



Facultad
de Química
UDELAR - Uruguay



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

**Formulación y optimización de la difusión de la feromona de
Megaplatypus mutatus para su uso en monitoreo y control de la plaga
en plantaciones forestales**

Sara Armand Ugon Berrutti

Tesis de Maestría

Presentada como uno de los requisitos para el título de

Magíster

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de Química

Universidad de la República

Abril, 2026

Formulación y optimización de la difusión de la feromona de
***Megaplatypus mutatus* para su uso en monitoreo y control de la plaga**
en plantaciones forestales

Tribunal:

Dr. Gonzalo Martínez Crosa, Presidente del tribunal
Dr. Viviana Huguaburu Belcredi, Integrante del tribunal
Dr. Ricardo Faccio Sgiorovello, Integrante del tribunal

Tutores:

Dr. Andrés González Ritzel, Tutor
Dr. Helena Pardo Minetti, Co-Tutor
Dr. Maria Laura Lavaggi Destro, Co-Tutor

Agradecimientos

A mi familia, por su apoyo incondicional siempre. A Juan Pedro Posse, por el apoyo y la gestión inicial de este proyecto. A la empresa LUMIN y a su personal por su valiosa contribución al desarrollo de esta tesis, especialmente a Luciana Ingaramo, Juliana Ivanchenko, Gerardo Osorio y Micaela Pereira. A mis tutores, por haber logrado un buen trabajo a pesar de los desafíos y la distancia. A María Eugenia Amorós y Valentina Poloni (del Laboratorio de Ecología Química de la Facultad de Química UDELAR), por su generosa contribución al análisis de datos; a Analía Castro (del Centro Nanomat del Polo Tecnológico de Pando), por su contribución al análisis fisicoquímico y a Gonzalo Martínez (del Laboratorio de Entomología Forestal del INIA Tacuarembó), por su aporte en la identificación de escolítidos capturados. Este trabajo fue apoyado por ANII.

Resumen

Este trabajo se centra en optimizar la liberación de la feromona de *Megaplatypus mutatus* (Chapuis, 1865). En 2019 se detectó su presencia de forma masiva en Uruguay, con evidencias de daños causados por la plaga en tableros contrachapados de *Eucalyptus* spp. en la industria de manufactura del norte del país. La necesidad de desarrollar herramientas que contribuyan a una solución rápida y efectiva para esta problemática fue el impulso detrás de este estudio. Se desarrollaron dispensadores monolíticos con feromonas en proporciones de hasta 2 % m/m para monitoreo y 20 % m/m para disrupción sexual para *M. mutatus* en plantaciones de *Eucalyptus* spp. Se evaluó la velocidad de liberación y el patrón de difusión diario de cada componente para seleccionar los dispositivos más eficientes en ensayos de campo. Los experimentos se realizaron en plantaciones de la empresa LUMIN en la temporada 2021, utilizando trampas de panel cruzado. Se compararon cinco tratamientos (**T1-T5**) con distintas proporciones de los componentes de la feromona. El tratamiento **T3** resultó ser el más eficaz para atraer individuos durante el monitoreo. Este tratamiento consiste en una mezcla de sulcatol, sulcatona y 3-pentanol en una proporción de 2:1:0.5 respectivamente, el cual también demostró una reducción del 71 % en el daño al aplicarse en dosis de disrupción sexual. Con el objetivo de mejorar la durabilidad y resistencia térmica de los dispensadores, se diseñaron formulaciones optimizadas basadas en **T3**. Se probaron tres metodologías para la incorporación de la feromona: introducción directa a la matriz polimérica, encapsulación previa en emulsiones y adsorción en zeolita antes de su incorporación en la matriz. Los resultados más prometedores se obtuvieron con la tercera metodología, aunque se debe profundizar en estudios adicionales para optimizar el diseño del dispensador. Además, se desarrollaron formulaciones en forma de fluidos asperjables para la aplicación en grandes áreas mediante pulverización aérea o terrestre. Se concluyó que las propiedades fisicoquímicas de la matriz utilizada juegan un papel determinante en la liberación controlada de la feromona.

Abstract

This study focuses on optimizing pheromone release in *Megaplatypus mutatus* (Chapuis, 1865). In 2019, its massive presence was detected in Uruguay, with evidence of damage caused by the pest in plywood boards of *Eucalyptus* spp. in the manufacturing industry of the northern region of the country. The need to develop tools that contribute to a quick and effective solution to this issue was the driving force behind this study. Monolithic dispensers with pheromones were developed in proportions of up to 2% w/w for monitoring and 20% w/w for sexual disruption of *M. mutatus* in *Eucalyptus* spp. plantations. The release rate and daily diffusion pattern of each component were evaluated to select the most efficient devices in field trials. The experiments were carried out in plantations of the LUMIN company during the 2021 season, using cross-shaped transparent traps. Five treatments (**T1–T5**), each featuring different proportions of the pheromone components, were compared. The **T3** treatment proved to be the most effective in attracting individuals during monitoring. This treatment consists of a blend of sulcatol, sulcatone, and 3-pentanol in a ratio of 2:1:0.5, respectively, which also demonstrated a 71 % reduction in damage when applied in sexual disruption doses.

With the aim of improving the durability and thermal resistance of the dispensers, optimized formulations based on **T3** were designed. Three methodologies for incorporating the pheromone were tested: direct introduction into the polymer matrix, prior encapsulation in emulsions, and adsorption onto zeolite before incorporation into the matrix. The most promising results were obtained with the third methodology, although further studies are needed to optimize the dispenser design. Additionally, formulations in the form of sprayable liquids were developed for application in large areas through aerial or ground spraying. It was concluded that the physicochemical properties of the matrix used play a decisive role in the controlled release of the pheromone.

Índice

Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1. El sector forestal en Uruguay	1
1.2. <i>Megaplatypus mutatus</i>	1
1.3. Ecología química en el manejo de plagas	5
1.4. Dispositivos de liberación controlada de feromonas.....	9
1.5. Objetivos e hipótesis de trabajo	14
Hipótesis de trabajo.....	15
Capítulo 2. Metodología experimental.....	16
2.1. Materiales y equipos.....	16
2.2. Preparación de dispensadores monolíticos.....	16
2.2.1. Evaluación de la emisión por gravimetría	17
2.3. Ensayos de campo	19
2.3.1. Evaluación de mezclas de componentes	19
2.3.2. Evaluación de disrupción sexual	20
2.4. Preparación de dispensadores mejorados	21
2.4.1. Evaluación de la emisión por cromatografía y caracterización fisicoquímica	23
2.5. Preparación de emulsiones	24
2.5.1. Evaluación de la estabilidad de las emulsiones	26
Capítulo 3. Resultados y discusión	28
3.1. Evaluación de la liberación de feromonas por gravimetría	28
3.2. Resultados y discusión de ensayos de campo	38
3.2.1. Evaluación de mezclas de componentes	39
3.2.2. Evaluación de disrupción sexual	40
3.3. Evaluación de la liberación de feromonas en dispensadores por cromatografía gaseosa.....	44
3.4. Evaluación de propiedades fisicoquímicas de dispensadores	53
3.5. Evaluación de la liberación de feromonas en emulsiones por cromatografía gaseosa y análisis de estabilidad.....	61
Capítulo 4. Conclusiones.....	68
Anexos.....	I
Bibliografía	IX

Lista de figuras

Figura 1. Distribución mundial de <i>M. mutatus</i> (Fuente: EPPO Global Database, 2025). PLTPMU datasheet. Recuperado el 18 de marzo de 2025 de https://gd.eppo.int/taxon/PLTPMU/datasheet).....	2
Figura 2. Adultos de <i>Megaplatypus mutatus</i> . a) Hembra vista dorsal b) Hembra vista ventral c) Macho vista dorsal d) Macho vista ventral. Fotos 2a, 2b y 2d: Hernán Funes. Foto 2c: Dr. Gianni Allegro. .	3
Figura 3. Daño ocasionado por <i>M. mutatus</i> en plantación de <i>Eucalyptus</i> spp: en a) detalle de daño en árbol quebrado; b) galerías en árbol quebrado; C) árbol debilitado por ataque y quebrado por el viento. Fotos: LUMIN.	4
Figura 4. Estructura de los componentes de la feromona de <i>M. mutatus</i> : sulcatol (izquierda), sulcatona (centro) y 3-pentanol (derecha).....	6
Figura 5. Trampas de panel cruzado utilizadas por LUMIN para Monitoreo: a) transparentes; b) oscuras .	7
Figura 6. Dispensadores disponibles comercialmente en la actualidad: a) difusor tipo reservorio, b) difusor twist tie, c) difusor en spray.....	11
Figura 7. Representación de la metodología empleada en la preparación de dispensadores monolíticos ..	17
Figura 8. Diseño de parcela de monitoreo en una extensión de 6 ha. Cada cruz corresponde a una trampa en la cual se coloca un juego de cebos. Los tratamientos T1 a T5 van rotando de lugar semanalmente, según dirección de la fecha.	20
Figura 9. Representación de la metodología empleada en la preparación de dispensadores monolíticos D. Zeolita.....	23
Figura 10. Representación de la metodología empleada en la preparación de emulsiones	26
Figura 11. Dispensadores de monitoreo: a) sulcatol, b) sulcatona y c) 3-pentanol, respectivamente.....	29
Figura 12. Liberación acumulada de sulcatol desde matrices poliméricas en función del tiempo. Los puntos representan los valores experimentales de masa acumulada liberada (excluyendo el día cero) y la línea continua corresponde al ajuste al modelo empírico de Korsmeyer-Peppas, $m = c \cdot t^n$	30
Figura 13. Gráfica de liberación de sulcatona desde dispensadores monolíticos con dosis de monitoreo, sin día cero. Los valores muestran la cantidad de sulcatona liberada diariamente, calculada gravimétricamente, y las barras representan la desviación estándar	32
Figura 14. Gráfica de liberación de sulcatol de dispensadores monolíticos con dosis de monitoreo sin día cero. Los valores muestran la cantidad de sulcatol liberada diariamente, calculada gravimétricamente, y las barras representan la desviación estándar.	33
Figura 15. Gráfica de liberación de 3-pentanol de dispensadores monolíticos con dosis de monitoreo sin día cero. Los valores muestran la cantidad de 3-pentanol liberada diariamente, calculada gravimétricamente, y las barras representan la desviación estándar.	34
Figura 16. Evaluación de la atractividad de los tratamientos mediante capturas de hembras <i>M. mutatus</i> en diferentes tratamientos de feromona. Se muestran promedios y error estándar de capturas por fecha lectura y por trampa, antes de la instalación de MD (n = 10 trampas por tratamiento, correspondientes a cinco trampas en cada una de dos parcelas). Ambas parcelas fueron promediadas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (GLMM, DGC: $P < 0,0001$).	40
Figura 17. Dispensadores de monitoreo con trampas de panel cruzado (izquierda) y dispensadores de disrupción sexual sin trampa.....	41
Figura 18. Evaluación del efecto de la instalación de dispensadores en las capturas considerando los tratamientos más atractivos (T3-T4). Se muestran promedios y error estándar de capturas por fecha lectura y por trampas en cuestión, luego de la instalación de MD (n = 10 trampas por tratamiento, correspondientes a cinco trampas en cada una de dos parcelas). Las capturas fueron menores en las trampas instaladas en el Parcela I (Azul), donde se aplicó MD (GLMM, DGC: $P < 0.0001$).	42
Figura 19. Evaluación de orificios nuevos durante el ensayo previo y posterior a la instalación de dispositivos disrupción sexual (7/12/2021) en la parcela I (azul), mientras la parcela II (naranja) ofició de control sin tratamiento de disrupción sexual (n = 10 trampas por tratamiento,	

correspondientes a cinco trampas en cada una de dos parcelas). Se muestran promedios/árbol y error estándar de orificios nuevos por fecha lectura (GLMM, DGC: $P < 0,0001$).	44
Figura 20. Detalle de aserrín larval (izquierda) y aserrín adulto (derecha) e insecto atrapado en galería en plantaciones de LUMIN.	45
Figura 21. Detalle de la galería sin actividad cerrada (izquierda) y galería con actividad (derecha).	45
Figura 22. Emisión de sulcatona a lo largo del tiempo en los distintos dispensadores formulados, sin día cero. Los colores representan los días evaluados. Los gráficos muestran la cantidad de feromona liberada diariamente, determinada mediante GC-MS, con barras que indican la desviación estándar	49
Figura 23. Emisión de sulcatol a lo largo del tiempo en los distintos dispensadores formulados, sin día cero. Los colores representan los días evaluados. Los gráficos muestran la cantidad de feromona liberada diariamente, determinada mediante GC-MS, con barras que indican la desviación estándar.	50
Figura 24. Difractograma de rayos X de las distintas materias primas y del dispensador D. Campo para sulcatona y 3-pentanol cuya matriz es parafina PF 57°.	58
Figura 25. Difractograma de rayos X de las distintas materias primas y del dispensador D. Campo-sulcatol.....	59
Figura 26. Difractograma de rayos X de las distintas materias primas y del dispensador D. 3fj.....	60
Figura 27. Evaluación de la estabilidad física de las emulsiones mediante la observación de la homogeneidad de fases y la sedimentación a lo largo del tiempo. A la izquierda: Emulsión 2; a la derecha: Emulsión 1.	62
Figura 28. Emisión de sulcatona de las distintas emulsiones formuladas sin día cero vs dispensadores D. Campo tomados como referencia. Los distintos colores indican los días.	64
Figura 29. Emisión de sulcatol de las distintas emulsiones formuladas sin día cero vs dispensadores D. Campo. Los distintos colores indican los días. Se aplicó factor de corrección sobre liberación de emulsiones para comparar volumen equivalente de feromonas en todas las preparaciones.	65
Figura 30. Termograma correspondiente a la valoración por DSC para dispensador D. Campo conformado por matriz de Parafina PF 57 °C/ 0% caolina/2% de 3-pentanol.	I
Figura 31. Termograma correspondiente a la valoración por DSC para dispensador D. Campo conformado por matriz de Parafina PF 57 °C/ 0% caolina/2% de aceite neutro (Blanco).....	II
Figura 32. Termograma correspondiente a la valoración por DSC para dispensador D. Campo conformado por matriz de Parafina PF 57 °C/ 30% caolina/2% de sulcatona.	II
Figura 33. Termograma correspondiente a la valoración por DSC para dispensador D. Campo conformado por matriz de Parafina PF 57 °C/ 30% caolina/2% de aceite neutro(Blanco)	III
Figura 34. Termograma correspondiente a la Valoración por DSC para dispensador D. Campo conformado por matriz de PEG 6000/ 30% caolina/2% de sulcatol	III
Figura 35. Termograma correspondiente a la Valoración por DSC para dispensador D. Campo conformado por matriz de PEG 6000/ 30% caolina/2% de aceite neutro	IV
Figura 36. Termograma correspondiente a la Valoración por DSC para dispensador D. Emulsión matriz de Ácido esteárico/ 30 % de caolina y 2 % feromona encapsulada en relación T3.	IV
Figura 37. Termograma correspondiente a la Valoración por DSC para dispensador D. Emulsión matriz de Ácido esteárico/ 30 % de caolina y 2% de aceite neutro	V
Figura 38. Termograma correspondiente a la Valoración por DSC para dispensador D. 3fj matriz de Ácido esteárico/ 30 % de caolina y feromona incorporada directamente en relación T3.	V
Figura 39. Termograma correspondiente a la Valoración por DSC para dispensador D. 3fj matriz de Ácido esteárico/ 30 % de caolina y 2% aceite neutro	VI
Figura 40. Difractograma de rayos X de la muestra de zeolita analizada (línea negra) en comparación con el patrón de referencia correspondiente (línea azul) obtenido de la base de datos PDF-4 (ICDD). Se observa en verde solamente el patrón de referencia. La coincidencia en las posiciones e intensidades relativas de los picos, permiten confirmar la presencia de una fase tipo clinoptilolita o mordenita en la muestra.....	VII
Figura 41. Difractograma de rayos X de la muestra de zeolita analizada (línea negra) en comparación con el patrón de referencia correspondiente (línea naranja) obtenido de la base de datos PDF-4 (ICDD). Se observa en violeta solamente el patrón de referencia. La coincidencia en las posiciones e intensidades relativas de los picos confirma la presencia de caolina como fase principal en la muestra analizada.....	VIII

Lista de tablas

Tabla 1. Descripción de los dispensadores evaluados.....	18
Tabla 2. Caracterización de las curvas de emisión de feromona por gravimetría.....	31
Tabla 3. Parámetros cinéticos obtenidos del ajuste al modelo de Korsmeyer–Peppas.....	36
Tabla 4. Orificios nuevos correspondientes a parcela I (tratamiento de disrupción sexual) y parcela II (testigo).....	43
Tabla 5. Caracterización de las curvas de emisión de feromona por GC-MS.	47
Tabla 6. Parámetros cinéticos obtenidos del ajuste al modelo de Korsmeyer–Peppas.....	48
Tabla 7. Evaluación térmica por DSC y comparación del dispensador D. Campo-sulcatona y su blanco. Datos obtenidos a partir de los termogramas presentados en el Anexo.	54
Tabla 8. Evaluación térmica por DSC y comparación del dispensador D. Campo-3-pentanol y su blanco. Datos obtenidos a partir de los termogramas presentados en Anexo. Incluye valores de referencia de la literatura para la matriz en su estado puro.	55
Tabla 9. Evaluación térmica por DSC y comparación del dispensador D. Campo-sulcatol y su blanco. Datos obtenidos a partir de los termogramas presentados en el Anexo. Incluye valores de referencia de la literatura para la matriz en su estado puro.....	55
Tabla 10. Evaluación térmica por DSC y comparación del dispensador D. Emulsión, D. 3fj y su blanco. Datos obtenidos a partir de los termogramas correspondientes (Anexo). Incluye valores de referencia de la literatura para la matriz en su estado puro.	56

Lista de abreviaturas

3-penta	3-Pentanol
DAP	Diámetro a la altura del pecho
DGC	Prueba de separación de medias por medio de la metodología
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
FTIR	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier
GLMM	Modelo mixto lineal generalizado con Distribución de Poisson
Ha	Hectáreas
MD	<i>Mating disruption</i> por disrupción sexual
<i>M. mutatus</i>	<i>Megaplatypus mutatus</i>
PEG 6000	Polietilenglicol de peso molecular 6000
Peb	Punto de ebullición
PF	Punto de fusión
PM	Peso molecular
Rpm	Revoluciones por minuto
SEM	Microscopía de barrido electrónico
SPAN	Octadecanoato de [2-[(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-3,4-dihidroxi-2-tetrahidrofurano]-2-hidroxietil]
Sulcatol	6-metil-5-hepten-2-ol
Sulcatona	6-metil-5-hepten-2-ona
Vi	Velocidad de liberación del volátil en el día cero

Capítulo 1. Introducción

1.1.El sector forestal en Uruguay

La demanda mundial por materia prima para la construcción, pulpa y papel, así como otros usos de la madera, incrementaron la plantación de bosques con especies de rápido crecimiento. Como respuesta a esta demanda, y con el incentivo de la ley forestal orientada al desarrollo del sector, en Uruguay se generó un gran crecimiento de la superficie ocupada con forestación comercial.

La Ley Forestal N° 15.939, promulgada en 1987, adquirió un verdadero carácter de política de estado por su papel rector en el desarrollo del sector forestal y en la economía nacional, transformando la matriz productiva del país (Uruguay, 1987). El sector forestal en Uruguay es una parte clave de la economía del país, especialmente en términos de exportaciones y desarrollo sostenible.

Uruguay tiene una superficie de más de 1 millón de hectáreas plantadas con especies forestales comerciales. El 70 % de estas plantaciones son de eucalipto y el 30 % restante son pinos, especies predominantes para la producción de pulpa de papel, madera aserrada y energía renovable.

Otra característica importante del sector forestal es la certificación de calidad mediante organismos internacionales que, al ser un requisito para ingresar a mercados internacionales, condiciona el manejo de plagas a sistemas sostenibles medioambientalmente (FSC, 2016). Esto garantiza no solamente un manejo cuidado considerando recursos naturales implicados, sino que tiene en cuenta que no se introduzcan plagas exóticas a países que no las poseen en productos importados.

1.2. *Megaplatypus mutatus*

En 2019 se constató la presencia masiva de *M. mutatus* en Uruguay, evidenciada por el daño producido en tableros contrachapados de *Eucalyptus* spp. en la industria manufacturera del norte del país. La necesidad de proporcionar herramientas para solucionar esta problemática en tiempo real impulsó el desarrollo de este trabajo.

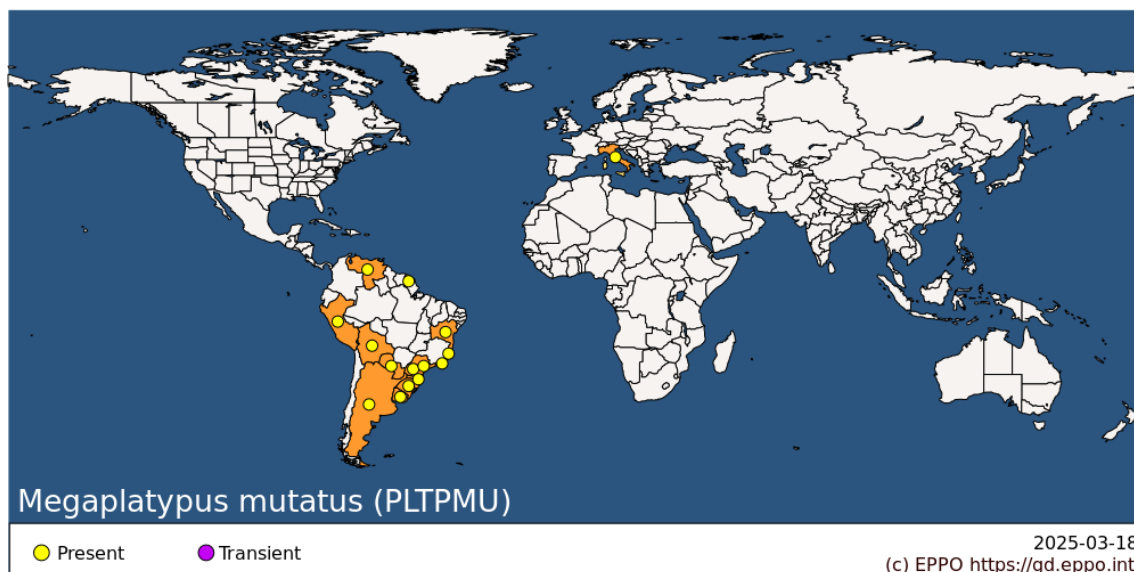


Figura 1. Distribución mundial de *M. mutatus* (Fuente: EPPO Global Database, 2025). PLTPMU datasheet. Recuperado el 18 de marzo de 2025 de <https://gd.eppo.int/taxon/PLTPMU/datasheet>

Este coleóptero xilófago (Curculionidae: Platypodinae) es nativo de Sudamérica (Wood, 1993) y fue detectado por primera vez en Europa en 2001 (Allegro & Della Beffa, 2001) (Figura 1). Se está configurando como una de las plagas forestales más relevantes a nivel nacional, afectando tanto a plantaciones como a bosques silvestres, y está asociada al complejo de hongos Ambrosia, identificado como *Raffaelea santoroi* (Funes et al., 2009).

Es un insecto polífago de 8 mm de longitud que afecta diversas especies frutales y forestales. Su ciclo de vida es anual: los adultos emergentes abandonan las galerías donde se desarrollan como larvas para buscar pareja y nuevos árboles hospedantes, los cuales deben tener una humedad de la madera superior al 50 %, factor principal que favorece la vida del hongo y, por lo tanto, la supervivencia del insecto. Este requisito, junto con un diámetro a la altura del pecho (DAP) superior a 18 cm, convierte a *M. mutatus* en una plaga primaria que ataca árboles vigorosos en pie (Gatti et al., 2008). Las hembras se diferencian de los machos por tener un cuerpo de color más claro y los élitros de la cola redondeados, mientras que en los machos esa zona es truncada (Figura 2).

Los huevos son oblongos, lisos, de entre 0.5 y 0.9 mm, y de color blanco brillante. Las larvas no tienen patas, son blancas, de 1.5 a 4 mm de largo, alcanzando entre 9 y 11 mm en el último estadio, en el cual se tornan color blanco acaramelado. La pupa es libre y posee entre 7.5 a 9.2 mm de largo.

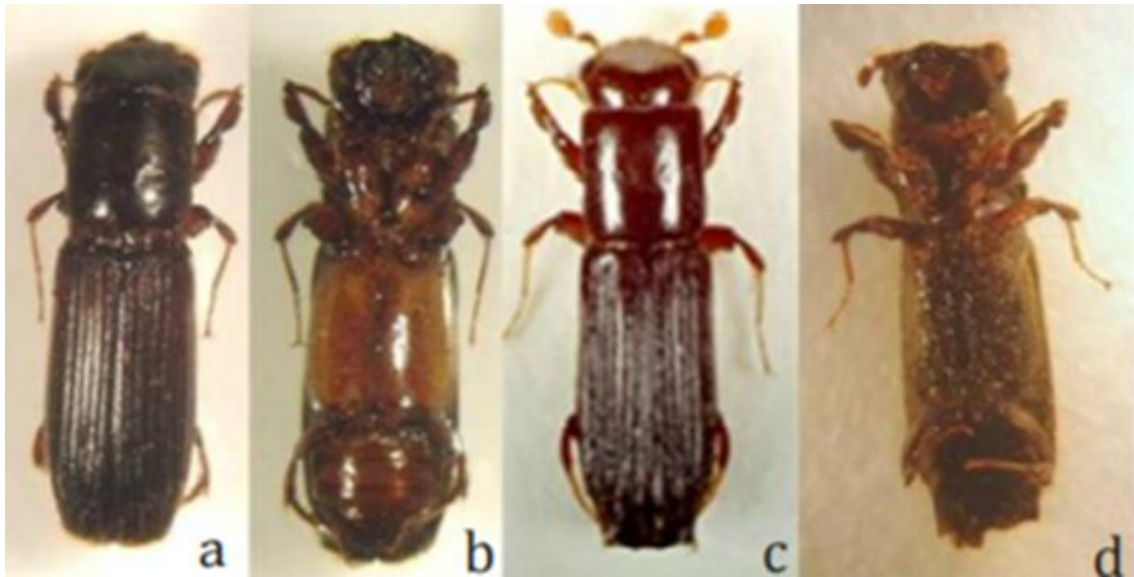


Figura 2. Adultos de *M. mutatus*. a) Hembra vista dorsal b) Hembra vista ventral c) Macho vista dorsal d) Macho vista ventral. Fotos 2a, 2b y 2d: Hernán Funes. Foto 2c: Dr. Gianni Allegro.

La protandria, entendida como la emergencia anticipada de los machos respecto a las hembras, cumple un rol clave en la dinámica de colonización de *M. mutatus*. En esta especie, los machos son los primeros en localizar y colonizar nuevos hospedadores, iniciando la excavación del túnel fundador y emitiendo feromonas de agregación que facilitan la atracción de las hembras. Este comportamiento no solo optimiza el encuentro entre sexos, sino que también favorece el establecimiento exitoso de la colonia (Ceriani et al., 2022).

Al inspeccionar el tronco de un árbol atacado, se descubre en la corteza un pequeño orificio circular de aproximadamente 2,5 mm de diámetro, por donde sale abundante aserrín. Interiormente, se observa un sistema de galerías cilíndricas, de diámetro algo mayor al de los insectos adultos, que se desarrollan en forma paralela a la superficie del tronco en un plano horizontal (Birch, 1974). Se comunican entre sí y desembocan en la galería de entrada, que tiene una dirección radial y termina en el orificio localizado en la corteza, siendo esta la única comunicación de la vivienda con el exterior (Karlson & Lüschen, 1959). Perpendicularmente a este plano de galerías, por encima y por debajo del mismo, se observan galerías de aproximadamente 1 cm de largo y 2,5 mm de ancho, dispuestas en grupos, paralelas entre sí y al eje del árbol. Estas estructuras corresponden a cámaras pupales, generadas o acondicionadas individualmente por cada larva en su estadio final (Figura 3). Este tipo de galerías constituyen las cámaras pupales. Este sistema de galerías está asociado a la presencia de hongos simbiotes, fundamentales para

la nutrición de la especie, característica típica de los escarabajos ambrosiales (Ceriani et al., 2022).



Figura 3. Daño ocasionado por *M. mutatus* en plantación de *Eucalyptus* spp: en a) detalle de daño en árbol quebrado; b) galerías en árbol quebrado; c) árbol debilitado por ataque y quebrado por el viento. Fotos: LUMIN.

