

Supervivencia de operarias de *Acromyrmex lundii* (Guérin) y *A. striatus* (Roger) (Hymenoptera: Formicidae) aisladas de hormigueros y alimentadas con dieta artificial.

Survival of worker ants in *Acromyrmex lundii* (Guerin) and *A. striatus* (Roger) species (Hymenoptera: Formicidae), under isolated laboratory conditions and nourished with artificial diets.

Pelicano, Alicia¹, Caffarini¹, Patricia¹ y Carrizo, Paola²

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar dietas artificiales para operarias medianas aisladas de hormigueros de campo como una técnica tendiente a mejorar la supervivencia de hormigas para la realización de bioensayos en laboratorio. Los ensayos fueron realizados utilizando cajas de Petri, en condiciones controladas ($24 \pm 2^\circ\text{C}$, 70% HR y 12 hs. de fotoperíodo). Los tratamientos fueron 6 con 10 repeticiones y cada una con 6 individuos: **T1**: agua, **T2** y **3**: dieta líquida (cambio cada 24 y 48 hs), **T4**: dieta sólida (cambio cada 48 hs) y **T5** y **6**: dieta sólida más agua (cambio cada 24 y 48 hs) y testigo. Las curvas de supervivencia se ajustaron a la distribución de Weibull, y se hallaron los parámetros **b** (longevidad media) y **alfa** (tasa de mortalidad), que se contrastaron mediante la prueba de Chi cuadrado ($\alpha=0,05$). La longevidad máxima promedio se comparó mediante ANOVA y Tukey ($\alpha=0,05$). La longevidad media y la tasa de mortalidad no fueron significativamente diferentes entre las dietas, para ambas hormigas. En cuanto a la longevidad máxima, resultaron mejores para *A. striatus*: T2, T4 y T6; para *A. lundii*, todas las dietas fueron iguales. Dichos tratamientos resultaron más apropiados para *A. striatus* que para *A. lundii*; ya que la longevidad media para la primera especie estuvo entre los 17 y 35 días, mientras que para la segunda estuvo entre los 11 y 16 días.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate worker ants performance on several artificial diets, in order to improve its survival for laboratory bioassays, mainly focused on chemicals tests, with not knockdown effect. The trials were carried out in Petri boxes, and laboratory conditions were: $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 70% HR and 12:12 (light:darkness) with ten replicates - six individuals each one -, and observations were daily. Treatments were: **T1**: just water, **T2**: liquid diet, 24 hours replaced; **3**: liquid diet, 48 hs replaced; **T4**: solid diet, 48 hs replaced; **T5**: diet solid+water, 24 hours replaced; and **T6**: solid diet+water, 48 hs replaced. Witness was **T7**: just ants. Survivorship curves were fit to Weibull function, in order to find parameters **b** (mean longevity) and **alpha** (death rate). They were contrasted by means of Chi test ($\alpha=0.05$). Their highest longevity values were compared by means of ANOVA and Tukey tests ($\alpha=0.05$). The b and alpha parameters were not meaningful different among diets (T2 to T6), for both ants species. About maximum longevity, it was longer for *A. striatus* in T2, T4 and T6. On the other hand, all diets were the same for *A. lundii*. It is aware that b parameter for the *A. striatus* was 17 for the worst diet, and 35 for the best one, and they were 11 and 16 days for *A. lundii*. These all diets seemed more appropriate for *A. striatus* than for *A. lundii*, because of general response of both ants species. For the last one, all individuals dead at second day when had not water or food at all (T7)

¹ Ings.Agrs. Facultad de Agronomía-Universidad Nacional de Buenos Aires. Av. San Martín 4453 (1417). Argentina.

² Ing.Agr. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales-Universidad Nacional de La Plata-Calle 60 y 119 (1900) Argentina.

INTRODUCCIÓN

Entre las 8.000 especies conocidas de hormigas se encuentran las podadoras de los géneros *Atta* y *Acromyrmex* que poseen el hábito de cortar y transportar fragmentos de diversos vegetales a sus nidos subterráneos. Este hábito las torna peligrosas plagas de la agricultura, y ha generado la búsqueda de alternativas de control.

