

Universidad Nacional del Nordeste

Facultad de Ciencias Agrarias



Trabajo Final de Graduación

Modalidad Pasantía

Tema: “Determinación de la susceptibilidad de distintas poblaciones de *Aphis gossypii* (Glover.) al insecticida neonicotenoide acetamiprid”

Tesista/Alumna: Vanesa Yamila Gonzalez

Director: Ing. Agr. (Dr.) José Ramón TARRAGÓ

2021

Agradecimientos

En primer lugar, a la Facultad de Ciencias Agrarias – UNNE por haberme permitido formarme como profesional y poder participar de espacios académicos formativos.

A mi director de tesina, Ing. Agr. (Dr.) José Ramón Tarragó, y a la Ing. Agr. Casuso Macarena, por darme un espacio donde pude desarrollar mi pasantía, su incondicional apoyo y tiempo dedicado, por transmitir sus conocimientos, y por la predisposición demostrada ante cada inquietud planteada.

Por último, y muy especialmente, a mi familia, por el apoyo, sacrificio y acompañamiento realizado durante todos estos años.

Determinación de la susceptibilidad de distintas poblaciones de *Aphis gossypii* (Glover.) al insecticida neonicotenoide acetamiprid.

Introducción

El pulgón del algodón *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) es una plaga polífaga con distribución mundial que daña una variedad de cultivos como: Cucurbitaceae, Malvaceae, Solanaceae y Rutaceae causando daños directos e indirectos al succionar una planta y transmitir virus en el hospedador. Para el control de esta plaga se utilizan diferentes estrategias, aunque aún el manejo de *A. gossypii*, se basa en la aplicación de varios insecticidas del grupo de los neonicotenoides.

La nicotina es un alcaloide que se encuentra en el tabaco y ha sido usado como insecticida desde mediados del siglo XVIII. La estructura química de la nicotina y los insecticidas neonicotenoides es semejante y su mecanismo de acción es el mismo, aunque en los neonicotenoides, las características insecticidas están mejoradas, con menor toxicidad para mamíferos, y bajo tiempo de carencia. Son compuestos que por tener estructura similar a la acetil colina (ACh) compiten con ella por los receptores en la membrana post-sináptica.

Existen tres generaciones de insecticidas neonicoteniodes: La primera generación se inició en 1990 y comienza con la introducción del Imidacloprid, acetamiprid y tiacloprid los cuales poseen Cl o S en la molécula. La segunda generación es la de los compuestos tianicotilínicos incluyendo al tiametoxán y clotianidín y poseen CL en la molécula. La tercera generación es la de los compuestos furanonicotilínicos incluye al dinotefurán y al sulfoxaflor. Estos insecticidas neonicotenoides se han aplicado en todo el mundo para controlar las plagas de insectos chupadores de savia debido a sus excelentes acciones sistémicas, que posibilitan su movimiento a través de los tejidos vegetales, y, por lo tanto, controlaron eficazmente muchas plagas de insectos.

Entre los insecticidas neonicotenoides, el acetamiprid, el imidacloprid y en la actualidad el sulfoxaflor se utilizan ampliamente como principio activo principal para controlar *A. gossypii* en el cultivo del algodón y por lo cual es probable que se desarrollen poblaciones resistentes lo cual dificultará el control de esta importante plaga.

La aparición de plagas resistentes a los insecticidas se considera un factor importante que contribuye al fracaso del control de base química y por lo cual su conocimiento ayudará a planificar un manejo adecuado con rotación de distintos principios activos y así evitar aplicar productos que no son efectivos y retrasar la aparición de plagas resistentes.

Objetivo

Adquirir entrenamiento en la realización de ensayos dosis respuestas como métodos de evaluación de la resistencia/ susceptibilidad del pulgón del algodón (*Aphis gossypii* Glover) a insecticidas neonicoteniodes a base de acetamiprid.

