

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

RECHAZO TARDÍO DE CEBOS HORMIGUICIDAS EN *Acromyrmex lobicornis*
(HYMENÓPTERA: FORMICIDAE)

por

Noelia Sol CRISTALLINI SALINAS
Camila DUTRA DA SILVEIRA FAGUAGA

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo.

MONTEVIDEO
URUGUAY
2021

Tesis aprobada por:

Director: -----

Dr. Martín Bollazzi

Dr. Gonzalo Martínez Crosa

Dra. Carolina Jorge

Fecha: 26 de mayo de 2021

Autoras: -----

Bach. Noelia Sol Cristallini Salinas

Bach. Camila Dutra da Silveira Faguaga

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos en primer lugar a nuestras familias por el constante apoyo brindado durante todos los años de estudio, siendo también pilares fundamentales en nuestra formación como personas.

A la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República por todos los conocimientos brindados en los años de la carrera.

A nuestros amigos y compañeros por el apoyo incondicional y los buenos momentos compartidos.

A nuestro tutor Dr. Martín Bollazzi, al Dr. Gonzalo Martínez, al Ing. Agr. Guillermo Katzenstein y al Ing. Agr. Julián Sabattini, por la dedicación, el interés y la orientación que nos brindaron en la elaboración del presente trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VI
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1. OBJETIVO GENERAL	2
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	3
2.1. HORMIGAS CORTADORAS	3
2.1.1. <u>Ciclo biológico</u>	3
2.1.2. <u>Morfología y fisiología</u>	4
2.1.3. <u>Relación con el hongo simbiote</u>	4
2.1.4. <u>Acromyrmex lobicornis</u>	5
2.1.5. <u>Estadísticas de daños a nivel mundial</u>	5
2.1.6. <u>Daño e impacto</u>	5
2.1.7. <u>Manejo</u>	6
2.1.8. <u>Condiciones climáticas</u>	6
2.2. CEBOS HORMIGUICIDAS	7
2.2.1. <u>Caracterización</u>	8
2.2.2. <u>Preparación de los cebos</u>	8
2.2.3. <u>Cebos comúnmente utilizados en Uruguay</u>	8
2.2.3.1. Sulfloramida	8
2.2.3.2. Fipronil	9
2.2.4. <u>Efecto de los cebos en las hormigas</u>	9
2.3. MÉTODOS DE CONTROL.....	10
2.3.1. <u>Sistemático</u>	10
2.3.2. <u>Localizado</u>	10

2.4. MOMENTOS DE CONTROL.....	11
2.5. RECHAZO TARDÍO	11
2.5.1. <u>En plantas tóxicas</u>	12
2.5.2. <u>En materiales con fungicida</u>	13
2.6. HIPÓTESIS	14
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	15
3.1. SITIO DE ESTUDIO	15
3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	16
3.3. VARIABLES A ESTIMAR.....	20
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	20
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	22
4.1. RESULTADOS.....	22
4.2. DISCUSIÓN	30
5. <u>CONCLUSIONES</u>	33
6. <u>RESUMEN</u>	35
7. <u>SUMMARY</u>	37
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	39
9. <u>ANEXOS</u>	49

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Número de hormigueros que presentaron Rem según efecto tratamiento luego de la segunda aplicación.....	25
2. Peso promedio de los cebos remanentes (Rem) según efecto tratamiento luego de la segunda aplicación, considerando el total de los hormigueros experimentales.	26
Figura No.	
1. Ubicación del sitio experimental dentro de la República Oriental del Uruguay.....	15
2. Balanza analítica (máx. 220g d=0.1 mg)	16
3. Pinzas de metal, papel aluminio, bolsas, guantes y marcador permanente	17
4. Nido de <i>Acromyrmex lobicornis</i> con "tablita" rotulada	17
5. Croquis de la disposición de los hormigueros identificados en el sitio experimental.....	19
6. Número de hormigueros que mostraron actividad (Act), en función de los tratamientos luego de la primera aplicación.....	22
7. Número de hormigueros que mostraron forrajeo (Forr), en función de los tratamientos luego de la primera aplicación.....	23
8. Número de hormigueros que mostraron hormigas muertas (hm), en función de los tratamientos luego de la primera aplicación	24
9. Promedio de cebos Rem (g) en función de los tratamientos 24 horas luego de la segunda aplicación	25
10. Número de hormigueros que exhibieron actividad (Act), en función de los tratamientos luego de la segunda aplicación	26
11. Número de hormigueros que mostraron forrajeo (Forr), en función de los tratamientos luego de la segunda aplicación	27
12. Número de hormigueros que presentaron hormigas muertas (hm), en función de los tratamientos luego de la segunda aplicación.....	28
13. Número de hormigueros muertos (HM), en función de los tratamientos luego de la segunda aplicación	29

1. INTRODUCCIÓN

Uruguay es un país que se encuentra ubicado en la misma latitud que los principales países con emprendimientos forestales relacionados al eucalyptus, como Nueva Zelanda, Australia, Sudáfrica, entre otros. Sus características tanto climáticas como edáficas, sumadas a estímulos fiscales y la presencia de un marco legal y regulatorio, han provocado que diversas empresas extranjeras pongan su foco en él para desarrollar sus actividades, que comprenden desde la obtención de semillas y plantas hasta el transporte final de productos elaborados. Además, el país dispone de un código nacional de buenas prácticas forestales que procura la realización de una gestión sustentable y sostenible, atendiendo los requisitos de demanda internacional (Uruguay XXI, 2016).

Según Faroppa (2017), estos acontecimientos le permitieron al rubro experimentar un fuerte crecimiento que se mantiene hasta la fecha, tanto es así que el sector forestal comprendió el 3,6% del PBI en 2016, equivalente a unos US\$ 1.877 millones.

Con todas las características que hacen del Uruguay un país beneficioso para el desarrollo del sector forestal, surgen también factores que tienen impactos negativos, limitando en determinadas etapas el crecimiento y desarrollo potencial de las plantaciones, como la presencia de plagas. Dentro de éstas, las que se destacan como principales especialmente en las primeras etapas de desarrollo de las plantaciones tanto en especies de eucalyptus como de pinus son las hormigas cortadoras de hojas ocasionando pérdidas económicas producto de la defoliación.

Se estima que existen en el mundo unas quince mil especies de hormigas, sólo cincuenta de ellas viven en simbiosis con un hongo y tan sólo veinticinco son cortadoras de hojas (Cherrett, 1986). El comportamiento alimenticio de estas últimas representa una amenaza para los montes recién implantados, ya que las hormigas cortadoras forrajea los fragmentos de hojas, con el fin de cultivar un hongo simbiote con el que establecen una relación de mutualismo obligado.

La distribución de las hormigas cortadoras se limita a determinadas zonas en particular, como Sudamérica, Centroamérica y la zona Sur de Norteamérica, por lo que podría decirse que se trata de un inconveniente exclusivamente neotropical (Cherrett, 1986). De aquí radica la importancia de su reconocimiento para llevar a cabo su control, se deben tener cuenta ciertas características específicas como por ejemplo la presencia de espinas en el tórax (mínimo 3 pares) y la presencia de caminos de forrajeo.

Si bien cuando se habla de hormigas cortadoras se incluyen los géneros *Acromyrmex* y *Atta*, son las hormigas del género *Acromyrmex* las que afectan en mayor parte las especies forestales, debido a que presentan en el Uruguay una distribución más amplia que el género *Atta* (restringido a dos zonas del país: Rivera y suelos blanqueales del litoral del Río Uruguay). Las especies del género *Acromyrmex* se reconocen principalmente por presentar cuatro pares de espinas en el tórax, pudiendo diferenciarse además por la coloración, brillo y zona del país en la que se encuentran.

En Uruguay existen dos especies correspondientes al género *Atta* y once especies del género *Acromyrmex*, es por este motivo además que se concentra en dicho género la gran preocupación por establecer un método de control eficiente. Dentro del género *Acromyrmex*, la especie *Acromyrmex lobicornis* fue seleccionada para llevar a cabo la investigación.

Debido a la falta de un método de control cultural y biológico eficiente, se ha recurrido a lo largo de los años a un método de control químico a través de cebos que actúan por ingestión, siendo los más comúnmente utilizados el fipronil y la sulfluramida.

El hecho de que hoy en día exista como desafío reducir el uso de cebos químicos se debe tanto a la eficacia del control químico como al aumento de la superficie forestal bajo certificación. Una de las opciones para esto es definir correctamente el momento de control y ajustarlo a una correcta dosificación.

Una problemática actual conocida es que las obreras rechazan el cebo en una aplicación secundaria luego de una falla en la primera debido a una subdosificación. En la naturaleza existe el rechazo tardío como un aprendizaje de evitación por parte de las obreras luego de que forrajeen materiales vegetales que fueron perjudiciales para el hongo simbiote. Como consecuencia del aprendizaje, las obreras evitan posteriormente forrajear dichas plantas. Sin embargo, se desconoce si dicho rechazo ocurre cuando el evento de intoxicación se da en las obreras.

1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la existencia del rechazo tardío de cebos hormiguicidas en una aplicación secundaria, cuando ha ocurrido una subdosificación previa en una aplicación primaria.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. HORMIGAS CORTADORAS

Las hormigas cultivadoras de hongos pertenecen a la subfamilia Myrmicinae, tribu Attini. Son originarias de Sudamérica y tienen una amplia distribución geográfica, que va desde todos los países de América del Sur, con excepción de Chile, hasta América Central, Cuba, Trinidad, México y Sur de los Estados Unidos. Para Uruguay están citadas las siguientes especies: *Acromyrmex ambiguus*, *A. hispidus*, *A. hystrix*, *A. laticeps*, *A. lobicornis*, *A. lundí*, *A. rugosus*, *A. heyeri*, *A. landolti balzani*, *A. silvestri*, *A. striatus*, y las pertenecientes al género *Atta* como *Atta sexdens* y *A. wollenweideri*. De las especies citadas las más importantes y comunes consideradas plagas son: *A. lundí*, *A. ambiguus* (hormigas cortadoras negras) y *A. heyeri* (hormiga cortadora colorada). El género *Atta* es común en el Norte de Uruguay, en especial en los departamentos de Artigas y Rivera, siendo una plaga de importancia para las plantaciones de árboles y otros cultivos (Bentancourt, 2014).

De acuerdo con Brady et al. (2006), se cree que las hormigas cortadoras de hojas aparecieron en el período Cretácico hace aproximadamente 115-135 millones de años. Han logrado distribuirse por todo el planeta con excepción de los polos (Hölldobler y Wilson 1990, Ward et al., citados por de Britto et al. 2016).

Según Cherrett (1989), Wirth et al. (2003), las hormigas cortadoras son extremadamente polífagas. Pueden cortar el 50-80% de las especies de plantas disponibles, las cuales son altamente utilizadas y cosechadas de manera severa e incorporadas al jardín de hongos de manera simultánea. Son capaces de vivir en los biomas más diversos, desde la selva amazónica (Solomon et al., 2008) hasta biomas tan extremos como los desérticos (Weber, 1972).

2.1.1. Ciclo biológico

Para que una colonia pueda reproducirse, se deben dar los denominados “vuelos nupciales”, dichos vuelos son los que darán inicio a la formación de una nueva colonia. En determinadas épocas del año, principalmente en primavera para especies del género *Acromyrmex*, la reina de la colonia produce hembras aladas vírgenes y machos alados que las fecundarán durante el vuelo (Duarte y Grecco, 2016).

Una vez fecundadas, estas hembras que serán las futuras reinas desprenderán sus alas y buscarán un sitio adecuado donde establecerán la nueva colonia; las hembras parten de su nido de origen, llevando consigo un

conjunto de hifas del hongo simbiote con el que darán inicio al futuro jardín de hongos (Duarte y Grecco, 2016).

En las primeras etapas de instalación de la nueva colonia, la reina es capaz de sostenerse a partir de sus propias reservas, músculos alares, tejido adiposo, obteniendo alimento de algunos huevos de su propia oviposición. Con el transcurso de los días (5-7) comenzará la oviposición de los huevos que estarán presentes 25 días hasta la emergencia de las larvas, las cuales serán alimentadas por la madre hasta que alcancen el estado de pupa 22 días después. Pasados 10 días, la colonia ya comienza a disponer de un bajo número de obreras ápteras que colaborarán con la reina para cultivar el hongo y criar la nueva generación, éstas permanecen el interior del nido cerca de 20 días antes de salir. Por lo tanto, un ciclo completo de reproducción tiene una duración de 80 días aproximadamente (Autuori, Hölldobler y Wilson, citados por Nickele, 2013).

2.1.2. Morfología y fisiología

Las hormigas cortadoras de hojas (de aquí en más HCH) tanto del género *Atta* como *Acromyrmex* presentan una característica que se denomina polimorfismo, es decir, según la casta a la cual pertenecen presentan diferencias tanto morfológicas como fisiológicas (Hölldobler y Wilson, 1990). Dentro de la colonia se diferencian castas obreras y reproductoras, variando la permanencia de dichos individuos dentro de la misma. Los individuos permanentes comprenden a la reina fundadora y a las obreras (hembras estériles), como individuos temporales se encuentran las formas sexuadas aladas como hembras y machos (Forti y Boaretto, citados por de Britto et al., 2016).

Las hormigas presentan diferentes comportamientos a lo largo de su vida denominado polietismo, esto se debe a que las diferentes castas de obreras presentan distintas funciones dentro de la colonia asociadas a su tamaño. Es decir, las obreras de mayor tamaño se especializan en la defensa de la colonia y son denominadas “soldados”, las de tamaño promedio son encargadas del forrajeo denominadas “recolectoras” y las de menor tamaño trabajan en el jardín de hongo llamadas “jardineras” las cuales cuidan y alimentan las crías (Forti y Boaretto, citados por de Britto et al., 2016).

2.1.3. Relación con el hongo simbiote

De acuerdo con Quinlan y Cherret (1979), Bass y Cherrett (1995), *Atta* spp. y *Acromyrmex* spp. cosechan hojas frescas para cultivar un hongo mutualista (*Leucocoprinus gongylophorus*). El material cosechado es procesado e incorporado dentro del jardín de hongos, el cual es consumido por las hormigas y sus crías.

De acuerdo con Webber (1966), las HCH realizan como actividad principal lo que se denomina forrajeo, dicha actividad se realiza con el fin de cultivar un hongo simbiótico que será posteriormente utilizado como la fuente de alimento vital para las larvas (Duarte y Grecco, 2016).

Según Cherrett (1989), para que este mutualismo entre las HCH y el hongo simbionte sea ecológicamente exitoso, es necesaria la combinación de hormigas forrajeras capaces de hacer frente a defensas mecánicas de las plantas y un hongo capaz de hacer frente a las defensas químicas de las plantas.

2.1.4. Acromyrmex lobicornis

Es una hormiga con una coloración negro - opaco, que en ocasiones puede prestar a confusión con otras especies del género. Por lo tanto, para distinguirla se debe observar que además de poseer cuatro pares de espinas en el tórax (características de hormigas cortadoras y del género *Acromyrmex*) se diferencia de *Acromyrmex lundii* por presentar un lóbulo marcado en la base del escapo de las antenas (Quirán y Pilati, citados por Pérez, 2009).

2.1.5. Estadísticas de daños a nivel internacional

Según estudios realizados en Brasil, los individuos de plantaciones jóvenes de *pinus contorta* que sufrieron ataque por HCH sufrieron un 32% de reducción en altura y un 25% de reducción en diámetro, por lo que se concluye que se obtuvo un 60% de pérdidas en la producción de madera (Della Lucia et al., 1993a).

En especies de *pinus taeda* se demostró que una defoliación del 100% en plántulas de 30 días de edad producto de HCH, sufrieron pérdidas del 13,3% en altura y 20% en diámetro en comparación con plantas sanas, un año luego de la defoliación (Filho et al., 2011).

2.1.6. Daño e impacto

Las HCH son consideradas una plaga primaria que ataca independientemente del estado de la planta. En plantas de menos de seis meses la defoliación por hormigas cortadoras puede provocar su muerte. Una sola colonia adulta puede llegar a atacar en promedio el 12% de una hectárea. La amplia polifagia que presentan las convierte en una de las principales plagas agrícolas y forestales de Sudamérica (Bollazzi, 2014).