Este insecto provoca una gran pérdida de calidad de la madera debido a las galerías que construye dentro del árbol, sumado a manchas ocasionadas por los hongos asociados a su desarrollo. La consecuencia directa de estas galerías son perforaciones producidas en el árbol infectado, que reducen las propiedades mecánicas y físicas consideradas óptimas para soportar el peso y los componentes de una vivienda, así como la estética de la madera. Entre los efectos negativos de la presencia de este insecto en los árboles, se destaca la reducción en los volúmenes aprovechables de madera, debido a la fractura de los fustes a la altura de las galerías, especialmente cuando son sometidos a la acción del viento, lo que afecta la calidad final de la madera. Además, se advierten inconvenientes en el aprovechamiento mediante cosecha mecánica debido a los planos de debilidad generados en los fustes aumentando significativamente los costos de producción. Asimismo, al daño generado por las galerías se agrega la proliferación del hongo en el leño, y por eso este insecto restringe el uso de la madera en la fabricación de productos de mayor valor agregado (Funes et al., 2011, 2013; Gonzalez-Audino et al, 2005).

Otro factor relevante es el rol que cumple en la instalación de otras especies del complejo de escarabajos de corteza y de ambrosía debido al debilitamiento de ejemplares vigorosos, los cuales serán más susceptibles al ataque de plagas secundarias asociadas (Rainho et al., 2021).

Dada la incidencia actual de la plaga en plantaciones forestales del país, su alto impacto en la calidad de la madera y el rol fitosanitario que juega, surge la necesidad de resolver esta problemática aportando herramientas que contribuyan al manejo integrado de la plaga. Todo ello teniendo en cuenta que el ciclo de vida del adulto transcurre mayoritariamente dentro del árbol, y la necesidad de que el método de control sea ambientalmente sustentable, eficiente y de bajo costo: una alternativa interesante es el uso de feromonas.

1.3. Ecología química en el manejo de plagas

La ecología química estudia sustancias emitidas por los organismos que regulan sus interacciones con otros organismos. Estas sustancias son llamadas, en general, semioquímicos, y cuando la interacción ocurre entre individuos de una misma especie se las denomina feromonas. Las feromonas incluyen un rango amplio de moléculas orgánicas, que en su mayoría son compuestos volátiles de entre 5 y 20 átomos de carbono, con pesos moleculares entre los 80 y 300 g/mol.

Pueden ser clasificadas de acuerdo con el tipo de interacción que regulan: así, se pueden encontrar feromonas sexuales, de agregación, trazadoras, de alarma, disuasivas o feromonas que inducen cambios fisiológicos permanentes. Las feromonas de tipo sexual son las que poseen gran interés, ya que pueden ser utilizadas para modificar el comportamiento de reproducción entre individuos de una especie. Dada su especificidad, son los candidatos ideales para lograr un control de plagas concreto y definido, alterando el comportamiento reproductivo de la especie problema y consiguiendo, de esta manera, una reducción de las poblaciones de la generación siguiente.

El uso de feromonas, cuando es posible, presenta claras ventajas frente a la utilización de pesticidas. A la ya mencionada especificidad se le deben agregar: la seguridad laboral para el trabajador rural, la alta efectividad, la obtención de productos libres de residuos tóxicos (en el caso de producciones agrícolas), y la inocuidad ambiental por la sustitución de productos tóxicos (Anon, 2001; Barnes et al., 1992; Bartell, 1982; Birch, 1974).

El éxito en el uso de feromonas implica contar con un amplio conocimiento de diversos aspectos de la biología del insecto, tales como el número de generaciones anuales, la duración del ciclo de vida y su relación con el clima. Por otro lado, es importante conocer

aspectos fenológicos del cultivo en relación al ataque del insecto, así como de la formulación adecuada a partir de sus componentes sintéticos.

Los beneficios en el uso de feromonas están dados por sus características de ser inocuas para el medio ambiente y para otras especies no dianas, ser especie-específicas, lo que las hace efectivas en bajas concentraciones, y muy sensibles, capaces de detectar presencia de insectos en poblaciones bajas (Hegazi et al., 2007; Howse et al., 1998).

La feromona de *M. mutatus* es una mezcla de tres compuestos: 6-metil-5-hepten-2-ol (sulcatol) y 6-metil-5-hepten-2-ona (sulcatona), emitidos por los machos, y 3-pentanol, componente de origen microbiano (hongo simbiote) o derivado de la interacción insecto-hongo dentro de la galería. (Figura 4) (Funes et al., 2013; Gonzalez-Audino et al, 2005).

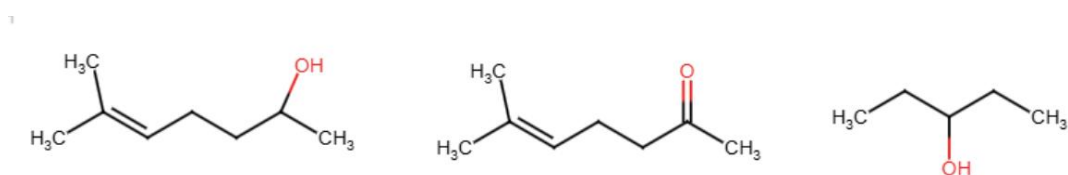


Figura 4. Estructura de los componentes de la feromona de *M. mutatus*: sulcatol (izquierda), sulcatona (centro) y 3-pentanol (derecha).

Existen diversos métodos para el uso de feromonas, y su elección dependerá del objetivo específico. Según el método seleccionado, variarán la dosis y la tasa de emisión de feromonas desde el dispensador. Entre los métodos más destacados se encuentran el monitoreo de poblaciones, el trampeo masivo y la disrupción del apareamiento.

Los sistemas de monitoreo mediante feromonas son herramientas útiles para determinar el momento óptimo para la aplicación de insecticidas o liberación de agentes de control biológico, reduciendo significativamente el uso preventivo de estos y manteniendo las poblaciones por debajo del umbral de daño. Además, permiten verificar la efectividad de las medidas de control después de su aplicación (Anon, 2021; Cardé & Minks, 1995).

Este sistema consiste en dispensar un compuesto o mezcla de compuestos de origen sintético que induce la misma respuesta que la feromona natural. La mezcla de compuestos (feromona) se libera en dosis bajas, conocidas como tasa de monitoreo, que imitan la emisión natural del insecto. Estas son colocadas en las trampas (específicas para

cada plaga), y son liberadas lentamente, con la finalidad de mapear la cantidad y localización de la plaga en el terreno (Cork, 2008; Grasswitz, 2003).

Trabajos previos con los componentes sintéticos para *M. mutatus* en álamos determinaron que tasas de liberación de 10 ± 1 mg, 7 ± 1 mg y 30 ± 2 mg por día para sulcatol, sulcatona y 3-pentanol, respectivamente, fueron efectivas para la captura de insectos en trampas con fines de monitoreo. En cuanto al diseño de las trampas, las que registraron mejores resultados fueron las trampas de panel cruzado o intersección de vuelo, de color transparente (Funes et al., 2013; González-Audino et al., 2005; González-Audino et al., 2012) (Figura 5).



Figura 5. Trampas de panel cruzado utilizadas por LUMIN para Monitoreo: a) transparentes; b) oscuras

La disrupción sexual, consiste en la colocación de dispositivos de liberación de feromonas de altas dosis de liberación, con el fin de inundar el ambiente con estos compuestos volátiles. De esta forma, la señal emitida por un sexo para atraer al otro queda camuflada, impidiendo el encuentro sexual y, por lo tanto, la reproducción de la especie.

Esto se traduce en una disminución en el nivel poblacional de la siguiente generación (Karlson & Lüschen, 1959; Mitchell, 1986). Los mecanismos específicos que resultan en el éxito de la disrupción sexual son diversos, e incluyen:

- i) el camuflaje de la pluma de feromona natural en el ambiente, debido a las altas concentraciones de feromona sintética;
- ii) la desensibilización o habituación, producida por la exposición continua a altas concentraciones de feromona (fenómeno que ocurre a nivel del sistema nervioso central);
- iii) la adaptación de los receptores sensoriales de las antenas del insecto receptor (en el caso de *M. mutatus*, las hembras) debido a la estimulación constante y repetitiva; y
- iv) el desbalance sensorial, que ocasiona una inhibición de la respuesta de orientación debido a la alteración de la proporción natural de los componentes de la feromona por la presencia de uno o más componentes sintéticos.

Mientras estos mecanismos no implican una competencia con la feromona natural (mecanismos no competitivos), se postula también que el seguimiento de pistas falsas por parte de los machos, con el consiguiente agotamiento energético, podría ser un mecanismo competitivo que contribuye a la eficacia del método (Witzgall, 2010).

La efectividad de la disrupción sexual radica en que una proporción sustancial de la población de machos no consiga copular a las hembras. Para ello, los dispensadores de feromonas deben ser colocados considerando la liberación de una tasa mayor que para el caso de monitoreo poblacional. En esta metodología no es necesario el uso de la composición exacta de la feromona, ya que el componente mayoritario o una mezcla simplificada pueden alcanzar el efecto deseado (Bartell, 1982; Cardé & Minks, 1995).

En muchos sistemas de comunicación química en insectos, las feromonas sexuales o de agregación están compuestas por mezclas de varios compuestos en proporciones específicas. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que el componente mayoritario, o combinaciones simplificadas de estos compuestos, pueden ser suficientes para inducir una respuesta comportamental significativa, especialmente en contextos de monitoreo y control. En particular, en coleópteros xilófagos, se ha observado que ciertos componentes individuales pueden actuar como atrayentes efectivos, incluso en ausencia

de la mezcla de feromona completa, mientras que los componentes minoritarios cumplen un rol modulador en la especificidad de la señal (Hanks & Millar, 2016; Rice et al., 2020).

Aunque es una metodología muy exitosa para algunas plagas, existen algunas desventajas o desafíos que deben considerarse. Entre ellos cabe destacar que el uso continuado de una mezcla simplificada (diferente a la mezcla natural) puede perder efectividad, debido a la adaptación de los machos a encontrar a la hembra en presencia de mayores concentraciones de uno o algunos de los componentes de la feromona (Barnes et al., 1992; Cork, 2008; Funes et al., 2011).

No existen, hasta el momento, estudios con esta feromona aplicados a *Eucalyptus* spp. y, por lo tanto, sería interesante evaluar esta estrategia como solución al daño que está generando esta plaga en la producción forestal.

Debe tenerse en cuenta que la eficacia de estas mezclas feromonales depende de variaciones espaciales y temporales en el campo, por lo tanto, los ensayos a campo requieren diseños experimentales con replicación entre parcelas, rotación de tratamientos y análisis estadístico que considere la variabilidad entre trampas.

1.4. Dispositivos de liberación controlada de feromonas

Los dispensadores de liberación controlada de feromonas son dispositivos utilizados en el manejo de plagas para liberar, de forma lenta y continua, feromonas específicas. Estas sustancias permiten atraer insectos plaga o alterar su comportamiento reproductivo, según la dosis y el modo de uso. Diseñados para una emisión sostenida, los dispensadores representan una alternativa segura y ecológica frente a los pesticidas químicos convencionales, constituyendo una herramienta importante en la gestión integrada de plagas (Hubadillah et al., 2017; Krüger & Tolmay, 2002).

En este estudio se hace foco en dispensadores monolíticos, constituidos por un material sólido (generalmente un polímero o cera) en el cual la feromona se encuentra dispersa o disuelta. La liberación controlada se produce por difusión gradual de la feromona a través del material hacia el entorno, garantizando una exposición prolongada y mejorando la eficacia en el control de plagas.

La cinética de liberación, incluida la velocidad de difusión, depende de propiedades físicas del compuesto (por ejemplo, su peso molecular) y de parámetros del sistema, como

el área superficial, la geometría del dispositivo y la densidad de la barrera a atravesar. En formulaciones donde el principio activo se encuentra disuelto o encapsulado en un polímero, la superficie del dispensador actúa como una barrera difusiva, por lo que la estructura y la forma del dispositivo son determinantes.

Estos factores pueden controlarse durante la síntesis de la red polimérica, incluyendo el tamaño y la distribución de poros. La formación de poros depende tanto de la metodología de síntesis como de la naturaleza del componente de relleno (Gregg & Sing, 1967; Tojo, 1985).

La tecnología de liberación controlada ha cobrado relevancia ante los riesgos de toxicidad derivados de la sobreexposición a sustancias farmacológicas y agronómicas. En agricultura, las aplicaciones convencionales suelen generar concentraciones iniciales excesivas, con pérdidas innecesarias y toxicidad para especies no objetivo. Para mitigar estos problemas se han desarrollado sistemas basados en la difusión a través de polímeros y membranas sintéticas, que permiten una liberación más uniforme y segura de fármacos, fertilizantes, pesticidas y herbicidas.

En ecología química, las formulaciones de liberación controlada han permitido alcanzar concentraciones óptimas de feromonas en el aire. Inicialmente se emplearon septos de caucho, silicona y difusores pasivos en trampas cebadas. Si bien estos dispositivos son económicos y prácticos, presentan limitaciones en el control de las tasas de liberación y son sensibles a las variaciones de temperatura y tiempo.

Para mejorar la eficiencia de liberación se han adoptado polímeros que permiten diseñar dispositivos más versátiles. Se han descrito tres tipos principales de sistemas poliméricos para la liberación controlada de feromonas (Howse et al., 1998):

- i) Sistemas tipo reservorio: constan de una sección de reserva, formada por materiales impermeables (vidrio, aluminio, polietileno de alta densidad), y una sección de difusión, generalmente láminas de polietileno de baja densidad o silicona, a través de la cual el compuesto difunde siguiendo un gradiente de concentración.
- ii) Sistemas con emisores de aerosol: incluyen reservorios programados electrónicamente para liberar feromonas en forma de aerosol presurizado y formulaciones “spray”, donde el compuesto activo se disuelve en una matriz líquida biodegradable. Estas formulaciones suelen contener estabilizantes UV, antioxidantes y surfactantes para proteger el semioquímico.

iii) Sistemas de tipo matricial: el compuesto activo se distribuye de manera uniforme en una matriz sólida polimérica. Dependiendo de su concentración, puede encontrarse disuelto o disperso. Las tasas de liberación dependen del material y del diseño del dispositivo, que puede adoptar formas de tubos de polietileno tipo twist tie (Isomate®), sachets, viales, películas (CheckMate CM-XL®), espirales (NoMate CM®), septos de caucho, formulaciones en cera y dispositivos en gel.

Estos sistemas ofrecen opciones ajustables para diversas aplicaciones, optimizando la liberación de feromonas y reduciendo impactos ambientales (Cork, 2008; Mitchell, 1986). Entre las dificultades asociadas se mencionan el mantenimiento de una tasa de liberación constante durante períodos prolongados, la necesidad de aplicar un número suficiente de dispositivos dado su corto alcance, y la no biodegradabilidad de muchas de las formulaciones actualmente disponibles.

En la Figura 6 se muestran ejemplos de dispensadores de feromonas disponibles comercialmente, que ilustran la diversidad de sistemas utilizados en liberación controlada.



Figura 6. Dispensadores disponibles comercialmente en la actualidad: a) difusor tipo reservorio, b) difusor twist tie, c) difusor en spray.

En sistemas matriciales o dispositivos monolíticos, la liberación del principio activo puede modelarse mediante la segunda ley de Fick, que describe la difusión en función del tiempo y del gradiente de concentración. Sin embargo, en sistemas reales donde concurren distintos fenómenos (difusión, hinchamiento, erosión), suelen emplearse

modelos empíricos que describen mejor el comportamiento observado. Uno de los más utilizados es el modelo de Korsmeyer-Peppas, basado en una forma potencial de la ley de Fick:

$$M(t) = kt^n$$

donde:

- $M(t)$ es la cantidad de sustancia liberada en el tiempo t (masa acumulada)
- k es una constante cinética asociada con el sistema
- n es el exponente de difusión, que caracteriza el mecanismo de liberación

Cabe destacar que el modelo de Korsmeyer-Peppas es válido principalmente para describir la etapa inicial de liberación del principio activo ($M_t/M_\infty < 0,6$). En consecuencia, su aplicación en este trabajo se limita a los primeros días del ensayo, período en el cual el mecanismo dominante de liberación puede analizarse a través del valor del exponente n .

En estos sistemas, la feromona se encuentra uniformemente distribuida en un soporte polimérico sólido. El principio activo puede hallarse disuelto en la matriz o disperso si su concentración excede el límite de solubilidad. En presencia de un gradiente de concentración, la difusión describe el flujo desde regiones de mayor concentración hacia regiones de menor concentración, relajando el gradiente con el tiempo.

Los mecanismos de liberación en sistemas matriciales se han clasificado en cuatro tipos:

- i) Tipo I o fickiano: se presenta en matrices inertes donde un compuesto hidrosoluble está disperso en una fase insoluble. La velocidad de liberación decrece con el tiempo, debido al aumento de la longitud del trayecto de difusión a medida que el frente del disolvente avanza hacia el centro de la matriz.
- ii) No fickiano (anómalo): la liberación del principio activo está controlada tanto por la difusión como por el hinchamiento de la matriz. La cinética depende simultáneamente de ambos fenómenos.
- iii) Caso II: la matriz se hincha al absorber humedad o interactuar con el medio, empujando el compuesto hacia afuera a velocidad aproximadamente constante. La liberación no depende directamente del gradiente de concentración.

iv) Tipo supra II: el dispositivo presenta una capa superficial totalmente hidratada que sufre erosión continua. En algunos casos, la liberación del compuesto se aproxima a orden cero si la velocidad de avance del frente de disolución y la velocidad de erosión o disolución del polímero se compensan.

En muestras esféricas, el mecanismo puede inferirse a partir del valor de n : valores de $n < 0,43$ indican difusión fickiana; valores entre 0,43 y 1,0 corresponden a transporte no fickiano; un valor de $n = 1$ se asocia a liberación de orden cero (Langer & Peppas, 1983; Ritger & Peppas, 1987).

Los sistemas monolíticos empleados en este trabajo constan de tres componentes principales: matriz, feromona y relleno. La matriz, compuesta por polímeros, disuelve y/o dispersa homogéneamente el agente activo; la liberación está controlada por difusión. Siguiendo la configuración propuesta por Tojo (1985) y adaptándola al caso de *M. mutatus*, se considera esencial emplear un mínimo de 50 % de matriz polimérica y un máximo de 20 % de feromona, completando la formulación con un componente de relleno cuando es necesario.

La elección de los polímeros es fundamental, ya que deben responder a las propiedades requeridas: la matriz, que actúa como soporte, debe ser preferentemente biodegradable, como las parafinas, el polietilenglicol (PEG) o las ceras naturales. Como materiales de relleno se recomiendan partículas capaces de generar poros en la matriz (por ejemplo, caolina) o materiales con canales en su estructura, como la zeolita (Breck, 1974; García, 2002; Ha et al., 2013).

Esta tesis se enfocó en el estudio de sistemas del tipo matricial (monolíticos) y también en formulaciones fluidas (emulsiones asperjables), debido a que estos permiten ajustar de manera simple la carga y la tasa de liberación de los compuestos activos, se pueden producir con equipamiento básico disponible en laboratorio y presentan costos de fabricación compatibles con su aplicación extensiva en plantaciones comerciales.

En particular, las formulaciones fluidas (emulsiones) se presentan como una alternativa interesante de explorar para aplicaciones asperjables a gran escala, lo que podría resultar operativamente más simple y de menor costo.

Dado que los compuestos identificados como atrayentes principales de *M. mutatus* —sulcatol, sulcatona y 3-pentanol— presentan volatilidades distintas y podrían interactuar entre sí o con la matriz de formulación, se evaluaron tanto dispensadores individuales por

componente como formulaciones unitarias que incorporan la mezcla completa. Esta comparación permite analizar si la co-formulación altera la cinética de liberación o la estabilidad del sistema, así como su efecto en la respuesta en campo. La evaluación es relevante porque no existen antecedentes publicados sobre el comportamiento de estas formulaciones cuando los compuestos se incorporan simultáneamente en matrices sólidas.

Con el fin de comparar formulaciones y caracterizar el comportamiento inicial de los dispensadores, se estimó una tasa de liberación como la variación de la masa liberada en función del tiempo ($\Delta m/\Delta t$) durante los primeros 15 días de ensayo. Este período representa la etapa inicial de liberación, de especial relevancia para aplicaciones de monitoreo y control de *M. mutatus*, y coincide con el enfoque utilizado por González-Audino et al, 2005 para sistemas feromonales similares. La tasa calculada no corresponde a un coeficiente de difusión intrínseco, sino a una tasa experimental promedio, útil para la comparación entre formulaciones bajo condiciones controladas.

1.5. Objetivos e hipótesis de trabajo

Establecido el contexto del problema y las bases conceptuales del uso de feromonas y de sistemas de liberación controlada, los objetivos que guiaron la realización de esta tesis se plantean a continuación, junto con las hipótesis de trabajo asociadas.

Objetivo general

Desarrollar y evaluar formulaciones de la feromona de *M. mutatus* para su aplicación en el monitoreo y la disrupción sexual de la plaga en plantaciones de *Eucalyptus* spp., mediante dispensadores monolíticos y formulaciones fluidas asperjables a escala de campo.

Objetivos específicos

- i) Formular, elaborar y caracterizar dispensadores monolíticos de la feromona de *M. mutatus*, empleando matrices biodegradables y rellenos adecuados, mediante la evaluación de sus propiedades fisicoquímicas y de la cinética de liberación de los compuestos feromonales.

- ii) Evaluar la eficacia de la feromona de *M. mutatus* en dosis de monitoreo y de disrupción sexual mediante ensayos de campo en plantaciones de *Eucalyptus* spp.
- iii) Formular y elaborar formulaciones fluidas asperjables de la feromona de *M. mutatus* para potenciales aplicaciones a gran escala.

Hipótesis de trabajo

En base al conocimiento previo de la feromona de *M. mutatus* en plantaciones de álamos y al impacto creciente de la plaga en plantaciones de *Eucalyptus* spp. en Uruguay, se plantean las siguientes hipótesis:

H1. El sulcatol, como componente principal de la feromona de *M. mutatus*, determina la atracción, y su combinación con sulcatona y 3-pentanol en distintas proporciones modula la magnitud de la respuesta, permitiendo maximizar las capturas en plantaciones de *Eucalyptus* spp. bajo condiciones locales.

H2. Los dispensadores monolíticos formulados con matrices biodegradables y rellenos apropiados permiten ajustar las tasas de emisión de la feromona a los rangos requeridos para monitoreo y disrupción sexual.

H3. La aplicación de dispensadores monolíticos de alta carga feromonal en campo reduce las capturas de hembras y la aparición de nuevos orificios en troncos en parcelas tratadas, en comparación con parcelas control, evidenciando un efecto de disrupción sexual.

H4. Las formulaciones fluidas asperjables de la feromona de *M. mutatus* presentan estabilidad física y cinéticas de liberación compatibles con su uso operativo a gran escala en plantaciones de *Eucalyptus* spp.

Estas hipótesis se abordarán mediante una estrategia metodológica que integra la formulación y caracterización de dispositivos de liberación controlada en laboratorio, la evaluación de tasas de emisión en condiciones controladas y la validación de las formulaciones más promisorias en ensayos de campo.

Capítulo 2. Metodología experimental

2.1. Materiales y equipos

Los componentes de feromonas utilizados en este trabajo fueron 6-metil-5-hepten-2-ona (Vigon International, East Stroudsburg, PA, EE. UU.), ($\pm$) sulcatol (6-metil-5-hepten-2-ol) (Vigon International, East Stroudsburg, PA, EE. UU.) y 3-pentanol (Sigma-Aldrich, Alemania). Los materiales empleados como matrices y rellenos incluyeron cera de parafina (punto de fusión = 57 °C, Sigma-Aldrich, Alemania), polietilenglicol PEG 6000 (Merck, Alemania), cera de carnauba, cera de abejas (Serain Juarez S.A.), ácido esteárico (punto de fusión = 70 °C, Sigma-Aldrich, Alemania), caolina ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$, Droguería Paysandú) y zeolita (Droguería Paysandú, Uruguay).

Para la preparación de emulsiones se utilizaron Tween 80 (Sigma-Aldrich, Alemania), glicerol (Sigma-Aldrich, Alemania), lecitina de soja (Adicel, Brasil), Span 80 (Sigma-Aldrich, Alemania) y vaselina líquida (Droguería Paysandú, Uruguay).

El equipamiento utilizado incluyó un homogeneizador de alta velocidad Ultraturrax XHF_DY, moldes de silicona de 3,0 y 4,5 cm de diámetro con forma de semiesferas, varillas de vidrio, vasos de Bohemia de 100 y 200 mL, freezer y heladera. La evaluación de la emisión de feromonas se realizó mediante cromatografía de gases en un equipo Shimadzu 2010 con columna OPTIMA-5-MS (30 m $\times$ 0,25 mm; 0,25 μm), acoplado a un espectrómetro de masas Shimadzu QP2010 Plus con ionización por impacto electrónico (70 eV).

2.2. Preparación de dispensadores monolíticos

Todos los dispensadores monolíticos se elaboraron mediante un procedimiento general adaptable a cada matriz y formulación. En primer lugar, se fundió la matriz polimérica y se incorporó el relleno inorgánico seleccionado, con el fin de modular la estructura interna del material y la tasa de liberación.

Luego, la mezcla se retiró de la plancha calefactora y se ajustó la temperatura a ~ 70 °C para incorporar los componentes feromonales, de forma individual o como mezcla, según el objetivo del ensayo. Estos se disolvieron o dispersaron homogéneamente en la matriz.

Finalmente, la mezcla se vertió en moldes y se dejó solidificar bajo condiciones controladas, obteniéndose los dispensadores utilizados en los ensayos de laboratorio y campo.

Los % m/m utilizados en formulación fueron seleccionados para aproximar las tasas de liberación ($\text{mg} \cdot \text{día}^{-1}$) reportadas en la literatura.

La formulación fundida se vertió en moldes de silicona con forma de medias esferas de 3 cm de diámetro y se dejó solidificar a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 30 minutos. Se evaluaron distintas combinaciones de matriz y relleno, utilizando un máximo de 2 % m/m de feromona para cebos de monitoreo y 20 % m/m para dispensadores de disrupción sexual. Las matrices empleadas fueron parafina ($57\text{ }^{\circ}\text{C}$), PEG 6000 y ácido esteárico ($70\text{ }^{\circ}\text{C}$). El relleno utilizado fue caolina en proporciones entre 0 y 30 % m/m. La Figura 7 muestra el esquema general del proceso.

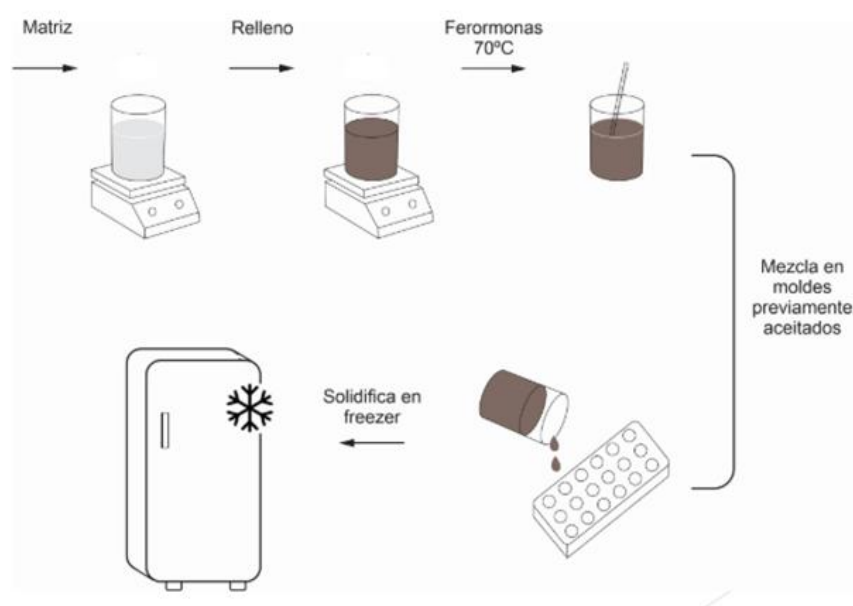


Figura 7. Representación de la metodología empleada en la preparación de dispensadores monolíticos

2.2.1. Evaluación de la emisión por gravimetría

Con el objetivo de evaluar el efecto de la matriz, la proporción de caolina y la concentración del compuesto activo sobre la liberación de la feromona, se diseñaron y evaluaron diferentes formulaciones de dispensadores. En la Tabla 1 se presenta el detalle de las formulaciones utilizadas.