Lugar de realización

La pasantía se realizó en la Estación Experimental Agropecuaria INTA Las Breñas Ruta 89 Km 227 Las Breñas Chaco Argentina.

Descripción de las tareas desarrolladas

Recolección de pulgón del algodón

La campaña 20-21 fue caracterizada por un déficit de precipitaciones durante el crecimiento vegetativo y reproductivo del algodón la cual se normaliza durante fin de floración y parte del llenado de frutos. Estas condiciones ambientales ocasionaron que la aparición del pulgón del algodón (*Aphis gossypii* Glover) aparezca al final del ciclo y puntualmente en algunos lotes del Sud Oeste de la Provincia del Chaco. La baja presencia de la plaga no permitió conseguir poblaciones de distintos lugares por lo cual se trabajó con una sola población de insectos la cual fue recolectada de un lote localizado por la ruta 6 a mitad de camino entre Las Breñas y San Bernardo.

Paralelamente y a manera de contribuir con parte de los objetivos de esta pasantía se realizó la determinación de la línea base para distintos insecticidas del grupo de los neonicotinoides en poblaciones del pulgón amarillo de la caña de azúcar, plaga que se detectó afectando al cultivo del Sorgo en toda la provincia y que se detalla posteriormente en esta pasantía.

Actividades realizadas con el pulgón del algodón

- Crías de insectos en cámara

Los insectos recolectados del campo fueron criados en plantas de algodón que crecían en condiciones controladas. Las condiciones de crecimiento fueron: Radiación 400 $\mu\text{moles}/\text{cm}^2/\text{min}$, fotoperiodo de 12 hs, temperatura de 27 °C y humedad superior al 70 %.

Las plantas en el interior de la cámara fueron de la variedad DP 1238 BGRR, las cuales tenían alrededor de 5 hojas totalmente desplegadas y crecían en macetas de 7 litros de capacidad. De estas plantas se tomaron los pulgones para realizar la determinación de la línea base (Figura 1).

Los ensayos de línea base o también llamados de dosis respuesta se realizaron para el pulgón del algodón, y para el pulgón amarillo del sorgo. El protocolo utilizado fue el propuesto por el IRAC Susceptibility Test Methods Series Method No: 019. Versión: 3.4 Insecticide Resistance Action Committee. www.irac-online.org



Figura 1. Cría de pulgones: A) Plantas inoculadas con porciones de hojas con pulgones para su transferencia. B) Planta receptora donde se reproducirán los pulgones. C) Jaula con la planta en su interior. D) Vista general de la cámara donde se realizó la cría de pulgones.

Preparación de las cajas de Petri.

Se utilizaron cajas de Petri de plástico, nuevas de 70 mm de diámetro. Se perforaron las tapas de las cajas y los orificios fueron tapados con una tela de tul de trama suficientemente fina para permitir la ventilación, pero no la salida de los insectos. En la caja se agregó una capa de agar al 3% de 3 mm de espesor y luego de que el agar se solidificó se procedió a colocar las porciones de hojas según tratamiento de insecticida y colocación de insectos (Figura 2).



Figura 2. Preparación de las cajas de Petri para el ensayo. Cajas listas para recibir la porción de hoja y posterior inoculación de los insectos.

- Preparación de diluciones de insecticidas

A partir de una solución madre de Acetamiprid (70%); Imidacloprid (70%) y Sulfoxaflor (50%) de 100 ppm de formulado comercial, se prepararon las diluciones que figuran en la tabla 1.

Tabla 1. Concentración de los distintos insecticidas de los ensayos de línea de base.