Las pérdidas para cualquier tipo de cultivo recién implantado pueden alcanzar hasta el 100% (Fowler et al., 1990). Cálculos realizados estiman que se pierden entre el 14 y el 14.5% de árboles por hectárea en el caso de eucalyptus

y pinus, llegándose a pérdidas del 40% de árboles recién plantados (Pérez et al. 2011, Montoya-Lerma et al. 2012, Forti y Boaretto, citados por Bollazzi et al.¹).

Estas especies pueden causar daño tanto en árboles jóvenes como adultos, pero los árboles jóvenes presentan una mayor susceptibilidad pudiendo alcanzar niveles irreversibles (Hölldobler y Wilson 1990, Della Lucia et al., citados por Duarte y Grecco 2016). Esto se debe a la afectación directa a su capacidad productiva debido a la reducción del área foliar de los individuos, o indirectamente aumentando la susceptibilidad al ataque de otros insectos o patógenos (Ferreira, 1989).

2.1.7. Manejo

Según Jiménez (2019), para hacer frente a políticas de manejo y control de las HCH en plantaciones forestales, es relevante conocer las estaciones y momentos del día en los cuales estas especies se encuentran más activas removiendo la mayor cantidad de material vegetal.

2.1.8. Condiciones climáticas

De acuerdo con Jiménez (2019), la selección de especies vegetales y la intensidad de daño causado se ven afectados por las características del ambiente donde habitan las HCH. La distribución y abundancia de dichas colonias se pueden ver afectadas por variables abióticas tales como temperatura, humedad, precipitaciones y pulsos de inundaciones, generando picos de actividad o incrementos poblacionales en ciertas épocas del año. Por lo tanto la actividad externa de las HCH puede moldearse por estas variables climáticas haciendo que adquiera mayor o menor importancia dependiendo del clima donde habiten (Bollazzi y Roces 2002, Jofré y Medina 2012, Caldato et al. 2016, Nickele et al. 2016, Nobua Behrmann et al. 2017).

La temperatura es uno de los principales factores abióticos que puede influir sobre los patrones de forrajeo de las HCH, determinando los momentos del día o las estaciones del año en los cuales están más activas recolectando material vegetal. Las hormigas son animales ecto-térmicos en los cuales la tolerancia térmica es plástica y está modulada por el ambiente, la ontogenia, la masa corporal del individuo y la aclimatación natural previa (Chown et al. 2009, Nyamukondiwa y Terblanche 2010, Ribeiro et al. 2012).

¹ Bollazzi, M.; Katzenstein, G.; Sabattini, J. s.f. 2020. Efecto del sombreado de los montes forestales sobre la comunidad de hormigas cortadoras del género *Acromyrmex*: consecuencias para el manejo de plagas. (en prensa).

En 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* forrajeaba por las noches, mientras que, *A. striatus* forrajeaba durante el día. En otoño, ambas especies presentaron una actividad diurna similar, pero sólo *A. lobicornis* se mantuvo activa en el invierno. Esta diferenciación temporal puede estar relacionada con el hecho de que *A. lobicornis* construye montículos que le permiten regular la temperatura interna del nido para soportar temperaturas más extremas (Bollazzi et al., 2008).

El tamaño y el peso de las hormigas pueden afectar las TC (temperaturas críticas). Según la especie, 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_{máx}, que también la observaron Bentley et al. (2016) con *Nylanderia fulva* y *Solenopsis invicta*. Esto implica que obreras de mayores tamaños alcanzaron mayores TC_{máx}, presentando una mayor resistencia a la exposición a altas temperaturas. Encontraron también una relación negativa entre el tamaño de las obreras y los TC_{mín}, implica que obreras de tamaños mayores tolerarían también menores temperaturas.

2.2. CEBOS HORMIGUICIDAS

Hasta el presente ha transcurrido un largo período de cambios donde han surgido diversas formulaciones con el fin de lograr un control de HCH que sea lo suficientemente efectivo, viable y económico (Duarte y Grecco, 2016). Desde los productos fumigantes como pioneros en el control de hormigas, hormiguicidas líquidos, nebulizaciones térmicas. Por cuestiones de riesgo, eficacia y toxicidad se han ido sustituyendo (Pérez, 2009), hasta alcanzar lo que hoy se conoce como los cebos tóxicos compuestos por atractivos e insecticida (Duarte y Grecco, 2016).

Según Forti et al. (2007), Nagamoto et al. (2007) en Brasil hasta el año 1993, el control de hormigas cortadoras se realizaba con el uso de insecticidas organoclorados, especialmente declorano. Los organoclorados fueron prohibidos en 1985 y el declorano se mantuvo como excepción para establecer dicho control, que si bien dio resultados prometedores fue prohibido en 1993, dada la existencia de un ingrediente activo como reemplazo denominado sulfloramida. Es éste el ingrediente activo que actualmente se encuentra como parte de la formulación del cebo tóxico granulado como hormiguicida, en conjunto con un sustrato atractivo a base de pulpa de cítricos y aceite de soja.

2.2.1. Caracterización

De acuerdo con de Britto et al. (2016) son los cebos tóxicos el único método que en la actualidad se encuentra tecnológicamente disponible para el control de hormigas cortadoras. Esto se debe a que presenta grandes ventajas respecto a otros métodos como el bajo costo, alto rendimiento y menor peligro tanto para humanos como ambiente, sumado a que además es viable económica y operativamente (Cherrett 1986, Cameron 1990, Moreira et al. 2004b).

Estos cebos están compuestos por una mezcla de ingrediente activo (tóxico) combinado con un sustrato atractivo en forma de pellets. Por lo general el sustrato más utilizado es la pulpa de naranja por ser altamente atractiva para las hormigas cortadoras de dicotiledóneas. Los cebos son transportados por las obreras de la colonia y distribuidos de forma uniforme, hasta alcanzar la cámara fúngica donde son hidratados, fragmentados e incorporados (Duarte y Grecco, 2016).

Como características generales del cebo, debe ser insípido, inodoro, no volátil y principalmente de acción lenta con el fin de permitir la intoxicación por trofalaxia, concibiendo posteriormente la muerte de la colonia (INTA, 2011).

Según Forti et al., citados por de Britto et al. (2016) es fundamental que el insecticida no sea perceptible para la colonia para que pueda darse un control eficaz.

2.2.2. Preparación de los cebos

Según Bellucci y Pintos (2014) el cebo debe de mantener cierta concentración fija de ingrediente activo de 0,3%, dado que el objetivo no es matar a las hormigas antes de que lleguen a la colonia, sino cuando se encuentran dentro del hormiguero para que actúe sobre todos los individuos a través de trofalaxia. Dado que cada cebo posee un peso promedio de 10 mg, es necesario que ingresen a la colonia un total de 10 g por nido para que el control sea eficiente (Duarte y Grecco, 2016).

2.2.3. Cebos comúnmente utilizados en Uruguay

2.2.3.1. Sulfloramida

Este ingrediente activo forma parte de la formulación de los cebos tóxicos con acción insecticida, actualmente son utilizados para el control de hormigas del género *Atta* y *Acromyrmex*. Son producidos en Brasil por empresas nacionales y exportados a varios países de Latinoamérica (Rivera-Heredia 2015, Coll, Cassanello, Forti et al., citados por de Britto et al. 2016).

La sulfloramida posee una eficacia que se encuentra entre el 90 y el 100% cuando se aplica una dosis de 8 a 10 g/m² (Zanuncio et al. 1992, Alves et al. 1995, Zanuncio et al., Forti et al., Langer et al., Nakano et al., Pinão et al., citados por de Britto et al. 2016).

Una vez ingerido por las hormigas, es fraccionado convirtiéndose en un componente principal que actúa en el proceso de respiración aeróbica interrumpiendo la producción de ATP en las mitocondrias, a diferencia de otros productos que tienen acción a nivel del sistema nervioso. Al sufrir intoxicación, la colonia manifiesta síntomas característicos como: movilidad reducida a través de movimientos lentos y disminución de la agresividad dada la reducción de energía de su organismo, hasta que se produce la muerte (Schnellman y Manning, 1990).

2.2.3.2. Fipronil

El fipronil es un ingrediente activo utilizado para el control de HCH. Es aplicado en forma de cebo ya que muchos insectos tanto benéficos como plagas son muy sensibles cuando éste se encuentra incluso en dosis bajas (Gunasekara et al., 2007). A diferencia de la sulfloramida, el fipronil actúa por contacto e ingestión a nivel del sistema nervioso central (Tomlin, 2000).

Puede presentar inconvenientes si no es utilizado en forma de cebo, ya que se ha detectado en cuerpos de aguas, posee movilidad en el suelo, persistencia y toxicidad incluso para humanos (Gunasekara et al., 2007).

2.2.4. Efecto de los cebos en las hormigas

De acuerdo con Vander Meer et al. (1985), el insecticida en forma de cebo tóxico debe actuar por ingestión, su acción letal debe ser lenta y a bajas concentraciones, ya que, si se producen grandes alteraciones en el cultivo de hongos, las obreras son capaces de aislar el sector afectado para salvar la colonia. Debe presentar una mortalidad inferior al 15% luego del primer día y más del 89% al final. También es necesario que se difunda fácilmente dentro de la colonia y que no sea una amenaza para el medio ambiente (Vander Meer et al., 1985).

El cebo se propaga dentro de la colonia por trofalaxia (intercambio de fluidos) entre las obreras, aunque se cree que la forma principal de intoxicación se da a través del contacto directo entre las obreras y el cebo (Britto et al., 2016).

En ensayos de laboratorio, según Forti et al., citados por de Britto et al. (2016), las obreras llevan el cebo dentro de la colonia, éste es distribuido sobre el jardín de hongos, procesado al igual que el material vegetal por hormigas encargadas de dicha acción y luego es introducido. En este proceso se considera

que el 70% de las obreras se encuentran contaminadas con el insecticida (Forti et al., citados por de Britto et al., 2016).

Pasados 3 o 4 días ocurre la interrupción de la actividad de forrajeo, momento en que las hormigas encargadas del jardín de hongos comienzan a morir y el cultivo de hongos comienza a presentar un crecimiento micelial de microhongos. A partir del día 13 sólo la reina sobrevive, la cual puede permanecer hasta 40 días, sin embargo, en general se registra la muerte de la colonia entre los 16-22 días. En condiciones de campo se han registrado hormigas vivas dentro de los 60 días post-aplicación (Forti et al., citados por de Britto et al., 2016).

2.3. MÉTODOS DE CONTROL

2.3.1. Sistemático

El método de control sistemático se basa en la aplicación de cebos distribuidos en sitios equidistantes, de manera tal que se garantice que las hormigas lo encuentren y lo trasladen al hormiguero (Duarte y Grecco, 2016).

Que este sistema resulte efectivo en mayor o menor medida va a depender de dos factores principales. Por un lado, que las hormigas encuentren el cebo ubicado a determinada distancia del camino, lo que va a variar según qué tan atractivo resulte el cebo. Por otro lado, que logren transportar suficiente cantidad de cebo en un período de tiempo dado (un día de forrajeo), que va a depender de la distancia de aplicación respecto al camino, ya que a mayor distancia menor probabilidad de que las obreras de la colonia den con él. Resulta necesario que ingrese determinada cantidad de ingrediente activo para que se produzca la eliminación de la colonia (Duarte y Grecco, 2016).

Este método presenta como ventaja que se requiere menor costo de mano de obra. Además, se debe tener en cuenta que a las empresas forestales que se encuentran certificadas por FSC (Forest Stewardship Council) se les exige reducir de forma progresiva las cantidades necesarias de principio activo al mínimo necesario para un control eficiente (Mariane, citado por Duarte y Grecco, 2016), por lo tanto, una manera de alcanzar este objetivo es ir aumentando la eficacia del control sistemático a campo (Duarte y Grecco, 2016).

2.3.2. Localizado

El método de control localizado es una estrategia que consiste en la búsqueda de los hormigueros en la zona de plantación. El propósito es depositar los cebos tóxicos a una distancia promedio de 30 centímetros del orificio de entrada de éste, se debe tener especial cuidado de no interrumpir el tránsito de

las hormigas para evitar que lo identifiquen como un estorbo y de este modo asegurar que la hormiga se encuentre con el cebo (Duarte y Grecco, 2016).

Desde el punto de vista de las empresas forestales, dada las grandes extensiones no es considerado un método práctico por el hecho de que buscar los hormigueros implica una alta demanda de mano de obra, lo cual repercute en un aumento de los costos. Es por este motivo que la aplicación sistemática es la más utilizada ya que resulta más atractiva y económicamente viable (Duarte y Grecco, 2016).

Según Duarte y Grecco (2016), tanto el método localizado como el sistemático no se utilizan de manera independiente, sino que las empresas buscan realizar una complementariedad entre ambos para lograr una mayor eficiencia en el uso de ingrediente activo por superficie que permita a su vez buenos resultados para el control, y dicha combinación dependerá del momento en el que se encuentre la plantación.

2.4. MOMENTOS DE CONTROL

Según Duarte y Grecco (2016), los controles deben ser realizados en una época del año donde sea efectivo, el cual debe coincidir con los momentos de mayor vulnerabilidad del ciclo biológico de las HCH. El mejor momento para realizar el control es durante la primavera con fines de evitar la realización de los vuelos nupciales y el establecimiento de nuevas colonias.

En áreas forestales el control inicial debe de ser realizado a los 45-60 días antes de la preparación del suelo o antes de la cosecha, esto se debe a que los plantines son muy susceptibles a las hormigas y por ende se requiere un control completo en el primer año de plantación. Luego del primer mes de plantación se debe realizar un monitoreo y a partir de entonces el tratamiento debe seguir durante cuatro meses. Pasados uno o dos años, los bosques ya logran alcanzar una etapa de mantenimiento donde ya no es necesario el control (Zanetti et al., 2002).

2.5. RECHAZO TARDÍO

El rechazo tardío implica un aprendizaje de evitación del material perjudicial por parte de las obreras. Knapp et al. (1990) propusieron dos posibles mecanismos de rechazo: primero, puede ocurrir porque algunos componentes de las hojas son perjudiciales para las hormigas que las ingieren, lo que conlleva al rechazo mediante la liberación de una feromona conocida por las especies de insectos (Bernays y Chapman, 1994). Segundo, puede surgir porque los sustratos cosechados son perjudiciales para el hongo, pero inofensivo para las

hormigas, por lo que las obreras reaccionan a los cambios en la performance del hongo, discontinuando la cosecha de dicho material (Herz et al., 2008).

Según Herz et al. (2008), existen numerosas investigaciones acerca de la existencia de rechazo tardío por parte de las obreras hacia sustratos que son perjudiciales para el hongo (ya sea infiltrado en materiales vegetales o a través de cebos tóxicos), pero no hay investigaciones sobre el rechazo tardío hacia cebos tóxicos perjudiciales para las hormigas.

Ridley et al. (1996), North et al. (1999) demostraron que, de hecho, las obreras dejaron de cosechar cebo que contenía fungicida que inicialmente se incorporaron al jardín de hongos en respuesta a los efectos perjudiciales de este material, aunque éste fuera inofensivo para las obreras.

Factores como la dureza de las hojas, el contenido de nutrientes y la presencia de atractivos y/o repelentes como componentes secundarios, son considerados los de mayor influencia para la decisión de aceptación o rechazo de las plantas (Cherrett 1972, Howard 1987a, 1988b, Cherrett 1989, Nichols-Orians y Schultz 1990, Camargo et al. 2004, Meyer et al. 2006).

Sin embargo, las HCH han mostrado una marcada preferencia por hojas de ciertas especies de plantas e incluso preferencia dentro de la misma planta (Hubbell y Wiemer 1983b, Howard 1990, Meyer et al. 2006), lo que resulta una clasificación de las plantas como huésped, que va desde la alta aceptación hasta el completo rechazo.

Además de la selección de plantas adecuadas en el sitio de corte por parte de las forrajeras, una vez que el material ha sido cargado dentro del hormiguero, ocurre un segundo paso llamado “control de calidad”. Los materiales que son inadecuados como sustrato fúngico pueden ser post seleccionados por las obreras que trabajan en el jardín de hongos, y como consecuencia serán acarreados y arrojados fuera del hormiguero, depositándose alrededor de las entradas (Herz et al., 2008).

2.5.1. En plantas tóxicas

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 y Roces 2011). En cambio, si vuelven sin carga, las obreras pueden señalar 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 y Roces 2011).