Tabla 1. Descripción de los dispensadores evaluados

Formulación	Matriz	% Caolina	Compuesto activo	% Feromona
PEG-0-2	PEG 6000	0	Sulcatol	2
PEG-30-2	PEG 6000	30	Sulcatol	2
PEG-30-20	PEG 6000	30	Sulcatol	20
P-30-2	Parafina	30	Sulcatol	2
P-0-20	Parafina	0	Sulcatol	20
P-0-2	Parafina	0	Sulcatona	2
P-10-2	Parafina	10	Sulcatona	2
P-30-2	Parafina	30	Sulcatona	2
P-30-20	Parafina	30	Sulcatona	20
P-0-1	Parafina	0	3-Pentanol	1
P-0-2	Parafina	0	3-Pentanol	2
P-30-2	Parafina	30	3-Pentanol	2
P-0-20	Parafina	0	3-Pentanol	20

Para ello, los dispensadores se desmoldaron, se pesaron en balanza analítica y se mantuvieron a 23 °C durante todo el período de monitoreo. Se realizaron tres réplicas por formulación, evaluadas hasta alcanzar peso constante. Paralelamente, se determinó la pérdida de masa de los dispensadores control.

A partir de los perfiles de liberación obtenidos, y considerando antecedentes bibliográficos y tasas de referencia reportadas para sistemas de liberación de feromonas, se seleccionaron las formulaciones con desempeño más adecuado para su evaluación en ensayos de campo. Se consideró al sulcatol como componente principal de la mezcla, manteniéndose constante en todas las formulaciones, mientras que los demás componentes se variaron siguiendo el enfoque de mezclas simplificadas.

Las formulaciones evaluadas fueron las siguientes:

- **T1:** 2:1:0
- **T2:** 1:1:0
- **T3:** 2:1:0,5
- **T4:** 1:1:0,5
- **T5:** Control (materiales inactivos, sin feromona)

2.3. Ensayos de campo

Los ensayos de campo se realizaron en el predio El Naranjo 2, ubicado en la Ruta 5 km 428, propiedad de la empresa LUMIN. El predio presenta una plantación de *Eucalyptus* spp. con un 70 % de la superficie afectada por ataques de *M. mutatus*. Se seleccionaron dos parcelas de 6 hectáreas cada una para evaluar tanto las capturas en trampas cebadas con feromonas en distintas formulaciones como el potencial de la disrupción sexual como estrategia de control.

En el ensayo de disrupción sexual, una de las parcelas se asignó como control y la otra recibió el tratamiento de disrupción sexual.

2.3.1. Evaluación de mezclas de componentes

Esta evaluación se llevó a cabo entre el 16 de noviembre y el 7 de diciembre de 2021. Se evaluaron cuatro mezclas feromonales de sulcatol:sulcatona:3-pentanol, definidas en función de relaciones volumétricas definidas según proporciones relativas entre sus componentes; junto con un tratamiento control. En todos los tratamientos se mantuvo constante la cantidad absoluta de sulcatol, utilizándolo como compuesto de referencia, mientras que se variaron las proporciones relativas de sulcatona y 3-pentanol.

La selección del sulcatol como componente de referencia se fundamentó en antecedentes bibliográficos que lo identifican como el principal componente de la feromona de *M. mutatus* y determinante en la respuesta comportamental del insecto (González-Audino et al., 2005; Funes et al., 2013). Esta estrategia permitió asegurar una señal feromonal base comparable entre tratamientos y evaluar específicamente el efecto de la variación en la composición relativa de la mezcla sobre las capturas.

Las formulaciones evaluadas fueron las siguientes:

- **T1:** 2:1:0
- **T2:** 1:1:0
- **T3:** 2:1:0,5
- **T4:** 1:1:0,5
- **T5:** Control (materiales inactivos, sin feromona)

Cada tratamiento se evaluó en cinco trampas por parcela, en dos parcelas (parcela I y parcela II), alcanzando un total de diez repeticiones por tratamiento. Se dispuso una réplica por fila (cuatro tratamientos y un control), rotando semanalmente la posición de los tratamientos con el fin de compensar posibles efectos espaciales que pudieran influir en las capturas y garantizar que las diferencias se atribuyeran a las mezclas atrayentes.

Este diseño experimental resultó en 25 trampas por parcela, todas equipadas con dispensadores de monitoreo formulados con un máximo de 2 % de feromona total, excepto control T5 (Figura 8).

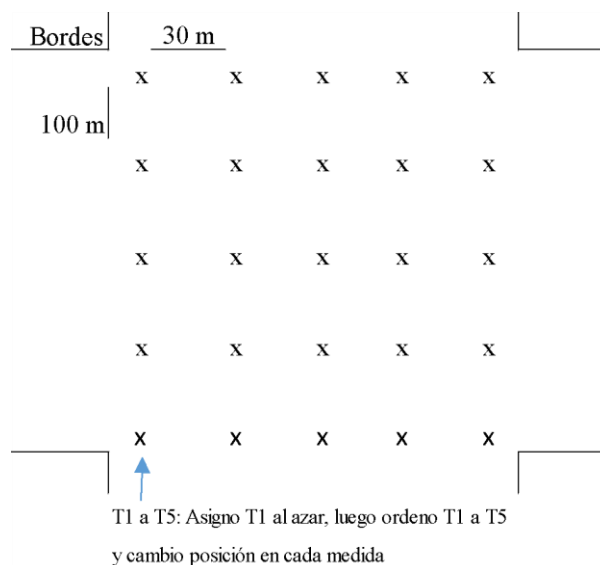


Figura 8. Diseño de parcela de monitoreo en una extensión de 6 ha. Cada cruz corresponde a una trampa en la cual se coloca un juego de cebos. Los tratamientos T1 a T5 van rotando de lugar semanalmente, según dirección de la fecha.

2.3.2. Evaluación de disrupción sexual

La información obtenida en el experimento anterior se utilizó para comparar las poblaciones basales de ambas parcelas antes de aplicar el tratamiento de disrupción sexual. Para ello, se analizaron las capturas de hembras registradas en las dos parcelas durante las tres fechas de monitoreo previas a la instalación de los dispensadores de disrupción sexual. Se consideraron las capturas asociadas a todos los tratamientos evaluados en la etapa previa, con el fin de establecer una línea de base representativa de la población de *M. mutatus* en cada parcela.

Tras esta evaluación preliminar, en diciembre se instaló el tratamiento de disrupción sexual en la parcela I. Los dispensadores se prepararon utilizando la mezcla más atractiva identificada en el experimento de monitoreo (T3), incrementando la proporción de feromona hasta un 20 % m/m para su uso en disrupción sexual. Se colocaron 40 dispensadores por hectárea, distribuidos homogéneamente, considerando que cada “dispensador” correspondió en realidad a un conjunto de tres monolitos (uno por cada componente de la feromona), siguiendo el procedimiento descrito en Funes et al. (2011).

Para evaluar el efecto del tratamiento, se analizaron las capturas en trampas de monitoreo durante las dos fechas de muestreo posteriores a la instalación. Se compararon las capturas de hembras entre la parcela I (tratada) y la parcela II (control). En el análisis de datos se consideraron tanto las capturas correspondientes a todas las formulaciones atrayentes evaluadas previamente (excepto el control), como únicamente aquellas de los tratamientos T3 y T4, que fueron los más atractivos en el experimento preliminar. En los modelos estadísticos utilizados para analizar las capturas, los tratamientos T1 a T4 se incorporaron como factores aleatorios.

Además, se evaluó el efecto del tratamiento sobre el daño en troncos mediante el registro de orificios activos e inactivos. Se consideraron orificios activos aquellos que presentaban aserrín larval o adulto, mientras que los orificios cerrados se clasificaron como inactivos. Se cuantificaron los nuevos orificios en 15 árboles por hectárea seleccionados al azar en ambas parcelas, en tres momentos: (i) antes de la instalación de los dos experimentos, (ii) antes de la instalación del tratamiento de disrupción sexual y (iii) después de su instalación.

2.4. Preparación de dispensadores mejorados

En base a los resultados obtenidos en los ensayos de campo, se diseñaron formulaciones optimizadas con el objetivo de mejorar la durabilidad y la resistencia térmica de los dispensadores. Como punto de partida, se tomó la formulación T3, previamente identificada como la de mejor desempeño en campo.

Se partió del procedimiento general de formulación de dispensadores, modificándose el tamaño de los moldes de silicona, los cuales presentaban forma de semiesferas de 3,5 cm de diámetro. Se evaluaron tres metodologías para la incorporación de la feromona en la

matriz polimérica: (i) incorporación directa, (ii) encapsulación previa en emulsiones y (iii) adsorción en zeolita seguida de su incorporación en la matriz.

Dispensadores D.Campo

Se denomina D.Campo a las formulaciones en las cuales se incorporó feromona según la mezcla más atractiva determinada en campo (2:1:0,5 para sulcatol, sulcatona y 3-pentanol, respectivamente; descrito como T3 para éste estudio). Los dispensadores formulados por separado para cada componente fueron:

- sulcatol en matriz de PEG 6000 con 30 % m/m de caolina,
- sulcatona en matriz de parafina (57 °C) con 30 % m/m de caolina,
- 3-pentanol en matriz de parafina (57 °C).

Dispensadores D.Emulsión

En esta variante, se empleó la mezcla feromonal óptima determinada en campo. La feromona se incorporó mediante una emulsión aceite-en-agua formada a partir de una fase oleosa y una fase acuosa. La fase oleosa incluyó la mezcla feromonal en la proporción 2:1:0,5 (sulcatol:sulcatona:3-pentanol). La emulsión obtenida, con una fracción interna del 20 % v/v, se incorporó posteriormente en ácido esteárico siguiendo el procedimiento general. De este modo, se obtuvo un único dispositivo con los tres compuestos feromonales encapsulados, denominado D.Emulsión.

Dispensadores D.3FJ

En los dispensadores de incorporación directa (D.3FJ), los tres componentes de la feromona en la proporción 2:1:0,5 se añadieron simultáneamente a una única matriz siguiendo el procedimiento general de fusión, homogenización y moldeado.

Dispensadores D.Zeolita

Para los dispensadores D.Zeolita, la mezcla feromonal en proporción 2:1:0,5 se dispersó homogéneamente sobre zeolita, permitiendo su adsorción en la estructura porosa del

material. Posteriormente, se fundió ácido esteárico y, bajo agitación constante, se incorporó la mezcla de zeolita y feromona. El proceso continuó mediante el moldeado y solidificación según el procedimiento general, obteniéndose un único dispensador con los tres componentes de la feromona adsorbidas en zeolita.

La Figura 9 muestra el esquema correspondiente. Cabe señalar que todas las matrices seleccionadas (parafina, PEG, cera, ácido esteárico) son biodegradables y compatibles con el manejo silvicultural.

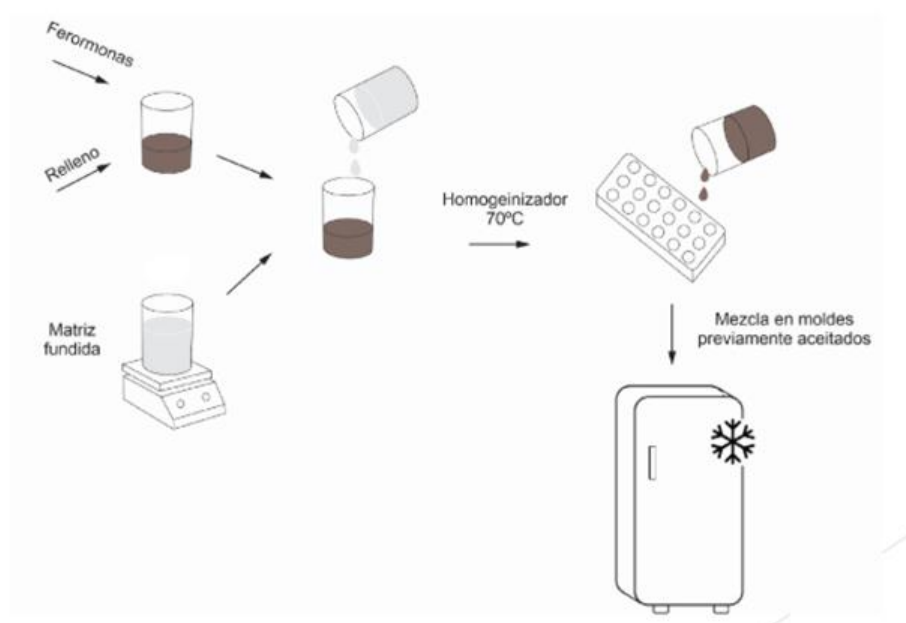


Figura 9. Representación de la metodología empleada en la preparación de dispensadores monolíticos D. Zeolita

2.4.1. Evaluación de la emisión por cromatografía y caracterización fisicoquímica

La emisión de feromonas de los dispensadores mejorados se analizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Para ello, los dispensadores se retiraron del molde y se evaluaron en un túnel de viento a 25 °C, con una velocidad de aire de 0,5–0,6 m·s⁻¹.

Los compuestos volátiles liberados fueron colectados mediante aireación dinámica, mediante el paso de una corriente de aire deshumidificado y filtrado (0,3 L·min⁻¹) a través del sistema, y retenidos en pipetas Pasteur conteniendo 50 mg de HayeSep-Q (80/100),

ubicadas en la salida del túnel de viento. Se realizaron tres réplicas por tipo de cebo, con colectas de 4 h, repitiéndose cada 48 h durante 15 días.

Los compuestos adsorbidos se eluyeron con 1 mL de hexano y las muestras se almacenaron a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis. El análisis se llevó a cabo en un sistema GC-MS (Shimadzu GC-2010 Plus) equipado con una columna Stabilwax ($30\text{ m} \times 0,32\text{ mm}$, $0,5\text{ }\mu\text{m}$), utilizando un programa de temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (1 min), seguido de incrementos hasta $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, 12 min) y $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($20\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, 3 min), con inyección splitless de $1\text{ }\mu\text{L}$.

Las propiedades fisicoquímicas de los dispensadores seleccionados se estudiaron mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC). El análisis se realizó en un calorímetro Shimadzu DSC-60. Las mediciones se efectuaron entre 25 y $150\text{ }^{\circ}\text{C}$, con una velocidad de calentamiento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Una de las celdas del equipo contuvo la muestra y la otra permaneció vacía como referencia. El calor suministrado se registró en función de la temperatura o del tiempo, permitiendo identificar transiciones térmicas a través de picos endotérmicos, valles exotérmicos o cambios de pendiente asociados a transiciones vítreas.

También se realizaron estudios de difracción de rayos X para caracterizar la matriz, el relleno y los distintos dispensadores elaborados. Los difractogramas se obtuvieron con un equipo Rigaku Miniflex 600-C, que opera en geometría θ - 2θ Bragg-Brentano. El instrumento está equipado con un generador de radiación Cu $K\alpha$ ($\lambda = 1,5419\text{ }\text{\AA}$), operando a 40 kV y 15 mA , y utiliza un detector D/tex Ultra2 1D. Las mediciones se realizaron en modo barrido en el rango de 2θ entre 3° y 60° , con un tamaño de paso de $0,02^{\circ}$ y una velocidad de $20^{\circ}\cdot\text{min}^{-1}$.

2.5. Preparación de emulsiones

Los tres componentes de la feromona se incorporaron en la proporción 2:1:0,5 (sulcatol:sulcatona:3-pentanol). Esta relación, identificada como T3, fue seleccionada en función de los resultados del ensayo de campo descrito más adelante. Se prepararon dos emulsiones (Emulsión 1 y Emulsión 2).

Emulsión 1

Para preparar 100 mL de Emulsión 1, se combinaron 40 mL de una fase oleosa basada en ácido esteárico y 60 mL de una fase acuosa.

Preparación de la fase acuosa:

La fase acuosa se preparó calentando 56,5 mL de agua destilada a 60 °C. Bajo agitación se adicionaron 1 mL de Tween 80 y 2,5 mL de glicerol hasta su completa disolución.

Preparación de la fase oleosa:

Para la fase oleosa se mezclaron 14,1 g de ácido esteárico y 4,45 g de lecitina de soja. La mezcla se calentó a 120 °C hasta obtener una fase líquida homogénea. Posteriormente se dejó enfriar hasta 60 °C, evitando su solidificación. A esta temperatura se incorporó la feromona (20 mL), ya sea como mezcla T3 o como componentes individuales, obteniendo una emulsión con 20 % v/v de fase interna.

En el caso de la mezcla T3, se utilizaron 10,9 mL de sulcatol, 5,1 mL de sulcatona y 3,6 mL de 3-pentanol.

Homogeneización:

La fase oleosa con feromona se incorporó a la fase acuosa y se homogeneizó a 60 °C mediante un homogeneizador de alta velocidad (XHF-DY) a 5000 rpm durante 5 minutos, hasta obtener una emulsión estable. La emulsión final se enfrió a temperatura ambiente y se almacenó a –10 °C.

Emulsión 2

Para preparar 100 mL de Emulsión 2, se combinaron 40 mL de una fase oleosa basada en vaselina líquida y 60 mL de una fase acuosa.

Preparación de la fase acuosa:

La fase acuosa se obtuvo calentando 56,5 mL de agua destilada a 60 °C, a los que se adicionaron 3,703 g de monooleato de sorbitan bajo agitación hasta lograr su completa dispersión.

Preparación de la fase oleosa:

La fase oleosa se preparó mezclando 20 mL de vaselina líquida y 5 mL de aceite de soja neutro. La mezcla se calentó a 120 °C hasta obtener una fase homogénea, y luego se dejó enfriar a 60 °C con control de temperatura para evitar solidificación. A esta fase se

incorporaron 15 mL de la mezcla feromonal (T3) o de sus componentes individuales, obteniendo una emulsión con 15 % v/v de fase interna.

Para la mezcla T3, se añadieron 8,57 mL de sulcatol, 4,28 mL de sulcatona y 2,14 mL de 3-pentanol.

Homogeneización:

La emulsión se preparó siguiendo el mismo procedimiento descrito para la Emulsión 1.

La Figura 10 muestra el esquema general del proceso de elaboración de las emulsiones.

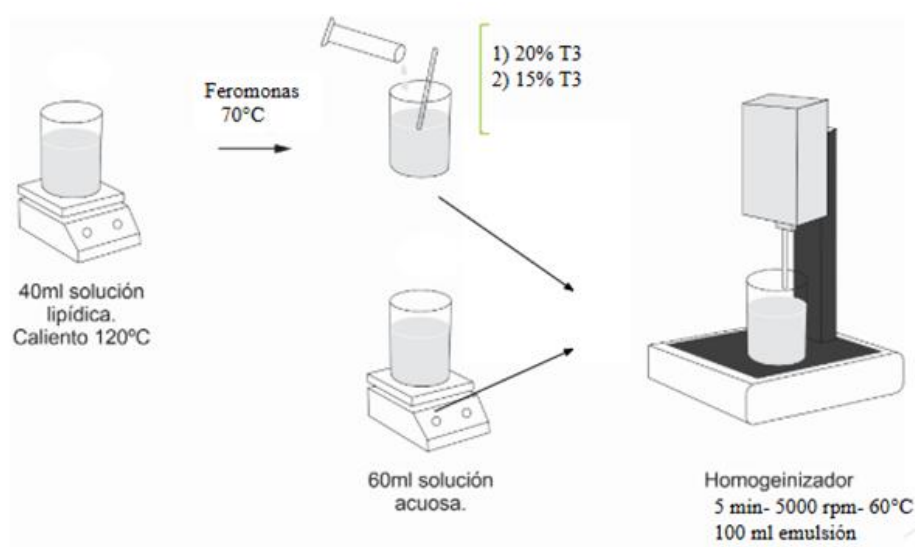


Figura 10. Representación de la metodología empleada en la preparación de emulsiones

2.5.1. Evaluación de la estabilidad de las emulsiones

La estabilidad física de las emulsiones se evaluó mediante la observación de separación de fases, cremado y sedimentación a lo largo del tiempo. Las emulsiones se almacenaron a 4 °C para minimizar la volatilización de las feromonas, y se registró cualquier cambio visual durante un período de 30 días.

Se realizaron análisis periódicos en los días 0, 4, 7, 14 y 32 para determinar la concentración de feromonas mediante cromatografía de gases. Este seguimiento permitió evaluar la tasa de liberación, los cambios en la composición y la vida útil de cada emulsión.

La liberación de feromonas se cuantificó en función del tiempo, simulando condiciones normales de almacenamiento y uso. Para ello, se tomaron muestras de 1 g de emulsión y se colocaron en placas de Petri de vidrio. Las muestras se dejaron estabilizar durante 4 horas, y el peso estabilizado se consideró como peso inicial. Este procedimiento permitió minimizar el efecto de la liberación inicial rápida y obtener una evaluación más precisa de la liberación sostenida.

Capítulo 3. Resultados y discusión

En este capítulo se presentan los resultados correspondientes a los objetivos específicos i), ii) e iii), orientados a la formulación y caracterización fisicoquímica y cinética de dispensadores monolíticos de la feromona de *M. mutatus*, así como a la evaluación de su eficacia en condiciones de campo y preparación de emulsiones asperjables. Se abordan tanto la caracterización de dispensadores monolíticos como de emulsiones, considerando su comportamiento en términos de liberación de los compuestos activos, propiedades fisicoquímicas y estabilidad.

En primer lugar, se evaluó la liberación de feromonas desde dispensadores monolíticos mediante métodos gravimétricos (3.1). A continuación, se presentan los resultados de los ensayos de campo, donde se compararon distintas mezclas feromonales para monitoreo y se evaluó la eficacia de la disrupción sexual (3.2). Sobre la base de los resultados obtenidos en campo, se analizaron por cromatografía de gases formulaciones preseleccionadas y dispensadores modificados con el objetivo de mejorar su desempeño (3.3). Posteriormente, se estudiaron las propiedades fisicoquímicas de las formulaciones seleccionadas mediante DSC y difracción de rayos X (3.4). Finalmente, se evaluó la estabilidad de las emulsiones y su perfil de liberación (3.5), con el fin de asegurar condiciones adecuadas de almacenamiento y aplicación a gran escala.

3.1. Evaluación de la liberación de feromonas por gravimetría

En una primera instancia se prepararon dispensadores monolíticos con matriz de parafina (PF 57 °C) y distintos porcentajes de relleno de caolina para los tres componentes de la feromona. Alternativamente, se utilizó PEG 6000 como matriz para la formulación del dispensador de sulcatol (Figura 11). La selección de las matrices se basó en antecedentes bibliográficos y en su disponibilidad para trabajo a escala de laboratorio.

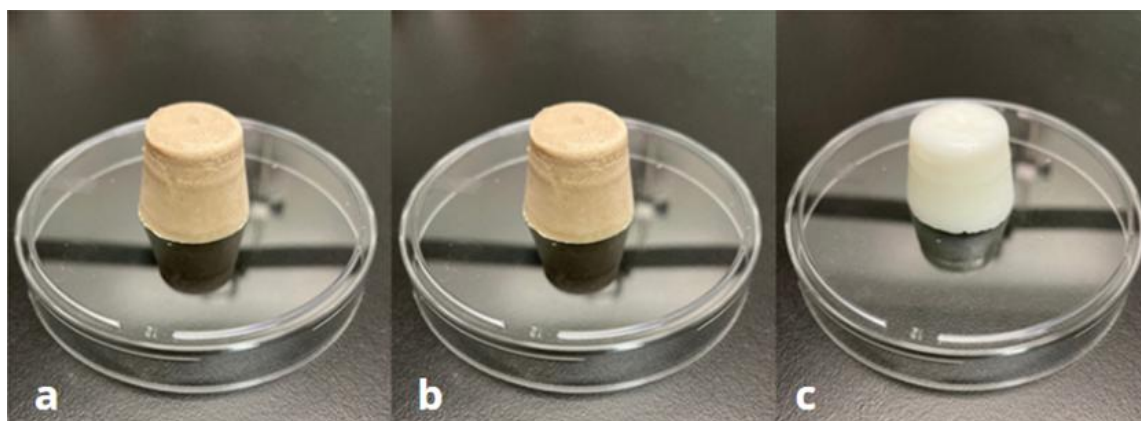


Figura 11. Dispensadores de monitoreo: a) sulcatol, b) sulcatona y c) 3-pentanol, respectivamente

Para evaluar las distintas formulaciones, se tomaron como referencia las tasas de liberación para monitoreo de trabajos previos con los componentes sintéticos para *M. mutatus* en álamos (Funes et al., 2013; González-Audino et al, 2005). Estas tasas fueron de 10 ± 1 mg, 7 ± 1 mg y 30 ± 2 mg por día para sulcatol, sulcatona y 3-pentanol, respectivamente. También se consideraron tasas mayores para disrupción sexual, reportadas como 79,4 mg/día para sulcatol, 63,2 mg/día para sulcatona y 91,2 mg/día para 3-pentanol. En ambos casos, tasas de monitoreo o disrupción fueron calculadas como el promedio de la liberación de los primeros 15 días, incluyendo el día cero (Funes et al., 2013; González-Audino et al, 2005).

La liberación de feromonas se evaluó mediante gravimetría, registrando la pérdida de masa de los dispensadores a lo largo del tiempo bajo condiciones controladas. A partir de estos datos se determinó tanto la cantidad diaria liberada como la masa acumulada en función del tiempo. El valor correspondiente al día cero no fue considerado en los ajustes cinéticos, debido a la descarga inicial elevada característica de sistemas monolíticos, la cual no representa adecuadamente un régimen de liberación sostenida.

Con el fin de comparar las distintas formulaciones y seleccionar aquellas con potencial aplicación en monitoreo o disrupción de *M. mutatus*, se estimó una tasa de liberación como la variación de la masa liberada en función del tiempo ($\Delta M/\Delta t$), calculada como el promedio de los primeros 15 días de ensayo, incluyendo el día cero. Este enfoque ha sido utilizado previamente en estudios sobre dispensadores feromonales forestales (Funes et al., 2013; González-Audino et al., 2005) y resulta especialmente relevante desde el punto de vista operativo.

Para interpretar el mecanismo de liberación de las feromonas desde las matrices poliméricas, los datos de masa liberada en función del tiempo (excluyendo el día cero) se ajustaron al modelo empírico de Korsmeyer–Peppas, expresado como $m = c \cdot t^n$, donde m es la masa acumulada liberada, c es una constante cinética y n es el exponente de difusión. El valor de n permite inferir el tipo de mecanismo de liberación, sin asumir un coeficiente de difusión constante.

La Figura 12 muestra una curva representativa de liberación de feromona acumulada, en la que se presenta el ajuste de los datos experimentales (sin considerar el día cero) a una ecuación de tipo potencial.

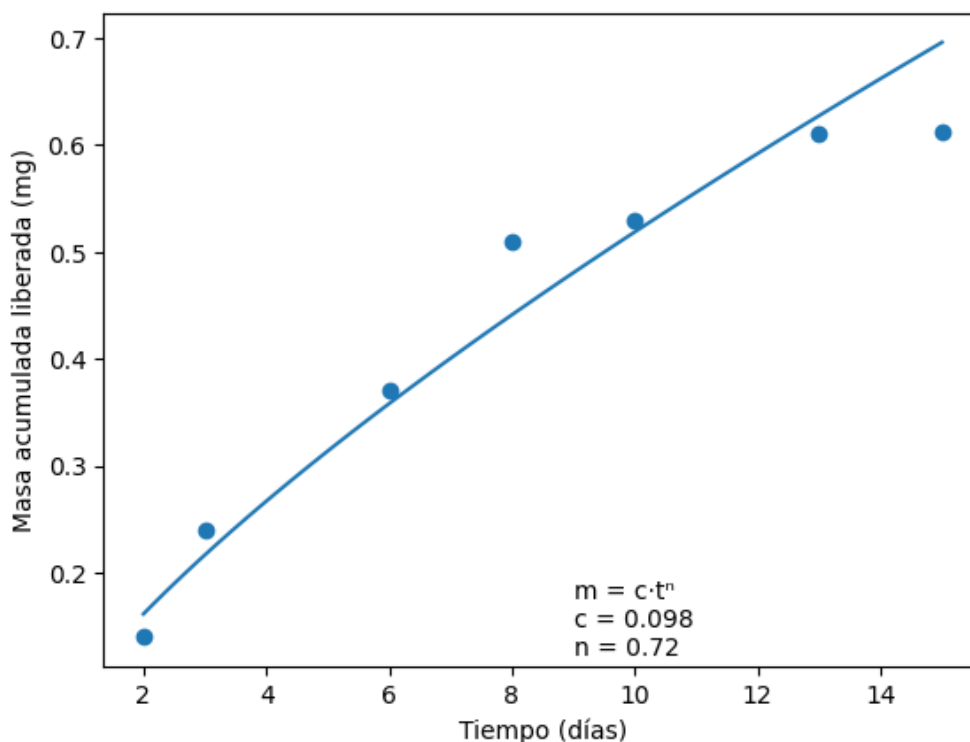


Figura 12. Liberación acumulada de sulcatol desde matrices poliméricas en función del tiempo. Los puntos representan los valores experimentales de masa acumulada liberada (excluyendo el día cero) y la línea continua corresponde al ajuste al modelo empírico de Korsmeyer–Peppas, $m = c \cdot t^n$

En las secciones siguientes se presentan, en primer lugar, las tasas de liberación obtenidas para las distintas formulaciones evaluadas y, posteriormente, el análisis cinético de los perfiles de liberación mediante el modelo de Korsmeyer–Peppas, con el fin de comparar

el desempeño y seleccionar las formulaciones más adecuadas para su evaluación en campo.