Nº	Concentración en ppm		
	Sulfoxaflor	Imidacloprid	Acetamiprid
1	0,00001	0,1	0,1
2	0,048	0,192	0,192
3	0,144	0,4	0,4
4	0,432	0,576	0,576
5	1,296	1,728	1,728
6	3,888	6,66	6,66
7	34,992	15,52	15,52
8		35	35

Los discos de hojas de 50 mm de diámetro (4 por cada dilución) fueron sumergidos por un tiempo de 10 segundos de uno por vez en cada una de las diluciones realizadas. Al terminar el tiempo de inmersión los discos fueron puestos sobre un papel absorbente a fin de quitar el excedente de líquido

dejándolo al aire para que se sequen. Posteriormente se pusieron los discos individualmente (uno por caja de Petri) con la superficie abaxial hacia arriba y mojando el agar con una gota de agua para asegurar la adherencia del disco de hoja. Cada caja de Petri fue rotulada en la base indicando a la dilución que correspondía y repetición (Figura 3).

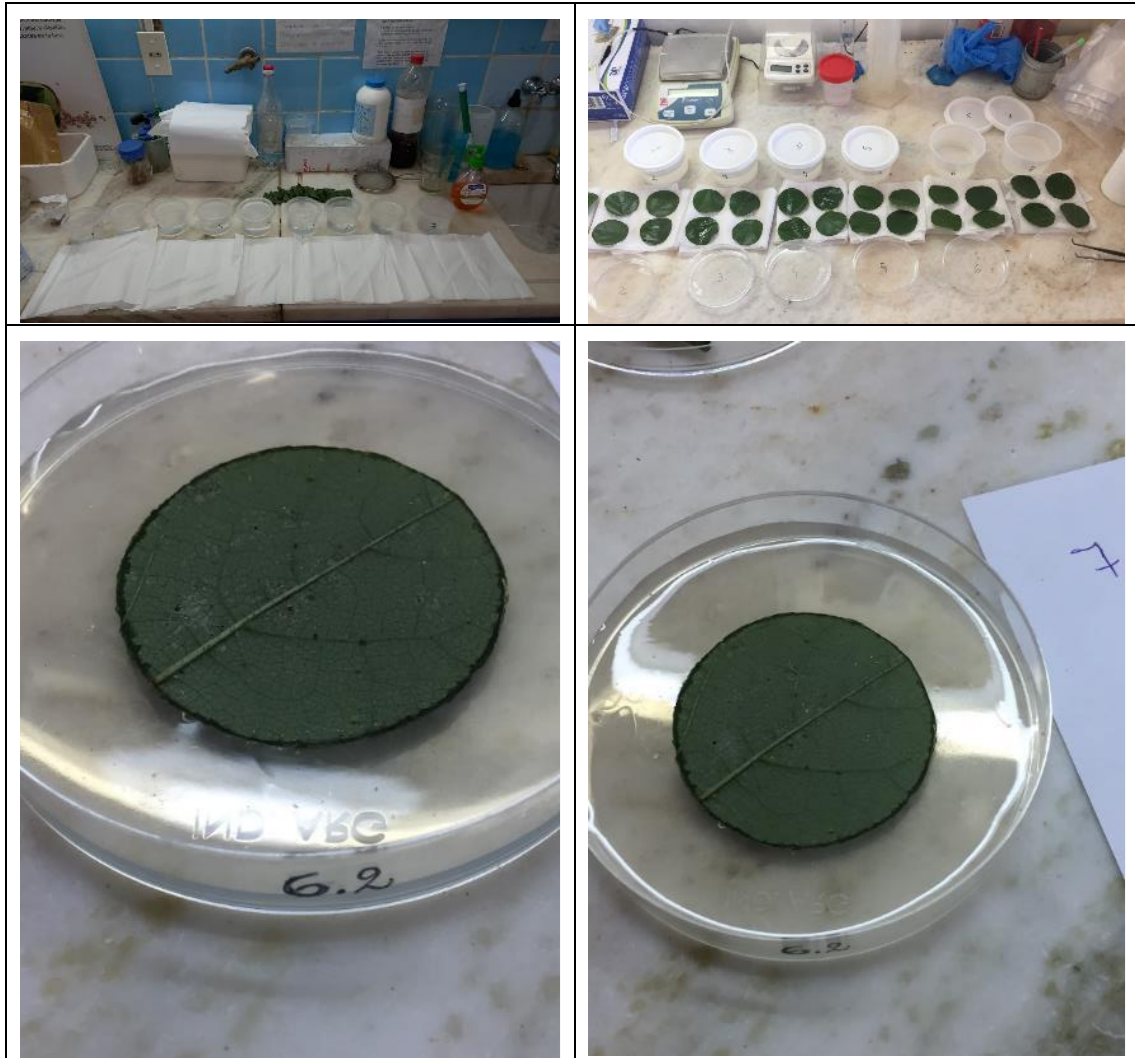


Figura 3. Preparación de las diluciones de insecticidas, tratamiento de inmersión de los discos de hoja y colocación de los discos en la cama de agar.

- Inoculación de las cajas

De la cría de pulgones, establecidas en plantas de algodón, se extrajeron porciones de hojas con 35 pulgones adultos, ápteros por porción y las mismas fueron adheridas a los discos de hojas correspondientes a cada tratamiento (Dilución) (Figura 4).

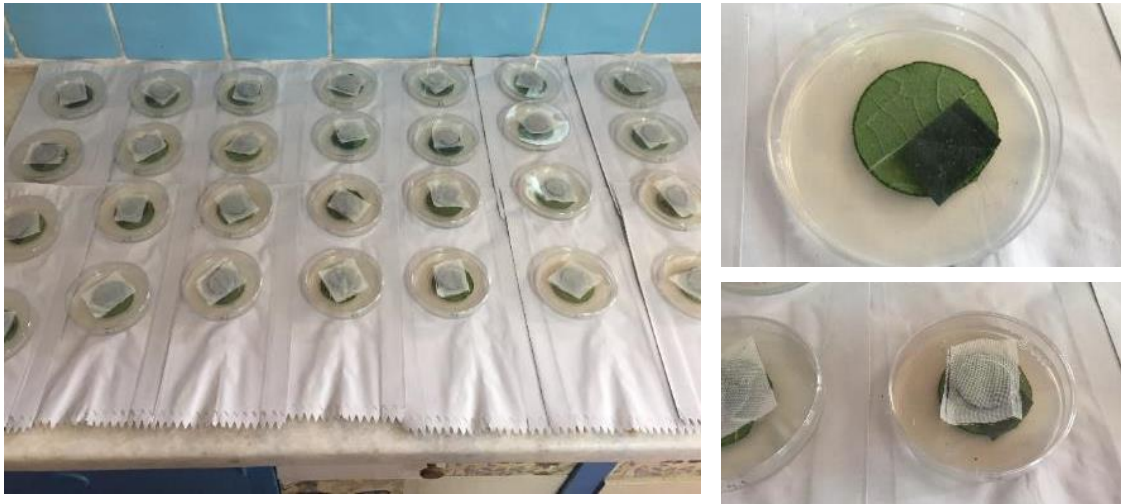


Figura 4. Vista general del ensayo y detalle de las cajas inoculadas sin y con tapa