De acuerdo con Littledyke y Cherrett (1978), Hubbell et al. (1983a) pueden existir plantas que presenten algunos compuestos que repelen a las hormigas o son dañinos para el hongo con el que establecen una relación de simbiosis. En estos casos las hormigas encargadas del forrajeo puede que decidan no cortar dichas hojas y que por lo tanto se observe un comportamiento denominado “rechazo” descrito por (Knapp et al., 1990). Cuando este rechazo se ve retrasado en el tiempo, ocurre debido a que inicialmente las hojas de una especie vegetal particular son cortadas y acarreadas al nido, pero pasadas 12 ± 16 horas las hojas son finalmente rechazadas de forma persistente durante un período que puede comprender días o semanas (Knapp et al., 1990).

Ridley et al. (1996), establecieron la hipótesis de la posibilidad de que el hongo simbiote si se ve dañado por los compuestos presentes en las plantas responda a ello produciendo un semioquímico que obligue de esta manera a las forrajeras a dejar de cosechar material vegetal de dicha especie.

Según Ridley et al. (1996), las HCH parecen poder retener información acerca de qué hojas pueden aceptar o rechazar gracias a la capacidad de reconocimiento de ciertos componentes químicos que pueden presentar los materiales vegetales.

De acuerdo con Ridley et al. (1996), existe una relación denominada “obligada” entre HCH con el hongo *Leucocoprinus gongylophorus*, para el cual las hormigas forrajean material vegetal como sustrato. Por ende, estos autores demostraron que las hormigas son capaces de aprender a rechazar material vegetal que posee en su composición sustancias químicas que son nocivas para el hongo.

2.5.2. En materiales con fungicida

De acuerdo con un experimento a campo realizado por Ridley et al. (1996), ocurrió rechazo de fungicidas luego de una primera exposición a través de una aplicación primaria. El rechazo se restringió a las hormigas en los senderos de forrajeo que fueron expuestas al fungicida. Estos resultados concluyeron la existencia de un semioquímico producido por el hongo que es capaz de regular la selección de material vegetal por parte de las forrajeras.

Luego de un período inicial de aceptación en el que las hormigas toman dicho material y lo llevan al nido, las hormigas de colonias de laboratorio son capaces de dejar de recolectar el material con agente fungicida (cicloheximida) y

piel de naranja. Se observó que dicho rechazo se mantuvo durante varias semanas e incluso se rechazó el material de control sin fungicida (Ridley et al., 1996). Por lo tanto, el rechazo ocurre cuando una sustancia determinada en una planta tiene un efecto fungicida y las obreras rechazan dicha planta en una segunda oportunidad como forma de evitar una nueva intoxicación del hongo. Este fenómeno se basa en la experiencia olfativa de las obreras capaces de asociar el olor de la planta forrajada con el evento de intoxicación.

Saverschek y Roces (2011), estudiaron el comportamiento olfativo en colonias de *Acromyrmex ambiguus* a través de un método en el que la hormiga al enfrentarse a una bifurcación obstaculizada debía seleccionar un camino. Se observó que el rechazo del sustrato (material vegetal infiltrado con fungicida) anteriormente preferido por las hormigas tuvo posteriormente una mayor aceptación cuando se les ofreció en forma “aromática” que en lugar de plantas enteras. Esto indica que las hormigas asocian estímulos gustativos y olfativos del sustrato incorporado en el hongo, por lo que el olor de la planta podría ser suficiente para recordar la experiencia negativa y asociar la inadecuación de dicha planta para el hongo simbiótico.

Con esta información cabe preguntarse si el mismo comportamiento ocurre cuando se enfrentan a un cebo hormigucida, donde el rechazo tardío provoca que las obreras sean capaces de asociar el olor del cebo con un “envenenamiento” cuando han sido expuestas a una subdosificación previa subletal que no controló la colonia. Por lo que percibir el olor del cebo en una segunda aplicación provocaría el rechazo de éste, evidenciado en la presencia de remanente no forrajado y la sobrevivencia de la colonia.

2.6. HIPÓTESIS

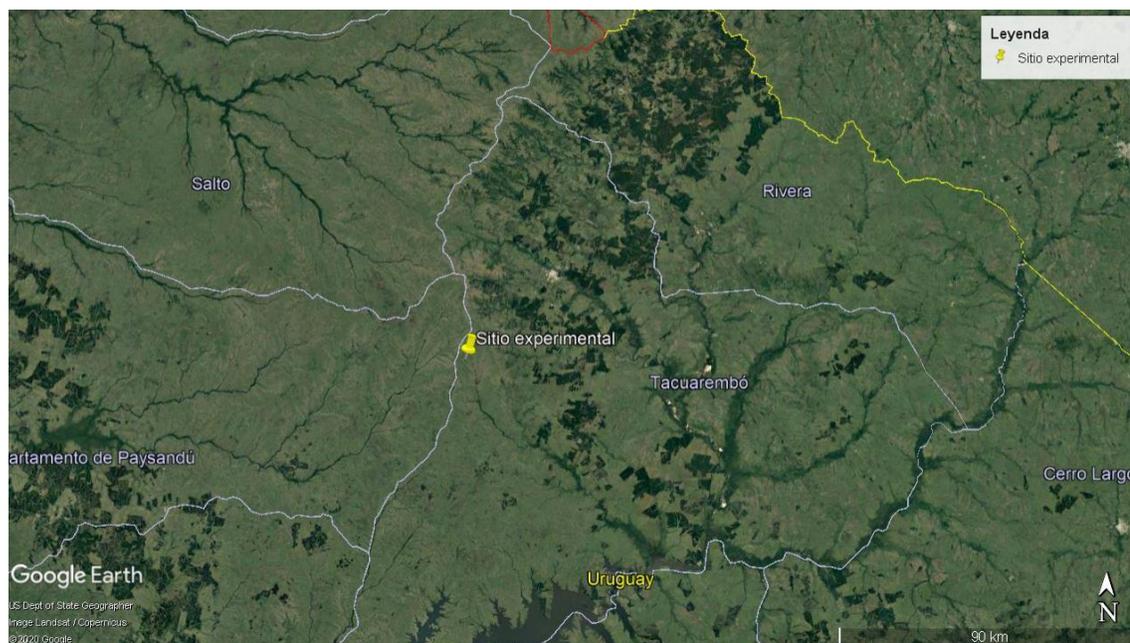
El efecto de una aplicación primaria con subdosificación de cebos tóxicos en las hormigas cortadoras de hojas, genera rechazo tardío del cebo hormigucida frente a una aplicación secundaria, resultando en un remanente de cebo sin forrajear y en la supervivencia de la colonia que se pretendía controlar.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Con el fin de comprobar la existencia del rechazo tardío en HCH con aplicación de cebos hormiguicidas, se procedió a subdosificar en una primera aplicación colonias de campo de *Acromyrmex lobicornis* y se estudió la aceptación de una segunda aplicación con dosis letal recomendada.

3.1. SITIO DE ESTUDIO

El experimento se llevó a cabo en un predio de propiedad privada que se ubica en el departamento de Tacuarembó, Uruguay, en el límite con el departamento de Paysandú. El sitio experimental carece de un historial de control de hormigas cortadoras, se encuentra a 500 metros sobre el camino que une a los pueblos de Tambores y Piedra Sola. Se encuentra a 10 km al Sur de la Villa Tambores y 15,5 km al Norte del pueblo de Piedra Sola. En dicho punto sale un camino en dirección Este, sobre el cual se ubican los hormigueros a una distancia máxima de 500 metros (figura No. 1).



Latitud promedio del sitio experimental: 37° 57' 17" Sur y longitud 56° 15' 55" Oeste; 230 msnm (es decir, metros sobre el nivel del mar con punto cero en el puerto de Montevideo).

Figura No. 1. Ubicación del sitio experimental en el departamento de Tacuarembó, Uruguay

El período de evaluación comprendió 50 días desde el 31 de enero de 2020 al 21 de marzo de 2020.

3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El presente trabajo consistió de dos etapas, una primera etapa en el laboratorio y la segunda etapa a campo.

La primera etapa se llevó a cabo en el laboratorio de Entomología de Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Se procedió a fraccionar las unidades de cebos con el fin de aumentar el número de cebos contenidos en 1g y de esta manera lograr que un mayor número de obreras tuvieran contacto con el cebo tóxico y experimentaran la intoxicación. Luego, se procedió a la preparación de distintas dosis de sulfloramida en recipientes de plástico haciendo uso de una balanza analítica, pinzas de metal, papel aluminio, bolsas, guantes y marcador permanente (figuras No. 2 y No. 3). Se prepararon 20 recipientes para cada tratamiento conteniendo en ellos la dosis correspondiente.



Figura No. 2. Balanza analítica (máx. 220g d=0.1 mg)



Figura No. 3. Pinzas de metal, papel aluminio, bolsas, guantes y marcador permanente

En la segunda etapa realizada a campo, se identificaron 60 hormigueros experimentales de la especie *Acromyrmex lobicornis*. Se numeró de forma aleatoria todos los hormigueros desde el número 1 al 60, y luego se les asignó nuevamente al azar el tratamiento correspondiente. Se georreferenciaron e identificaron cada uno con una “tabla de madera” rotulando el número del hormiguero y el tratamiento correspondiente (figura No. 4). De esta manera, cada tratamiento quedó representado por 15 repeticiones de hormigueros, siendo cada hormiguero una repetición.



Figura No. 4. Nido de *Acromyrmex lobicornis* con “tabla de madera” rotulada

En esta etapa se evalúan cuatro tratamientos:

1. Testigo sin aplicación inicial (es decir, Test);
2. Aplicación de una subdosificación inicial de 0,25 g de sulfluramida por hormiguero (0,25g);
3. Aplicación de una subdosificación inicial de 0,5 g de sulfluramida por hormiguero (0,5g);
4. Aplicación de una subdosificación inicial de 1 g de sulfluramida por hormiguero (1g).

De manera independiente, al inicio de esta segunda etapa se realizó un control total con dosis letal recomendada a 5 hormigueros “extra” de la especie *Acromyrmex lobicornis* en el mismo sitio, con el objetivo de corroborar la eficacia del cebo utilizado y conocer el comportamiento de las hormigas frente al cebo para poder comparar con el desempeño de los demás tratamientos.

En esta segunda etapa a campo es importante destacar que se identifican claramente dos fases, una fase inicial de subdosificación y una fase final de comprobación de la existencia de rechazo tardío.

En ambas fases se determinó la presencia/ausencia de actividad, forrajeo y muertes, para cada uno de los hormigueros experimentales.

El cebo utilizado fue sulfluramida, colocado en recipientes de plástico; ubicado a aprox. 30 cm desde la entrada del camino al hormiguero y a 10 cm al costado del mismo.

La primera fase tuvo una duración de 20 días, comenzó el 31/01/2020 y finalizó el 19/02/2020. El objetivo de esta fase fue lograr una subdosificación previa en los hormigueros experimentales. Se realizó una primera aplicación de cebo sulfluramida, aplicando a cada hormiguero la dosis aleatoria correspondiente. Se estimaron las variables nombradas con anterioridad a las 24 horas, 48 horas, 72 horas, 5 días, 14 días y 20 días luego de la aplicación inicial.

La segunda fase tuvo una duración de 31 días, comenzó el 19/02/2020 y finalizó el 21/03/2020. En este caso el objetivo fue comprobar la existencia de rechazo tardío luego de una segunda aplicación con la dosis letal recomendada. Se realizó una segunda aplicación de cebo sulfluramida, en este caso se aplicó la dosis óptima (10 g) a todos los hormigueros experimentales (inclusive a los Test). A las 24 horas de esta segunda aplicación, se retiraron los recipientes de cebo que habían a campo y se midió el remanente. Nuevamente se determinó la actividad, forrajeo, hormigas y hormigueros muertos, en cada uno de los

hormigueros experimentales a las 48 horas, 72 horas, 5 días, 14 días, 21 días, 27 días y 30 días.

En cuanto a los Test pretenden tener doble función: 1) en la primera aplicación ser el testigo con el que se comparan los restantes tratamientos para las diferentes variables, 2) en la segunda aplicación ser el testigo al que no se le había subdosificado previamente.

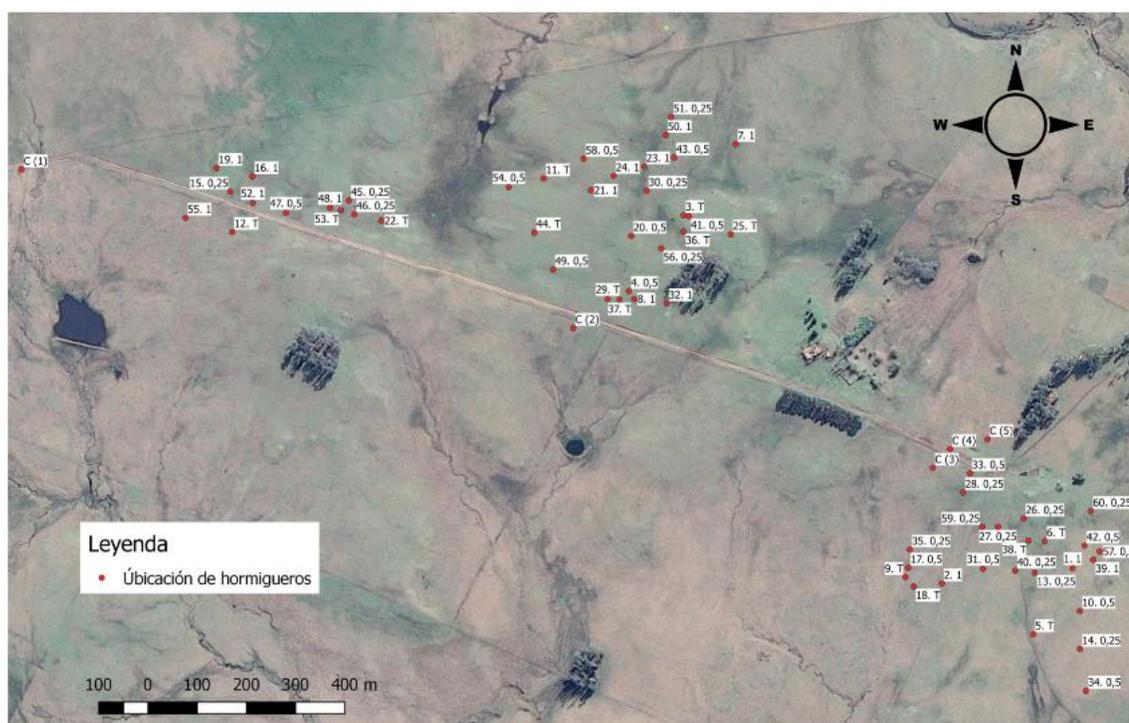


Figura No. 5. Distribución de los hormigueros identificados y evaluados en el sitio experimental

En la figura No. 5 se puede observar la distribución de los hormigueros en el sitio experimental, en el cual se aprecia que cada hormiguero (representado por un punto rojo) presenta su numeración y el tratamiento al cual corresponde. Por ejemplo, el hormiguero "44. T" significa que es el hormiguero número 44, y que corresponde al tratamiento Test. Por otra parte, los hormigueros llamados "control" están representados en la figura No. 5 con una letra C mayúscula y un número que identifica el hormiguero de control.

3.3. VARIABLES A ESTIMAR

- Actividad

Para estimar la actividad de los hormigueros (Act) se observa en la parte superior del hormiguero, y se determina presencia de actividad cuando hay hormigas en movimiento.

- Forrajeo

La estimación del forrajeo (Forr) se hace mediante la observación de los caminos de HCH, dichas hormigas deben llevar carga de hojas (acarreo).

- Hormigas muertas

Por otro lado, las hormigas muertas (hm) se determinan mediante la observación de “montoncitos” de hormigas en el basurero dispuestas en posición fetal, arrolladas, duras al tacto. También se puede observar hormigas solitarias en el camino de forrajeo, en la entrada de éste o en los costados de los caminos. Por ende, esta observación se hace en distintos puntos del hormiguero: basurero, caminos y/o bordes de caminos.

- Remanente

El remanente (Rem) se determina mediante el peso de los cebos que quedan en los recipientes con una balanza de precisión.

- Hormigueros muertos

En cuanto a los hormigueros muertos (HM), se los determina por ausencia de hormigas vivas en movimiento tanto en la base del hormiguero como en los caminos de forrajeo.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con el fin de comparar los resultados obtenidos para su posterior discusión se recurrió al análisis estadístico.