La Tabla 2 presenta los resultados obtenidos para las distintas formulaciones evaluadas, detallando la matriz utilizada, el porcentaje de relleno inorgánico y el porcentaje de feromona incorporada. Se incluyen la tasa de liberación (mg/día), calculada como el promedio de la liberación durante los primeros 15 días incluyendo el día cero, y el valor de V_i , correspondiente a la velocidad inicial de liberación (mg/día) en el día cero.

Tabla 2. Caracterización de las curvas de emisión de feromona por gravimetría.

Formulación	Matriz	% Caolina	% Feromona	V_i (mg/día)	Tasa (mg/día)
PEG-0-2	PEG 6000	0	2 % Sulcatol	4,4	2,5
PEG-30-2	PEG 6000	30	2 % Sulcatol	7,7	7,5
PEG-30-20	PEG 6000	30	20 % Sulcatol	89	44
P-30-2	Parafina	30	2 % Sulcatol	3,9	1,6
P-0-20	Parafina	0	20 % Sulcatol	18	10
P-0-2	Parafina	0	2 % Sulcatona	4,4	2,5
P-10-2	Parafina	10	2 % Sulcatona	24	12
P-30-2	Parafina	30	2 % Sulcatona	17	8,7
P-30-20	Parafina	30	20 % Sulcatona	120	73
P-0-1	Parafina	0	1 % 3-Pentanol	2,4	1,2
P-0-2	Parafina	0	2 % 3-Pentanol	13	7,5
P-30-2	Parafina	30	2 % 3-Pentanol	12	4,1
P-0-20	Parafina	0	20 % 3-Pentanol	60	42

La Figura 13 muestra los perfiles de liberación diaria de sulcatona desde dispensadores monolíticos formulados para monitoreo, evaluados a partir de datos gravimétricos. Todas las formulaciones presentan la misma matriz polimérica (parafina PF 57 °C) y la misma concentración de feromona (2 %), diferenciándose únicamente en el porcentaje de caolina incorporado como relleno inorgánico.

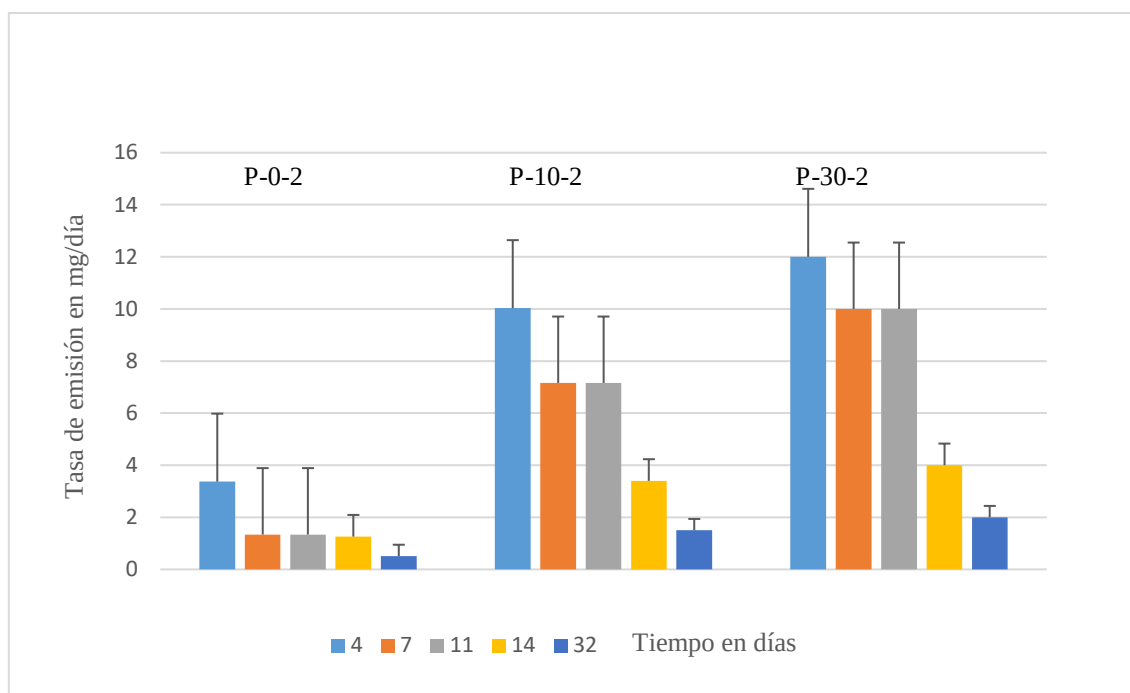


Figura 13. Gráfica de liberación de sulcatona desde dispensadores monolíticos con dosis de monitoreo, sin día cero. Los valores muestran la cantidad de sulcatona liberada diariamente, calculada gravimétricamente, y las barras representan la desviación estándar

Los resultados evidencian un efecto significativo de la adición de caolina sobre la velocidad inicial de liberación (V_i) y la tasa promedio. La formulación sin relleno (P-0-2) presentó una velocidad inicial de 4,4 mg/día y una tasa de liberación de 2,5 mg/día. Al incorporar 10 % de caolina (P-10-2), ambos parámetros aumentaron notablemente, alcanzando valores de 24 mg/día para V_i y 12 mg/día para la tasa de liberación. En la formulación con 30 % de caolina (P-30-2), si bien la velocidad inicial se mantuvo elevada (17 mg/día), la tasa de liberación disminuyó a 8,7 mg/día, lo que sugiere una estabilización del proceso de emisión a lo largo del tiempo.

Este comportamiento indica que la caolina desempeña un rol dual en la matriz parafínica. Por un lado, su incorporación inicial incrementa la porosidad efectiva del material, favoreciendo una liberación más rápida de la feromona. Por otro, a mayores contenidos de relleno, la estructura interna del dispensador puede volverse más compleja, aumentando la tortuosidad del camino de difusión y limitando parcialmente la liberación sostenida. La elección de la caolina como relleno se fundamenta en su granulometría homogénea, tamaño de partícula fino e inercia química, características que facilitan su dispersión en la matriz y minimizan interacciones químicas no deseadas. Asimismo, su

capacidad para formar suspensiones concentradas con baja viscosidad favorece su uso en sistemas de liberación controlada (Ha et al., 2013; Hubadillah et al., 2017).

La formulación P-30-2 (parafina PF 57 °C con 30 % de caolina y 2 % de sulcatona) presentó una tasa de liberación de 8,7 mg/día, valor adecuado para aplicaciones de monitoreo y cercano a las tasas reportadas en la bibliografía para sistemas feromonales forestales. Además, esta formulación mostró un perfil de liberación más estable en el tiempo en comparación con formulaciones con menor contenido de relleno, lo que resulta ventajoso para su uso en condiciones de campo.

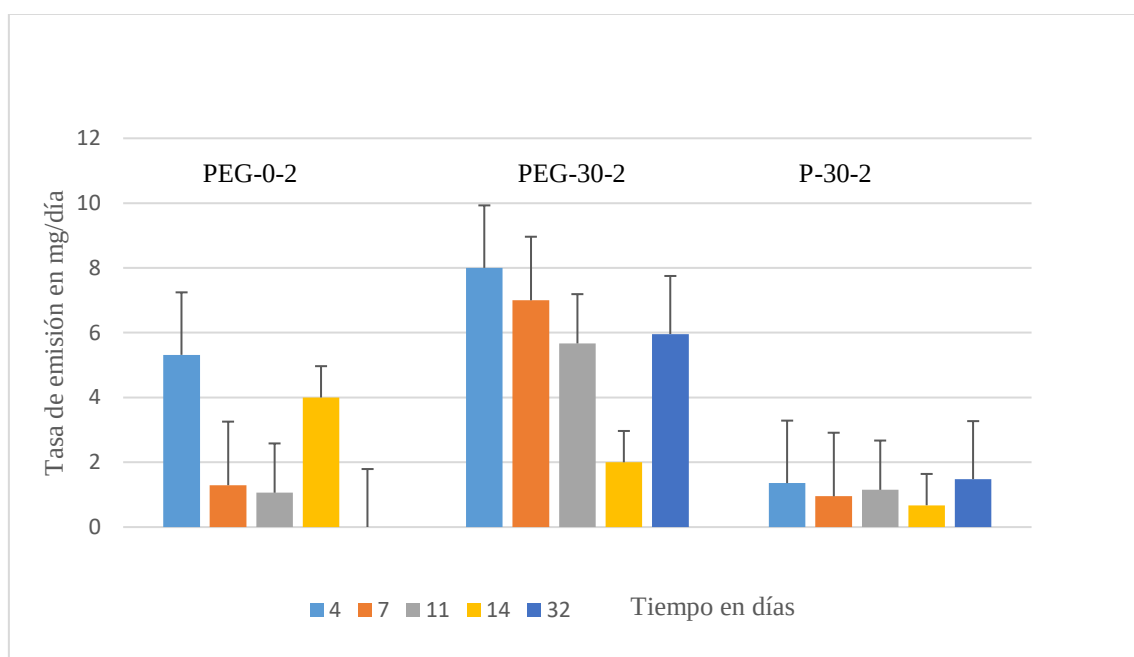


Figura 14. Gráfica de liberación de sulcatol de dispensadores monolíticos con dosis de monitoreo sin día cero. Los valores muestran la cantidad de sulcatol liberada diariamente, calculada gravimétricamente, y las barras representan la desviación estándar.

Las curvas de liberación de sulcatol al 2 % muestran diferencias claras entre formulaciones, tanto en la velocidad inicial de liberación (V_i) como en la tasa promedio, evidenciando un marcado efecto del tipo de matriz polimérica y de la incorporación de caolina (Tabla 1, Figura 14).

En las formulaciones basadas en PEG 6000, la adición de caolina produjo un aumento significativo de la liberación. La formulación PEG-0-2 presentó una velocidad inicial de 4,4 mg/día y una tasa de liberación de 2,5 mg/día, mientras que la formulación PEG-30-2 alcanzó valores de 7,7 mg/día y 7,5 mg/día, respectivamente. Este comportamiento sugiere que la presencia de caolina modifica la estructura del polímero, incrementando la

porosidad efectiva de la matriz y reduciendo la resistencia al transporte difusional del sulcatol.

En contraste, la formulación parafínica con 30 % de caolina (P-30-2) mostró valores considerablemente menores de liberación ($V_i = 3,9$ mg/día; tasa = 1,6 mg/día), aun manteniendo el mismo porcentaje de feromona y de relleno. Este resultado indica una mayor retención del sulcatol en matrices apolares, donde predominan interacciones hidrofóbicas que limitan la movilidad del compuesto hacia la superficie del dispensador. La mayor liberación observada en matrices de PEG 6000 puede atribuirse a su carácter más polar y a su capacidad para establecer interacciones por puentes de hidrógeno con el grupo hidroxilo del sulcatol. Estas interacciones favorecen una distribución más homogénea del principio activo dentro de la matriz y una difusión más eficiente hacia el exterior, especialmente cuando la estructura del polímero es modificada por la incorporación de un relleno inorgánico.

La Figura 15 presenta los perfiles de liberación diaria de 3-pentanol desde dispensadores monolíticos formulados para monitoreo, obtenidos a partir de mediciones gravimétricas. Todas las formulaciones evaluadas se basaron en matrices de parafina PF 57 °C, variando la concentración del principio activo y la presencia de caolina como relleno inorgánico.

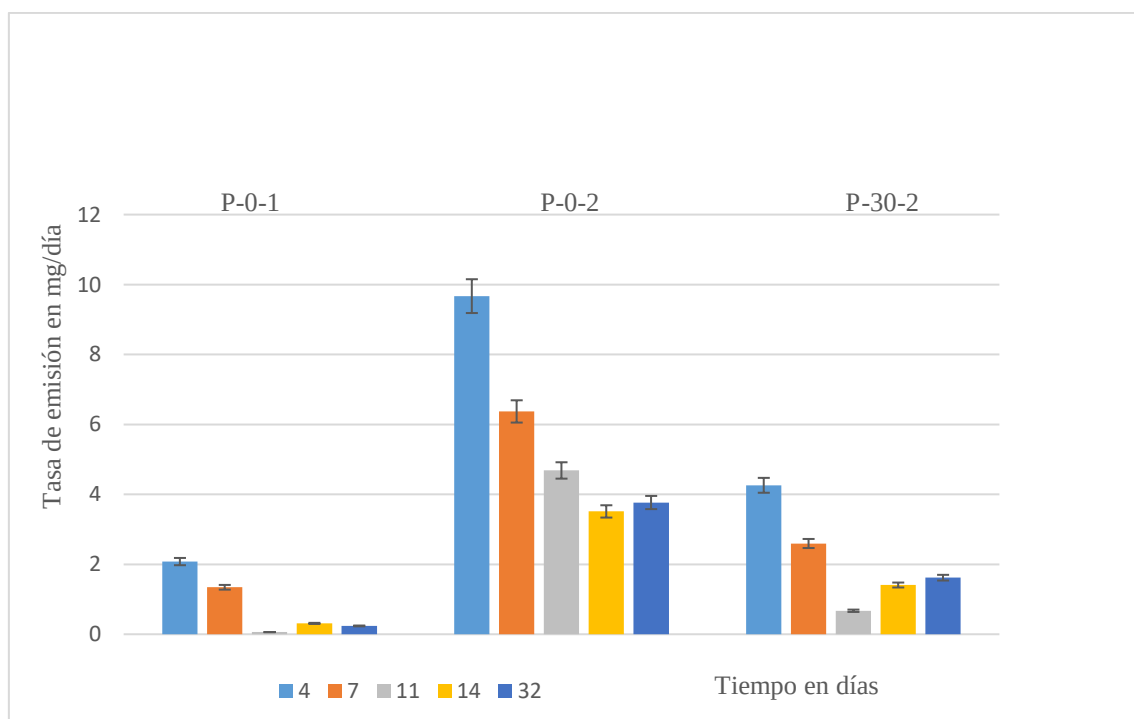


Figura 15. Gráfica de liberación de 3-pentanol de dispensadores monolíticos con dosis de monitoreo sin día cero. Los valores muestran la cantidad de 3-pentanol liberada diariamente, calculada gravimétricamente, y las barras representan la desviación estándar.

Los resultados muestran un efecto marcado de la concentración de 3-pentanol sobre la velocidad inicial de liberación (V_i) y la tasa promedio. En formulaciones sin relleno, el incremento de la concentración de feromona del 1 % al 2 % produjo un aumento significativo de ambos parámetros: la velocidad inicial pasó de 2,4 a 13 mg/día y la tasa de liberación de 1,2 a 7,5 mg/día. Este comportamiento es consistente con el aumento del gradiente de concentración entre el interior del dispensador y el ambiente externo, que actúa como principal fuerza impulsora del proceso de difusión.

La incorporación de 30 % de caolina en formulaciones con 2 % de 3-pentanol produjo una leve disminución de la velocidad inicial ($V_i = 12$ mg/día) y una reducción más marcada de la tasa de liberación (4,1 mg/día) en comparación con la formulación sin relleno. A diferencia de lo observado para sulcatona y sulcatol, en este caso la caolina no parece actuar principalmente como generadora de poros, sino que podría incrementar la tortuosidad del camino de difusión o favorecer la adsorción parcial del alcohol sobre su superficie, reduciendo la fracción de compuesto disponible para volatilización.

Dado el tamaño molecular relativamente pequeño y la alta volatilidad del 3-pentanol, su liberación desde matrices apolares como la parafina parece estar dominada principalmente por el gradiente de concentración, más que por la microestructura del soporte polimérico. No obstante, la presencia de un relleno mineral puede modular el proceso de liberación al introducir sitios adicionales de retención y alterar el transporte difusional.

Si bien el análisis de las tasas de liberación permitió comparar las distintas formulaciones y seleccionar aquellas con potencial aplicación en monitoreo, este enfoque no resulta suficiente para describir el mecanismo de liberación de las feromonas desde las matrices poliméricas. Con el objetivo de obtener información adicional sobre el comportamiento cinético de los sistemas estudiados, los datos de masa acumulada liberada en función del tiempo se ajustaron al modelo empírico de Korsmeyer–Peppas. Este modelo permite interpretar el mecanismo de transporte a partir del exponente de difusión, sin asumir un coeficiente de difusión constante, lo que lo hace especialmente adecuado para sistemas poliméricos complejos como los dispensadores monolíticos evaluados en este estudio.

A partir de los ajustes realizados mediante el modelo de Korsmeyer–Peppas, se obtuvieron los coeficientes cinéticos correspondientes a las distintas formulaciones

evaluadas. La Tabla 3 resume los valores del exponente de difusión (n), la constante cinética (c) y el coeficiente de determinación (R^2), calculados a partir de los datos de masa acumulada liberada en función del tiempo, excluyendo el día cero

Tabla 3. Parámetros cinéticos obtenidos del ajuste al modelo de Korsmeyer–Peppas.

Formulación	Matriz	% Caolina	% Feromona	R^2	c	$ n $
PEG-0-2	PEG 6000	0	2 % Sulcatol	0,87	64,82	0,49
PEG-30-2	PEG 6000	30	2 % Sulcatol	0,98	87,05	0,48
PEG-30-20	PEG 6000	30	20 % Sulcatol	0,98	87,05	0,48
P-30-2	Parafina	30	2 % Sulcatol	0,01	1,03	0,02
P-0-20	Parafina	0	20 % Sulcatol	0,73	53,79	0,32
P-0-2	Parafina	0	2 % Sulcatona	0,9	12,68	0,94
P-10-2	Parafina	10	2 % Sulcatona	0,94	43,58	0,95
P-30-2	Parafina	30	2 % Sulcatona	0,79	56,38	0,94
P-30-20	Parafina	30	20 % Sulcatona	0,96	165	0,49
P-0-1	Parafina	0	1 % 3-Pentanol	0,88	6,60	1,17
P-0-2	Parafina	0	2 % 3-Pentanol	0,89	16,14	0,48
P-30-2	Parafina	30	2 % 3-Pentanol	0,66	5,76	0,50
P-0-20	Parafina	0	20 % 3-Pentanol	0,63	57,71	0,23

Las formulaciones basadas en PEG 6000, independientemente del contenido de caolina y de la concentración de sulcatol, presentaron valores de n cercanos a 0,48–0,49, junto con elevados coeficientes de determinación ($R^2 \geq 0,87$). Estos resultados son indicativos de comportamiento cercano a la difusión no fickiana. La consistencia de los valores de n y el buen ajuste del modelo sugieren que, en estas formulaciones, la incorporación de caolina y el aumento de la carga de feromona no modificaron sustancialmente el mecanismo dominante de liberación.

En contraste, las formulaciones basadas en parafina mostraron una mayor dispersión en los valores de n , reflejando una mayor complejidad del proceso de liberación. En particular, las formulaciones con sulcatona al 2 % presentaron valores de n elevados ($\approx 0,94$ – $0,95$), lo que sugiere la participación de mecanismos adicionales a la difusión simple, posiblemente asociados a procesos de relajación de la matriz o redistribución interna del semioquímico. A pesar de ello, los valores de R^2 obtenidos indican que el modelo de Peppas describe adecuadamente la cinética de liberación en estos sistemas.

Por el contrario, la formulación P-30-2 con sulcatol presentó un valor de n extremadamente bajo (0,02) y un coeficiente de determinación muy reducido ($R^2 = 0,01$), lo que evidencia una clara falta de ajuste al modelo. Este comportamiento sugiere que el modelo de Korsmeyer–Peppas no resulta apropiado para describir su cinética.

En el caso de las formulaciones con 3-pentanol, los valores de n se ubicaron mayoritariamente en el rango 0,48–0,50, compatibles con un comportamiento cercano a la difusión ideal (no Fickiana), aunque con coeficientes de determinación moderados. Sin embargo, a concentraciones elevadas de 3-pentanol (20 %), se observaron valores de n significativamente menores (0,23), indicando desviaciones del comportamiento difusivo ideal y una mayor variabilidad en el proceso de liberación.

En conjunto, el análisis de los parámetros cinéticos permitió identificar formulaciones con mecanismos de liberación compatibles con difusión predominantemente no fickiana y un buen ajuste del modelo, así como aquellas en las que el modelo no describe adecuadamente el comportamiento observado. Este análisis fue utilizado con fines comparativos y descriptivos, proporcionando un marco para interpretar los perfiles de liberación, mientras que la selección final de las formulaciones se basó en criterios operativos vinculados a las tasas de liberación requeridas para aplicaciones de monitoreo.

En función de los valores de tasa de liberación obtenidos y de los rangos reportados en la bibliografía para aplicaciones de monitoreo, se seleccionaron las formulaciones que presentaron un desempeño adecuado para su evaluación en ensayos de campo orientados al monitoreo de *M. mutatus*. En particular, la formulación P-30-2 con sulcatona presentó una tasa de liberación compatible con los valores recomendados en la bibliografía, por lo que fue seleccionada para su posterior evaluación en condiciones de campo.

Asimismo, la formulación PEG-30-2 (PEG 6000 con 30 % de caolina y 2 % de sulcatol) presentó una tasa de liberación de 7,5 mg/día, valor considerado adecuado para aplicaciones de monitoreo, motivo por el cual fue seleccionada para su evaluación en ensayos de campo.

Desde un punto de vista operativo, la formulación P-0-2 (parafina PF 57 °C con 2 % de 3-pentanol y sin relleno) presentó una tasa de liberación de 7,5 mg·día⁻¹, inferior al rango reportado en la bibliografía para sistemas feromonales utilizados en el manejo de *M. mutatus*. No obstante, fue seleccionada para su evaluación en ensayos de campo.

Esta decisión se basó en la estrategia de trabajar con tasas de emisión más bajas que las reportadas, priorizando el componente feromonal principal, el sulcatol, seguido por la sulcatona, y limitando la liberación de 3-pentanol. Este último, componente de origen microbiano (hongo simbiote) o derivado de la interacción insecto–hongo dentro de la galería, cuya emisión natural ocurre en proporciones iguales o inferiores a las de los componentes feromonales.

3.2. Resultados y discusión de ensayos de campo

Los resultados presentados en este capítulo corresponden a los objetivos específicos i) e ii), enfocado en la evaluación de la eficacia de la feromona de *M. mutatus* en dosis de monitoreo y disrupción sexual mediante ensayos de campo. Los ensayos de campo se realizaron en el predio El Naranjo 2 perteneciente a la empresa LUMIN, ubicado sobre la Ruta 5 (km 428), departamento de Tacuarembó, Uruguay (31.33° S, 55.83° O). Este predio alberga una plantación de *Eucalyptus* spp. afectada por ataques de *M. mutatus* en un 70 % de la superficie. Se seleccionaron dos parcelas de 6 hectáreas cada una, en las cuales se evaluaron las capturas en trampas cebadas con feromona en diferentes formulaciones, así como el potencial de la disrupción sexual como estrategia de control. En el ensayo de disrupción sexual, una parcela se utilizó como control y a la otra se le aplicó el tratamiento de disrupción sexual.

Las variables respuesta analizadas en los ensayos de campo correspondieron al número de individuos capturados por trampa y a la cantidad de nuevos orificios observados en los troncos, ambas de naturaleza discreta. Por este motivo, y debido a que estos datos no cumplen los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas requeridos por modelos lineales clásicos, se optó por el uso de Modelos Lineales Generalizados Mixtos (GLMM) con distribución de Poisson. Las medias se compararon con el test DGC ($P \leq 0,05$). Todos los análisis se realizaron en el software estadístico gratuito Infostat.

Este tipo de modelos resulta particularmente adecuado para estudios ecológicos y de manejo de plagas, ya que permite analizar datos de conteo e incorporar simultáneamente efectos fijos y aleatorios. En el presente estudio, la parcela (tratada vs. control) se consideró como efecto fijo, mientras que los tratamientos feromonales y las trampas se incluyeron como efectos aleatorios, con el fin de contemplar la variabilidad espacial y temporal del sistema.

El uso de un enfoque mixto permitió evaluar de forma robusta el efecto de la disrupción sexual sobre la dinámica poblacional de *M. mutatus*, minimizando sesgos asociados a la heterogeneidad entre trampas y parcelas.

3.2.1. Evaluación de mezclas de componentes

Se registraron las capturas de hembras *M. mutatus* en cada una de las 10 repeticiones por tratamiento, en 3 fechas de monitoreo. Los datos se sometieron a un modelo mixto lineal generalizado (GLMM) con distribución de Poisson y función de enlace logit. Las parcelas se incluyeron en el modelo como factor aleatorio. Las medias se separaron por el test DGC ($P \leq 0,05$).

Para evaluar la eficacia de los tratamientos como atrayentes en dispensadores de monitoreo, se registraron las hembras capturadas por trampa, tratamiento y fecha. Los datos se compilaron como promedios de tratamientos y fechas, para visualizar más fácilmente las diferencias (Figura 16).

Además de la evaluación de capturas de *M. mutatus* y la comparación de tratamientos, se observó la captura de otras especies de escolítidos: *Orthotomicus erosus*, *Hylurgus ligniperda*, *Cyrtogenius luteus*, *Xyleborinus saxesenii*, *Xyleborus ferrugineus*. Estas fueron identificadas en colaboración con el Laboratorio de Entomología Forestal de INIA Tacuarembó.

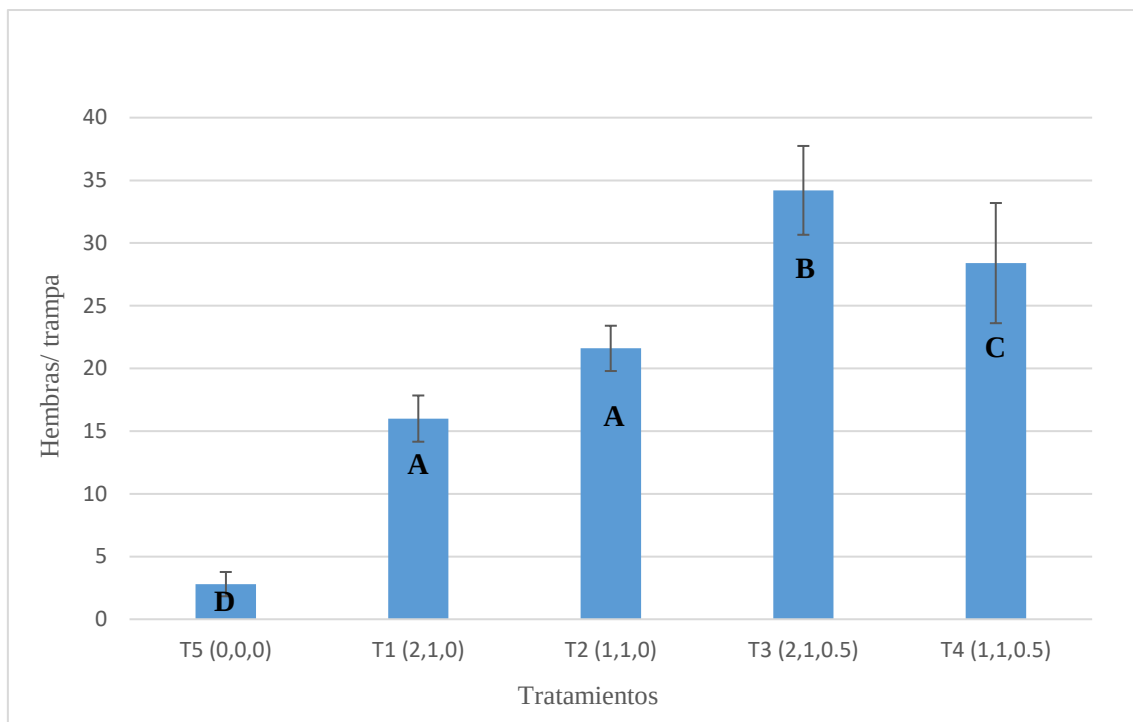


Figura 16. Evaluación de la atractividad de los tratamientos mediante capturas de hembras *M. mutatus* en diferentes tratamientos de feromona. Se muestran promedios y error estándar de capturas por fecha lectura y por trampa, antes de la instalación de MD ($n = 10$ trampas por tratamiento, correspondientes a cinco trampas en cada una de dos parcelas). Ambas parcelas fueron promediadas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (GLMM, DGC: $P < 0,0001$).