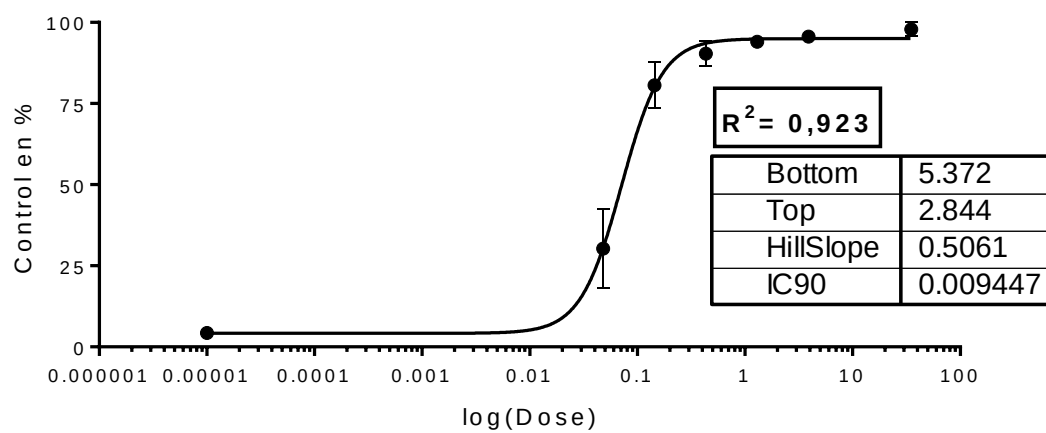
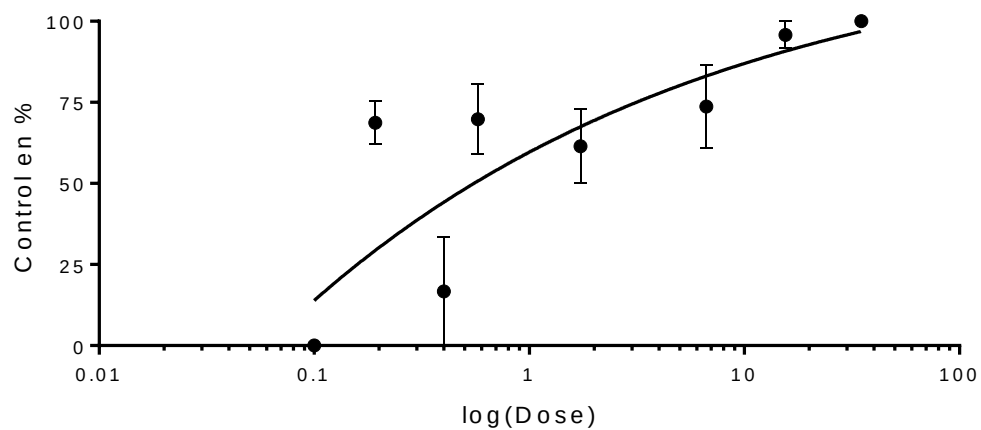
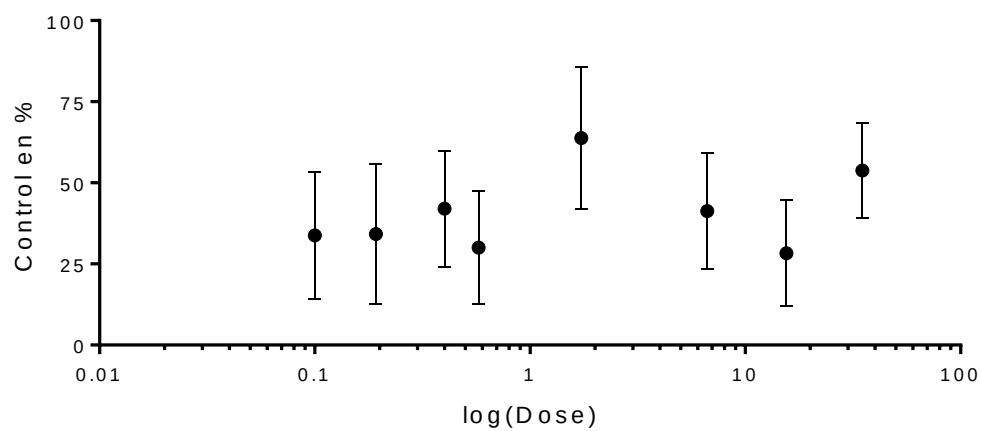
Incubación de las cajas de Petri y relevamiento de datos

Luego de la inoculación, cada caja de Petri fue tapada, con la tapa construida anteriormente, y almacenada sobre la mesada del laboratorio a temperatura ambiente y sin recibir radiación solar directa. La evaluación de la mortalidad (pulgonés vivos y muertos) se realizó a las 48 hs del inicio del experimento. Se calculó el porcentaje de control en relación al número inicial y ajustado por el número de insectos en el tratamiento control según la fórmula de Abbott (1987).