Existen dos maneras a través de las cuales se podría llevar a cabo dicho análisis, por un lado, la estadística paramétrica, la cual dentro de sus supuestos establece que los valores de diferentes grupos poseen distribución normal, es decir, se distribuyen de forma simétrica respecto a la media. Por otro lado, la estadística no paramétrica, que no establece supuestos distribucionales.

Como las variables (Act, Forr, hm y HM) medidas en la presente investigación no presentan distribución normal, los datos obtenidos fueron analizados a través de la estadística no paramétrica.

Para llevar a cabo este análisis se utilizan pruebas Chi-cuadrado haciendo uso de Microsoft Excel (versión 2013), las cuáles a través de un grupo de contraste de hipótesis permiten comprobar afirmaciones acerca de las funciones de probabilidad de una o dos variables aleatorias.

Además, permiten averiguar si dos variables eran independientes estadísticamente, por lo que se hizo un chi-cuadrado de independencia o contingencia.

Por otro lado, para el caso de la variable Rem que es continua y presenta distribución normal se procedió a utilizar un método paramétrico como es el ANOVA, el cual se hizo en el programa estadístico InfoStat versión 2020.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

Fase I

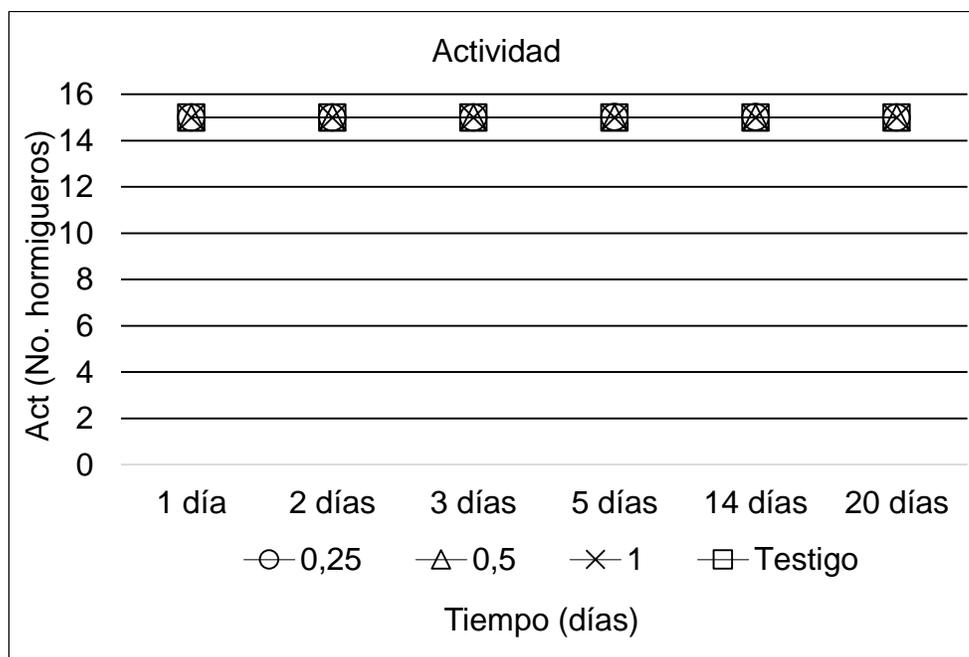


Figura No. 6. Número de hormigueros que mostraron actividad (Act), en función del tiempo para cada tratamiento luego de la primera aplicación

En la figura No. 6 se observa la evolución de la variable Act de los hormigueros de *Acromyrmex lobicornis* según la dosis aplicada en la Fase I.

La actividad se mantuvo en todos los hormigueros experimentales para los cuatro tratamientos en los diferentes momentos luego de la primera aplicación.

La prueba de chi-cuadrado no evidenció diferencias significativas entre los tratamientos respecto al testigo ($X^2_4=0.000$, $p<0.10$) para la variable Act.

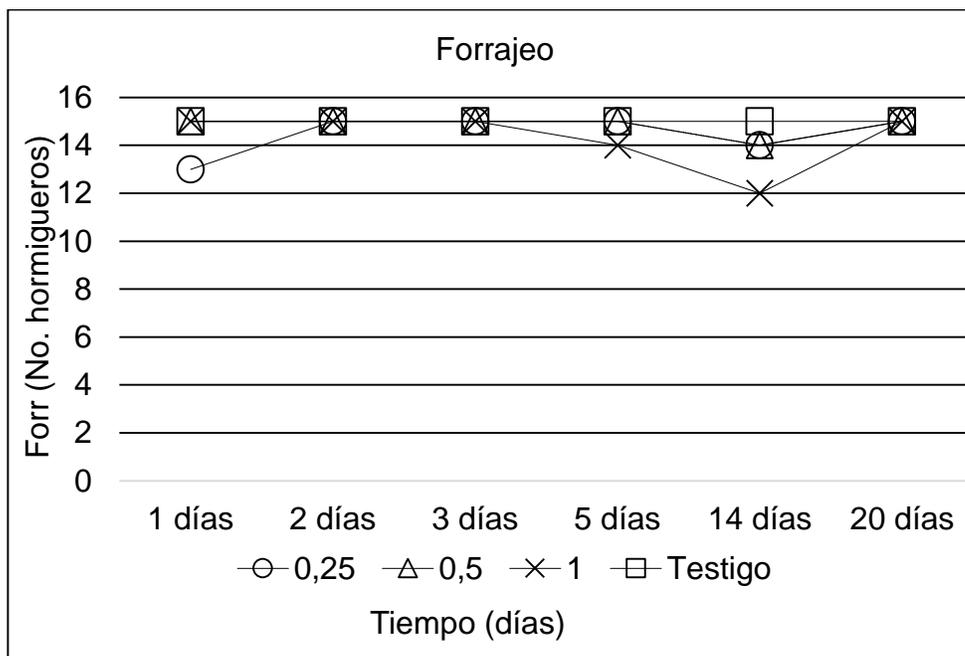


Figura No. 7. Número de hormigueros que mostraron forrajeo (Forr), en función del tiempo para cada tratamiento luego de la primera aplicación

En la figura No. 7 se observa la evolución del forrajeo de los hormigueros de *Acromyrmex lobicornis* según la dosis aplicada en la Fase I.

Éste se mantuvo en los diferentes momentos luego de la primera aplicación para el Test. En el caso de los tratamientos restantes, el Forr presentó un pico de descenso el día 14 que se revierte el día 20. En el caso de 1g dicho descenso es el más pronunciado.

La prueba de chi-cuadrado no evidenció diferencias significativas ($X^2_4=0.000$, $p<0.10$) respecto al Test para la variable Forr.

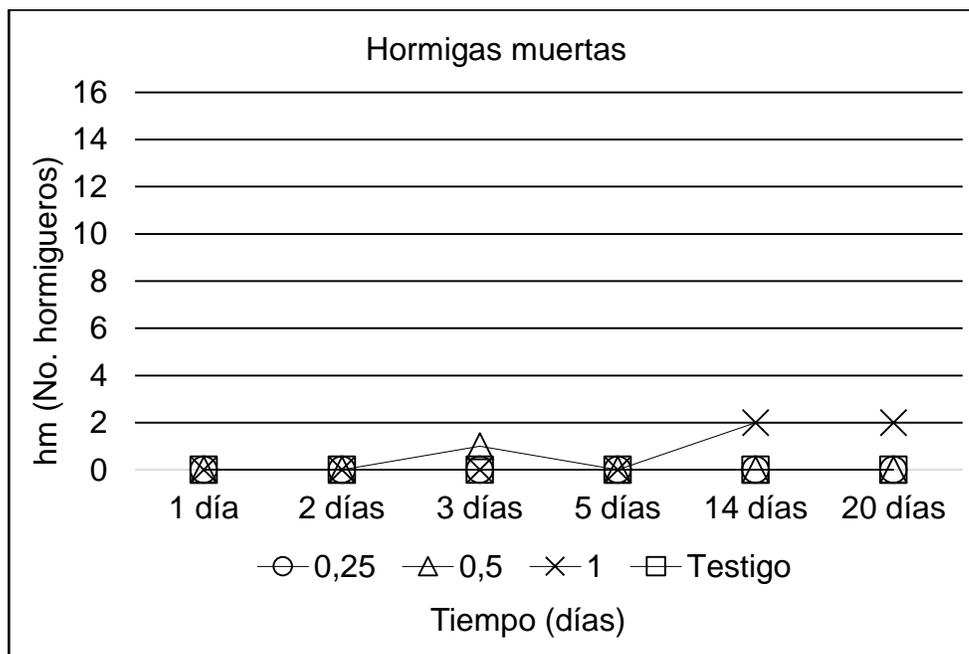


Figura No. 8. Número de hormigueros que mostraron hormigas muertas (hm), en función del tiempo para cada tratamiento luego de la primera aplicación

En la figura No. 8 se observa la evolución de las hormigas muertas (hm) de *Acromyrmex lobicornis* según la dosis aplicada en la Fase I.

El día 3 se apreció un aumento de esta variable para los hormigueros tratados con una subdosificación de 0,5g, mientras que el tratamiento con 1g el aumento de hm se verificó del día 5 hasta el día 20. El Test y el 0,25g se mantuvieron sin presencia de hm durante todo el período evaluado.

La prueba de chi-cuadrado no detectó una diferencia significativa de los tratamientos respecto al testigo ($X^2_4=6.207$, $p<0.10$) para la variable hm.

Fase II

Pasadas las 24 horas luego de la segunda aplicación con dosis de control (10 g), se verificó si el cebo se había tomado por completo o si dentro de los recipientes aún permanecía parte de la dosis aplicada.

Cuadro No. 1. Número de hormigueros que presentaron Rem según efecto tratamiento luego de la segunda aplicación

Trat.	No. de hormigueros
Test	0
0,25g	2
0,5g	2
1g	2

A través de la prueba chi-cuadrado se evidenció que no existen diferencias significativas entre tratamientos ($X^2_4=2.222$, $p<0.10$) respecto al testigo para Rem (cuadro No. 1).

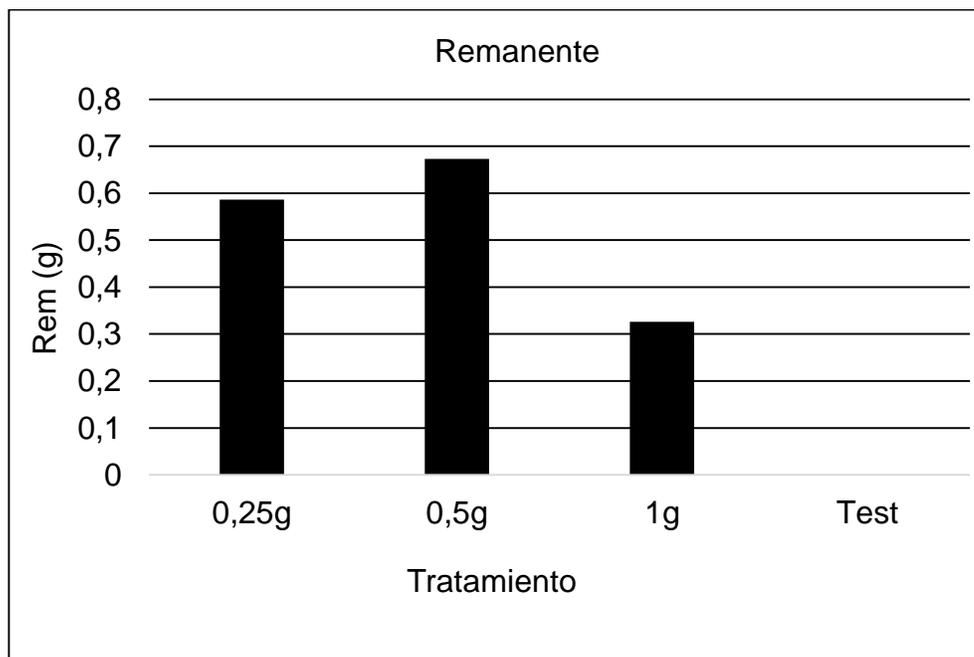


Figura No. 9. Promedio de cebos Rem (g) en función de los tratamientos 24 horas luego de la segunda aplicación

En la figura No. 9 se representan los remanentes obtenidos en la totalidad de los hormigueros experimentales. Se observó que, en 0,25g, 0,5g y 1g presentan remanentes a diferencia del Test.

Cuadro No. 2. Peso promedio de los cebos remanentes (Rem) según efecto tratamiento luego de la segunda aplicación, considerando el total de los hormigueros experimentales

Trat.	Remanente (g)
Test	0 A
0,25g	0,586 A
0,5g	0,673 A
1g	0,326 A

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes con $p < 0,10$

Mediante el test de Tukey se evidenció que no existen diferencias significativas entre los tratamientos respecto a la variable Rem (cuadro No. 1).

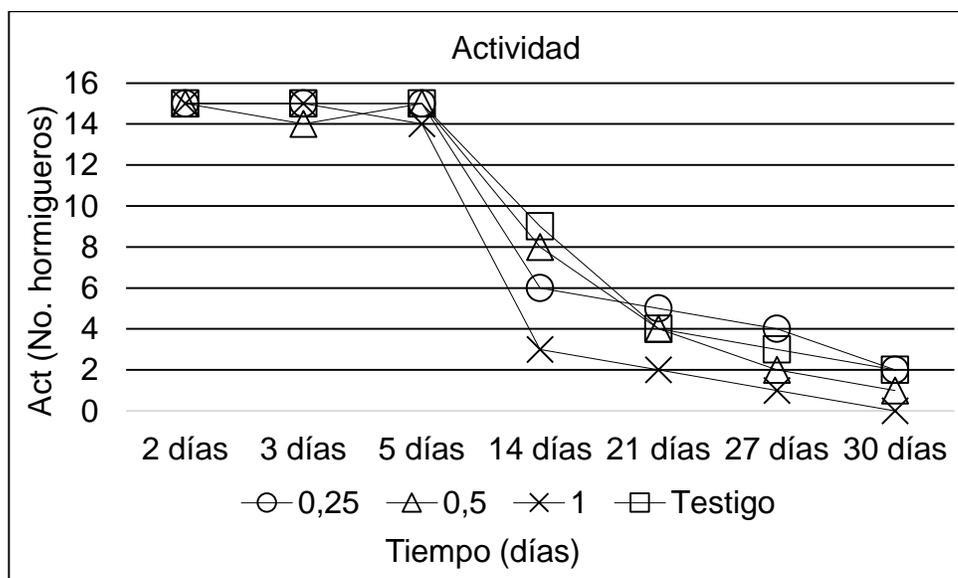


Figura No. 10. Número de hormigueros que exhibieron actividad (Act), en función del tiempo para cada tratamiento luego de la segunda aplicación

En la figura No. 10 se observa la evolución de la variable actividad (Act) de los hormigueros de *Acromyrmex lobicornis*, luego de la aplicación de dosis letal recomendada para cada tratamiento en la fase II.

En efecto se observó que la Act comenzó a disminuir con el paso del tiempo para todos los tratamientos, siendo ésta más pronunciada en los tratamientos con mayor subdosificación inicial (1g) (figura No. 10).

A través de la prueba chi-cuadrado se evidenció que los restantes tres tratamientos no difieren significativamente del Test ($X^2_4=2.400$, $p<0.10$) para la variable Act.

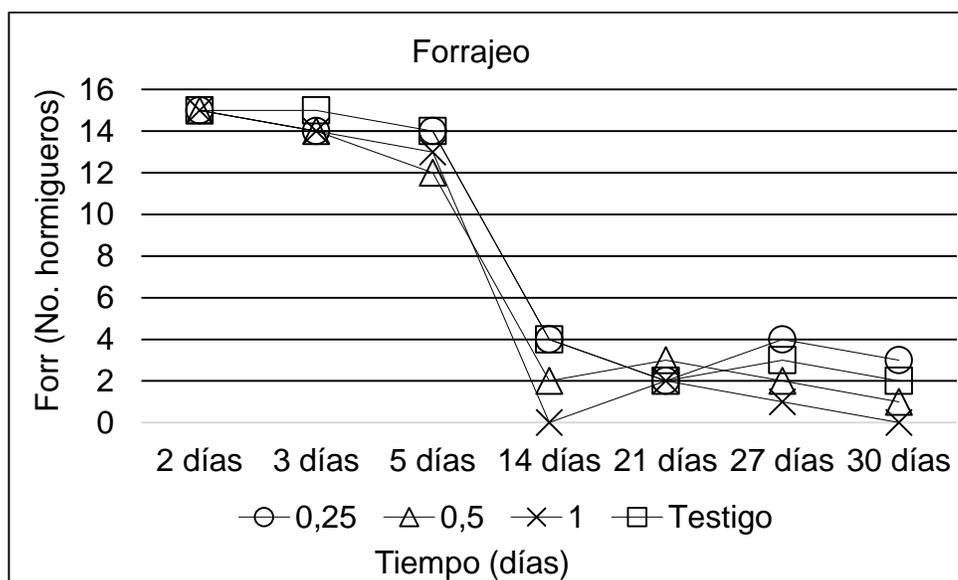


Figura No. 11. Número de hormigueros que mostraron forrajeo (Forr), en función del tiempo para cada tratamiento luego de la segunda aplicación

En la figura No. 11 se observa el número de hormigueros que mostraron forrajeo (Forr) para cada tratamiento en la fase II a lo largo del período de evaluación.