Los estudios sobre biología, ecología, etología y control de especies de hormigas son realizados a campo o en hormigueros en laboratorio abastecidos con material vegetal fresco. Para ello se utilizan sistemas de cría de diferentes tipos pero en todos los casos las condiciones ambientales deben estar perfectamente controladas (Della Lucia, T. 1993).

La realización de bioensayos con insectos en condiciones artificiales exige una alimentación alternativa, que los mantenga vivos durante período de tiempo suficientemente largo para completar las observaciones necesarias. Entre los intentos para generar una dieta alternativa adecuada, pueden citarse los de Howard *et al.* (1988), sobre operarias de *Atta cephalotes* (L.), y Bueno *et al.* (1997) para operarias adultas de *Atta sexdens rubropilosa* Forel aisladas de hormigueros artificiales.

El objetivo de este trabajo fue evaluar dietas artificiales para *Acromyrmex lundii* y *A. striatus* como una técnica que posibilite la supervivencia de hormigas durante la realización de bioensayos en ambientes controlados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente estudio se utilizaron obreras de *Acromyrmex lundii* (Guérin) *Acromyrmex striatus* (Roger) aisladas de hormigueros de campo, y posteriormente estabilizadas en el laboratorio.

Los ensayos se realizaron en condiciones de laboratorio a $24 \pm 2^\circ\text{C}$; 70% HR y 12 h de fotoperíodo. La unidad de recuento fue una caja de Petri con 6 individuos, con diez repeticiones, y el recambio de dieta fue realizado cada 24 ó 48 h. La composición de las dietas fue la siguiente:

dieta líquida: 5% de glucosa, 0,1 % de extracto de levadura (Difco) y 1% de peptona bacteriológica disuelta en 100 ml. de agua destilada

dieta sólida: dieta líquida, más 1,5% de agar bacteriológico (Difco).

Estas se combinaron para obtener los tratamientos: **T1** (agua-24 hs.); **T2** (líquida-24 hs.); **T3** (líquida-48

hs.); **T4** (sólida-24 hs.); **T5** (sólida+agua 24 hs.); **T6** (sólida+agua 48 hs.), y el **T7:** control, sin ningún aditivo.

Las curvas de supervivencia se ajustaron a la distribución de Weibull y se hallaron los parámetros **b** (longevidad media) y **alfa** (tasa de mortalidad) (Sgrillo, 1982). Los parámetros obtenidos para cada tratamiento se compararon mediante la prueba Chi cuadrado ($\alpha=0,05$) (Bueno *et al.*, 1997) y la longevidad máxima se comparó mediante ANOVA y Tukey ($\alpha=0,05$) (Sokal y Rohlf, 1969).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las figuras N° 1 Y 2, se detallan los resultados de supervivencia en las distintas dietas, para *Acromyrmex lundii* y *A. striatus*, respectivamente.

En el caso de *A.lundii* hay una alta mortalidad inicial para todos los tratamientos, mientras que para *A.striatus* este comportamiento se verifica solamente para los tratamientos control y agua. Asimismo, para esta segunda especie, la pendiente general de todos los tratamientos parece menos pronunciada. Estas observaciones indicarían de modo preliminar diferencias en la respuesta a las dietas para cada especie, y aún entre especies.

Estas diferencias se confirmaron a partir del ajuste de las curvas de supervivencia a la función de Weibull (Sgrillo, 1982). Los parámetros de la función ajustada fueron posteriormente utilizados para la comparación estadística; el parámetro **a** (alpha) de la función de Weibull representa la tasa de mortalidad para cada curva ajustada, mientras que **b** representa la longevidad media. Los resultados de estos parámetros, para cada especie y tratamiento fueron volcados en las tablas N° 1 y 2, para *A. lundii* y *A. striatus* respectivamente.