Tratamientos de los datos

Con los datos obtenidos se realizó un gráfico dosis respuesta en escala logarítmica para la determinación de la DL 90 (Dosis letal 90), la cual representa la dosis a la cual se controla el 90 % de la población. Este gráfico se realizó mediante la utilización del software GraphPad Prism Versión 7.0.

En la figura 5 se puede observar las líneas de susceptibilidad de tres insecticidas al pulgón del algodón. En dicha figura se observa que el sulfoxaflor tiene una DL90 (IC90) de 0,0094 ppm lo que representa que se necesitarían que la hoja está sumergida en la solución de 0,0094 ppm de sulfoxaflor (50%) para controlar el 90 % de la población de pulgón del algodón. Los insecticidas Acetamiprid e Imidacloprid, si bien hay un aumento del control con incremento de la dosis del insecticida, la dispersión de los valores de control no permitió construir las curvas y determinar las DL 90 (Figura 5 B, C)

A**Sulfoxaflor****B****Imidaclopid****C****Acetamiprid**

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + ((X^{\text{HillSlope}}) / (\text{IC90}^{\text{HillSlope}})))$$

Figura 5. Línea base de susceptibilidad del pulgón del algodón a tres insecticidas del grupo de los neonicotinoides.

Actividades realizadas en pulgón amarillo de la caña de azúcar (*Melanaphis sacchari* (Zehntner))

A inicio del año 2020 se presentó en la Argentina *Melanaphis sacchari* (Zehntner) afectando al cultivo del sorgo en la provincia de Formosa y luego extendiéndose rápidamente a toda el área de Argentina donde se realiza este cultivo. Actualmente se lo encuentra en rebrotes de Sorgo y también en Sorgo de Alepo. La facilidad de encontrar poblaciones de este pulgón en todo momento, permitió la realización de ensayos dosis respuesta y determinar una línea de base de susceptibilidad a los mismos insecticidas ensayados para pulgón del algodón en esta pasantía. Esta actividad permitió complementar el entrenamiento planteado en los objetivos de esta pasantía considerando la dificultad de encontrar pulgones de algodón en la campaña 2020-2021.

Curvas de dosis respuestas del Pulgón amarillo del sorgo (*Melanaphis sacchari*) a diferentes insecticidas.

Los pasos y actividades para la determinación de línea de base de susceptibilidad realizadas para el pulgón amarillo del sorgo fueron los mismos que se describieron anteriormente para el pulgón del algodón, por lo cual en esta parte se realizaron la descripción de las actividades con fotos y gráficos.

Las poblaciones de pulgón amarillo del sorgo fueron recolectadas de cultivos de sorgo presente en la EEA INTA - Las Breñas. La presencia generalizada en la región y abundancia de pulgón amarillo en sorgo de Alepo y en rebrotes de sorgo permito realizar la recolección de individuos de tamaño uniforme y en cantidades necesarias para los ensayos sin necesidad de establecer crías de este insecto simplificando esta parte del ensayo (Figura 6).



Figura 6. Plantas de sorgo de Alepo y de sorgo granífero con presencia de pulgón.

Porciones uniformes de hojas de sorgo granífero fueron tratadas con las dosis de los insecticidas según la tabla 1, inoculadas con treinta pulgones e incubadas en la mesada del laboratorio durante 48 hs. Luego del tiempo de incubación se realizó el recuento de insectos vivos y se calculó el porcentaje de control según la fórmula de Abbott (1987) (Figura 7).



Figura 7. Determinación de línea base de susceptibilidad para el pulgón amarillo del sorgo.

Los resultados de los ensayos de línea base de susceptibilidad de tres insecticidas para el pulgón amarillo del sorgo se muestra en la figura 8.