Dicha variable disminuyó para todos los tratamientos a pesar de las fluctuaciones, al igual que la variable actividad el forrajeo se vio más afectado cuando mayor es la subdosificación inicial.

No se detectaron diferencias significativas entre los restantes tres tratamientos respecto al Test ($X^2_4=3.704$, $p<0.10$) para la variable Forr.

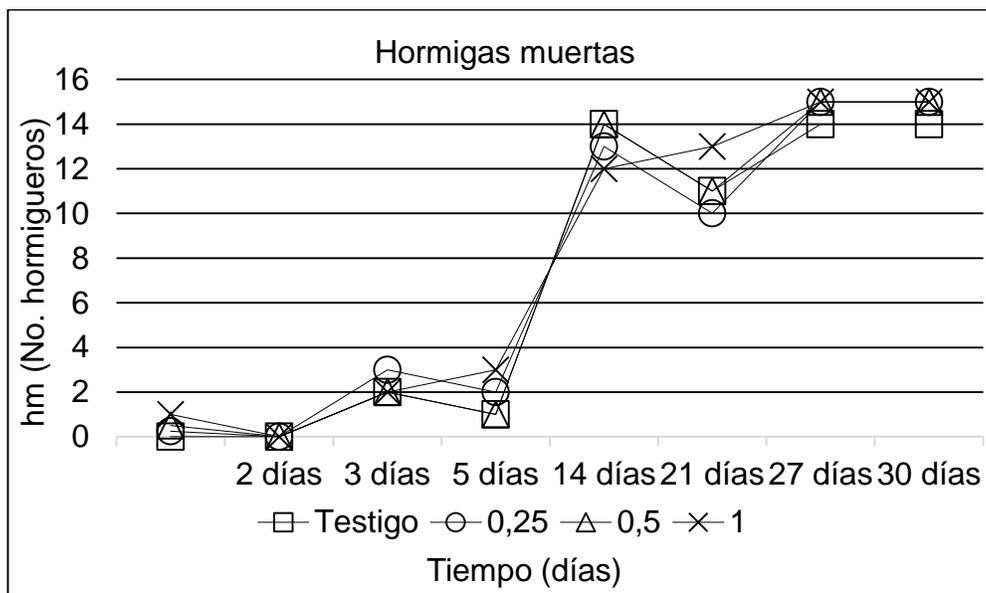


Figura No. 12. Número de hormigueros que presentaron hormigas muertas (hm), en función del tiempo para cada tratamiento luego de la segunda aplicación

En la figura No. 12 se observa el número de hormigueros que mostraron presencia de hormigas muertas (hm) para cada tratamiento luego de la segunda aplicación.

Se observó que todos los tratamientos alcanzaron el total de hormigueros con hormigas muertas el día 30 a excepción del Test. Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas entre los restantes tratamientos respecto al Test ($X^2_4=3.051$, $p<0.10$) para la variable hm.

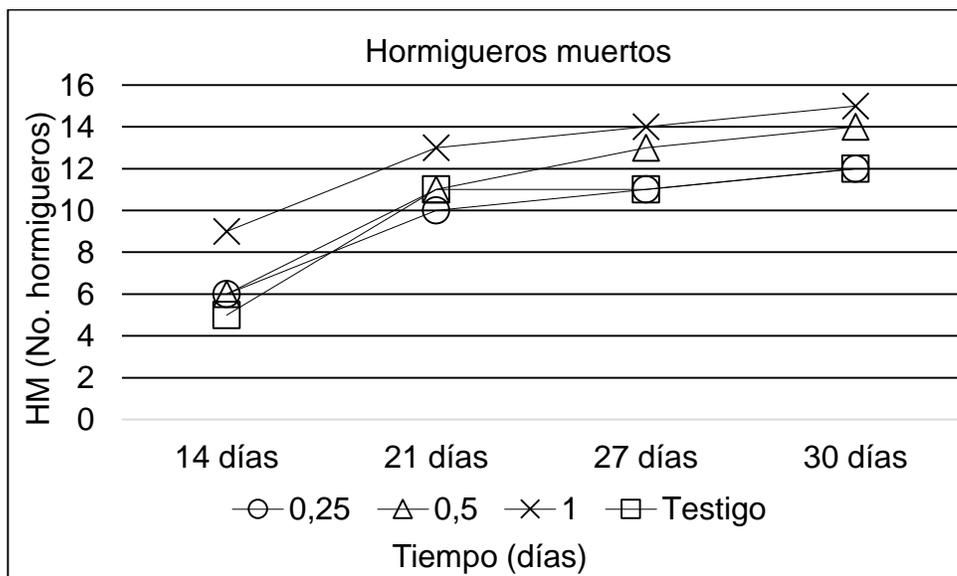


Figura No. 13. Número de hormigueros muertos (HM), en función del tiempo para cada tratamiento luego de la segunda aplicación

En la figura No. 13 se representa el número de hormigueros muertos (HM) según efecto tratamiento en la fase II.

Se evidenció un aumento en el número de hormigueros muertos en el tiempo para todos los tratamientos (figura No. 13). Sin embargo, se observó que el tratamiento de 1g alcanzó el total de hormigueros muertos al día 30, seguido por el tratamiento de 0,5g.

Los tratamientos no exhibieron diferencias significativas respecto al Test ($X^2_4=4.367$, $p<0.10$) para la variable HM.

4.2. DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo no permiten afirmar la existencia de rechazo tardío del cebo hormiguicida sulfluramida. Esta situación se fundamenta con la falta de diferencias significativas en los cuatro tratamientos analizados, lo cual llevaría a descartar en primera instancia la hipótesis planteada.

Sin embargo, al analizar el comportamiento observado luego de las aplicaciones, se puede determinar que si bien el análisis de los resultados arrojó valores que permiten refutar la hipótesis, se encontró como resultado de la segunda aplicación que algunas colonias contenían sobrantes de la dosis (Rem), lo que indica que no todo el cebo fue transportado hacia el interior del hormiguero. Por lo tanto, existe la posibilidad de discutir sobre el rechazo tardío.

Si este comportamiento se compara con los Test sin aplicación primaria, pero sí expuestos a la misma dosis en la segunda aplicación, se observa que todo el contenido de los recipientes fue transportado. Dicha situación permite afirmar entonces que entre hormigas experimentadas y no experimentadas hay una diferencia en cuanto al comportamiento de transporte del cebo.

Si bien la información disponible sobre investigaciones realizadas a campo es limitada, la mayoría hace uso de cebos fungicidas y no hormiguicidas, y teniendo presente la diferencia entre géneros y especies utilizadas, para contrastar estos resultados, Ridley et al. (1996) obtuvieron resultados similares en *Atta cephalotes* utilizando un fungicida (cicloheximida) en los caminos de forrajeo. Estos autores observaron que las hormigas previamente expuestas al fungicida rechazaron dichos gránulos, a diferencia de las hormigas en otros senderos del mismo hormiguero que no fueron previamente expuestas y se observó que aceptaron el fungicida.

En el estudio mencionado anteriormente, se tuvo en cuenta un camino “principal” con mayor actividad de forrajeo al cual se le aplicó el fungicida en una primera aplicación. Posteriormente se aplicó en el mismo camino “principal” y además en caminos “testigos o secundarios”. Los resultados obtenidos en este estudio evidenciaron rechazo únicamente en el camino principal, las hormigas no experimentadas con el fungicida en primera instancia lo transportaron en su totalidad. Estos resultados podrían abrir la discusión acerca de si existe la posibilidad de que las mismas hormigas recorran el mismo camino diario durante la actividad de forrajeo, lo que podría explicar el hecho de que las mismas hormigas sean capaces de identificar el cebo y no así aquellas que no sufrieron la subdosificación previa. Por otro lado, también podría reflexionarse sobre el nivel de reconocimiento que podrían tener las hormigas, es decir, si éstas en lugar

de reconocer el “principio activo”, son capaces de reconocer el “sustrato atractivo” o el “sitio” donde se encuentra tal sustancia.

Otras investigaciones realizadas sobre el rechazo tardío de HCH fueron llevadas a cabo principalmente en condiciones de laboratorio. Herz et al. (2008), demostraron que las hormigas son capaces de discriminar entre hojas adecuadas y dañinas para el hongo debido a que manifestaron un comportamiento de rechazo específico hacia el tipo de hoja infiltrada con fungicida (cicloheximida). Esto indica que las hormigas son capaces de reconocer las hojas, evaluar su calidad y aprender a asociar características particulares a través de la reacción específica del hongo hacia la hoja. Lo mismo demostraron Saverscheck et al. (2009), así como Saverschek y Roces (2011).

En síntesis, si bien en la investigación realizada a campo por Ridley et al. (1996) se utilizaron aplicaciones dirigidas al hongo simbiótico y en la investigación actual se utilizó un cebo hormiguicida, en ninguno se obtuvieron resultados que manifiesten un rechazo tardío tan evidente como lo observado en condiciones de laboratorio por (Saverschek y Roces, 2011). Por lo tanto, lo que podría cuestionarse con esta información es la dinámica de la colonia dentro del hormiguero cuando se realiza una experimentación in vitro a diferencia de una investigación in situ.

Aunque todas las investigaciones anteriores han exhibido presencia de rechazo tardío, independientemente de sus métodos, dicho rechazo no ha sido completo, sino que por lo general un porcentaje de obreras encargadas del forrajeo continúan ingresando material dañino dentro del hormiguero. Según Saverschek y Roces (2011), una vez que el material fungicida ingresa, los fragmentos son masticados e incorporados, se le agregan hifas del hongo entre otros procesos. Cualquier cambio producido por el material perjudicial dentro del jardín de hongos a medida que transcurre el tiempo, disminuye la posibilidad de ser detectados por aquellas hormigas que no han sufrido experimentación previa, a las que normalmente se les denomina “ingenuas”. Esta situación podría ser entonces la razón por la cual cierto número de obreras (así sea una minoría) continúan aceptando el material inadecuado, ya que es posible que no hayan experimentado el efecto perjudicial sobre el hongo.

Respecto al Rem luego de la aplicación secundaria, se observó que el tratamiento con 1g de sulfluramida dejó a campo menor cantidad de cebo hormiguicida, omitiendo el Test que no evidenció presencia de remanente (cuadro No. 2 y figura No. 9). Si se analiza esta situación, es posible que la dosis utilizada de 1g sea elevada para realizar la subdosificación, debido a que, si bien no fue significativo el número de hormigas muertas luego de la misma respecto a los demás tratamientos, se observa que a los 14 y 20 días posteriores a la

primera aplicación hubo cierta presencia de hormigas muertas para 1g (figura No. 8). Por lo tanto, esto podría ser el resultado de que parte de las hormigas que tuvieron contacto con la subdosificación hayan muerto y luego de la segunda aplicación otras obreras que no tuvieron contacto con la misma hayan tomado la mayor parte del cebo, dejando menos remanente. Esta situación podría evidenciar la existencia de rechazo tardío en al menos algunas obreras de la colonia.

Por el contrario, los tratamientos que presentaron mayor remanente en el recipiente fueron las dosis de 0,25g y 0,5g. Esto podría deberse a que el impacto de mortalidad que generó la subdosificación fue menor permitiendo que hormigas experimentadas puedan enfrentarse al cebo y rechazarlo. En lo que respecta a los Test se acarreó todo el cebo ya que no se encontró remanente en los recipientes (cuadro No. 1). Sin embargo, se observó que algunos hormigueros Test permanecieron vivos durante más tiempo que otros (14 a +30 días post aplicación de 10g). Teniendo en cuenta que cuando se aplicó con la dosis letal recomendada a los cinco hormigueros "control", estos se encontraron muertos al día 20 de observación. Por lo tanto, surge la pregunta de si podría existir un factor que esté afectando la eficiencia de aplicación.

Analizando la perspectiva de control del total de hormigueros experimentales, se observa que el día 30 aún se encontraban hormigueros vivos. De ellos, tres pertenecían a Test, tres a 0,25g y uno a 0,5g pero no se encontraron hormigueros tratados con 1g que continuaran vivos a esa fecha. Esto podría asociarse a que la dosis de 1g afectó de manera importante la sobrevivencia de la colonia como se mencionó anteriormente, aunque no debería descartarse la influencia de otros factores que afecten el tiempo de muerte como podría ser el efecto del ambiente (temperaturas, lluvias, humedad, entre otras) y/o el efecto tamaño del hormiguero, que podría haber afectado la sobrevivencia de dichas colonias.

5. CONCLUSIONES

No existe rechazo tardío de cebos hormiguicidas. De acuerdo con el análisis estadístico, los resultados no fueron significativos al realizar una subdosificación en una aplicación primaria seguida por una aplicación secundaria de dosis letal recomendada.

Podría ocurrir “cierto” rechazo tardío de cebos hormiguicidas explicado por el 10% de los hormigueros experimentales que evidenciaron la presencia de Rem, pero de todas formas los datos obtenidos muestran que no son significativos teniendo en cuenta el total de hormigueros evaluados.

Entre hormigas experimentadas (0,25g, 0,5g, 1g) y no experimentadas (Test) hay cierta diferencia en cuanto a la aceptación del cebo luego de la segunda aplicación. Por lo tanto, se concluye que la subdosificación aplicada podría estar influyendo directamente en la evidencia del rechazo tardío.

Con fines de seguimiento de la investigación, para realizar la subdosificación se sugiere utilizar una dosis entre 0,25g y 0,5g ya que como se evidencia en las gráficas de Forr y hm de la fase I (figuras No. 7 y No. 8) los hormigueros que recibieron dosis de 1g se vieron más afectados y presentaron menor peso de remanente final.

Desde el punto de vista de la metodología, debería seleccionarse un camino “principal” para la aplicación primaria y luego comparar con caminos “testigos” en una aplicación secundaria. De esta manera evaluar si la existencia del rechazo tardío de obreras hacia el cebo hormiguicida se debe al reconocimiento del sitio o de dicho cebo. Para determinar si el reconocimiento es hacia el principio activo o hacia el sustrato atractivo (pulpa de naranja), podría realizarse una aplicación de fipronil post segunda aplicación de sulfluramida, el rechazo de ambos cebos implicaría el reconocimiento del sustrato atractivo y en caso de aceptación del fipronil se determinaría el reconocimiento del principio activo.

Otra recomendación podría ser no realizar una aplicación primaria de forma aleatoria, sino que se debe tener en cuenta el volumen del hormiguero seleccionado para determinar la dosis con la que se realizará dicha aplicación.

Además, como última recomendación se sugiere realizar la presente investigación en condiciones de laboratorio (manteniendo las dosis y el principio activo utilizado) esto permitirá contrastar de mejor manera los resultados obtenidos.

Finalmente, desde la perspectiva del manejo de la plaga se concluye que es posible obtener un control sistemático eficaz luego de una subdosificación previa. Sin esperar existencia de rechazo por parte de las obreras.

