.org/10.1080/09670874.2018.1555343>
- Schilman, P. E., Lighton, J. R. B., & Holway, D. A. (2007). Water balance in the Argentine ant (*Linepithema humile*) compared with five common native ant species from southern California. *Physiological Entomology*, 32(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2006.00533.x>

- Silva Busso, A., Amato, S., Seoane, N., & Pittau, M. (2004). Aportes al Conocimiento de la Geología del Subsuelo del Delta del Río Paraná. http://laboratorios.fi.uba.ar/lmm/informes/it_delta_geologia_sep04.pdf.
- Sinclair, B. J., Alvarado, L. E. C., & Ferguson, L. V. (2015). An invitation to measure insect cold tolerance: methods, approaches, and workflow. *Journal of Thermal Biology*, 53, 180–197. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2015.11.003>
- Sousa-Souto, L., Viana-Junior, A. B., & Nascimento, E. S. (2013). Spatial distribution of *Acromyrmex balzani* (Emery) (Hymenoptera: Formicidae: Attini) nests using two sampling methods. *Sociobiology*, 60(2), 162–168. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v60i2>
- Souza, A., Zanetti, R., & Calegario, N. (2011). Nível de dano econômico para formigas-cortadeiras em função do índice de produtividade florestal de eucaliptais em uma região de Mata Atlântica. *Neotrop. Entomol.*, 40(4), 483–488. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2011000500012>
- Sunday, J. M., Bates, A. E., & Dulvy, N. K. (2011). Global analysis of thermal tolerance and latitude in ectotherms. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1713), 1823–1830. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.1295>
- Terblanche, J. S., Klok, C. J., Krafsur, E. S., & Chown, S. L. (2006). Phenotypic plasticity and geographic variation in thermal tolerance and water loss of the tsetse *Glossina pallidipes* (Diptera : Glossinidae): *Implications For Distribution Modelling*, 74(5), 786–794.
- Urbas, P., Araújo, M. V., Leal, I. R., & Wirth, R. (2007). Cutting more from cut forests: edge effects on foraging and herbivory of leaf-cutting ants in Brazil. *Biotropica*, 39(4), 489–495. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2007.00285.x>
- Vaccaro, N. C., & Mousques, J. A. (1997). Hormigas cortadoras (géneros *Atta* y *Acromyrmex*) y tacurúes en Entre Ríos. *XII Jornadas Forestales de Entre Ríos*. Concordia, Argentina. 1–7.
- Vasconcelos, H. L., & Cherrett, J. M. (1995). Changes in leaf-cutting ant populations (Formicidae: Attini) after the clearing of mature forest in Brazilian Amazonia. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 30(2), 107–113. <https://doi.org/10.1080/01650529509360947>
- Vilela, E. F. (1986). Status of leaf-cutting ant control in forest plantations in Brazil. *Fire Ants and Leaf-cutting Ants: Biology and Management*. Westview Press, Boulder, Colorado. 399–408.
- Vincent, J. F. V. (1991). Strength and fracture of grasses. *Journal of Materials Science*, 26(7), 1947–1950. <https://doi.org/10.1007/BF00543628>
- Wirth, R., Herz, R., Ryel, R. J., Beyschlag, W. & Hölldobler, B. (2003). Herbivory of leaf-cutting ants: a case study on *Atta colombica* in the tropical rainforest of Panama. Springer Verlag, Berlin. 230 pp.
- Wirth, R., Meyer, S. T., Almeida, W. R., Araújo, M. V., Barbosa, V. S., & Leal, I. R. (2007). Increasing densities of leaf-cutting ants (*Atta* spp.) with proximity to the edge in a Brazilian Atlantic Forest. *Journal of Tropical Ecology*, 23(04), 501–505. <https://doi.org/10.1017/S0266467407004221>
- Zanetti, R., Jaffé, K., Vilela, E. F., Zanuncio, J. C., & Leite, H. G. (2000). Efeito da densidade e do tamanho de saueiros sobre a produção de madeira em eucaliptais. *Anais Da Sociedade Entomológica Do Brasil*, 29(1), 105–112. <https://doi.org/10.1590/S0301-80592000000100013>

- Zanetti, R., Zanuncio, J. C., Vilela, E. F., Leite, H. G., Jaffé, K., & Oliveira, A. C. (2003). Level of economic damage for leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in *Eucalyptus* plantations in Brazil. *Sociobiology*, 42(2), 433–442.
<https://doi.org/www.csuchico.edu/biol/Sociobiology/sociobiologyindex.html>
- Zanuncio, J. C., da Cruz, A. P., de Oliveira, H. N., & Gomes, F. S. (1999). Controle de *Acromyrmex laticeps nigrosetosus* (Hymenoptera: Formicidae), em eucaliptal no Pará, com iscas granuladas com sulfluramida ou clorpirifós. *Acta Amazonica*, 29(4), 639–645.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/1809-43921999294645>
- Zanuncio, J. C., Lemes, P. G., Antunes, L. R., Maia, J. L. S., Mendes, J. E. P., Tanganelli, K. M., Salvador, J. F., & Serrão, J. E. (2016). The impact of the Forest Stewardship Council (FSC) pesticide policy on the management of leaf-cutting ants and termites in certified forests in Brazil. *Annals of Forest Science*, 73, 205–214.
- Zolessi, L. C., & Gonzalez, L. A. (1978). Observaciones sobre el género *Acromyrmex* en el Uruguay. IV. A. (*Acromyrmex*) *lundii* (Guérin 1838) (Hymenoptera: Formicidae). *Revista de La Facultad de Humanidades y Ciencias. Serie Ciencias Biológicas*, 1(2), 9–27.
- Zunino, H. A. (1971). Hormigas Podadoras. Datos biológicos. Daños. Distribución Geográfica. Métodos de lucha. *IDIA*, 277, 55–63.

Nadia L. Jiménez

Luis A. Calcaterra

Alejandro G. Farji-Brener