En la figura 8 A se puede observar la curva de dosis repuesta del control del pulgón amarillo a distintas dosis del insecticida sulfoxaflor. La dosis letal 90 (IC 90) para este producto es de 0,01509 ppm lo que indicaría que la inmersión de la hoja durante 10 segundos en una solución de 0,015 ppm permitirá el control del 90% de la población. Para el caso del insecticida Imidacloprid la dosis que permite la muerte del 90 % de la población es de 0,06183 (Figura 8 B). El insecticida Acetamiprid necesitaría una concentración de 1,017 ppm para realizar el control del 90 % de la población (Figura 8 C). Cabe aclarar que cada ingrediente activo presenta una dosis letal 90 diferente y propia de la molécula y forma de absorberse, llegar al sitio de acción y ejercer la acción tóxica. Lo importante de esto es conocer los cambios que se puedan dar en estos valores como consecuencia del uso de estos insecticidas y adaptación de las poblaciones.

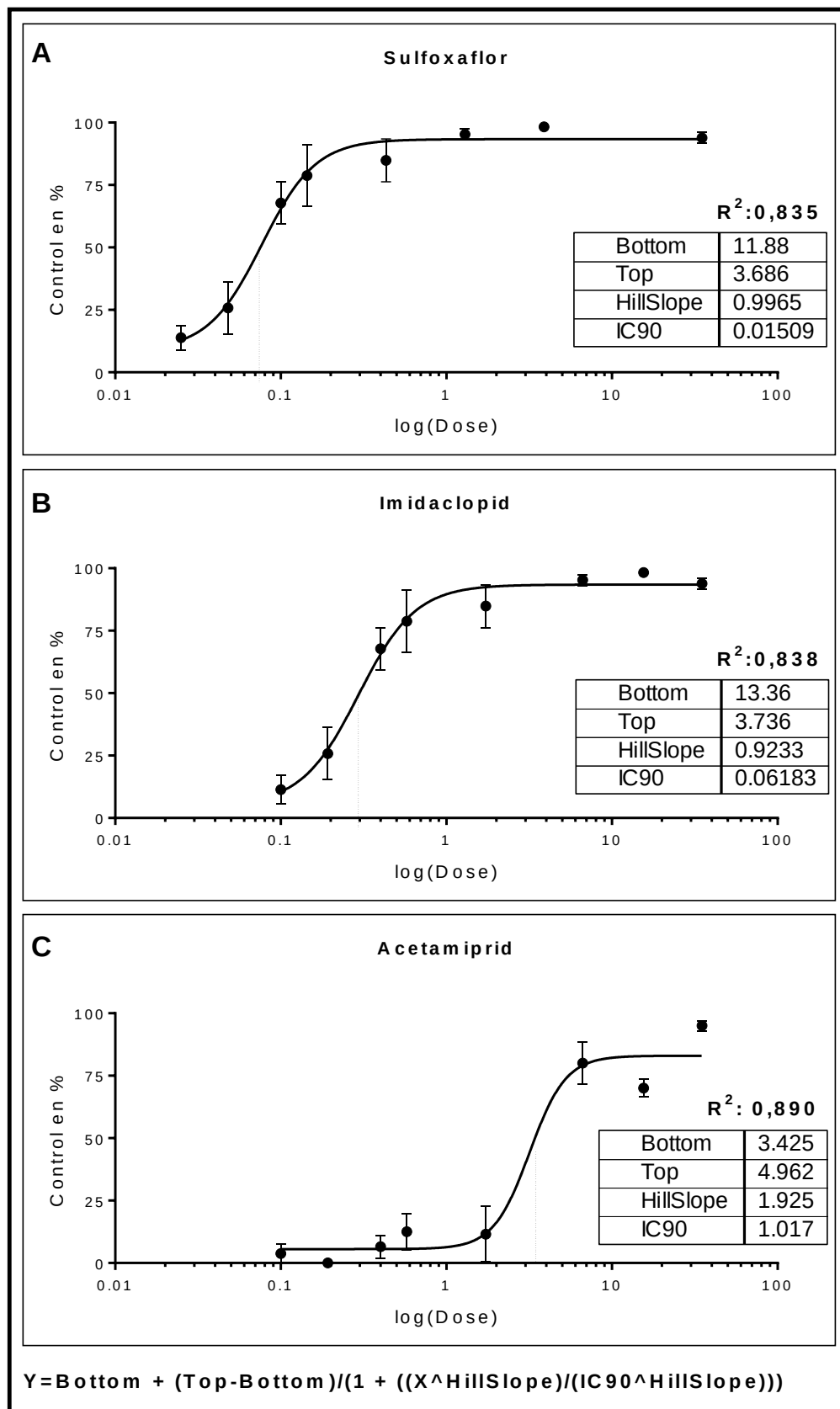


Figura 8. Curvas dosis respuesta del pulgón amarillo para tres insecticidas sistémicos. A) Sulfoxaflor; B) Imidaclopid y C) Acetamiprid. En la gráfica se puede apreciar la DL 90 como IC 90 para los tres insecticidas ensayados.

Comentarios finales

Dada la dificultad de encontrar distintas poblaciones de pulgón de algodón durante la campaña 2020-2021 no se pudo realizar la evaluación de posibles cambios en la susceptibilidad del pulgón del algodón al insecticida Acetamiprid.

Se pudo realizar el entrenamiento de la cría del pulgón del algodón y la construcción de ensayos de dosis respuestas con dos pulgones (pulgón del algodón y amarillo de la caña de azúcar) y tres insecticidas de los más importantes para el control de estas plagas.

Dado la reciente introducción del pulgón amarillo de la caña de azúcar afectando al cultivo del sorgo en la región, la construcción de las líneas de base de estos insecticidas nos permitirá evaluar posibles cambios de la susceptibilidad en la población y así evaluar la posibilidad de la aparición de resistencia en estos insectos.

Referencias bibliográficas consultadas