Las capturas de hembras de *M. mutatus* durante el pico de vuelo de 2021 tuvieron diferencias significativas entre los distintos tratamientos de monitoreo llevados a campo. El control sin tratar, con cebos únicamente conteniendo los productos inactivos, capturó muy pocas hembras, significativamente menos que todos los demás tratamientos.

Se observó una marcada diferencia en las capturas según el tratamiento aplicado. El tratamiento control, sin feromonas activas, presentó las menores capturas, confirmando la eficacia de la feromona utilizada para atraer a la especie objetivo. Las formulaciones **T3** y **T4** fueron las más efectivas como atrayentes, en relación a los tratamientos **T1** y **T2**, lo que sugiere que el 3-pentanol desempeña un papel clave en la atracción del insecto. La proporción de sulcatol y sulcatona (2:1 vs. 1:1) no tuvo un efecto estadísticamente significativo en la captación de hembras, aunque se observó una leve tendencia a mayor atractividad con la proporción 2:1 (**T3**), que contenía menos 3-pentanol.

3.2.2. Evaluación de disrupción sexual

Los dispensadores de disrupción sexual fueron elaborados en las proporciones 2:1:0,5 (correspondiente a sulcatol, sulcatona y 3-pentanol, respectivamente), utilizadas para la formulación del tratamiento **T3**. Este tratamiento fue uno de los dos más atractivos en el ensayo de monitoreo, por lo que cabe suponer que se acerca más a la feromona natural del insecto. Se modificó la dosis de los componentes para alcanzar una tasa de emisión para disrupción sexual. El diseño propuesto resulta en que cada parcela tenga 40 dispensadores por hectárea, siendo un dispensador en realidad un trío de dispensadores, uno por compuesto (Figura 17).



Figura 17. Dispensadores de monitoreo con trampas de panel cruzado (izquierda) y dispensadores de disrupción sexual sin trampa.

Para evaluar el efecto del tratamiento de disrupción sexual, se analizaron las capturas en trampas de monitoreo en dos fechas posteriores (Figura 18). Se compararon las capturas de hembras en la parcela I (con tratamiento de disrupción sexual) y la parcela II (testigo), considerando, específicamente, los tratamientos más atractivos (T3 y T4).

Los datos se analizaron mediante un modelo lineal generalizado mixto (GLMM) con distribución de Poisson y función de enlace logit, incluyendo el tratamiento como factor aleatorio. Las medias se compararon con el test DGC ($P \leq 0,05$). El análisis, realizado por separado para cada parcela y promediando las réplicas en ambas fechas, mostró una reducción significativa en las capturas de hembras tras la aplicación de los dispensadores

de disrupción sexual en la parcela 1, donde letras diferentes indican diferencias significativas entre monitoreos (GLMM, DGC: $P < 0.0001$)

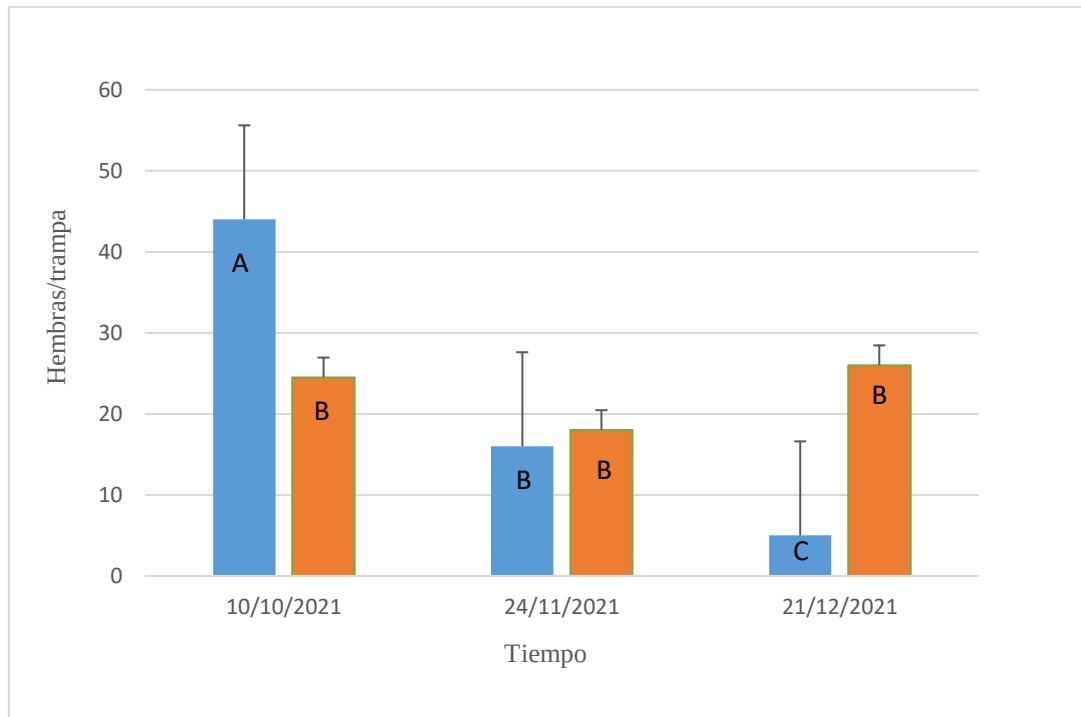


Figura 18. Evaluación del efecto de la instalación de dispensadores en las capturas considerando los tratamientos más atractivos (T3-T4). Se muestran promedios y error estándar de capturas por fecha lectura y por trampas en cuestión, luego de la instalación de MD ($n = 20$; 10 trampas por tratamiento, correspondientes a cinco trampas en cada una de dos parcelas). Las capturas fueron menores en las trampas instaladas en el Parcela I (Azul) donde se aplicó MD, parcela naranja ofició como control. Letras diferentes indican diferencias significativas entre monitoreos (GLMM, DGC: $P < 0.0001$).

La eficacia del tratamiento de disrupción sexual se evaluó de dos maneras: el silenciamiento de trampas de monitoreo y la disminución del daño. En el primer caso, si el tratamiento es efectivo, las hembras no serán atraídas por la feromona, lo que reducirá su captura en las trampas. En el segundo caso, si el tratamiento es efectivo, se observará una disminución del daño en el fuste. Estos dos indicadores permiten evaluar la eficiencia del tratamiento y el nivel de población existente.

La evaluación del daño nuevo como orificios frescos en una muestra de 15 árboles/há también mostró una reducción de daño como resultado de la aplicación de tratamiento de disrupción sexual. Esto se evaluó en tres etapas, como el número de orificios nuevos a

nivel del fuste obteniendo información cuantitativa antes y después de la intervención (Tabla 4 y Figura 19) (GLMM, DGC: $P < 0,0001$).

Tabla 4. Orificios nuevos correspondientes a parcela I (tratamiento de disrupción sexual) y parcela II (testigo).

ORIFICIOS NUEVOS		
Relevamiento	Parcela I	Parcela II
10/10/2021	236	144
24/11/2021	200	136
28/12/2021	63	145

La reducción del daño observada en parcela I fue estadísticamente significativa, según el análisis realizado mediante un modelo lineal generalizado mixto (GLMM) y la prueba de comparación múltiple de Duncan (DGC), con un valor de significancia de $P < 0.0001$. De hecho, la aplicación revirtió una tendencia a mayores daños preinstalación en la parcela I, que luego de la instalación pasó a presentar menor incidencia de daño nuevo.

Como se muestra en la Figura 19, se evaluaron los orificios nuevos antes y después de la instalación de los dispensadores de disrupción sexual en la parcela I (7/12/2021), mientras que la parcela II sirvió como control sin tratamiento. Se presentan los promedios por árbol y el error estándar de orificios nuevos por fecha de lectura, con una reducción significativa tras la aplicación del tratamiento, donde letras diferentes indican diferencias significativas entre monitoreos (GLMM, DGC: $P < 0,0001$).

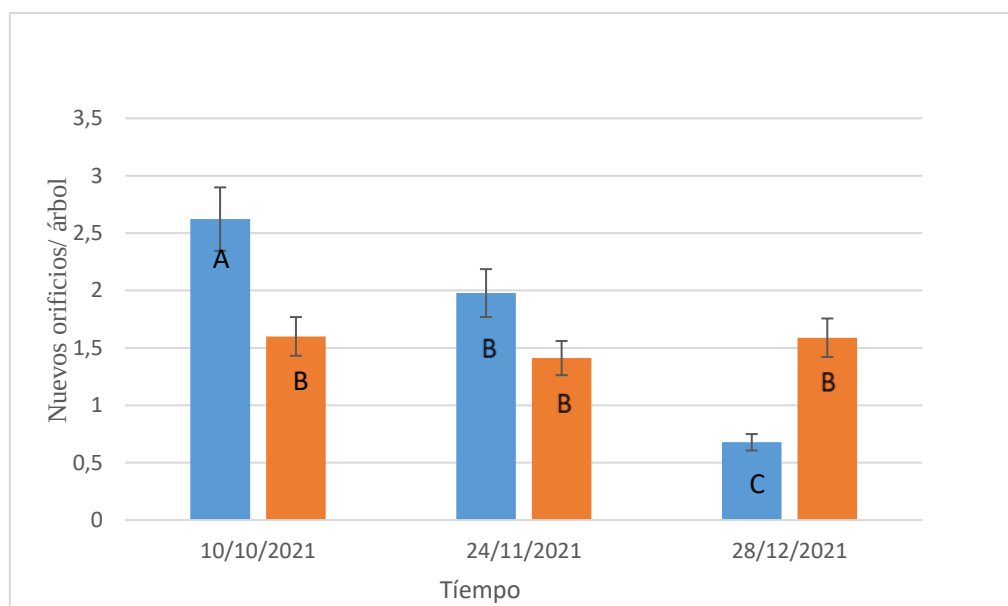


Figura 19. Evaluación de orificios nuevos durante el ensayo previo y posterior a la instalación de dispositivos disrupción sexual (7/12/2021) en la parcela I (azul), mientras la parcela II (naranja) ofició de control sin tratamiento de disrupción sexual ($n = 180$ árboles por fecha). Se muestran promedios/árbol y error estándar de orificios nuevos por fecha lectura. Letras diferentes indican diferencias significativas entre monitoreos (GLMM, DGC: $P < 0,0001$).

Además de las capturas en trampas, se evaluó el efecto de la disrupción sexual en el daño a los troncos mediante la observación de orificios activos e inactivos (Figura 19). Se consideraron activos aquellos con aserrín larval o adulto, e inactivos los orificios cerrados. Se cuantificaron los orificios nuevos en 15 árboles por hectárea en ambas parcelas en tres fechas: antes de la instalación del experimento I, antes de la aplicación del tratamiento de disrupción sexual y después de su aplicación.

El análisis se realizó por separado para cada fecha, comparando los orificios nuevos por árbol en cada parcela mediante un GLMM con distribución de Poisson y función de enlace logit. Se consideraron las fechas como repeticiones y los tratamientos como variables aleatorias. Las medias se compararon con el test DGC ($P \leq 0,05$). Todos los análisis se realizaron en el software estadístico gratuito Infostat. Letras diferentes indican diferencias significativas entre monitoreos.

En la Figura 20 y 21 se puede ver el detalle de aserrín larval, aserrín adulto y galería sin actividad.



Figura 20. Detalle de aserrín larval (izquierda) y aserrín adulto (derecha) e insecto atrapado en galería en plantaciones de LUMIN.



Figura 21. Detalle de la galería sin actividad cerrada (izquierda) y galería con actividad (derecha).

Los ensayos de campo permitieron validar la funcionalidad de las formulaciones seleccionadas en condiciones reales, demostrando su potencial para la liberación efectiva de feromonas y su capacidad para inducir disrupción sexual en la población objetivo. La evaluación de diferentes mezclas de componentes y formatos de aplicación aportó información valiosa para optimizar las estrategias de control, destacando la importancia de la compatibilidad entre el sistema de liberación y las condiciones ambientales. En conjunto, estos resultados constituyen un avance significativo hacia la implementación de tecnologías de control más sostenibles y específicas, y sientan las bases para estudios a mayor escala y en distintos contextos productivos.

3.3. Evaluación de la liberación de feromonas en dispensadores por cromatografía gaseosa

Se evaluó la emisión de feromonas de dispensadores mejorados mediante la colecta de volátiles en túnel de viento y posterior análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

El uso del túnel de viento permite reproducir condiciones de flujo controlado y asegurar que la recolección de volátiles refleje de forma realista la emisión del dispensador bajo condiciones dinámicas. La posterior cuantificación por GC-MS proporciona alta sensibilidad y especificidad para los compuestos analizados, garantizando la detección de variaciones temporales en la liberación.

El análisis se realizó para el tratamiento que presentó mejor respuesta en campo (Capítulo 4), compuesto por la feromona de *M. mutatus* en proporción T3 (2:1:0,5) correspondiente a sulcatol, sulcatona y 3-pentanol, respectivamente. También se evaluaron dispensadores con formulaciones modificadas que podrían mejorar el control del perfil de liberación y extender la vida útil del sistema.

Entre las formulaciones evaluadas se incluyeron D.3FJ, D.Emulsión y D.Campo. Las dos primeras corresponden a dispensadores de incorporación directa, en los cuales los tres componentes de la feromona en la proporción 2:1:0,5 se incorporaron simultáneamente en una única matriz lipídica, ya sea en forma libre (D.3FJ) o como emulsión (D.Emulsión), siguiendo el procedimiento general de fusión, homogenización y moldeado. Por su parte, se denomina D.Campo a las formulaciones que presentaron el perfil de difusión más adecuado en evaluaciones previas. En este caso, cada feromona se

incorporó por separado en su matriz óptima: sulcatol en PEG 6000 con 30 % m/m de caolina; sulcatona en parafina (57 °C) con 30 % m/m de caolina; y 3-pentanol en parafina (57 °C). Cada monolito incorporó únicamente la feromona correspondiente. Estas distintas formulaciones permiten comparar la liberación de las feromonas desde una misma matriz con la liberación individual optimizada para cada compuesto, así como contrastarlas con sistemas estructuralmente modificados como D.Zeolita.

Todos los dispensadores contenían el mismo volumen y composición de feromona. Aunque se detectó la presencia de 3-pentanol en todas las formulaciones, no se pudo cuantificar con precisión debido a su baja concentración y al ruido de fondo. Por lo tanto, se reporta su presencia por debajo del límite de cuantificación (LOQ).

La Tabla 5 muestra el perfil de liberación de las formulaciones evaluadas, se incluye (V_i) y tasa como se detalló anteriormente.

Tabla 5. Caracterización de las curvas de emisión de feromona por GC-MS.

Formulación	Matriz	% Relleno	% Feromona	V_i (mg/día)	Tasa (mg/día)
D.Campo	Parafina	30% Caolina	1% sulcatona	49	11
D. Emulsión	Ac.Esteárico	30% Caolina	1% sulcatona	30	7,4
D. 3fj	Ac.Esteárico	30% Caolina	1% sulcatona	24	6,2
D.Zeolita	Ac.Esteárico	30% Zeolita	1% sulcatona	19	5
D.Campo	PEG 6000	30% Caolina	2% sulcatol	38	8
D. Emulsión	Ac.Esteárico	30% Caolina	2% sulcatol	47	12
D. 3fj	Ac.Esteárico	30% Caolina	2% sulcatol	28	6,9
D.Zeolita	Ac.Esteárico	30% Zeolita	2% sulcatol	17	4,2

La comparativa de los dispensadores muestra diferencias marcadas tanto en la liberación inicial (V_i) como en la tasa de liberación, evidenciando el efecto combinado de la matriz y del tipo de relleno utilizado. El parámetro V_i resulta particularmente relevante desde el punto de vista operativo, ya que una liberación elevada en los primeros días implica una pérdida temprana del compuesto activo, reduciendo la vida útil del dispensador y comprometiendo su desempeño en campo.

En este contexto, los dispensadores formulados con zeolita como relleno (D. Zeolita) presentaron los valores más bajos de liberación inicial, tanto para sulcatona (19 mg/día) como para sulcatol (17 mg/día). Estos valores resultan notablemente inferiores a los observados para formulaciones con caolina, como D. Campo (49 y 38 mg/día) y D.

Emulsión (30 y 47 mg/día), lo que indica un mejor control de la liberación inicial y una menor pérdida temprana de la feromona.

Asimismo, D. Zeolita presentó las tasas de liberación más bajas y estables (5 mg/día para sulcatona y 4,2 mg/día para sulcatol), lo que sugiere un sistema de liberación más sostenida en el tiempo. Esta combinación de baja Vi y tasa moderada es particularmente favorable para aplicaciones de monitoreo, donde se busca mantener una señal atractiva constante evitando picos iniciales de liberación.

En comparación, las formulaciones D. Campo y D. Emulsión exhibieron valores elevados de Vi y tasas de liberación superiores, lo que podría resultar en una liberación excesiva en las etapas iniciales y un agotamiento más rápido del compuesto activo. Si bien estos sistemas podrían ser efectivos en aplicaciones de corta duración, su comportamiento inicial los vuelve menos eficientes para estrategias de monitoreo de largo plazo.

En conjunto, el análisis pone de manifiesto el alto potencial de los sistemas con zeolita, los cuales permiten amortiguar la liberación inicial y sostener tasas más controladas, constituyéndose en candidatos prometedores para el desarrollo de dispensadores con mayor estabilidad y eficiencia operativa.

Con el objetivo de analizar los mecanismos de liberación y comparar el comportamiento cinético de las distintas formulaciones, los datos experimentales fueron ajustados al modelo de Korsmeyer–Peppas. Los parámetros obtenidos a partir de dicho ajuste se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Parámetros cinéticos obtenidos del ajuste al modelo de Korsmeyer–Peppas.

Formulación	Matriz	% Relleno	% Feromona	R ²	c	n
D.Campo	Parafina	30% Caolina	1% sulcatona	0,6	7,3	0,87
D. Emulsión	Ac.Esteárico	30% Caolina	1% sulcatona	-	-	-
D. 3fj	Ac.Esteárico	30% Caolina	1% sulcatona	0,49	3,6	0,35
D.Zeolita	Ac.Esteárico	30% Zeolita	1% sulcatona	0,96	3,7	0,45
D.Campo	PEG 6000	30% Caolina	2% sulcatol	0,18	1	0,37
D. Emulsión	Ac.Esteárico	30% Caolina	2% sulcatol	-	-	-
D. 3fj	Ac.Esteárico	30% Caolina	2% sulcatol	0,28	2,9	0,26
D.Zeolita	Ac.Esteárico	30% Zeolita	2% sulcatol	0,91	3,1	0,55

El análisis del coeficiente de determinación (R²) revela que la formulación D. Zeolita presenta el mejor ajuste al modelo de liberación en ambas feromonas evaluadas. En el

caso de la sulcatona, D. Zeolita alcanza un $R^2 = 0,96$, indicando una descripción altamente precisa del proceso de liberación. Para el ($\pm$) - sulcatol, el ajuste también es elevado ($R^2 = 0,91$), lo que sugiere un comportamiento difusivo estable y predecible.

En contraste, las otras formulaciones presentan valores de R^2 significativamente menores, lo que indica una mayor variabilidad en la liberación y una menor correspondencia con el modelo. La formulación D. Zeolita muestra transporte no Fickiano con $n = 0,45$ para sulcatona y $n = 0,55$ para sulcatol, coherente con un mecanismo combinado de difusión y relajación de la matriz, que favorece una liberación sostenida. Este comportamiento la posiciona como una alternativa prometedora para aplicaciones que requieren liberación prolongada.

Las Figuras 22 y 23 muestran la emisión diaria de sulcatona y sulcatol, respectivamente, a lo largo del tiempo y para los distintos dispensadores formulados, sin considerar el día cero. Los colores representan los días evaluados. Los datos obtenidos mediante GC-MS reflejan la cantidad de feromona liberada diariamente, con barras que representan la desviación estándar. Estas gráficas permiten visualizar con claridad las diferencias en el desempeño de cada formulación.

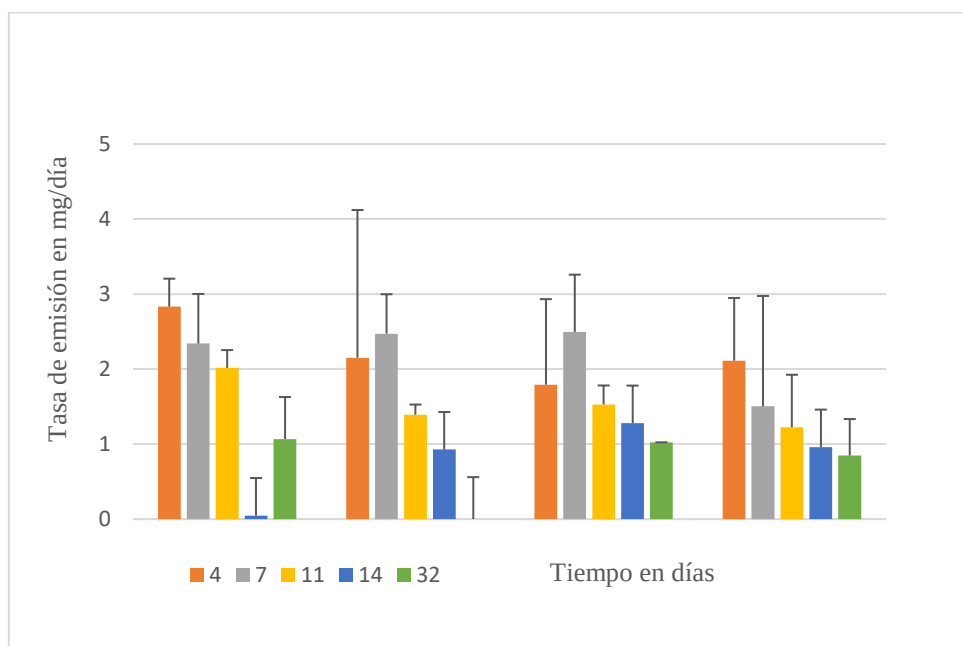


Figura 22. Emisión de sulcatona a lo largo del tiempo en los distintos dispensadores formulados, sin día cero. Los colores representan los días evaluados. Los gráficos muestran la cantidad de feromona liberada diariamente, determinada mediante GC-MS, con barras que indican la desviación estándar

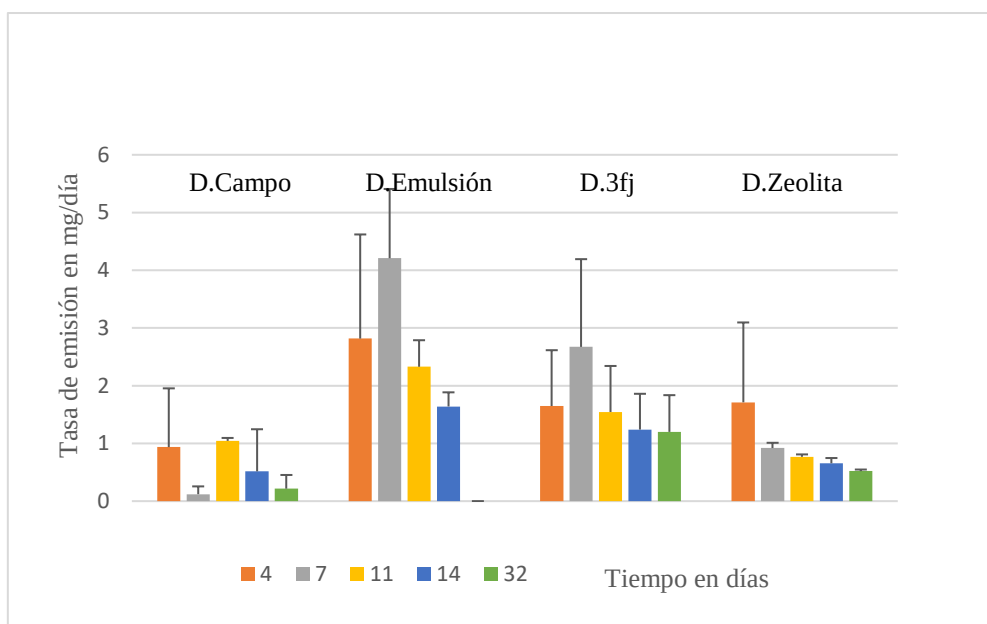


Figura 23. Emisión de sulcatol a lo largo del tiempo en los distintos dispensadores formulados, sin día cero. Los colores representan los días evaluados. Los gráficos muestran la cantidad de feromona liberada diariamente, determinada mediante GC-MS, con barras que indican la desviación estándar.

A efectos de clarificar la interpretación, los resultados se discuten por separado para cada feromona. Para sulcatona se analizan las diferencias en el ajuste al modelo y la variación temporal de la liberación. En el caso del ($\pm$)- sulcatol, se describen los cambios en el mecanismo difusivo y la magnitud de las tasas obtenidas. Finalmente, dado que el 3-pentanol permaneció por debajo del LOQ en todas las formulaciones, su presencia se considera únicamente como indicador cualitativo.

La formulación D. Zeolita mostró una liberación más variable al inicio, seguida de una estabilización en valores bajos, lo cual se atribuye a la adsorción de las feromonas en la zeolita, tanto en su superficie externa como en sus canales internos. Este patrón, observado tanto para sulcatol como para sulcatona, permite alcanzar una tasa de liberación dentro del rango de referencia de D. Campo. Su baja liberación inicial se explica por la mezcla previa de la feromona con zeolita en fase húmeda, que favoreció su adsorción en el material. Esta característica proporciona mayor flexibilidad térmica en la selección de matriz, ya que la zeolita protege a la feromona tanto en superficie como en sus canales internos, a diferencia de lo observado con la caolina. La zeolita, material cristalino con estructura tridimensional basada en tetraedros TO_4 ($T = Si, Al, B, Ge, Fe, P, Co$), fue seleccionada por su alta porosidad y capacidad de adsorción. Estas propiedades mejoran la retención y liberación controlada de feromonas, prolongando la

difusión (Breck, 1974; García, 2002; Gregg & Sing, 1967). Gracias a estas características, la zeolita actúa no solo como relleno, sino también como encapsulante, contribuyendo a mejorar la estabilidad y eficacia del dispensador. Este comportamiento permite reducir la pérdida inicial de feromona, una ventaja clave para sistemas de liberación prolongada (Luyten et al., 2010).

El dispensador D. Campo para sulcatol presenta un perfil de liberación Fickiano, controlado exclusivamente por difusión, lo que resulta en una liberación menos sostenida. En cambio, la formulación D. Campo para sulcatona, con un valor de $n = 0,87$, se aproxima a una liberación de orden cero, característica de un mecanismo no Fickiano ideal. Para los primeros 15 días, las tasas de liberación determinadas por GC-MS fueron 11,1 mg/día para sulcatol, 8,04 mg/día para sulcatona, y 3-pentanol se mantuvo por debajo del LOQ. Se observaron variaciones en la tasa de emisión de los componentes feromonales, particularmente en sulcatona, que presentó una disminución marcada en el día 14 seguida de un incremento en la medición posterior. Este comportamiento no corresponde a un perfil típico de liberación controlada, el cual se espera decreciente o estable en el tiempo. Estas fluctuaciones pueden atribuirse a la alta variabilidad experimental observada, evidenciada por los errores estándar, así como a la influencia de factores ambientales propios experimento, tales como temperatura. Asimismo, diferencias en la volatilidad y retención de los compuestos en la matriz podrían contribuir a una liberación diferencial a lo largo del tiempo.

En este contexto, los resultados sugieren que la formulación presenta una menor estabilidad en la liberación, en comparación con sistemas más controlados, dificultando la interpretación de tendencias claras en la emisión.

El dispensador D. Emulsión presentó una alta emisión inicial los días 4, 7 y 11, seguida de una caída abrupta. Sulcatona dejó de emitir desde el día 14, y sulcatol decayó desde el día 11, siendo indetectable al día 32. Su curva no se ajustó al modelo de difusión y las tasas determinadas fueron 7,4 mg/día para sulcatona y 11,0 mg/día para sulcatol, con 3-pentanol por debajo del LOQ.