6. RESUMEN

En Uruguay las HCH constituyen una amenaza para las plantaciones forestales, dado el aumento de la superficie plantada bajo certificación y la eficacia del control químico se propone como desafío reducir el uso de cebos químicos exigiendo un correcto ajuste de la dosis y el momento de control. Es una problemática actual conocida que las obreras rechazan el cebo en una aplicación secundaria luego de una falla en la primera aplicación. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar la existencia del rechazo tardío de cebos tóxicos en una aplicación secundaria de cebos hormiguicidas, cuando ha ocurrido una subdosificación previa en una aplicación primaria. El experimento se llevó a cabo en un predio de propiedad privada en el departamento de Tacuarembó, Uruguay, en el límite con el departamento de Paysandú. El sitio experimental se encuentra a 500 metros sobre el camino que une a los pueblos de Tambores y Piedra Sola. Se encuentra a 10 km al Sur de la Villa Tambores y 15,5 km al Norte del pueblo de Piedra Sola. En dicho punto sale un camino en dirección Este, sobre el cual se ubican los hormigueros a una distancia máxima de 500 metros. Latitud promedio del sitio experimental: 37° 57' 17" Sur y longitud 56° 15' 55" Oeste; 230 msnm². El período de evaluación comprendió 50 días desde el 31 de enero al 21 de marzo de 2020. Se identificó y numeró de forma aleatoria todos los hormigueros de la especie *Acromyrmex lobicornis* desde el número 1 al 60, y luego se les asignó nuevamente al azar el tratamiento correspondiente (Test, 0,25g, 0,5g y 1g). De esta manera, cada tratamiento está representado por 15 repeticiones de hormigueros. Por otra parte, se identificaron 5 hormigueros extra de la especie *Acromyrmex lobicornis*, llamados "control" a los cuales se les aplicó la dosis óptima al inicio del experimento para corroborar la eficiencia del cebo sulfloramida. Los hormigueros utilizados durante el período experimental en total fueron 65. Las variables analizadas fueron: forrajeo, actividad, hormigas muertas, hormigueros muertos y remanente. Los resultados obtenidos del experimento mostraron que para la aplicación primaria no hubo diferencias significativas en cuanto a las variables medidas de actividad, forrajeo y hormigas muertas. Estos resultados eran esperables dado que no se pretendía afectar la actividad de la colonia para luego realizar la aplicación secundaria de control. Como resultado de la segunda aplicación se obtuvo que pasadas las 24 horas, seis de los hormigueros (dos correspondientes a cada tratamiento, excepto para el testigo) contenían dentro de los recipientes parte de la dosis aplicada a la cual se le denominó "remanente", se observó que existe mayor remanente cuando la subdosificación previa fue de 0,5g y menor remanente para una dosis de 1g. Respecto a las otras variables medidas como actividad, forrajeo, hormigas y hormigueros muertos no se encontraron diferencias significativas respecto al testigo, sin embargo, se observa una tendencia al aumento de cada variable para todos los tratamientos.

Palabras clave: Hormigas cortadoras de hojas; *Acromyrmex lobicornis*; Manejo de plagas; Control químico; Sulfluramida; Trofalaxia.

7. SUMMARY

In Uruguay, leaf-cutting ants constitute a threat to forest plantations, given the increase in the area of the plantation under certification and the effectiveness of chemical control, it is proposed as a challenge to reduce the use of chemical baits by requiring a correct adjustment of the dose and the moment of control. It is a known current problem that the workers reject the bait in a secondary application after a failure in the first application. The objective of this work consisted in evaluating the existence of delayed rejection of toxic baits in a secondary application of formicid baits, when a previous underdosing has occurred in a primary application. The experiment was carried out on a private property in Tacuarembó bordering Paysandú, both provinces of Uruguay. The experimental site is located 500 meters on the road between two towns named Villa Tambores and Piedra Sola. It is located 10 km to the south of Villa Tambores and 15.5 km to the north of Piedra Sola, a point where the path heads east, on which the anthills are located within a maximum distance of 500 meters high. Average latitude of the experimental site: 37° 57' 17" South and longitude 56° 15' 55" West; 230 meters above sea level. The evaluation period of fifty days ran from January 31st. 2020 to March 21st. 2020. All anthills were arbitrarily numbered from number 1 to 60, and then the corresponding treatment (Trat, 0.25g, 0.5g, and 1g) was randomly assigned to them again. Therefore, each treatment is represented by 15 repetitions of anthills. On the other hand, 5 extra anthills of the *Acromyrmex lobicornis* species were identified, called "control" to which the optimal dose was administered at the beginning of the experiment to corroborate the efficiency of the sulfluramide bait. There were 65 anthills in total, used during the experimental period. The variables analyzed were: foraging, activity, dead ants, dead ant hills and remnant. The results obtained from the experiment showed that for the primary application there were no significant differences regarding the measured variables of activity, foraging and dead ants. These results were to be expected since it was not intended to affect the activity of the colony and then carry out the secondary control application. As a result of the second application obtained after 24 hours, that six out of the total anthills (two corresponding to each treatment, except for the control) had part of the applied dose in the containers, which was called "remnant". It was observed that there is a greater remnant when the previous underdosing was 0.5 g and a lower remnant for a 1g dose. Regarding the other variables measured such as activity and foraging, dead ants and anthills no significant differences were found with respect to the control, however, there is a tendency to increase for each variable for all treatments.

Keywords: Leaf cutter ants; *Acromyrmex lobicornis*; Pest management; Chemical control; Sulfluramide; Trofhalaxis.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Bass, M.; Cherrett, J. M. 1995. Fungal hyphae as a source of nutrients for the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. *Physiological Entomology*. 20:1-6.
2. Bellucci, I. G.; Pintos, M. A. 2014. Eficiencia en el transporte de cebos tóxicos por hormigas cortadoras del género *Acromyrmex*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 77 p.
3. Bentancourt, C. M. 2014. Manual de entomología. 3ª. ed. Montevideo, Facultad de Agronomía. 226 p.
4. 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. (en línea). *Environmental Entomology*. 45(4):1058-1062. Consultado 23 oct. 2020. Disponible en <https://academic.oup.com/ee/article-abstract/45/4/1058/2465619?redirectedFrom=fulltext>
5. Bernays, E. A.; Chapman, R. F. 1994. Host-plant selection by phytophagous insects. (en línea). New York, Chapman and Hall. 313 p. Consultado 23 oct. 2020. Disponible en https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=E5HwBwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR1&dq=Bernays+EA,+Chapman+RF.+1994.+Host-plant+selection+by+phytophagous+insects.&ots=qVWB_uAu5X&sig=YWsVDw5N3Ghlab2sBaogIEZMdQg#v=onepage&q&f=false
6. Bollazzi, M.; Roces, F. 2002. Thermal preference for fungus culturing and brood location by workers of the thatching grass-cutting ant *Acromyrmex heyeri*. (en línea). *Insectes Sociaux*. 49(2):153-157. Consultado 23 oct. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/215444073_Thermal_preference_for_fungus_culturing_and_brood_location_by_workers_of_the_thatching_grass-cutting_ant_Acromyrmex_heyeri
7. _____; 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. (en línea). *Oecologia*. 158(2):165-175. Consultado 14 abr. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/23138622_Soil_temperature_digging_behaviour_and_the_adaptive_value_of_nest_depth_in_South_American_species_of_Acromyrmex_leaf-cutting_ants
8. _____.; Roces, F. 2011. Information needs at the beginning of foraging: grass-cutting ants trade off load size for a faster return to the nest. (en línea). *PLoS ONE*. 6(3):1-9. Consultado 15 abr. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/50400001_Information_Needs_at_the_Beginning_of_Foraging_Grass-Cutting_Ants_Trade_Off_Load_Size_for_a_Faster_Return_to_the_Nest
 9. _____. 2014. Hormigas cortadoras de hojas *Acromyrmex* spp.: reconocimiento a campo de plagas y enfermedades forestales. (en línea). Montevideo, INIA/Facultad de Agronomía. 2 p. (Cartilla no. 36). Consultado 15 abr. 2020. Disponible en <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/3370/1/inia-cartilla36-Acromyrmex.pdf>
 10. Brady, S. G.; Schultz, T. R.; Fisher, B. L.; Ward, P. S. 2006. Evaluating alternative hypotheses for the early evolution and diversification of ants. (en línea). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103(48):18172-18177. Consultado 6 nov. 2020. Disponible en <https://www.pnas.org/content/103/48/18172>
 11. Caldato, N.; Forti, L. C.; Bouchebti, S.; Lopes, J. F. S.; Fourcassié, V. 2016. Foraging activity pattern and herbivory rates of the 40empe-cutting ant *Atta capiguara*. (en línea). *Insectes Sociaux*. 63(3):421-428. Consultado 22 oct.2020. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s00040-016-0479-x>
 12. Camargo, R. S.; Forti, L. C.; de Matos, C. A. O.; Lopes, J. F.; de Andrade, A. P. P. 2004. Physical resistance as a criterion in the selection of foraging material by *Acromyrmex subterraneus brunneus* Forel, 1911 (Hym., Formicidae). *Applied Entomology*. 128:329-331.
 13. Cameron, R. S. 1990. Potential baits for control of the Texas leaf-cutting ant, *Atta texana* (Hymenoptera: Formicidae). *In*: Vander Meer, R.

K.; Jaffe, K.; Cedeno, A. eds. Applied Myrmecology: a World Perspective. s.n.t. pp. 628-637.

14. Cherrett, J. M. 1972. Chemical aspects of plant attack by leaf-cutting ants. *In*: Harbourne, J. B. ed. Phytochemical ecology. London, Academic Press. pp. 13-24.
15. _____. 1986. History of the leaf-cutting ant problema. *In*: Lofgren, C. S.; Vander Meer, R. K. eds. Fire ants and leaf cutting ants: biology and management. Boulder, Westview. pp. 10-17.
16. _____. 1989. Leaf-cutting ants. *In*: Lieth, H.; Werger, M. J. A. eds. Tropical rain forest ecosystems: biogeographical and ecological studies. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier. pp. 473-488 (Ecosystems of the world v. 14B).
17. 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. (en línea). *Functional Ecology*. 23(1):133-140. Consultado 15 set. 2020. Disponible en <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2435.2008.01481.x>
18. de Britto, S. J.; Forti, L. C.; de Oliveira, M. A.; Zanetti, R.; Wilcken, C. F.; Zanuncio, J. C.; Loeck, A. E.; Caldato, N.; Nagamoto, N. S.; Lemes, P. G.; da Silva, R. 2016. Use of alternatives to PFOS, its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. (en línea). *International Journal of Research in Environmental Studies*. 3:11-92. Consultado 15 set. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/profile/Jose_Zanuncio/publication/303364980_Use_of_alternatives_to_PFOS_its_salts_and_PFOSF_for_the_control_of_leaf-cutting_ants_Atta_and_Acromyrmex/links/59e111f50f7e9b97f9e2b34c/Use-of-alternatives-to-PFOS-its-salts-and-PFOSF-for-the-control-of-leaf-cutting-ants-Atta-and-Acromyrmex.pdf
19. Della Lucia, T. M. C.; Moreira, D. D. O.; Oliveira, M. A. 1993. Inimigos naturais e organismos associados aos ninhos. *In*: Della Lucia, T. M. C. ed. As formigas cortadeiras. Viçosa, Brasil, UFV. pp. 131-150.

20. Duarte, C.; Grecco, C. 2016. Efecto de la distancia de aplicación y peso del cebo en la efectividad del control de hormigas cortadoras. Tesis Ing. Agr, Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 70 p.
21. 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.
22. Faroppa, C. 2017. El valor agregado de la cadena forestal ronda el 4% del PIB. (en línea). *El Observador*, Montevideo, UY, abr. 15:s.p. Consultado 17 mar. 2021. Disponible en <https://www.elobservador.com.uy/nota/el-valor-agregado-de-la-cadena-forestal-ronda-el-4-del-pib-20171125500>
23. Forti, L. C.; Pretto, D. R.; Nagamoto, N. S.; Padovani, C. R.; Camargo, R. S.; Andrade, A. P. P. 2007. Dispersal of the delayed action insecticide sulfuramid in colonies of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). (en línea). *Sociobiology*. 50(3):1149-1163. Consultado 7 nov. 2020. Disponible en https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/43493065/Dispersal_of_the_Delayed_Action_Insectic20160308-28003-ned3jy.pdf?1457425673=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3Ddispersal_of_the_Delayed_Action_Insectic.pdf&Expires=1604594100&Signature=SYxqWqx3FitzpkE84fzyRtZLpFols8aOx09gPhfZuCrAljOZ1obrasxq2he591S-081JyF~8LWYufInWJOGhkqIchtLiyD0enu~fDkrOeCUahpCFmaxUdkeBDefu3esGU-rD3Zkrugpz-luCEYOPorT7nr4o2KugUoBfnsKddX6j97JGYFhu9LVBmpXdAe6iMw4V3rnCnDLPxse~qB3DwXu7HdLxGi0FbA5IH80nXRnAcB-tLJ6ZNVHEoQWfvFLhc8qycu1Jc~ZkGzeJZxnYqgVp7xy9rJVic1kTD9oHXxgR4VThXHZJmuUdCoX7I9oIHvHgrrsfHIFLDj8EdjpuDQ&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA
24. Fowler, H. G.; Bernardi, J. V. E.; Delabie, J. C.; Forti, L.C.; Pereira-da-Silva, V. 1990. Major ant problems of South America. (en línea). In: Vander Meer, R. K.; Jaffé, K. Cadeno, A. eds. *Applied Myrmecology: a World Perspective*. Boulder, Westview. pp. 3-14. Consultado 15 oct. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/298426330_Major_ant_problems_of_South_America

25. Gunasekara, A. S.; Truong, T.; Goh, K. S.; Spurlock, F.; Tjeerdema, R. S. 2007. Environmental fate and toxicology of fipronil. *Journal of Pesticide Science*. 32(3):189-199.
26. Herz, H.; Hölldobler, B.; Roces, F. 2008. Delayed rejection in a leaf-cutting ant after foraging on plants unsuitable for the symbiotic fungus. (en línea). *Behavioral Ecology*. 19(3):575-582. Consultado 10 abr. 2020. Disponible en <https://academic.oup.com/beheco/article/19/3/575/186251>
27. Hölldobler, B.; Wilson, E. O. 1990. *The ants*. Cambridge, Massachusetts, Harvard University. 1530 p.
28. Howard, J. J. 1987. Leafcutting ant diet selection: the role of nutrients, water, and secondary chemistry. (en línea). *Ecology*. 68(3):503-515. Consultado 25 set. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/241839914_Leafcutting_Ant_Diet_Selection_The_Role_of_Nutrients_Water_and_Secondary_Chemistry
29. _____. 1988. Leafcutting ant diet selection: relative influence of leaf chemistry and physical features. (en línea). *Ecology*. 69(1):250-260. Consultado 25 set. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/254722683_Leafcutting_and_Diet_Selection_Relative_Influence_of_Leaf_Chemistry_and_Physical_Features
30. _____. 1990. Infidelity of leafcutting ants to host plants: resource heterogeneity or defense induction? *Oecologia*. 82:394-401.
31. Hubbell, S. P.; Wiemer, D. F.; Adejare, A. 1983a. An antifungal terpenoid defends a neotropical tree (*Hymenaea*) against attack by fungus-growing ants (*Atta*). *Oecologia*. 60(3):321-327.
32. _____.; _____. 1983b. Host plant selection by an attine ant. In: Jaisson, P. ed. *Social insects in the tropics*. Paris, Université Paris-Nord. pp. 133–154.
33. INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, AR). 2011. Control de hormigas en plantaciones forestales. (en línea). *Corrientes*. 25 p. Consultado mar. 2020. Disponible en

<https://inta.gob.ar/documentos/control-de-hormigas-en-plantaciones-forestales>

34. Jiménez, N. L. 2019. Patrones de herbivoría y co-ocurrencia de hormigas cortadoras de hojas en forestaciones y áreas naturales del Bajo Delta del Río Paraná, Argentina. (en línea). Tesis Doctorado. Buenos Aires, Argentina. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Ecología, Genética y Evolución. 197 p.
35. 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. (en línea). *Ecología Austral*. 71(1-2):37-44. Consultado 7 nov. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/262748416_Patrones_de_actividad_forrajera_y_tamano_de_nido_de_Acromyrmex_lobicornis_Hymenoptera_Formicidae_en_una_zona_urbana_de_San_Luis_Argentina
36. Knapp, J. J.; Howse, P. E.; Kermarrec, A. 1990. Factors Controlling Foraging Patterns in the Leaf-cutting Ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich). In: Vander Meer, R. K.; Jaffe, K.; Cedeno, A. eds. *Applied Myrmecology: a World Perspective*. Boulder, Westview. pp. 382-409.
37. 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.). (en línea). *Tropical Ecology*. 21:677-688. Consultado 4 nov. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/42088865_Spatio-temporal_permanence_and_plasticity_of_foraging_trails_in_young_and_mature_leaf-cutting_ant_colonies_Atta_spp
38. Littleddyke, 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.
39. Meyer, S.; Roces, F.; Wirth, R. 2006. Selecting the drought stressed: effects of plant stress on intraspecific and within-plant herbivory patterns of the leaf-cutting ant *Atta colombica*. (en línea). *Functional Ecology*. 20(6):978-981. Consultado 25 set. 2020. Disponible en