Abbott's Formula. 2004. In: Encyclopedia of Entomology. Springer, Dordrecht.
https://doi.org/10.1007/0-306-48380-7_4

IRAC Susceptibility Test Methods Series *Method No: 019. Version: 3.4* Insecticide Resistance Action Committee. www.irac-online.org

[Guía de Fitosanitarios \(casafe.org\)](http://casafe.org)

Arregui, Ma. Cristina y Puricelli Eduardo. 2018. Mecanismos de acción de Plaguicidas. 4º Edición 264 p. ISBN 978-987-702-017-5

Opinión del asesor

La alumna Vanesa Gonzalez ha trabajado activamente en la realización de esta pasantía realizando las actividades descritas en el presente informe y también ayudando en otras actividades realizadas en el área de entomología y ecofisiología de la E.E.A INTA Las Breñas, destacando su gran compromiso y dedicación en lo referente a las actividades desarrolladas. La dificultad de encontrar población de pulgones del algodón en la campaña 2020-2021 la impulsó a trabajar con el pulgón amarillo de la caña de azúcar, plaga que se la encontró afectando el cultivo del sorgo en la región lo cual requirió que la alumna recorriera distintos lotes, recolectando material y poniendo a punto la técnica de evaluación lo cual realizó con total éxito.

Cabe destacar lo novedoso del trabajo realizado por la alumna Vanesa Gonzales con el pulgón amarillo de la caña de azúcar aportando información de base para esta nueva plaga en la región información la cual nos servirá para delinear estrategias de manejo del pulgón amarillo en el cultivo de sorgo y estar alertas ante la posible aparición de resistencia.

Entre las capacidades demostradas por la alumna Vanesa Gonzalez, es importante destacar su habilidad de enfrentar y resolver situaciones complejas y su buena integración en el grupo de trabajo conformado tanto por profesionales como por auxiliares.

En conclusión, la alumna Vanesa Gonzalez ha realizado un excelente trabajo final de graduación, a través del cual ha adquirido experiencia profesional en la determinación las líneas base de susceptibilidad del pulgón del algodón y de la caña de azúcar, a tres importantes principios activos (insecticidas) del grupo de los neonicotinoides.