La formulación D. 3fj mostró liberación alta y controlada dentro del rango de D. Campo, manteniéndose en esos valores hasta el día 32. Sin embargo, presentó comportamiento Fickiano ($n = 0,35$ para sulcatona, $n = 0,26$ para sulcatol), lo cual no es deseable para una liberación sostenida. Las tasas fueron 6,2 mg/día para sulcatona y 6,9 mg/día para sulcatol; 3-pentanol permaneció por debajo del LOQ.

El modelo de Korsmeyer–Peppas se utilizó con fines descriptivos y comparativos, y no como una representación estricta del mecanismo, considerando las limitaciones en matrices no hinchables.

Factores que influyen en la liberación

Se identificaron factores clave en la liberación de feromonas: afinidad matriz-feromona, peso molecular, polaridad, y la relación entre el punto de fusión de la matriz y el punto de ebullición del compuesto, que no debe superar los 10 °C. Inicialmente se usaron matrices lipídicas como parafina (PF 57 °C) y PEG 6000. Luego se evaluó ácido esteárico (PF 70 °C) por su compatibilidad con volátiles. Sus ventajas incluyen grupos funcionales polares, cadena C18 hidrofóbica, biodegradabilidad y aprobación FDA. El uso de ácido esteárico permitió dispensar conjuntamente los tres componentes de la feromona, optimizando producción y logística, reduciendo costos y manteniendo la calidad, asegurando tasas de liberación dentro del rango de referencia de D. Campo.

Estos resultados ayudan a explicar el desempeño observado en campo, ya que las formulaciones capaces de mantener tasas de liberación dentro del rango de referencia — particularmente D. Zeolita— coinciden con los tratamientos que mostraron mayor eficacia en la atracción de adultos de *M. mutatus*. La estabilidad térmica y la modulación de la liberación contribuyen así a la eficiencia global del sistema.

Más allá de las diferencias observadas en los perfiles de liberación y en los parámetros cinéticos obtenidos, el análisis conjunto de los resultados permite identificar criterios clave para la evaluación del desempeño de los dispensadores feromonales con potencial aplicación en monitoreo de *M. mutatus*.

En primer lugar, el control de la liberación inicial (V_i) emerge como un parámetro crítico desde el punto de vista operativo. Si bien el ajuste a modelos cinéticos aporta información valiosa sobre el mecanismo de liberación, una liberación excesiva en los primeros días implica una pérdida temprana del compuesto activo, reduciendo la vida útil del dispensador. En este sentido, sistemas que presentan valores moderados de V_i , aun cuando no exhiban un ajuste ideal a un modelo teórico, resultan más adecuados para aplicaciones de monitoreo prolongado.

En segundo término, los resultados indican que la estabilidad de la tasa de liberación en el tiempo resulta más relevante que alcanzar valores máximos elevados. Formulaciones

con tasas altas, pero poco sostenidas tienden a agotarse rápidamente, mientras que aquellas capaces de mantener una liberación constante dentro del rango recomendado aseguran una señal atractiva más uniforme y predecible en condiciones de campo.

Finalmente, el comportamiento observado en las formulaciones con zeolita pone de manifiesto que este material actúa no solo como un relleno inerte, sino como un encapsulante activo del principio feromonal. Su elevada capacidad de adsorción, tanto superficial como intracanal, permite amortiguar la liberación inicial y modular el transporte del compuesto a lo largo del tiempo. Este efecto se traduce en perfiles de liberación más controlados y estables, coherentes con mecanismos no Fickianos, particularmente favorables para sistemas de liberación sostenida.

En conjunto, estos criterios permiten interpretar los resultados experimentales más allá del ajuste a modelos cinéticos individuales, y constituyen una base sólida para la selección de formulaciones con desempeño adecuado para su evaluación en condiciones de campo.

3.4. Evaluación de propiedades fisicoquímicas de dispensadores

Se evaluaron propiedades fisicoquímicas de una selección representativa de formulaciones, incluyendo dispensadores T3 llevados al campo (D.Campo) y los dispensadores D.Emulsión y D.3FJ, dado que no fue posible caracterizar térmicamente todas las variantes desarrolladas.

El análisis térmico mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) permite evaluar transiciones de fase, estabilidad térmica y modificaciones en el ordenamiento cristalino de matrices compuestas.

La Tabla 7 presenta los parámetros extraídos de los termogramas correspondientes a D.Campo-sulcatona y su Blanco, comparando el pico endotérmico (punto de fusión, PF) y el intervalo de transición térmica. Estos parámetros permiten determinar cómo la incorporación de feromonas y rellenos afecta la organización cristalina de la matriz.

Tabla 7. Evaluación térmica por DSC y comparación del dispensador D. Campo-sulcatona y su blanco.
 Datos obtenidos a partir de los termogramas presentados en el Anexo.

Parámetro	D.Campo -Sulcatona	Blanco	Parafina Pf 57° (Referencia)
Pico endotérmico (°C)	58.78 °C	60.53 °C	57.0 °C
Inicio (°C)	55.85 °C	56.96 °C	54.0 - 56.0 °C
Final (°C)	62.66 °C	64.73 °C	58.0 - 60.0 °C

Los termogramas obtenidos para los dispensadores formulados con parafina PF 57 °C, 30 % de caolina y 2 % de sulcatona (o aceite neutro en el Blanco) muestran diferencias significativas. En D.Campo-sulcatona se observa un pico endotérmico a 58,78 °C, con un rango de fusión entre 55,85 °C y 62,66 °C. En el Blanco, el pico se desplaza a 60,53 °C, con un rango entre 56,96 °C y 64,73 °C. Este desplazamiento hacia temperaturas mayores indica una matriz ligeramente más estable en ausencia de feromona, mientras que la presencia de sulcatona interfiere parcialmente en la estructura cristalina, favoreciendo una fusión más temprana.

Al comparar estos resultados con los valores de referencia de la parafina PF 57 °C pura, que presenta un rango de fusión entre 54,0–56,0 °C (inicio) y 58,0–60,0 °C (final), con un pico endotérmico cercano a 57 °C, se observa que los dispensadores evaluados exhiben transiciones térmicas desplazadas hacia temperaturas más altas. Este desplazamiento sugiere que la presencia de sulcatona en D.Campo modifica el empaquetamiento cristalino de la matriz de parafina, generando un sistema con mayor resistencia a la fusión.

Asimismo, la caolina incorporada en una proporción del 30 % m/m en ambas formulaciones contribuye a restringir la movilidad de las cadenas hidrocarbonadas, elevando ligeramente el PF del sistema. En conjunto, estos resultados indican que la combinación de sulcatona y caolina da lugar a materiales con mayor estabilidad térmica y menor susceptibilidad a la fusión en comparación con la parafina pura.

Los resultados de la evaluación térmica por DSC del dispensador D. Campo–3-pentanol y de su blanco se presentan en la Tabla 8, incluyendo la comparación con valores de referencia reportados en la literatura para la matriz en su estado puro.

Tabla 8. Evaluación térmica por DSC y comparación del dispensador D. Campo-3-pentanol y su blanco. Datos obtenidos a partir de los termogramas presentados en Anexo. Incluye valores de referencia de la literatura para la matriz en su estado puro.

Parámetro	D.Campo (3-Pentanol)	Blanco	Parafina Pf 57° (Referencia)
Pico endotérmico (°C)	62.46 °C	59.32 °C	57.0 °C
Inicio (°C)	57.77 °C	55.93 °C	54.0 - 56.0 °C
Final (°C)	66.56 °C	64.39 °C	58.0 - 60.0 °C

La comparación de los termogramas obtenidos por DSC para el dispensador D.Campo con 3-pentanol y su respectivo Blanco (Tabla 4) revela diferencias térmicas consistentes con las observadas en el caso anterior (D.Campo-sulcatona). Se registra un incremento en la temperatura del pico de fusión en la muestra con 3-pentanol, alcanzando 62,46 °C frente a los 59,32 °C del Blanco, lo que indica una matriz más estructurada y con mayor resistencia a la fusión. Del mismo modo, las temperaturas de inicio y finalización del evento endotérmico se desplazan hacia valores más altos en presencia de 3-pentanol, lo que sugiere una reorganización del ordenamiento cristalino de la parafina modificada.

En comparación con los valores de referencia de la parafina PF 57 °C, cuyo pico endotérmico se sitúa en torno a 57 °C, los resultados muestran que la incorporación de feromona altera la organización cristalina de la matriz lipídica, elevando el punto de fusión y aumentando su estabilidad térmica relativa.

La Tabla 9 presenta los parámetros térmicos correspondientes a D.Campo-sulcatol y su Blanco, permitiendo comparar el comportamiento de esta formulación en matriz de PEG 6000 con los valores de referencia del polímero en estado puro.

Tabla 9. Evaluación térmica por DSC y comparación del dispensador D. Campo-sulcatol y su blanco. Datos obtenidos a partir de los termogramas presentados en el Anexo. Incluye valores de referencia de la literatura para la matriz en su estado puro

Parámetro	D.Campo (Sulcatol)	Blanco	PEG 6000 (Referencia)
Pico endotérmico (°C)	60,15	60,86	58 - 63
Inicio (°C)	56,47	57,34	-
Final (°C)	63,94	65,98	-

La comparación de estos termogramas muestra que el Blanco presenta temperaturas de transición ligeramente más altas que la muestra con sulcatol. Sin embargo, ambas formulaciones exhiben diferencias marcadas respecto del PEG 6000 puro. Estos resultados indican que la presencia simultánea de sulcatol y caolina modifica la cristalinidad y el comportamiento térmico del PEG, generando un sistema más heterogéneo y con mayor estabilidad térmica que el polímero base.

La Tabla 10 presenta los valores extraídos de los termogramas correspondientes a dispensadores con matriz de ácido esteárico, donde se comparan parámetros clave como el punto de fusión (PF) y el intervalo de transición térmica.

Tabla 10. Evaluación térmica por DSC y comparación del dispensador D. Emulsión, D. 3fj y su blanco. Datos obtenidos a partir de los termogramas correspondientes (Anexo). Incluye valores de referencia de la literatura para la matriz en su estado puro.

Parámetro	Blanco	D. Emulsión	D.3fj	Ác. esteárico (Referencia)
Pico endotérmico (°C)	60,86	54,91	53,78	≈70
Inicio (°C)	57,34	51,55	52,11	≈65 – 69
Final (°C)	65,98	58,6	57,12	≈71 – 74

La disminución del punto de fusión, así como el intervalo de transición térmica, sugieren una reducción en la cristalinidad del ácido esteárico como consecuencia de su interacción con otros componentes de las formulaciones, generando un entorno más amorfo y disperso.

La diferencia en el comportamiento de ácido esteárico frente a PEG 6000 y parafina PF 57 °C conformando dispensadores con feromonas como sulcatol, sulcatona y 3-pentanol se puede atribuir principalmente a diferencias en la polaridad y en las interacciones químicas entre la matriz, el relleno y los compuestos volátiles. El ácido esteárico contiene un grupo carboxílico que lo hace más polar que la parafina, pero menos polar que PEG 6000, el cual tiene múltiples grupos oxietileno. Sin embargo, aunque PEG 6000 es más polar, debemos considerar el tipo de interacción que se puede generar entre la matriz y la feromona. Los grupos funcionales presentes en las feromonas —el hidroxilo del sulcatol y el 3-pentanol, y el carbonilo de la sulcatona— pueden establecer puentes de hidrógeno e interacciones dipolares con el grupo carboxílico del ácido esteárico. Esta afinidad

interfiere con el ordenamiento cristalino de las cadenas del ácido graso, reduciendo la cristalinidad del sistema y deprimiendo su punto de fusión. Además, las feromonas pueden actuar como plastificantes, intercalándose entre las cadenas y disminuyendo la cohesión intermolecular (Crowley et al., 2004; Muro-Small et al., 2020; Zhou et al., 2009; Saadat et al., 2015).

Un efecto adicional se observa incluso en las formulaciones blanco (sin feromona), donde la incorporación de caolina también generó una depresión del PF. Este resultado indica que la caolina no actúa como un componente inerte en la matriz. La caolina, un filosilicato tipo 1:1, presenta en su superficie grupos hidroxilo —principalmente aluminol (Al—OH)— capaces de formar enlaces de hidrógeno con el grupo carboxílico del ácido esteárico, alterando su empaquetamiento cristalino. Este comportamiento contrasta con lo observado en matrices de PEG 6000, cuya naturaleza semicristalina confiere mayor tolerancia a la incorporación de fases inorgánicas sin modificación marcada del PF.

Se realizaron análisis de difracción de rayos X con el objetivo de caracterizar las distintas materias primas y los dispensadores formulados. En una primera etapa, se evaluó la composición mineralógica de la caolina y la zeolita provista por un proveedor local (Droguería Paysandú, Uruguay), con el fin de verificar su identidad.

Los difractogramas obtenidos mostraron una coincidencia satisfactoria con los patrones de referencia contenidos en la base de datos PDF-4 (ICDD), lo que permitió confirmar que las fases presentes en las muestras corresponden a caolina y zeolita (Rietveld, 1969). En el caso de la caolina, se identificaron picos característicos en $2\theta \approx 12,3^\circ$, $20,1^\circ$, $24,9^\circ$ y $35,0^\circ$, mientras que la zeolita presentó señales típicas en $2\theta \approx 7,4^\circ$, $10,3^\circ$, $12,4^\circ$, $17,6^\circ$ y $26,9^\circ$, consistentes con estructuras de tipo clinoptilolita o mordenita, según la referencia consultada. La coincidencia observada en la posición e intensidad relativa de los picos respalda la correcta identificación de ambas fases minerales (Figura 39 y 40 en Anexo).

La Figura 24 presenta análisis de difracción de rayos X realizados para las distintas materias primas y dispensadores preparados en una primera instancia. Estos resultados proporcionan información clave sobre las estructuras cristalinas de los materiales, permitiendo una mejor comprensión de sus propiedades físicas.

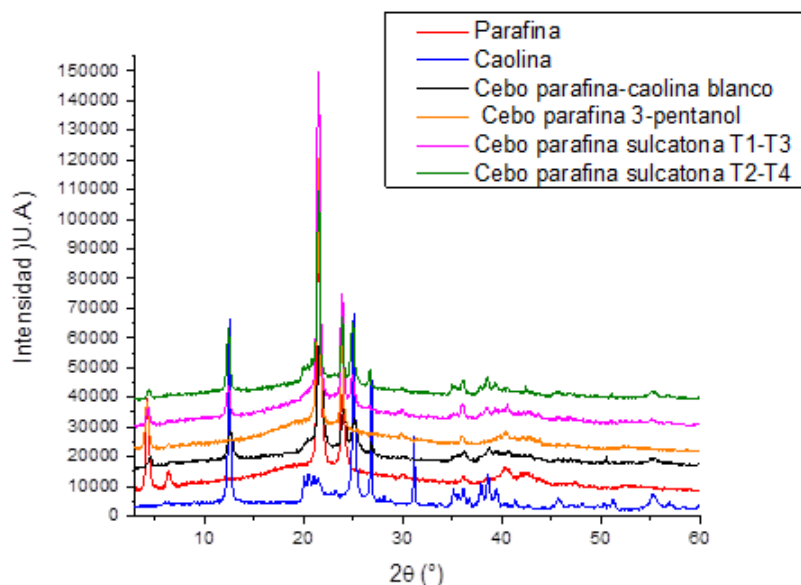


Figura 24. Difractograma de rayos X de las distintas materias primas y del dispensador D. Campo para sulcatona y 3-pentanol cuta matriz es parafina PF 57°.

El difractograma presenta varios picos característicos en la región de 10° a 30° (2θ), lo que indica la presencia de fases cristalinas en los materiales analizados. Se observa un corrimiento hacia valores mayores de 2θ en el pico correspondiente al dispensador D. Campo-sulcatona en comparación con la parafina pura. Este desplazamiento sugiere un cambio en el empaquetamiento cristalino de la parafina, probablemente inducido por la presencia de caolina, lo que podría generar una mayor compactación en la estructura del material. La incorporación de caolina puede actuar como un agente que restringe la movilidad de las cadenas de parafina, favoreciendo una reorganización estructural más densa. Esta compactación conlleva un aumento en las fuerzas interatómicas, lo que podría estar relacionado con un incremento en la temperatura de fusión (PF) de la mezcla que conforma el dispensador D. Campo con sulcatona.

Además, la interacción entre la sulcatona y la parafina podría contribuir a la modificación del patrón cristalino, ya sea promoviendo la formación de defectos estructurales o generando una fase ligeramente amorfa. Este efecto se refleja en la posible disminución de la intensidad y el ensanchamiento de los picos de difracción, lo que indicaría una reducción en la cristalinidad del sistema.

En conjunto, estos resultados sugieren que la combinación de caolina y sulcatona altera la organización cristalina de la parafina, lo que puede impactar en sus propiedades térmicas y mecánicas.

La Figura 25 presenta los difractogramas de rayos X correspondientes a las distintas materias primas utilizadas y los dispensadores formulados con sulcatol.

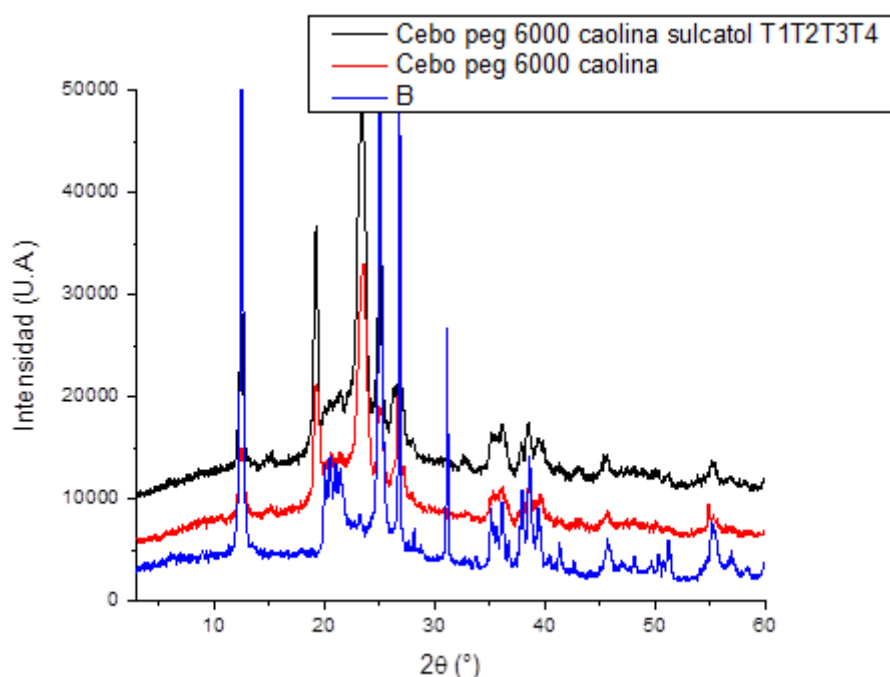


Figura 25. Difractograma de rayos X de las distintas materias primas y del dispensador D. Campo-sulcatol. Siendo B el cebo de ácido esteárico y caolina-blanco.

PEG 6000 exhibe sus picos principales en la región de $2\theta \approx 19^\circ$ y 23° , lo que coincide con la literatura para el PEG 6000, un polímero semicristalino con cierta organización estructural. Se observa una combinación de los picos característicos del PEG 6000 y la caolina, además de nuevas señales que pueden asociarse a la interacción entre ambos componentes. Hay un ligero corrimiento a mayores ángulos en algunos picos, lo que sugiere una modificación en la organización estructural de los componentes debido a su mezcla con sulcatol. La menor intensidad de algunos picos en comparación con los materiales puros sugiere una disminución de la cristalinidad, posiblemente por una interacción molecular entre los componentes que altera el empaquetamiento cristalino.

La Figura 26 muestra los difractogramas de rayos X obtenidos para las diferentes materias primas y el D. 3fj, representativo de los dispensadores formulados con una matriz de ácido

esteárico. Estos dispensadores contienen una combinación de sulcatol, sulcatona y 3-pentanol en la misma formulación.

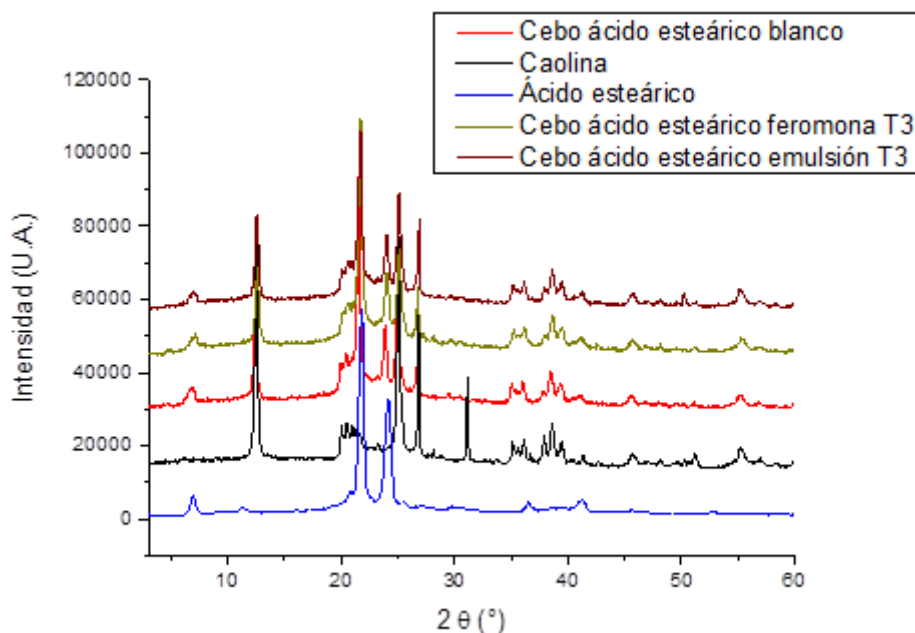


Figura 26. Difractograma de rayos X de las distintas materias primas y del dispensador D. 3fj.

Los patrones de difracción de D. emulsión y D. 3fj muestran diferencias notables en comparación con el ácido esteárico y caolina puros, lo que sugiere cambios estructurales en la organización cristalina de estos materiales al formar parte de las formulaciones, en consonancia con los resultados obtenidos mediante Calorimetría diferencial de barrido (DSC). En D. emulsión y D. 3fj, los picos correspondientes al ácido esteárico muestran desplazamientos leves hacia menores ángulos (2θ menor) y disminución en la intensidad relativa. Este corrimiento sugiere una modificación en el empaquetamiento cristalino del ácido esteárico, probablemente debido a la interacción con los otros componentes de la emulsión. La emulsificación podría estar induciendo una menor cristalinidad o la formación de fases amorfas, alterando la estructura de las cadenas de ácido graso. La caolina (traza verde oliva) exhibe picos nítidos y de alta intensidad, característicos de su estructura. En D. emulsión y D. 3fj, los picos asociados a la caolina parecen disminuir en intensidad y, en algunos casos, ensancharse, lo que indica una posible reducción en el grado de orden cristalino. Esto puede deberse a interacciones entre la caolina y el ácido

esteárico, generando una cobertura parcial de las partículas de caolina o incluso formando una dispersión más homogénea que impide la reorganización cristalina original.

Los desplazamientos y la disminución de intensidad de los picos en D. emulsión y D. 3fj sugieren que la conformación del dispensador modifica la estructura cristalina de los componentes originales. Esto puede estar asociado con una menor cristalinidad del ácido esteárico, una redistribución de las partículas de caolina dentro del sistema y la formación de nuevas interacciones entre los componentes de la formulación.

3.5. Evaluación de la liberación de feromonas en emulsiones por cromatografía gaseosa y análisis de estabilidad

Evaluación de la estabilidad

En relación con el Objetivo específico iii), se desarrollaron formulaciones fluidas asperjables como una aproximación preliminar a potenciales aplicaciones a gran escala.

La estabilidad física de las emulsiones se evaluó cualitativamente durante 30 días mediante la observación de separación de fases y sedimentación. Para minimizar la volatilización de las feromonas, las muestras se almacenaron en refrigeración y fueron monitoreadas visualmente.

Se observaron diferencias claras entre las formulaciones, como se muestra en la Figura 27:

- i) Emulsión 1: presentó inicialmente una estructura consistente tipo “dispersión sólida”. Sin embargo, después de una semana en refrigeración comenzó a evidenciar separación de fases, con una capa superficial de aspecto espumoso, indicando inestabilidad del sistema.
- ii) Emulsión 2: mantuvo una consistencia homogénea a lo largo del período evaluado, con una apariencia similar a una crema cosmética.

Estas diferencias pueden atribuirse principalmente a la matriz utilizada. En Emulsión 1, la presencia de ácido esteárico, un material con punto de fusión relativamente alto, favorece procesos de recristalización durante el enfriamiento, lo cual altera la estructura interna de la emulsión y promueve la separación de fases. En contraste, Emulsión 2, basada en vaselina líquida, mostró mayor compatibilidad entre componentes y estabilidad en refrigeración.



Figura 27. Evaluación de la estabilidad física de las emulsiones mediante la observación de la homogeneidad de fases y la sedimentación a lo largo del tiempo. A la izquierda: Emulsión 2; a la derecha: Emulsión 1.

Ensayo de vida útil y liberación de feromonas

Se realizó un ensayo de vida útil bajo condiciones simuladas de almacenamiento y uso, con el objetivo de evaluar por cuánto tiempo cada formulación mantiene una liberación efectiva. La Figura 28 muestra la emisión de sulcatona a lo largo del tiempo sin considerar el día cero, comparada con la de los dispensadores D.Campo como referencia.

Normalización mediante factor de corrección

Con el objetivo de comparar de manera equitativa la cinética de liberación de feromonas entre las emulsiones formuladas y los dispensadores monolíticos D. Campo, se aplicó un factor de corrección (FC) que permite normalizar la cantidad de feromona liberada desde 1 g de emulsión respecto a la cantidad total de feromona cargada en un dispensador D. Campo. Esta normalización resulta necesaria debido a las diferencias en la concentración de feromonas, el volumen y la masa involucrados en ambos sistemas de liberación.

El factor de corrección se definió, para cada compuesto feromonal, como la relación entre la cantidad de feromona presente en un dispensador D. Campo y la cantidad de feromona contenida en 1 g de emulsión, de acuerdo con la siguiente expresión:

$$FC = (\text{Feromona en un dispensador D. Campo}) / (\text{Feromona en 1 g de emulsión})$$

Las cargas feromonales del dispensador D. Campo fueron:

- Sulcatol: 0,29 ml

- Sulcatona: 0,16 ml
- 3-pentanol: 0,098 ml

En el caso de las emulsiones formuladas, se consideraron sus densidades para expresar las cantidades de feromona en función de la masa:

- **Emulsión 1** (densidad: 0,92 g/ml): contiene por ml 0,16 ml de sulcatol, 0,08 ml de sulcatona y 0,04 ml de 3-pentanol.
- **Emulsión 2** (densidad: 0,85 g/ml): contiene por ml 0,12 ml de sulcatol, 0,06 ml de sulcatona y 0,03 ml de 3-pentanol.

A partir de estos valores se calcularon los factores de corrección correspondientes para sulcatona y sulcatol, obteniéndose los siguientes resultados:

- **Sulcatona:**
FC = 1,84 para Emulsión 1
FC = 2,25 para Emulsión 2
- **Sulcatol:**
FC = 1,67 para Emulsión 1
FC = 2,06 para Emulsión 2

Estos factores fueron aplicados a los datos de liberación obtenidos experimentalmente para 1 g de emulsión, permitiendo comparar directamente la cinética de liberación de las emulsiones con la del dispensador D. Campo bajo una base equivalente de carga feromonal inicial.

Liberación de sulcatona

En la Figura 28 se muestra la emisión de sulcatona a lo largo del tiempo para ambas emulsiones, ya ajustadas mediante este procedimiento. Los colores representan los días evaluados. Esta visualización permite contrastar los perfiles de liberación y evaluar la eficiencia relativa de cada formulación en condiciones comparables al sistema de referencia.