<https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2435.2006.01178.x>

40. Montoya-Lerma, J.; Giraldo-Eceverri, C.; Armbrecht, I.; Farji-Brener, A.; Calle, Z. 2012. Leafcutting ants revisited: towards rational management and control. (en línea). *Pest Management*. 58(3):225-247. Consultado 30 oct. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/254323436_Leaf-cutting_ants_revisited_Towards_rational_management_and_control
41. Moreira, A. A.; Forti, L. C.; Andrade, A. P. P.; Boaretto, M. A. C.; Lopes, J. F. S. 2004. Nest Architecture of *Atta Laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. 39(2):109-116.
42. Nagamoto, N. S.; Forti, L. C.; Raetano, C. G. 2007. Evaluation of the adequacy of diflubenzuron and dechlorane in toxic for leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) based on formicidal activity. (en línea). *Journal of Pest Science*. 80:9-13. Consultado 3 nov. 2020. Disponible en <https://link.springer.com/article/10.1007/s10340-006-0143-8>
43. Nichols-Orians, C. M.; Schultz, J. C. 1990. Interactions among leaf toughness, chemistry, and harvesting by attine ants. *Ecological Entomology*. 15:311-320.
44. Nickele, M. A. 2013. Dinamica populacional e ecologia do forrageamento de *Acromyrmex* MAYR, 1865 (Hymenoptera: Formicidae). Tesis Ing. Agr. Curitiba, Brasil. Universidade Federal do Paraná. Facultad de Agronomía. 156 p.
45. _____.; Reis Filho, W.; Pie, M. R.; Penteado, S. do R. C. 2016. Daily foraging activity of *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) leaf-cutting ants. (en línea). *Sociobiology*. 63(1):645-650. Consultado 4 nov. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/301798844_Daily_Foraging_Activity_of_Acromyrmex_Hymenoptera_Formicidae_Leaf-cutting_Ants
46. Nobua-Behrmann, B.; Lopez de Casanave, 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*). (en línea). Myrmecological News. 25:41-49. Consultado 4 nov. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/318661076_Coexisting_in_harsh_environments_Temperature-based_foraging_patterns_of_two_desert_leafcutter_ants_Hymenoptera_Formicidae_Attini

47. North, R. D.; Jackson, C. W.; Howse, P. E. 1999. Communication between the fungus garden and workers of the leaf-cutting ant, *Atta sexdens rubropilosa*, regarding choice of substrate for the fungus. *Physiological Entomology*. 24:127-133.
48. 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. (en línea). *Physiological Entomology*. 35(3):255-264. Consultado 23 oct. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2010.00736.x>
49. Pérez, P.; Corley, J.; Farji-Brener, A. G. 2011. Potential impact of the leaf-cutting ant *Acromyrmex lobicornis* on conifer plantations in northern. *Agriculture and Forest Entomology*. 13:191-196.
50. Pérez, S. P. 2009. Riesgo potencial de la hormiga cortadora de hojas *Acromyrmex lobicornis* para las plantaciones forestales de la Patagonia. (en línea). Bariloche, INTA. 15 p. (Manejo Integrado de Plagas Forestales no. 6). Consultado 13 abr. 2020. Disponible en https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_-_cuadernillo_6_-_riesgo_potencial_de_la_hormiga.pdf
51. Quinlan, R. J.; Cherrett, J. M. 1979. The role of fungus in the diet of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L.). *Ecological Entomology*. 4:151-160.
52. Ribeiro, P. L.; Camacho, A.; Navas, C. A. 2012. Considerations for assessing maximum critical temperatures in small ectothermic animals: insights from leaf-cutting ants. (en línea). *PloS ONE*. 7(2):1-7. Consultado 30 oct. 2020. Disponible en <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0032083>

53. Ridley, P.; Howse, P. E.; Jackson, C. W. 1996. Control of the behaviour of leaf cutting ants by their “symbiotic” fungus. (en línea). *Experientia*. 52:631-635. Consultado 4 nov. 2020. Disponible en <https://link.springer.com/article/10.1007%2F01969745>
54. Rivera-Heredia, S. C. 2015. El registro de plaguicidas en el Ecuador: un estudio desde la perspectiva de la agroecología. (en línea). Tesis MSc. en Agroecología tropical Andina. Ecuador, Quito. Universidad Politécnica Salesiana. 134 p. Consultado 30 oct. 2020. Disponible en <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9021/1/UPS-QT06808.pdf>
55. Saverschek, N.; Herz, H.; Wagner, M.; Roces, F. 2010. Avoiding plants unsuitable for the symbiotic fungus: learning and long-term memory in leaf-cutting ants. *Animal Behaviour*. 79:689-698.
56. _____; Roces, F. 2011. Foraging leafcutter ants: olfactory memory underlies delayed avoidance of plants unsuitable for the symbiotic fungus. *Animal Behaviour*. 82:453-458.
57. Schnellmann, R. G.; Manning, R. O. 1990. Perfluorooctane sulfonamide: a structurally novel uncoupler of oxidative phosphorylation. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1016(3):344-348.
58. Solomon, S. E.; Bacci Jr, M.; Martins Jr, J.; Vinha, G. G.; Mueller, U. G. 2008. Paleodistributions and Comparative Molecular Phylogeography of Leafcutter Ants (*Atta spp.*) Provide New Insight into the Origins of Amazonian Diversity. (en línea). *Plos ONE*. 3(7):s.p. Consultado 6 nov. 2020. Disponible en <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0002738>
59. Tomlin, C. D. S. 2000. *The pesticide manual: a World Compendium*. 12th. ed. Farnham, Surrey, United Kingdom, British Crop Protection Council. 1250 p.
60. Uruguay XXI. 2016. Informe del sector forestal en Uruguay: inteligencia competitiva. (en línea). Montevideo. 34 p. Consultado 14 abr. 2020. Disponible en http://www.camaramercantil.com.uy/uploads/cms_news_docs/Sector-Forestal-2016.pdf

61. Vander Meer, R. K.; Lofgren, C. S.; Williams, D. F. 1985. Fluoroaliphatic Sulfones: A New Class of Delayed-action Insecticides for Control of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*. 78:1190-1197.
62. Weber, N. A. 1966. Fungus-Growing Ants. A symbiotic relationship exists between an insect and a plant, involving an effective culturing technique. *Science*. 157:587-604.
63. _____. 1972. *Gardening Ants: the attines*. Philadelphia, American Philosophical Society. 178 p.
64. Wirth, R.; Herz, H.; 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. Berlin, Germany, Springer. 230 p. (Ecological studies v. 164).
65. Zanetti, R.; Carvalho, G. A.; Santos, A.; Souza Silva, A.; Godoy, M. S. 2002. Manejo Integrado de formigas cortadeiras. Lavras, MG, BR, Universidade Federal de Lavras. 16 p.
66. Zanuncio, J. C.; Couto, L.; Santos, G. P.; Zanuncio, T. V. 1992. Eficiencia da isca granulada Mirex-S, a base de sulfluramid, no controle da formiga cortadeira *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). (en línea). *Revista Árvore*. 16(3):357-361. Consultado 7 nov. 2020. Disponible en [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=qXuaAAAAIAAJ&oi=fnd&pg=PA357&dq=Zanuncio+J.+C.,+Couto+L.,+Santos+G.+P.+%26+Zanuncio+T.+V.+\(1992\).+Efici%C3%Aancia+da+isca+granulada+Mirex-S,+%C3%A0+base+de+sulfluramida,+no+controle+da+formiga+cortadeira+Atta+laevigata+\(Hymenoptera,+Formicidae\)&ots=xcMwtTr2QP&sig=mj7K8EirgDbq8CztU7-D9BzuwhQ#v=onepage&q&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=qXuaAAAAIAAJ&oi=fnd&pg=PA357&dq=Zanuncio+J.+C.,+Couto+L.,+Santos+G.+P.+%26+Zanuncio+T.+V.+(1992).+Efici%C3%Aancia+da+isca+granulada+Mirex-S,+%C3%A0+base+de+sulfluramida,+no+controle+da+formiga+cortadeira+Atta+laevigata+(Hymenoptera,+Formicidae)&ots=xcMwtTr2QP&sig=mj7K8EirgDbq8CztU7-D9BzuwhQ#v=onepage&q&f=false)

9. ANEXOS

Tabla 1. Datos relevados pasadas las 24 horas de la primera aplicación

Hormiguero	Tratamiento	Actividad	Forrajeo	Muertas
1	1	1	1	0
2	1	1	1	0
3	T	1	1	0
4	0,5	1	1	0
5	T	1	1	0
6	T	1	1	0
7	1	1	1	0
8	1	1	1	0
9	T	1	1	0
10	0,5	1	1	0
11	T	1	1	0
12	T	1	1	0
13	0,25	1	1	0
14	0,25	1	1	0
15	0,25	1	1	0
16	1	1	1	0
17	0,5	1	1	0
18	T	1	1	0
19	1	1	1	0
20	0,5	1	1	0
21	1	1	1	0
22	T	1	1	0
23	1	1	1	0
24	1	1	1	0
25	T	1	1	0
26	0,25	1	1	0
27	0,25	1	1	0
28	0,25	1	1	0
29	T	1	1	0
30	0,25	1	1	0
31	0,5	1	1	0
32	1	1	1	0
33	0,5	1	1	0
34	0,5	1	1	0
35	0,25	1	1	0
36	T	1	1	0

37	T	1	1	0
38	T	1	1	0
39	1	1	1	0
40	0,25	1	1	0
41	0,5	1	1	0
42	0,5	1	1	0
43	0,5	1	1	0
44	T	1	1	0
45	0,25	1	1	0
46	0,25	1	1	0
47	0,5	1	1	0
48	1	1	1	0
49	0,5	1	1	0
50	1	1	1	0
51	0,25	1	1	0
52	1	1	1	0
53	T	1	1	0
54	0,5	1	1	0
55	1	1	1	0
56	0,25	1	1	0
57	0,5	1	1	0
58	0,5	1	1	0
59	0,25	1	1	0
60	0,25	1	1	0
61	C	1	1	0
62	C	1	1	0
63	C	1	1	0
64	C	1	1	0
65	C	1	1	0

Tabla 2. Datos relevados pasadas las 48 horas luego de la primera aplicación

Hormiguero	Tratamiento	Actividad	Forrajeo	Muertas
1	1	1	1	0
2	1	1	1	0
3	T	1	1	0
4	0,5	1	1	0
5	T	1	1	0
6	T	1	1	0
7	1	1	1	0

8	1	1	1	0
9	T	1	1	0
10	0,5	1	1	0
11	T	1	1	0
12	T	1	1	0
13	0,25	1	1	0
14	0,25	1	1	0
15	0,25	1	1	0
16	1	1	1	0
17	0,5	1	1	0
18	T	1	1	0
19	1	1	1	0
20	0,5	1	1	0
21	1	1	1	0
22	T	1	1	0
23	1	1	1	0
24	1	1	1	0
25	T	1	1	0
26	0,25	1	1	0
27	0,25	1	1	0
28	0,25	1	1	0
29	T	1	1	0
30	0,25	1	1	0
31	0,5	1	1	0
32	1	1	1	0
33	0,5	1	1	0
34	0,5	1	1	0
35	0,25	1	1	0
36	T	1	1	0
37	T	1	1	0
38	T	1	1	0
39	1	1	1	0
40	0,25	1	1	0
41	0,5	1	1	0
42	0,5	1	1	0
43	0,5	1	1	0
44	T	1	1	0
45	0,25	1	1	0
46	0,25	1	1	0
47	0,5	1	1	0
48	1	1	1	0

49	0,5	1	1	0
50	1	1	1	0
51	0,25	1	1	0
52	1	1	1	0
53	T	1	1	0
54	0,5	1	1	0
55	1	1	1	0
56	0,25	1	1	0
57	0,5	1	1	0
58	0,5	1	1	0
59	0,25	1	1	0
60	0,25	1	1	0
61	C	1	1	0
62	C	1	1	0
63	C	1	1	0
64	C	1	1	0
65	C	1	1	0

Tabla 3. Datos relevados pasadas las 72 horas luego de la primera aplicación

Hormiguero	Tratamiento	Actividad	Forrajeo	Muertas
1	1	1	1	0
2	1	1	1	0
3	T	1	1	0
4	0,5	1	1	0
5	T	1	1	0
6	T	1	1	0
7	1	1	1	0
8	1	1	1	0
9	T	1	1	0
10	0,5	1	1	0
11	T	1	1	0
12	T	1	1	0
13	0,25	1	1	0
14	0,25	1	1	0
15	0,25	1	1	0
16	1	1	1	0
17	0,5	1	1	1
18	T	1	1	0
19	1	1	1	0

20	0,5	1	1	0
21	1	1	1	0
22	T	1	1	0
23	1	1	1	0
24	1	1	1	0
25	T	1	1	0
26	0,25	1	1	0
27	0,25	1	1	0
28	0,25	1	1	0
29	T	1	1	0
30	0,25	1	1	0
31	0,5	1	1	0
32	1	1	1	0
33	0,5	1	1	0
34	0,5	1	1	0
35	0,25	1	1	0
36	T	1	1	0
37	T	1	1	0
38	T	1	1	0
39	1	1	1	0
40	0,25	1	1	0
41	0,5	1	1	0
42	0,5	1	1	0
43	0,5	1	1	0
44	T	1	1	0
45	0,25	1	1	0
46	0,25	1	1	0
47	0,5	1	1	0
48	1	1	1	0
49	0,5	1	1	0
50	1	1	1	0
51	0,25	1	1	0
52	1	1	1	0
53	T	1	1	0
54	0,5	1	1	0
55	1	1	1	0
56	0,25	1	1	0
57	0,5	1	1	0
58	0,5	1	1	0
59	0,25	1	1	0
60	0,25	1	1	0

61	C	1	1	0
62	C	1	1	0
63	C	1	1	0
64	C	1	1	0
65	C	1	1	0

Tabla 4. Datos relevados a los 5 días post primera aplicación

Hormiguero	Tratamiento	Actividad	Forrajeo	Muertas
1	1	1	1	0
2	1	1	1	0
3	T	1	1	0
4	0,5	1	1	0
5	T	1	1	0
6	T	1	1	0
7	1	1	1	0
8	1	1	1	0
9	T	1	1	0
10	0,5	1	1	0
11	T	1	1	0
12	T	1	1	0
13	0,25	1	1	0
14	0,25	1	1	0
15	0,25	1	1	0
16	1	1	1	0
17	0,5	1	1	0
18	T	1	1	0
19	1	1	1	0
20	0,5	1	1	0
21	1	1	0	0
22	T	1	1	0
23	1	1	1	0
24	1	1	1	0
25	T	1	1	0
26	0,25	1	1	0
27	0,25	1	1	0
28	0,25	1	1	0
29	T	1	1	0
30	0,25	1	1	0
31	0,5	1	1	0

32	1	1	1	0
33	0,5	1	1	0
34	0,5	1	1	0
35	0,25	1	1	0
36	T	1	1	0
37	T	1	1	0
38	T	1	1	0
39	1	1	1	0
40	0,25	1	1	0
41	0,5	1	1	0
42	0,5	1	1	0
43	0,5	1	1	0
44	T	1	1	0
45	0,25	1	1	0
46	0,25	1	1	0
47	0,5	1	1	0
48	1	1	1	0
49	0,5	1	1	0
50	1	1	1	0
51	0,25	1	1	0
52	1	1	1	0
53	T	1	1	0
54	0,5	1	1	0
55	1	1	1	0
56	0,25	1	1	0
57	0,5	1	1	0
58	0,5	1	1	0
59	0,25	1	1	0
60	0,25	1	1	0
61	C	1	1	0
62	C	1	1	0
63	C	1	1	0
64	C	1	1	0
65	C	1	1	0

Tabla 5. Datos relevados a los 14 días post primera aplicación

Hormiguero	Tratamiento	Actividad	Forrajeo	Muertas
1	1	1	1	0
2	1	1	1	0
3	T	1	1	0

4	0,5	1	1	0
5	T	1	1	0
6	T	1	1	0
7	1	1	1	0
8	1	1	1	1
9	T	1	1	0
10	0,5	1	1	0
11	T	1	1	0
12	T	1	1	0
13	0,25	1	1	0
14	0,25	1	1	0
15	0,25	1	0	0
16	1	1	0	0
17	0,5	1	0	0
18	T	1	1	0
19	1	1	0	0
20	0,5	1	1	0
21	1	1	1	1
22	T	1	1	0
23	1	1	1	0
24	1	1	1	0
25	T	1	1	0
26	0,25	1	1	0
27	0,25	1	1	0
28	0,25	1	1	0
29	T	1	1	0
30	0,25	1	1	0
31	0,5	1	1	0
32	1	1	1	0
33	0,5	1	1	0
34	0,5	1	1	0
35	0,25	1	1	0
36	T	1	1	0
37	T	1	1	0
38	T	1	1	0
39	1	1	1	0
40	0,25	1	1	0
41	0,5	1	1	0
42	0,5	1	1	0
43	0,5	1	1	0
44	T	1	1	0

45	0,25	1	1	0
46	0,25	1	1	0
47	0,5	1	1	0
48	1	1	1	0
49	0,5	1	1	0
50	1	1	1	0
51	0,25	1	1	0
52	1	1	1	0
53	T	1	1	0
54	0,5	1	1	0
55	1	1	0	0
56	0,25	1	1	0
57	0,5	1	1	0
58	0,5	1	1	0
59	0,25	1	1	0
60	0,25	1	1	0
61	C	1	0	1
62	C	1	0	0
63	C	1	0	1
64	C	1	0	1
65	C	1	0	1

Tabla 6. Datos relevados el día de la segunda aplicación

Hormiguero	Tratamiento	Actividad	Forrajeo	Muertas
1	1	1	1	0
2	1	1	1	0
3	T	1	1	0
4	0,5	1	1	0
5	T	1	1	0
6	T	1	1	0
7	1	1	1	0
8	1	1	1	1
9	T	1	1	0
10	0,5	1	1	0
11	T	1	1	0
12	T	1	1	0
13	0,25	1	1	0
14	0,25	1	1	0
15	0,25	1	1	0

16	1	1	1	0
17	0,5	1	1	0
18	T	1	1	0
19	1	1	1	0
20	0,5	1	1	0
21	1	1	1	1
22	T	1	1	0
23	1	1	1	0
24	1	1	1	0
25	T	1	1	0
26	0,25	1	1	0
27	0,25	1	1	0
28	0,25	1	1	0
29	T	1	1	0
30	0,25	1	1	0
31	0,5	1	1	0
32	1	1	1	0
33	0,5	1	1	0
34	0,5	1	1	0
35	0,25	1	1	0
36	T	1	1	0
37	T	1	1	0
38	T	1	1	0
39	1	1	1	0
40	0,25	1	1	0
41	0,5	1	1	0
42	0,5	1	1	0
43	0,5	1	1	0
44	T	1	1	0
45	0,25	1	1	0
46	0,25	1	1	0
47	0,5	1	1	0
48	1	1	1	0
49	0,5	1	1	0
50	1	1	1	0
51	0,25	1	1	0
52	1	1	1	0
53	T	1	1	0
54	0,5	1	1	0
55	1	1	1	0
56	0,25	1	1	0

57	0,5	1	1	0
58	0,5	1	1	0
59	0,25	1	1	0
60	0,25	1	1	0
61	C	M		
62	C	M		
63	C	M		
64	C	M		
65	C	M		

Tabla 7. Datos relevados pasadas las 48 horas luego de la segunda aplicación

Hormiguero	Tratamiento	Actividad	Forrajeo	Muertas
1	1	1	1	0
2	1	1	1	0
3	T	1	1	0
4	0,5	1	1	0
5	T	1	1	0
6	T	1	1	0
7	1	1	1	0
8	1	1	1	0
9	T	1	1	0
10	0,5	1	1	0
11	T	1	1	0
12	T	1	1	0
13	0,25	1	1	0
14	0,25	1	1	0
15	0,25	1	1	0
16	1	1	1	0
17	0,5	1	1	0
18	T	1	1	0
19	1	1	1	0
20	0,5	1	1	0
21	1	1	1	0
22	T	1	1	0
23	1	1	1	0
24	1	1	1	0
25	T	1	1	0
26	0,25	1	1	0
27	0,25	1	1	0
28	0,25	1	1	0

29	T	1	1	0
30	0,25	1	1	0
31	0,5	1	1	0
32	1	1	1	0
33	0,5	1	1	0
34	0,5	1	1	0
35	0,25	1	1	0
36	T	1	1	0
37	T	1	1	0
38	T	1	1	0
39	1	1	1	0
40	0,25	1	1	0
41	0,5	1	1	0
42	0,5	1	1	0
43	0,5	1	1	0
44	T	1	1	0
45	0,25	1	1	0
46	0,25	1	1	0
47	0,5	1	1	0
48	1	1	1	0
49	0,5	1	1	0
50	1	1	1	0
51	0,25	1	1	0
52	1	1	1	0
53	T	1	1	0
54	0,5	1	1	0
55	1	1	1	0
56	0,25	1	1	0
57	0,5	1	1	0
58	0,5	1	1	0
59	0,25	1	1	0
60	0,25	1	1	0
61	C			
62	C			
63	C			
64	C			
65	C			

Tabla 8. Datos relevados 72 horas post segunda aplicación

Hormiguero	Tratamiento	Actividad	Forrajeo	Muertas
1	1	1	1	0
2	1	1	1	0
3	T	1	1	0
4	0,5	1	1	0
5	T	1	1	0
6	T	1	1	1
7	1	1	1	0
8	1	1	1	0
9	T	1	1	0
10	0,5	1	1	1
11	T	1	1	0
12	T	1	1	1
13	0,25	1	1	0
14	0,25	1	1	0
15	0,25	1	1	0
16	1	1	1	0
17	0,5	0	0	1
18	T	1	1	0
19	1	1	1	0
20	0,5	1	1	0
21	1	1	1	0
22	T	1	1	0
23	1	1	1	0
24	1	1	1	0
25	T	1	1	0
26	0,25	1	1	0
27	0,25	1	1	0
28	0,25	1	1	0
29	T	1	1	0
30	0,25	1	1	0
31	0,5	1	1	0
32	1	1	1	0
33	0,5	1	1	0
34	0,5	1	1	0
35	0,25	1	0	1
36	T	1	1	0
37	T	1	1	0
38	T	1	1	0

39	1	1	0	1
40	0,25	1	1	0
41	0,5	1	1	0
42	0,5	1	1	0
43	0,5	1	1	0
44	T	1	1	0
45	0,25	1	1	0
46	0,25	1	1	0
47	0,5	1	1	0
48	1	1	1	0
49	0,5	1	1	0
50	1	1	1	0
51	0,25	1	1	0
52	1	1	1	0
53	T	1	1	0
54	0,5	1	1	0
55	1	1	1	1
56	0,25	1	1	0
57	0,5	1	1	0
58	0,5	1	1	0
59	0,25	1	1	1
60	0,25	1	1	1

Tabla 9. Datos relevados 5 días post segunda aplicación

Hormiguero	Tratamiento	Actividad	Forrajeo	Muertas
1	1	1	1	0
2	1	1	1	1
3	T	1	1	0
4	0,5	1	1	0
5	T	1	1	0
6	T	1	1	0
7	1	1	1	0
8	1	1	1	0
9	T	1	0	1
10	0,5	1	0	0
11	T	1	1	0
12	T	1	1	0
13	0,25	1	1	0
14	0,25	1	1	1
15	0,25	1	1	0

16	1	1	1	0
17	0,5	1	0	0
18	T	1	1	0
19	1	1	1	0
20	0,5	1	1	0
21	1	1	1	0
22	T	1	1	0
23	1	1	1	0
24	1	1	1	0
25	T	1	1	0
26	0,25	1	1	0
27	0,25	1	1	0
28	0,25	1	1	0
29	T	1	1	0
30	0,25	1	1	0
31	0,5	1	1	0
32	1	1	1	0
33	0,5	1	0	1
34	0,5	1	1	0
35	0,25	1	0	0
36	T	1	1	0
37	T	1	1	0
38	T	1	1	0
39	1	0	0	1
40	0,25	1	1	0
41	0,5	1	1	0
42	0,5	1	1	0
43	0,5	1	1	0
44	T	1	1	0
45	0,25	1	1	0
46	0,25	1	1	0
47	0,5	1	1	0
48	1	1	1	0
49	0,5	1	1	0
50	1	1	1	0
51	0,25	1	1	0
52	1	1	1	0
53	T	1	1	0
54	0,5	1	1	0
55	1	1	0	1
56	0,25	1	1	0

57	0,5	1	1	0
58	0,5	1	1	0
59	0,25	1	1	0
60	0,25	1	1	1

Tabla 10. Datos relevados 14 días post segunda aplicación

Hormiguero	Trat.	Act.	Forrajeo	Muertas	Hormigueros muertos
1	1	0	0	0	0
2	1	0	0	1	1
3	T	0	0	1	1
4	0,5	0	0	1	1
5	T	0	0	1	1
6	T	1	1	1	0
7	1	0	0	0	0
8	1	0	0	1	1
9	T	1	1	1	0
10	0,5	0	0	1	1
11	T	1	0	1	0
12	T	1	0	1	0
13	0,25	0	0	0	0
14	0,25	1	1	1	0
15	0,25	0	0	0	0
16	1	0	0	0	0
17	0,5	0	0	1	1
18	T	1	1	1	0
19	1	0	0	1	1
20	0,5	1	1	1	0
21	1	0	0	1	1
22	T	0	0	1	1
23	1	0	0	1	1
24	1	0	0	1	1
25	T	0	0	0	0
26	0,25	0	0	1	1
27	0,25	1	1	1	0
28	0,25	1	0	1	0
29	T	1	1	1	0
30	0,25	0	0	1	1
31	0,5	1	1	1	0
32	1	1	0	1	0

33	0,5	0	0	1	1
34	0,5	1	0	1	0
35	0,25	0	0	1	1
36	T	1	0	1	0
37	T	0	0	1	1
38	T	1	0	1	0
39	1	1	0	1	0
40	0,25	1	0	1	0
41	0,5	0	0	1	1
42	0,5	1	0	1	0
43	0,5	0	0	1	1
44	T	1	0	1	0
45	0,25	0	0	1	1
46	0,25	0	0	1	1
47	0,5	0	0	0	0
48	1	1	0	1	0
49	0,5	1	0	1	0
50	1	0	0	1	1
51	0,25	0	0	1	1
52	1	0	0	1	1
53	T	0	0	1	1
54	0,5	1	0	1	0
55	1	0	0	1	1
56	0,25	1	1	1	0
57	0,5	1	0	1	0
58	0,5	1	0	1	0
59	0,25	0	0	1	0
60	0,25	1	1	1	0

Tabla 11. Datos relevados 21 días post segunda aplicación

Hormiguero	Trat.	Act.	Forrajeo	Muertas	Hormigueros muertos
1	1	0	0	1	1
2	1	0	0	1	1
3	T	0	0	1	1
4	0,5	0	0	1	1
5	T	0	0	1	1
6	T	1	0	0	0
7	1	0	0	1	1
8	1	0	0	1	1

9	T	0	0	1	1
10	0,5	0	0	1	1
11	T	0	0	1	1
12	T	0	0	1	1
13	0,25	1	0	0	0
14	0,25	1	0	0	0
15	0,25	0	0	1	1
16	1	0	0	1	1
17	0,5	0	0	1	1
18	T	1	0	0	0
19	1	0	0	1	1
20	0,5	1	0	0	0
21	1	0	0	1	1
22	T	0	0	1	1
23	1	0	0	1	1
24	1	0	0	1	1
25	T	0	0	1	1
26	0,25	0	0	1	1
27	0,25	0	0	1	1
28	0,25	0	0	1	1
29	T	1	1	0	0
30	0,25	0	0	1	1
31	0,5	1	1	0	0
32	1	1	1	0	0
33	0,5	0	0	1	1
34	0,5	1	1	0	0
35	0,25	0	0	1	1
36	T	0	0	1	1
37	T	0	0	1	1
38	T	1	1	0	0
39	1	1	1	0	0
40	0,25	1	1	0	0
41	0,5	0	0	1	1
42	0,5	1	1	0	0
43	0,5	0	0	1	1
44	T	0	0	1	1
45	0,25	0	0	1	1
46	0,25	0	0	1	1
47	0,5	0	0	1	1
48	1	0	0	1	1
49	0,5	0	0	1	1

50	1	0	0	1	1
51	0,25	0	0	1	1
52	1	0	0	1	1
53	T	0	0	1	1
54	0,5	0	0	1	1
55	1	0	0	1	1
56	0,25	1	0	0	0
57	0,5	0	0	1	1
58	0,5	0	0	1	1
59	0,25	0	0	1	1
60	0,25	1	1	0	0

Tabla 12. Datos relevados 27 días post segunda aplicación

Hormiguero	Trat.	Act.	Forrajeo	Muertas	Hormigueros muertos
1	1	0	0	1	1
2	1	0	0	1	1
3	T	0	0	1	1
4	0,5	0	0	1	1
5	T	0	0	1	1
6	T	0	0	0	0
7	1	0	0	1	1
8	1	0	0	1	1
9	T	0	0	1	1
10	0,5	0	0	1	1
11	T	0	0	1	1
12	T	0	0	1	1
13	0,25	0	0	1	1
14	0,25	1	1	1	0
15	0,25	0	0	1	1
16	1	0	0	1	1
17	0,5	0	0	1	1
18	T	1	1	1	0
19	1	0	0	1	1
20	0,5	0	0	1	1
21	1	0	0	1	1
22	T	0	0	1	1
23	1	0	0	1	1
24	1	0	0	1	1
25	T	0	0	1	1

26	0,25	0	0	1	1
27	0,25	0	0	1	1
28	0,25	0	0	1	1
29	T	1	1	1	0
30	0,25	0	0	1	1
31	0,5	1	1	1	0
32	1	1	1	1	0
33	0,5	0	0	1	1
34	0,5	1	1	1	0
35	0,25	0	0	1	1
36	T	0	0	1	1
37	T	0	0	1	1
38	T	1	1	1	0
39	1	0	0	1	1
40	0,25	1	1	1	0
41	0,5	0	0	1	1
42	0,5	0	0	1	1
43	0,5	0	0	1	1
44	T	0	0	1	1
45	0,25	0	0	1	1
46	0,25	0	0	1	1
47	0,5	0	0	1	1
48	1	0	0	1	1
49	0,5	0	0	1	1
50	1	0	0	1	1
51	0,25	0	0	1	1
52	1	0	0	1	1
53	T	0	0	1	1
54	0,5	0	0	1	1
55	1	0	0	1	1
56	0,25	1	1	1	0
57	0,5	0	0	1	1
58	0,5	0	0	1	1
59	0,25	0	0	1	1
60	0,25	1	1	1	0

Tabla 13. Datos de los pesos de remanentes relevados a las 24 horas luego de la segunda aplicación

Hormiguero	Tratamiento	Remanente (g)
1	1	0
2	1	0
3	T	0
4	0,5	0
5	T	0
6	T	0
7	1	0
8	1	0
9	T	0
10	0,5	7
11	T	0
12	T	0
13	0,25	0
14	0,25	0
15	0,25	0
16	1	0
17	0,5	3
18	T	0
19	1	0
20	0,5	0
21	1	0
22	T	0
23	1	0
24	1	0
25	T	0
26	0,25	0
27	0,25	0
28	0,25	0
29	T	0
30	0,25	0
31	0,5	0
32	1	0
33	0,5	0
34	0,5	0
35	0,25	7
36	T	0
37	T	0

38	T	0
39	1	3
40	0,25	0
41	0,5	0
42	0,5	0
43	0,5	0
44	T	0
45	0,25	0
46	0,25	0
47	0,5	0
48	1	0
49	0,5	0
50	1	0
51	0,25	0
52	1	0
53	T	0
54	0,5	0
55	1	1
56	0,25	0
57	0,5	0
58	0,5	0
59	0,25	3
60	0,25	0

Foto 1. Balanza analítica



Foto 2. Primera aplicación a campo



Foto 3. Nido de *Acromyrmex lobicornis*



Foto 4. Hormigas muertas de la especie *Acromyrmex lobicornis*



Foto 5. Nido de *Acromyrmex lobicornis* con agujeros de ventilación



Foto 6. Remanente de cebo luego de la segunda aplicación



Foto 7. Hongo simbiote en descomposición, dentro del nido de *Acromyrmex lobicornis*