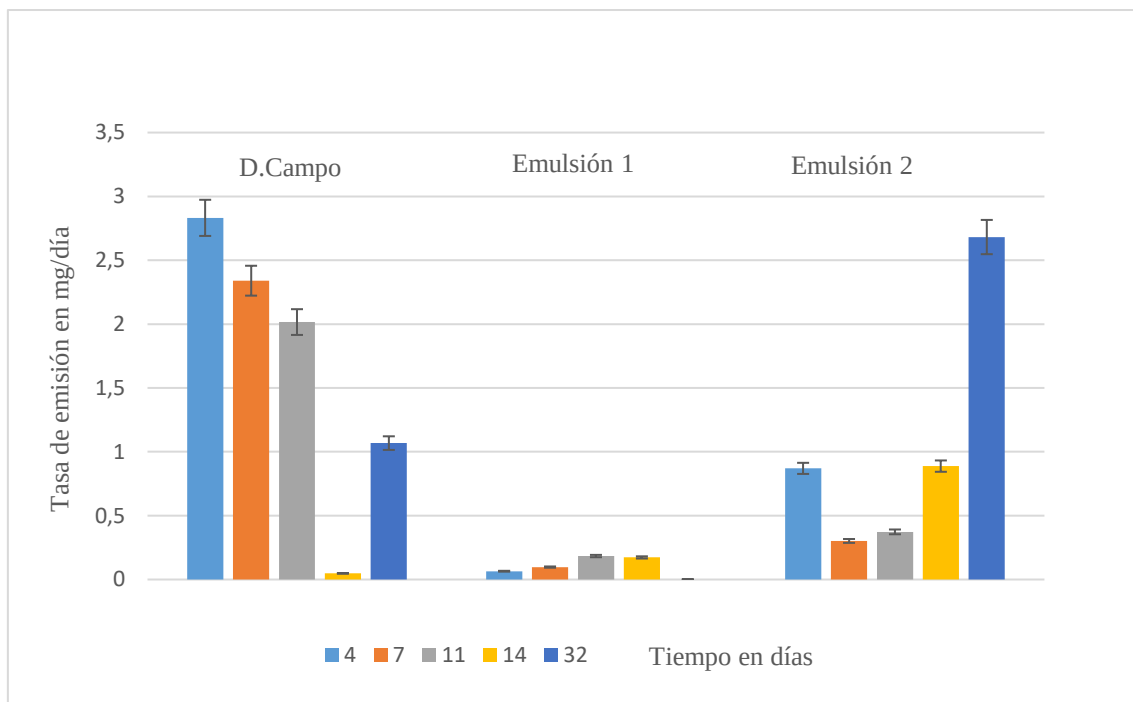


Figura 28. Emisión de sulcatona de las distintas emulsiones formuladas sin día cero vs dispensadores D. Campo tomados como referencia. Los distintos colores indican los días.

La tasa de emisión de sulcatona en mg/día para las emulsiones formuladas y un dispensador de referencia en campo (D. Campo), evaluadas a lo largo del tiempo (días 4, 7, 11, 14 y 32).

Los resultados indicaron que en la Emulsión 1, sulcatona no fue detectable a partir del día 14 del monitoreo. En contraste, la Emulsión 2 mostró presencia de sulcatona durante los 32 días de monitoreo, lo que sugiere una liberación sostenida y, por tanto, una mayor vida útil. Llama la atención la alta tasa de emisión observada en el día 32 para Emulsión 2, superior a la esperada según la tendencia de los días anteriores. Este valor podría atribuirse a un origen analítico, posiblemente relacionado con la saturación del sistema de detección del equipo GC-MS o a la desorción del compuesto retenido en el sistema, lo cual debe considerarse en la interpretación de los resultados.

Sería recomendable realizar estudios adicionales para entender los mecanismos detrás de la liberación retardada en la Emulsión 2 y evaluar si este comportamiento es reproducible.

La Figura 29 muestra la tasa de emisión de sulcatol en mg/día a lo largo del tiempo para los distintos sistemas analizados.

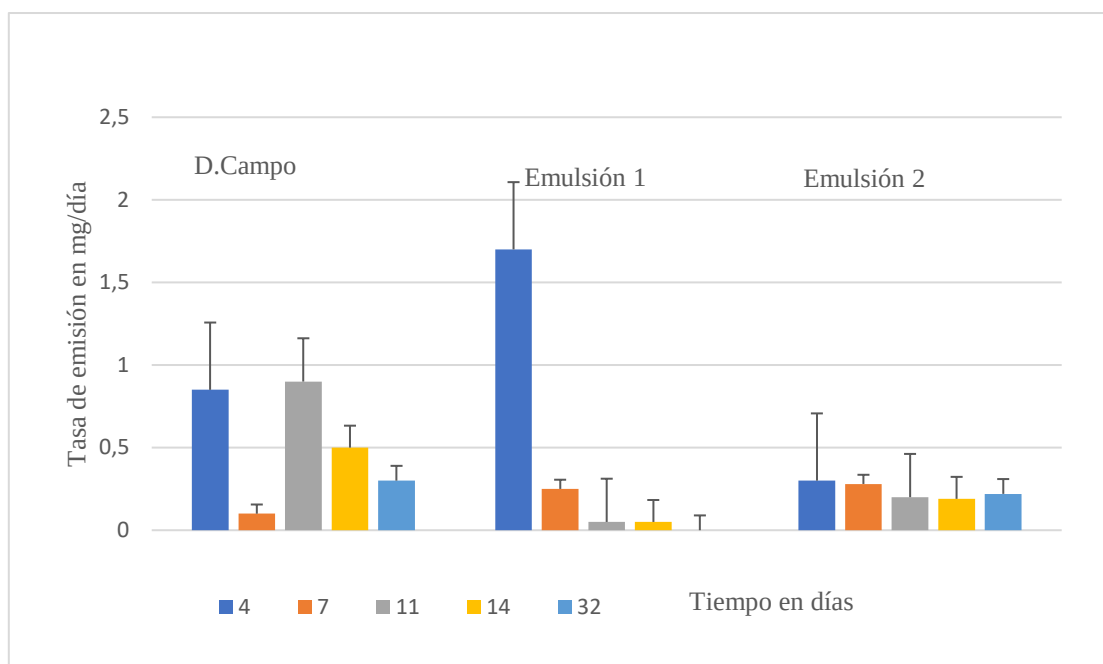


Figura 29. Emisión de sulcatol de las distintas emulsiones formuladas sin día cero vs dispensadores D. Campo. Los distintos colores indican los días. Se aplicó factor de corrección sobre liberación de emulsiones para comparar volumen equivalente de feromonas en todas las preparaciones.

La Emulsión 1 presenta elevada liberación inicial seguida de valores muy bajos y casi constantes (~ 0.1 mg/día), lo que indica que no es un sistema eficiente para la liberación de sulcatol. sulcatol no fue detectable a partir del día 14 del monitoreo

La Emulsión 2, por otro lado, muestra una tendencia de liberación estable a lo largo del tiempo, con emisión detectable incluso en el día 32. Si bien los valores absolutos son inferiores a los del sistema de referencia, esta diferencia se entiende dado el distinto tipo de formulación. La comparación con D. Campo se presenta a modo de referencia, pero el análisis se centra principalmente en el perfil de liberación.

La Emulsión 1 no es efectiva para ninguno de los compuestos, mientras que la Emulsión 2 presenta una liberación sostenida de ambos. Estos resultados sugieren que el sulcatol se libera de forma más controlada, mientras que la sulcatona muestra una liberación más errática y tardía. En lo referente a la formulación de emulsiones, se identificó que el punto de fusión y el estado físico de la matriz lipídica son factores clave para la estabilidad de la emulsificación:

i) *Emulsión 1* (ácido esteárico): requirió fusión previa, pero al ser almacenada en refrigeración presentó separación de fases y liberación acelerada de la feromona, atribuida a la recristalización del ácido esteárico.

ii) *Emulsión 2* (vaselina líquida): su estado líquido a temperatura ambiente permitió una incorporación directa, obteniendo una emulsificación más estable y homogénea.

La selección de la matriz lipídica es un factor determinante en la estabilidad y funcionalidad de una emulsión. En este estudio, la vaselina líquida resultó ser una mejor alternativa que el ácido esteárico, ya que evitó problemas de separación de fases y promovió una liberación más controlada de la feromona. Estos hallazgos sugieren que las bases oleosas líquidas son más adecuadas para aplicaciones donde la estabilidad de la emulsión y la liberación gradual del compuesto activo son críticas.

Limitaciones y posibilidades de continuación del trabajo

El presente trabajo aporta avances relevantes en el desarrollo de dispensadores feromonales; sin embargo, presenta algunas limitaciones que abren oportunidades para su profundización. En primer lugar, debido a restricciones de recursos y logística, no fue posible realizar ensayos de dureza ni análisis espectroscópicos (Raman), inicialmente contemplados en el plan de trabajo. Estos estudios resultarían de gran utilidad para comprender con mayor precisión la estructura de la matriz, su comportamiento mecánico y la distribución de la feromona dentro del dispensador, aspectos clave para optimizar la selección de materiales y formulaciones.

Asimismo, si bien los resultados de campo obtenidos son promisorios, la validación del modelo de liberación propuesto requiere al menos una temporada de campo adicional de ensayos, que permita evaluar su reproducibilidad en condiciones ambientales variables. En este sentido, sería pertinente profundizar en el estudio del rol de la zeolita como agente modulador de la liberación. Esta estrategia —que consiste en incorporar la feromona a la zeolita en una mezcla húmeda previa a la conformación del dispensador— resultó efectiva para modular la liberación y mejorar la estabilidad (Ramos et al., 2018).

Adicionalmente se plantea explorar nuevas matrices que, en su conformación dentro del dispensador, presenten puntos de fusión cercanos a 70 °C. Si bien los sistemas evaluados con puntos de fusión en torno a 60 °C han demostrado ser viables, el ajuste fino de este parámetro podría contribuir a mejorar la estabilidad térmica y el desempeño en campo. Mantener un equilibrio adecuado entre el punto de fusión de la matriz y la volatilidad de la feromona es fundamental para evitar pérdidas durante la elaboración y asegurar la

estabilidad del sistema. Entre los candidatos relevantes se encuentra el ácido behénico, un ácido graso de cadena larga biodegradable y termoestable, con un punto de fusión en el rango de 80–84 °C, lo que lo posiciona como una alternativa atractiva para incrementar la estabilidad térmica del sistema, aunque su alta cristalinidad podría limitar la difusión del activo. Asimismo, pueden considerarse ceras naturales de alta fusión, como la cera de soja hidrogenada ($\approx 65\text{--}75$ °C), que ofrecen buena capacidad de encapsulación, aunque presentan transiciones térmicas más amplias debido a su naturaleza compleja.

Otra línea de investigación radica en el uso de polímeros biodegradables como la poli(ϵ -caprolactona) (PCL) y el poli(3-hidroxibutirato) (PHB), conocidos por su estabilidad térmica y su capacidad para formar matrices densas. Estos materiales, utilizados individualmente o en combinación, permitirían ajustar el punto de fusión efectivo del dispensador —que puede diferir del de los materiales puros— y adaptar su desempeño a distintos escenarios ambientales (Felisberti & Antunes, 2005; El-Sayed, 2023).

Futuras líneas de trabajo podrían incluir la evaluación de la aplicabilidad del sistema en otras especies de interés forestal o agrícola. Estos avances permitirían no solo robustecer el modelo desarrollado, sino también ampliar su potencial de transferencia tecnológica.

En relación con las formulaciones fluidas, Emulsión 2 presentó el mejor desempeño en términos de estabilidad física y liberación, por lo que resulta pertinente profundizar su optimización. Investigaciones futuras podrían evaluar su eficacia en condiciones reales de aplicación, tanto aérea (dron, atomizador) como terrestre, además de estudiar su compatibilidad con aditivos funcionales como sinergistas, antioxidantes o surfactantes que mejoren la estabilidad.

Para lograr una liberación más lenta y sostenida, se identifican distintas estrategias de modificación de la fase lipídica. Una posibilidad consiste en aumentar gradualmente la viscosidad del sistema, reemplazando parcialmente la vaselina por aceites más densos — como el aceite de ricino — o incorporando ceras de punto de fusión moderado (parafina sólida, cera microcristalina). Estos ajustes permiten generar matrices más densas y estructuradas, reduciendo la movilidad interna de la feromona y ralentizando su liberación (Kommireddy et al., 2012; Li et al., 2021).

Capítulo 4. Conclusiones

El presente capítulo sintetiza los principales resultados obtenidos y discute sus implicancias para el desarrollo de sistemas de liberación controlada de feromonas aplicados al manejo de *M. mutatus* en plantaciones de *Eucalyptus* spp.

El objetivo específico i) se cumplió mediante la formulación y caracterización de dispensadores monolíticos biodegradables que presentaron propiedades fisicoquímicas adecuadas y perfiles de liberación sostenidos de los compuestos feromonales, compatibles con su aplicación en condiciones de campo. El análisis conjunto de los parámetros cinéticos y operativos permitió establecer que, en este tipo de sistemas, el control de la liberación inicial (V_i) constituye un criterio crítico de desempeño, ya que una descarga excesiva en los primeros días conduce a una pérdida temprana del compuesto activo y limita la vida útil del dispensador. En este contexto, se observó que la estabilidad de la tasa de liberación a lo largo del tiempo resulta más relevante que alcanzar valores máximos elevados, particularmente en aplicaciones de monitoreo y disrupción sexual prolongada.

Asimismo, los resultados evidenciaron que tanto los dispensadores monolíticos sólidos como las emulsiones presentan ventajas y desafíos específicos. En los dispensadores sólidos, factores como la porosidad inducida por el tipo y porcentaje de relleno y, de forma clave, el punto de fusión de la matriz formulada —que puede diferir del de sus componentes puros debido a interacciones en la formulación— resultaron determinantes para lograr una liberación efectiva y estable bajo condiciones de campo. En particular, el uso de zeolita impregnada con feromonas mejoró significativamente el desempeño del sistema, permitiendo una liberación no estrictamente Fickiana pero altamente controlada. Este comportamiento pone de manifiesto que la zeolita actúa no solo como relleno inerte, sino como un encapsulante activo, capaz de adsorber y proteger la feromona, amortiguando la liberación inicial y modulando su difusión en el tiempo.

El objetivo específico ii) se alcanzó mediante los ensayos de campo, donde los tratamientos asociados a dosis de disrupción sexual (T3 y T4) mostraron una reducción significativa en las capturas y en el daño observado, evidenciando la eficacia de la feromona en plantaciones de *Eucalyptus* spp. En particular, el tratamiento T3 resultó óptimo para la atracción de hembras, destacándose el papel del 3-pentanol como

componente clave. La reducción del 71 % en el daño a los troncos confirma la interferencia en la localización del hospedero y en la oviposición, incluso revirtiendo tendencias previas de mayor afectación en la parcela tratada. Estos hallazgos respaldan la incorporación de semioquímicos como componentes centrales dentro del manejo integrado de plagas forestales.

El objetivo específico iii) se abordó mediante la formulación de sistemas fluidos asperjables de la feromona de *M. mutatus*, que presentaron estabilidad y características adecuadas para su aplicación, constituyendo una base para futuros estudios de validación a campo. Se evidenció que la polaridad y el punto de fusión de la matriz influyen en la compatibilidad con la fase oleosa y en la liberación de la feromona. En particular, la vaselina líquida, de naturaleza altamente apolar, favoreció la miscibilidad con la fase activa, permitiendo obtener emulsiones más estables y un mejor perfil de liberación, incluso con menor carga de compuesto activo (Emulsión 2). Asimismo, el estado físico de la matriz resultó determinante, observándose un mejor desempeño en matrices líquidas frente a sólidas.

Desde una perspectiva de innovación, el presente trabajo aporta evidencia original sobre la interacción entre matriz, relleno y feromona en sistemas monolíticos biodegradables, y constituye la primera demostración experimental del uso de un dispensador único capaz de integrar tres compuestos activos para la disrupción sexual de *M. mutatus*. Este enfoque representa un avance respecto a los sistemas tradicionales, que utilizan múltiples dispensadores y materiales no biodegradables, y contribuye al desarrollo de tecnologías de liberación más eficientes, sostenibles y compatibles con la operativa forestal a gran escala.

A pesar de los avances alcanzados, se identificaron limitaciones relevantes para la implementación operativa. En primer lugar, el punto de fusión del dispensador final no debe ser inferior a 60 °C para asegurar su integridad estructural bajo condiciones ambientales fluctuantes. En segundo lugar, los análisis fisicoquímicos mostraron que las matrices pueden sufrir modificaciones durante su conformación, por lo que la selección de materiales debe considerar su estructura, polaridad y grupos funcionales, dado que influyen directamente en la interacción con la feromona y en su perfil de liberación. Finalmente, aunque la Emulsión 2 mostró un comportamiento prometedor en laboratorio, aún no ha sido validada en campo, lo que limita la extrapolación de su desempeño real.

Más allá de las consideraciones técnicas, los resultados obtenidos tienen implicancias directas para el sector forestal. La posibilidad de reducir el daño mediante técnicas no químicas, selectivas y ambientalmente amigables representa una alternativa valiosa frente a estrategias tradicionales de manejo. La utilización de dispensadores biodegradables y de bajo costo contribuye a modelos de producción más sostenibles y reduce la huella ambiental de las intervenciones.

En conjunto, este trabajo sienta las bases para el desarrollo de herramientas feromonales adaptadas a plantaciones de *Eucalyptus* spp. bajo condiciones productivas reales en Uruguay.

Anexos

En esta sección se incluyen las Figuras 30 a 41, que ilustran los resultados de los análisis térmicos y estructurales realizados a los diferentes dispensadores de feromona y a las materias primas empleadas. Las Figuras 30 a 39 corresponden a los termogramas obtenidos por calorimetría diferencial de barrido (DSC), donde se evaluaron las transiciones térmicas de los dispensadores D. Campo, D. Emulsión y D. 3fj, así como de sus respectivos blancos, permitiendo comparar el efecto de la incorporación de feromonas sobre la estabilidad térmica de las matrices. Por su parte, las Figuras 40 y 41 presentan los difractogramas de rayos X de las muestras de zeolita y caolina, confirmando la identidad mineralógica y aportando información sobre su estructura cristalina. En conjunto, estas figuras complementan la interpretación de las propiedades fisicoquímicas de los sistemas formulados y su potencial desempeño en la liberación controlada de feromonas

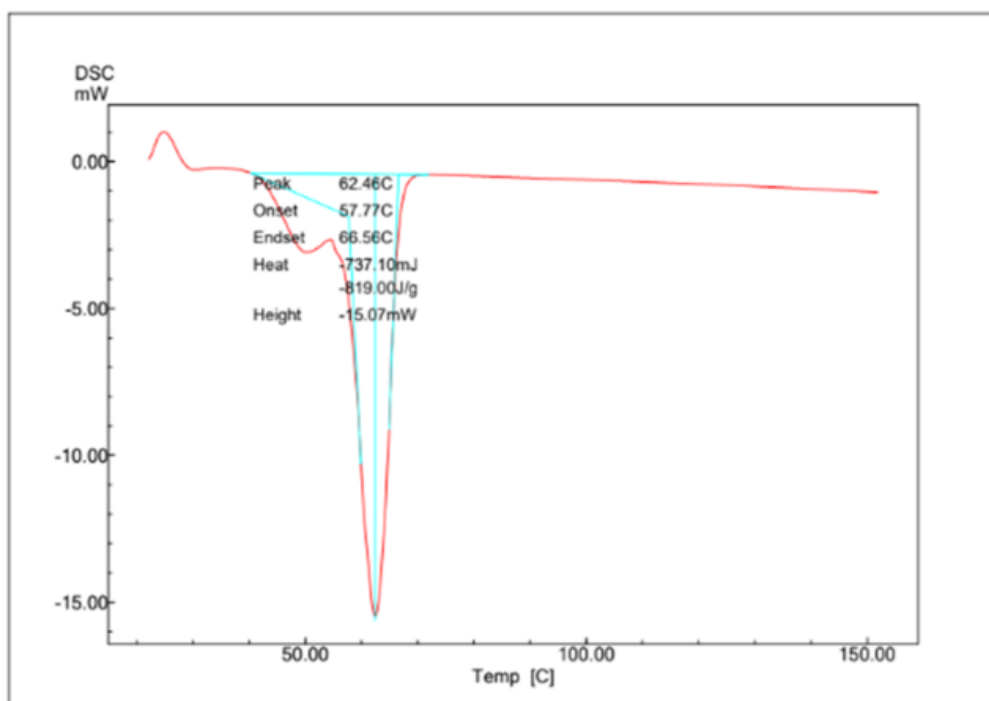


Figura 30. Termograma correspondiente a la valoración por DSC para dispensador D. Campo conformado por matriz de Parafina PF 57 °C/ 0% caolina/2% de 3-pentanol.

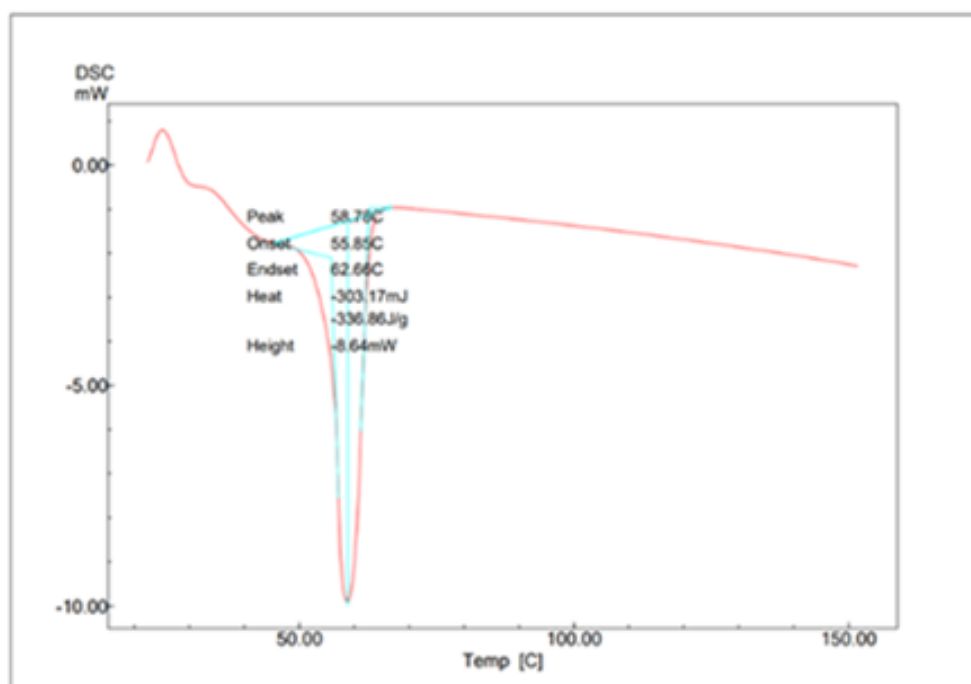


Figura 31. Termograma correspondiente a la valoración por DSC para dispensador D. Campo conformado por matriz de Parafina PF 57 °C/ 0% caolina/2% de aceite neutro (Blanco)

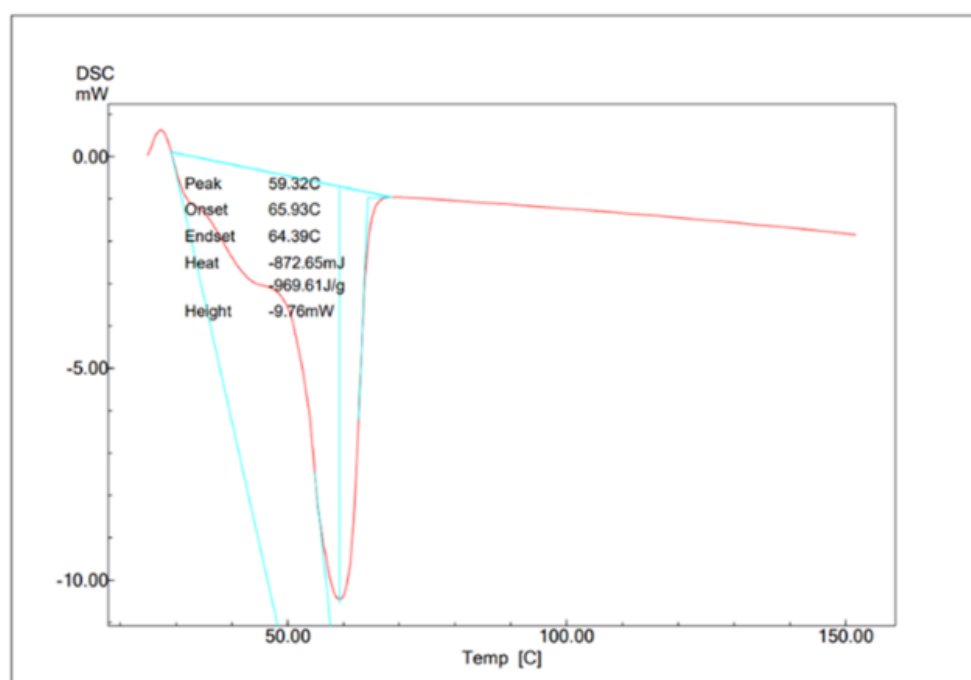


Figura 32. Termograma correspondiente a la valoración por DSC para dispensador D. Campo conformado por matriz de Parafina PF 57 °C/ 30% caolina/2% de sulcatona.

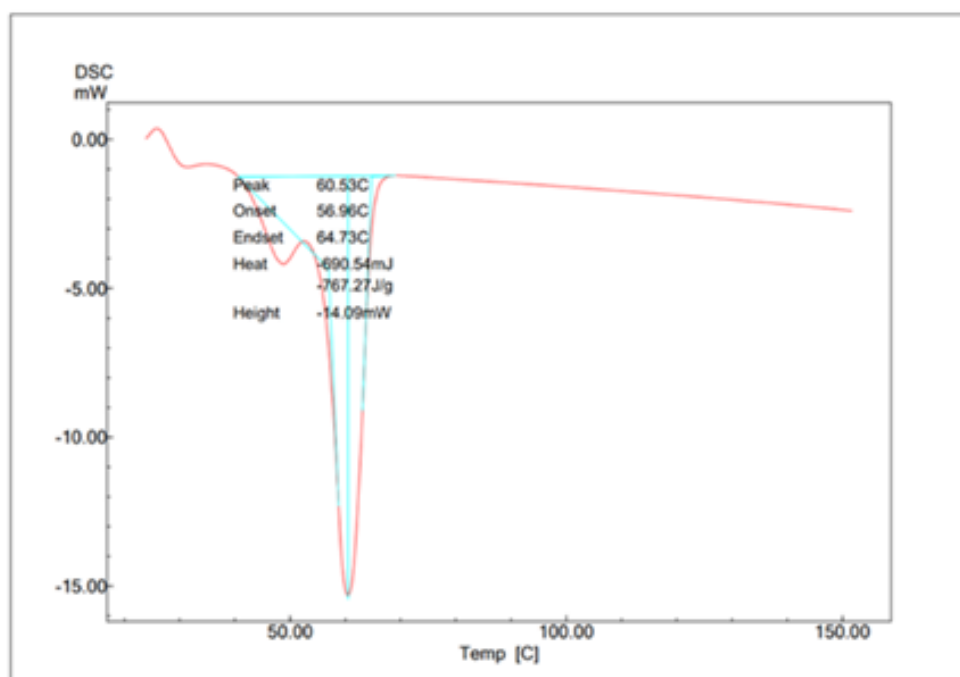


Figura 33. Termograma correspondiente a la valoración por DSC para dispensador D. Campo conformado por matriz de Parafina PF 57 °C/ 30% caolina/2% de aceite neutro(Blanco)

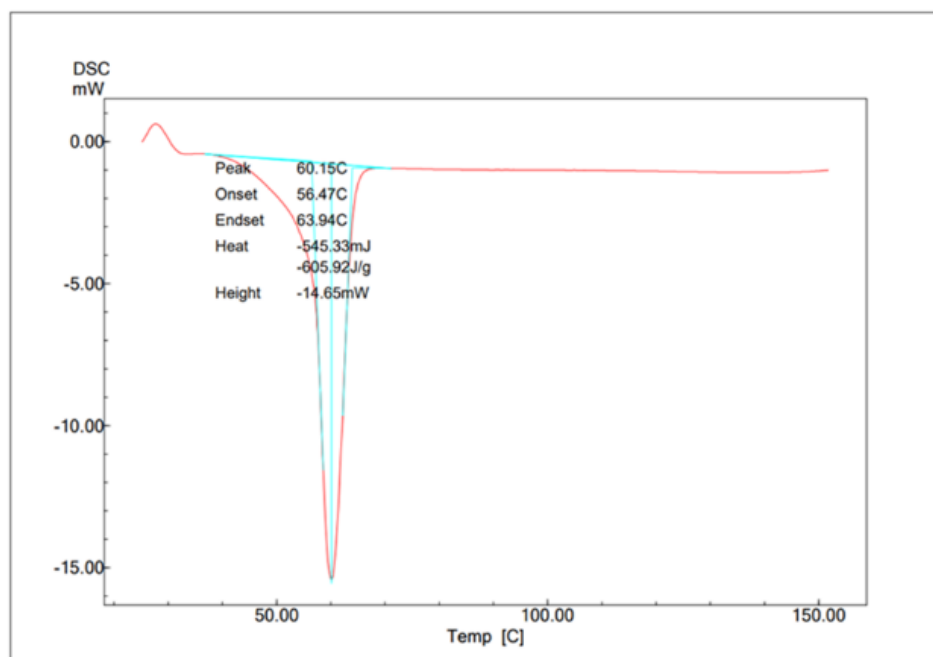


Figura 34. Termograma correspondiente a la Valoración por DSC para dispensador D. Campo conformado por matriz de PEG 6000/ 30% caolina/2% de sulcatol

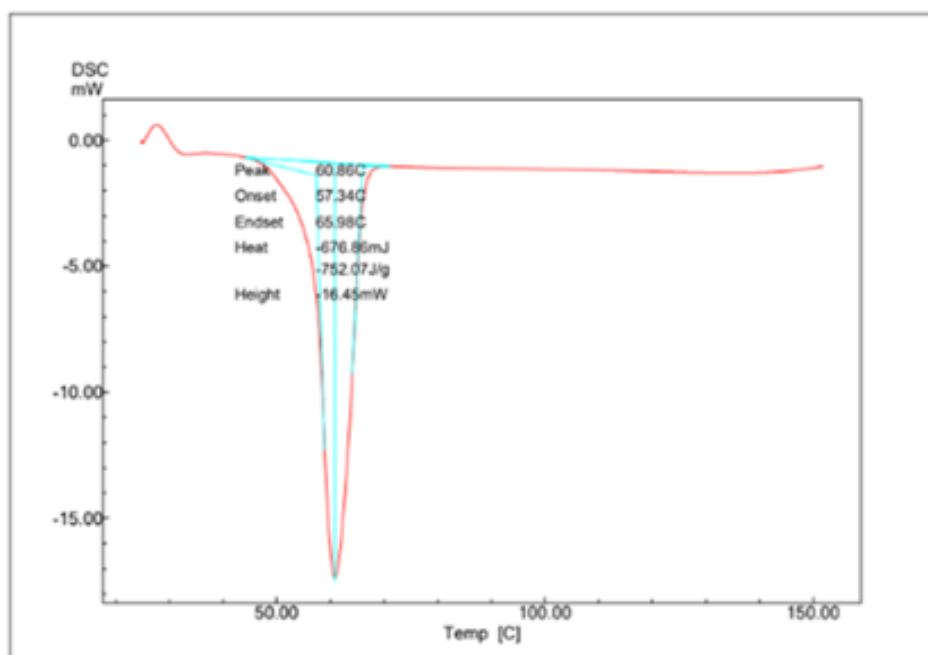


Figura 35. Termograma correspondiente a la Valoración por DSC para dispensador D. Campo conformado por matriz de PEG 6000/ 30% caolina/2% de aceite neutro

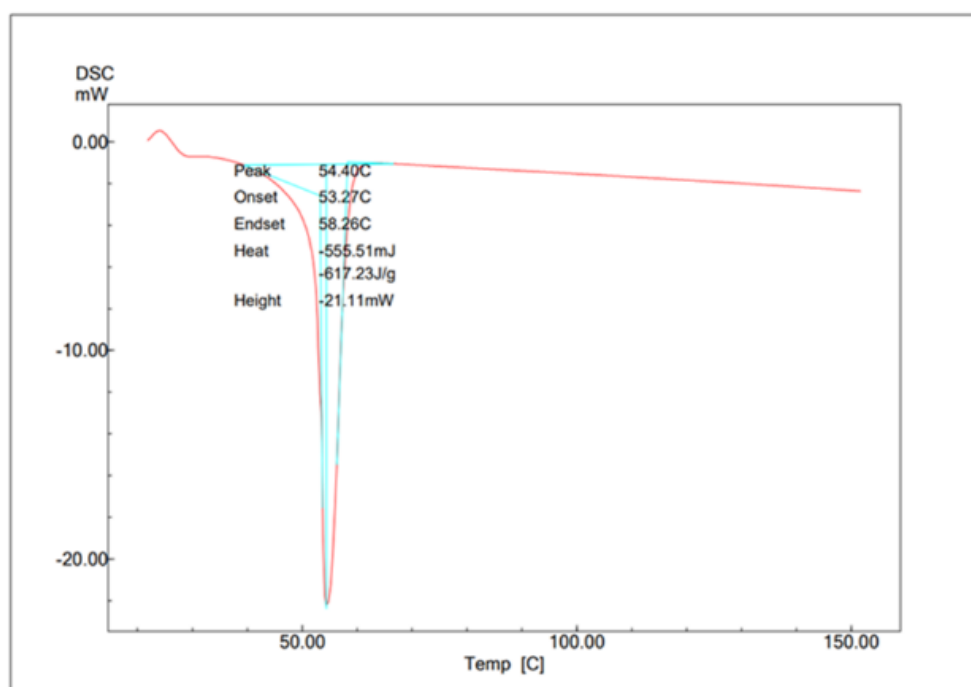


Figura 36. Termograma correspondiente a la Valoración por DSC para dispensador D. Emulsión matriz de Ácido esteárico/ 30 % de caolina y2 % feromona encapsulada en relación T3.

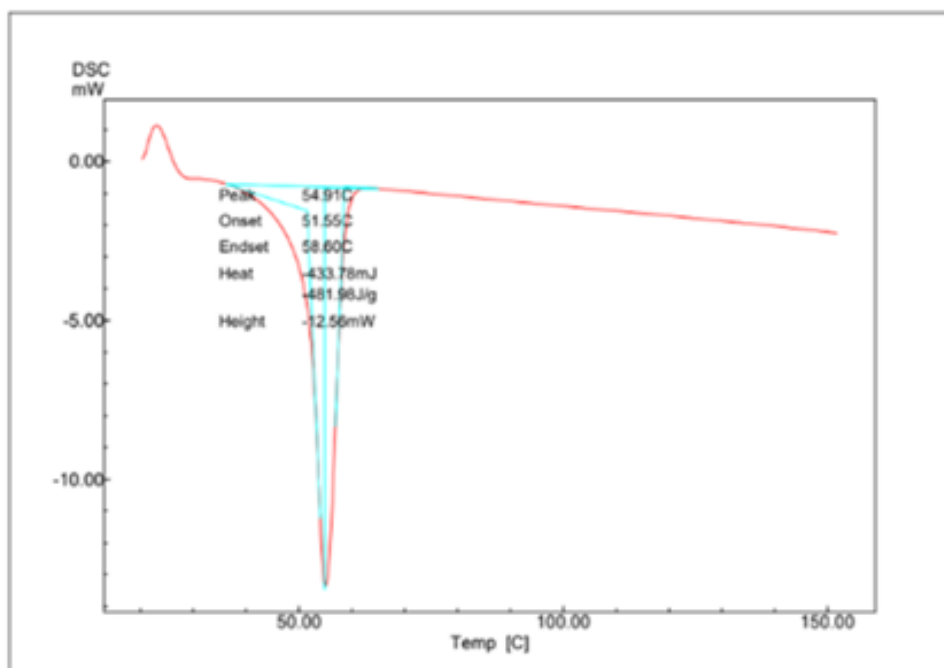


Figura 37. Termograma correspondiente a la Valoración por DSC para dispensador D. Emulsión matriz de Ácido esteárico/ 30 % de caolina y 2% de aceite neutro

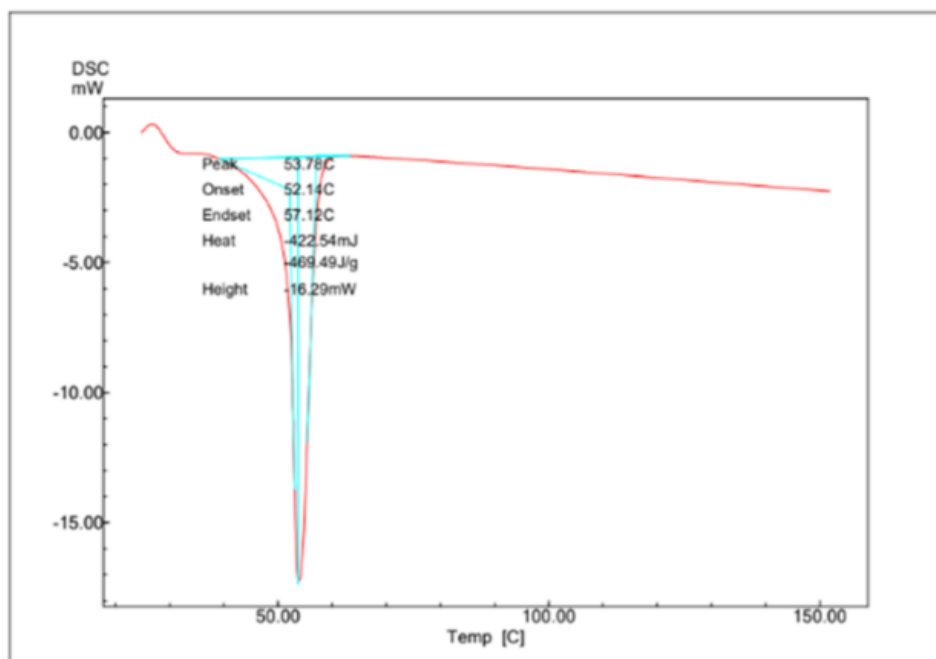


Figura 38. Termograma correspondiente a la Valoración por DSC para dispensador D. 3ffj matriz de Ácido esteárico/ 30 % de caolina y feromona incorporada directamente en relación T3.

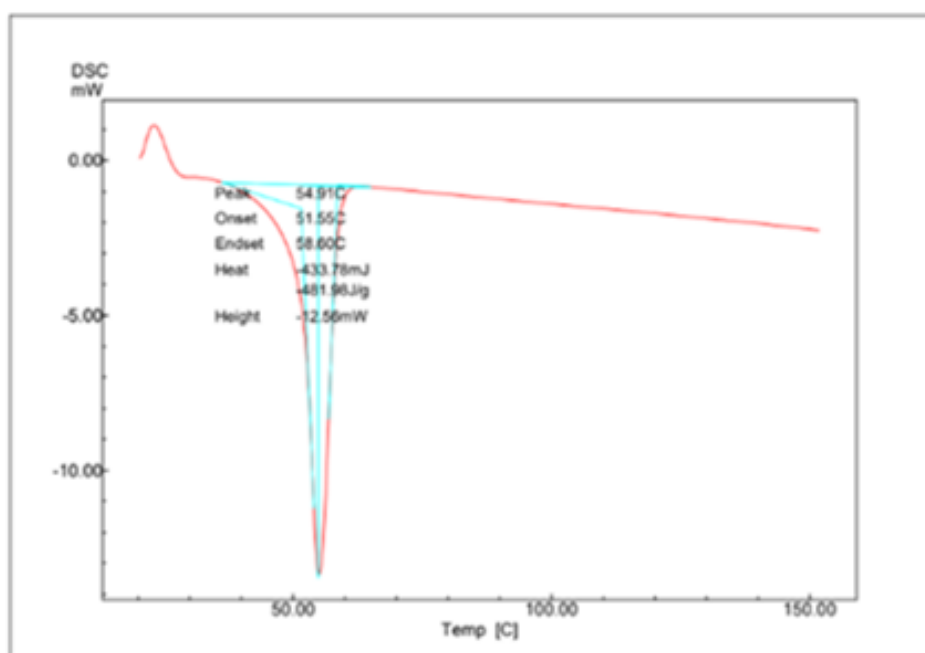


Figura 39. Termograma correspondiente a la Valoración por DSC para dispensador D. 3ff matriz de Ácido esteárico/ 30 % de caolina y 2% aceite neutro

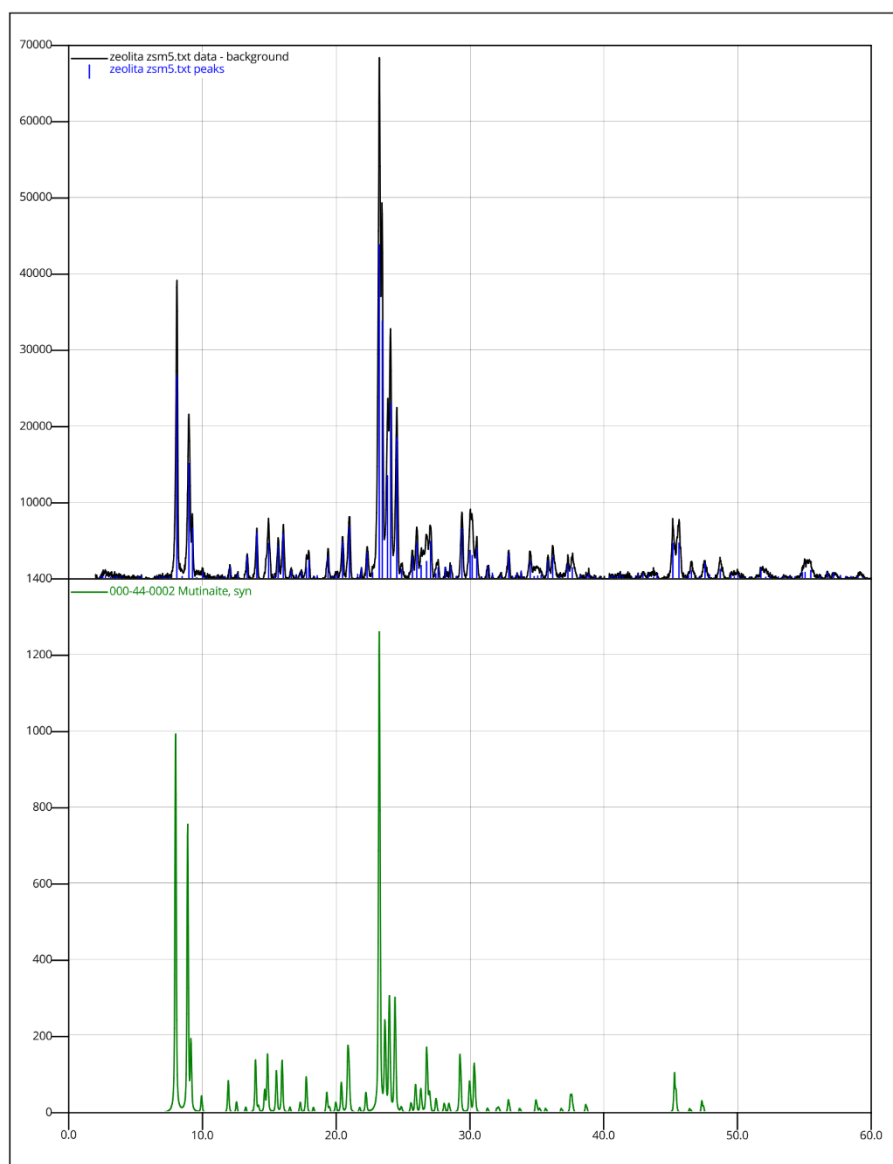


Figura 40. Difractograma de rayos X de la muestra de zeolita analizada (línea negra) en comparación con el patrón de referencia correspondiente (línea azul) obtenido de la base de datos PDF-4 (ICDD). Se observa en verde solamente el patrón de referencia. La coincidencia en las posiciones e intensidades relativas de los picos, permiten confirmar la presencia de una fase tipo clinoptilolita o mordenita en la muestra

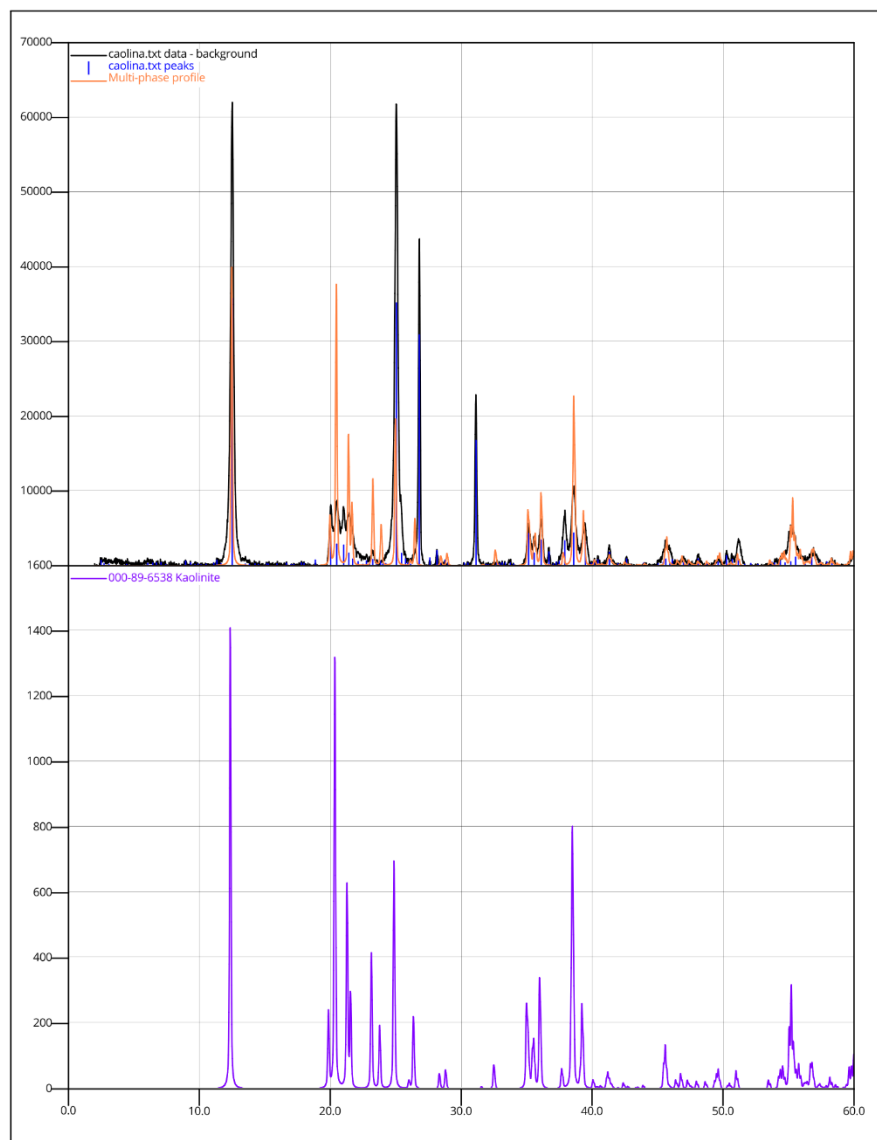


Figura 41. Difractograma de rayos X de la muestra de zeolita analizada (línea negra) en comparación con el patrón de referencia correspondiente (línea naranja) obtenido de la base de datos PDF-4 (ICDD). Se observa en violeta solamente el patrón de referencia. La coincidencia en las posiciones e intensidades relativas de los picos confirma la presencia de caolina como fase principal en la muestra analizada

Bibliografía

- Allegro, G., & Della Beffa, G. (2001). Un nuovo problema entomologico per la pioppicoltura italiana: *Platypus mutatus* Chapuis (Coleoptera, Platypodidae). *Sherwood. Foreste ed alberi oggi*, 66, 31–34.
- Anon, J. (2001). Preface. *Journal of Chemical Ecology*, 27, 1–2.
- Barnes, M., Millar, J., Kirsch, P., & Hawks, D. (1992). Codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) control by dissemination of synthetic female sex pheromone. *Journal of Economic Entomology*, 85(4), 1274–1277. <https://doi.org/10.1093/jee/85.4.1274>
- Bartell, R. (1982). Mechanisms of communication disruption by pheromone in the control of Lepidoptera: A review. *Physiological Entomology*, 7, 353–364.
- Birch, M. (1974). Pheromones: Frontiers of biology (Vol. 32).
- Breck, D. W. (1974). Zeolite molecular sieves. John Wiley & Sons.
- Cardé, R., & Minks, A. (1995). Control of moth pests by mating disruption: Successes and constraints. *Annual Review of Entomology*, 40, 559–585.
- Cork, A. (2008). Development of a PVC-resin-controlled release formulation for pheromones and use in mating disruption of yellow rice stem borer *Scirpophaga incertulas*. *Crop Protection*, 27, 248–255.
- Crowley, M. M., Zhang, F., Repka, M. A., Thumma, S., Upadhye, S. B., Battu, S. K., ... & McGinity, J. W. (2004). Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: Part I. Drug Development and Industrial Pharmacy, 33(9), 909–926. <https://doi.org/10.1080/03639040701525627>
- El-Sayed, A. M. (2023). Advances in pheromone-based pest management and polymeric release systems. *Insects*, 14, 1–20.
- FSC. (2016). Requisitos para la obtención de madera controlada FSC®. Consejo Directivo del FSC - Centro Internacional FSC - Unidad de Política y Estándares. Recuperado el 20 de noviembre de 2024, de <https://connect.fsc.org/es/document-centre/documents/resource/373>

- Felisberti, M. I., & Antunes, M. (2005). Blends of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(ϵ -caprolactone): Morphology and thermal properties. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 15(2), 134–138.
- Ferreira, M. A., et al. (2020). Behenic acid-based materials in controlled-release systems: Thermal and chemical stability. *Journal of Renewable Materials*, 8(6), 583–592.
- Funes, H., Zerba, E., & Gonzalez-Audino, P. (2013). Effect of release rate and enantiomeric composition on response to pheromones of *Megaplatypus mutatus* (Chapuis) in poplar plantations of Argentina and Italy. *Bulletin of Entomological Research*, 103, 305–314.
- Funes, H., Griffo, R., Zerba, E., & Gonzalez-Audino, P. (2011). Mating disruption of the ambrosia beetle *Megaplatypus mutatus* (Coleoptera: Platypodidae) in poplar and hazelnut plantations using reservoir systems for pheromones: Field trials in Argentina and Italy. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 139, 226–234.
- Funes, H., Zerba, E., & Gonzalez-Audino, P. (2009). Comparison of three types of traps baited with sexual pheromones for ambrosia beetle *Megaplatypus mutatus* in poplar plantations. *Journal of Economic Entomology*, 102, 1546–1550.
- García, M. J. (2002). Materiales zeolíticos: Síntesis, propiedades y aplicaciones. Informe Interno, Departamento de Química Inorgánica, Universidad de Alicante.
- Gatti Liguori, P., Zerba, E., Alzogaray, R., & Gonzalez Audino, P. (2008). 3-Pentanol: A new attractant present in volatile emission from the ambrosia beetle *Megaplatypus mutatus*. *Journal of Chemical Ecology*, 34, 1446–1451.
- González-Audino, P., Funes, H., Slodowicz, M., & Zerba, E. (2012). Identification and formulation of pheromones of the ambrosia beetle *Megaplatypus mutatus* and field management using reservoir and monolithic delivery systems. *International Symposium of Chemical Ecology*.
- González-Audino, P., Villaverde, R., Alfaro, R., & Zerba, E. (2005). Identification of volatile emissions from *Platypus mutatus* (= *sulcatus*) (Coleoptera: Platypodidae) and their behavioral activity. *Journal of Chemical Ecology*, 25, 805–816.

- Grasswitz, T. (2003). The value of the ITS2 region for the identification of species boundaries between *Alloxysta* hyperparasitoids (Hymenoptera: Charipidae) of aphids. *European Journal of Entomology*, 100(3), 449–453.
- Gregg, S. J., & Sing, K. S. W. (1967). Adsorption, surface area and porosity. Academic Press.
- Ha, J., Oh, E., Bae, B., & Song, I. (2013). The effect of kaolin addition on the characteristics of a sintered diatomite composite support layer for potential microfiltration applications. *Ceramics International*, 39(8), 8955–8962.
- Hanks, L. M., & Millar, J. G. (2016). *Sex and aggregation-sex pheromones of cerambycid beetles: Basic science and practical applications*. *Journal of Chemical Ecology*, 42, 631–654.
- Hegazi, E., Konstantopoulou, M., Milonas, P., Herz, A., Mazomenos, B., Khafagi, W., & El-Kemmy, S. (2007). Mating disruption of the jasmine moth *Palpita unionalis* (Lepidoptera: Pyralidae) using a two pheromone component blend: A case study over three consecutive olive growing seasons in Egypt. *Crop Protection*, 26, 837–844.
- Howse, P., Stevenson, I., & Jones, O. (1998). Insect pheromones and their use in pest management. *London, UK: Chapman & Hall*.
- Hubadillah, S., Othman, M., Harun, Z., Ismail, A., Rahman, M., & Jaafar, J. (2017). Superhydrophilic, low-cost kaolin-based hollow fibre membranes for efficient oily-wastewater separation. *Materials Letters*, 191, 119–122.
- Karlson, P., & Lüschen, W. (1959). Pheromones: A new term for a class of biologically active substances. *Nature*, 183, 55–56.
- Kommireddy, D., Juárez, P., & Martínez, F. (2012). Lipid-based formulations for sustained pheromone release. *Pest Management Science*, 68(9), 1234–1240.
- Korsmeyer, R. W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., & Peppas, N. A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 15(1), 25–35. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(83\)90064-9](https://doi.org/10.1016/0378-5173(83)90064-9)

- Krüger, A. J., & Tolmay, A. T. (2002). Prediction of the release characteristics of alcohols from EVA using a model based on Fick's second law of diffusion. *Journal of Applied Polymer Science*, 84, 806–813.
- Langer, R., & Peppas, N. A. (1983). Chemical and physical structure of polymers as carriers for controlled release of bioactive agents: A review. *Biomaterials*, 4(3), 155–167.
- Li, Y., Liu, J., & Zhang, X. (2021). Wax-based emulsions for controlled release of volatile compounds in agricultural systems. *Industrial Crops and Products*, 168, 113613.
- Luyten, J., Mullens, S., & Thijs, I. (2010). Designing with pores: Synthesis and applications. *KONA Powder and Particle Journal*, 28(0), 131–142.
- Mitchell, E. (1986). Pheromones: As the glamour and glitter fade, the real work begins. *Florida Entomologist*, 69, 132–139.
- Muro-Small, M. L., Li, S., Bhakay, A., & Dave, R. N. (2020). Effect of drug-polymer interactions on melt rheology and drug release from hot melt extruded amorphous solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*, 579, 119183. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119183>
- Rainho, H., Silva, W., & Bento, J. (2021). Atrayente de base semioquímica para el barrenador estenopeico *Ambrosia Euplatypus parallelus*. *Agronomía*, 11(2), 266.
- Ramos, R. S., et al. (2018). Validation of analytical method for rhynchophorol quantification and stability in inorganic matrix for the controlled release of this aggregation pheromone. *BMC Chemistry*, 12(1), 63.
- Reddy, C. S. K., Ghai, R., Kalia, V. C. (2003). Polyhydroxyalkanoates: an overview. *Bioresource Technology*, 87(2), 137–146.
- Rice, M. E., Zou, Y., Millar, J. G., & Hanks, L. M. (2020). Complex blends of synthetic pheromones are effective multi-species attractants for longhorned beetles (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Economic Entomology*, 113(5), 2269–2275.
- Rietveld, H. M. (1969). *Journal of Applied Crystallography*, 2, 65–71.
- Ritger, P., & Peppas, N. (1987). A simple equation for description of solute release. *Journal of Controlled Release*, 5, 23–36.

- Saadat, M., Sadeghi, M., & Heidari, B. (2015). Investigation of plasticizer effect on release kinetics of a drug from biodegradable polymer matrix. *Polymer Bulletin*, 72(11), 2869–2885. <https://doi.org/10.1007/s00289-015-1426-z>
- Sudesh, K., Abe, H., Doi, Y. (2000). Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. *Progress in Polymer Science*, 25(10), 1503–1555.
- Tojo, K. (1985). Intrinsic release rate from matrix-type drug delivery systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 74, 685–687.
- Uruguay (1987). Ley N° 15.939. Normativa y avisos legales del Uruguay. <https://www.impo.com.uy/bases/leyes/15939-1987>
- Witzgall, P. (2010). Sex pheromones and their impact on pest management. *Journal of Chemical Ecology*, 36(1), 80–100.
- Wood, S. L. (1992). A catalog of Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera). part 2: taxonomic index. *Great Basin Nat. Mem.*, 13, 1-1553.
- Zhou, Q. T., Gengenbach, T., Denman, J. A., Yu, A. B., & Chan, H. K. (2009). The impact of intermolecular interactions on the physical stability of lipid matrices. *International Journal of Pharmaceutics*, 379(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.05.038>