A. lundii - en el tratamiento control - presentó una mortalidad total en el primer día de observación, por lo que no fue posible ajustar los parámetros de la curva. La diferencia de la tasa de mortalidad (alfa) entre los tratamientos - T1 al T6 - no fue significativa. La longevidad media (b) resultó significativamente diferente debido al agua, pero no entre dietas.

En el caso de *A. striatus*, los individuos del tratamiento control sobrevivieron hasta 5 días como máximo. La diferencia en la tasa de mortalidad (alfa) resultó significativa solamente cuando para la prueba se tuvo en cuenta el control. La longevidad media (b) resultó significativamente diferente al tomar en cuenta el control, el agua y el tratamiento LIQ 48, no presentando diferencias entre el resto de los tratamientos.

En las figuras N° 3 y 4 se representaron los resultados de la comparación estadística mediante ANOVA y

Tukey, para la supervivencia máxima obtenida para las dietas (gráfico de barras).

Los resultados de esta prueba muestran coincidencias con los observados para el caso del parámetro b de la curva ajustada; para *A. lundii*, los resultados son los mismos, ya que la única diferencia en la respuesta es para el T1: agua. Para *A. striatus*, sólo hay una diferencia en el agrupamiento de LIQ 48 y SOL+A 24.

Con referencia a la respuesta general de las especies, las dietas ensayadas parecieron más adecuadas para el caso *A. striatus*. *A. lundii* mostró una mayor sensibilidad a las condiciones de laboratorio, por lo cual sería conveniente probar otras posibilidades para su alimentación.

A partir de las curvas de supervivencia obtenidas para *A. striatus*, todas las dietas - excepto LIQ48 - parecen igualmente apropiadas para los ensayos de laboratorio. Por otra parte, puede añadirse que entre las dietas que obtuvieron una respuesta similar, probablemente en la elección de la utilizada influyen otras características, como facilidad de preparación, tiempo necesario de manipuleo durante el recambio, y menor contaminación. De este modo, los resultados

obtenidos coinciden con los observados por Bueno *et al.*, (1997) para *A. sexdens rubropilosa*, en cuanto a que si tuvieran igualdad de cualidades nutricionales (según los resultados de las pruebas presentadas), la dieta más conveniente sería SOL 48.

En cuanto a los parámetros utilizados para la comparación de las dietas, b parece el más conveniente para pruebas múltiples, ya que presenta como ventaja una mayor sensibilidad para detectar las diferencias en la respuesta, como asimismo una menor duración necesaria para correr el ensayo, ya que la longevidad máxima no significó una ganancia en cuanto a las posibilidades de detección.

Estas pruebas permitieron obtener una estimación de la duración máxima conveniente para los ensayos en los cuales esta dieta fuera empleada. Para *A. striatus* podría ubicarse alrededor de los 25 días, a fin de reducir las perturbaciones producidas por las condiciones del ensayo, sobre la respuesta de estos insectos a la prueba específica. Si alguna de las dietas ensayadas fuera adoptada para *A. lundii*, el período para la prueba no podría superar los 15 días como máximo, lo que limitaría su utilización a ensayos de corta duración.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente estudio se utilizaron colonias de *A. striatus* y *A. lundii* mantenidas en condiciones de laboratorio en recipientes de plástico y papel.

Las pruebas se realizaron en recipientes de plástico de 25 x 25 x 7 cm HR-125 de laboratorio. La medida de alimento fue un cubo de 1 cm con 10 miligramos con diez repeticiones y se recomendaron para los ensayos cada 24 ó 48 h. La composición de las dietas fue la siguiente:

Dieta líquida: 2% de glucosa, 0.1% de caseína de leche (Lactogen) y 1% de proteína hidrolizada (Nutrilac) en agua destilada.

Dieta sólida: 10% de proteína hidrolizada (Nutrilac) y 10% de azúcar.

Para el mantenimiento y alimentación de los insectos se utilizaron recipientes de plástico de 25 x 25 x 7 cm.

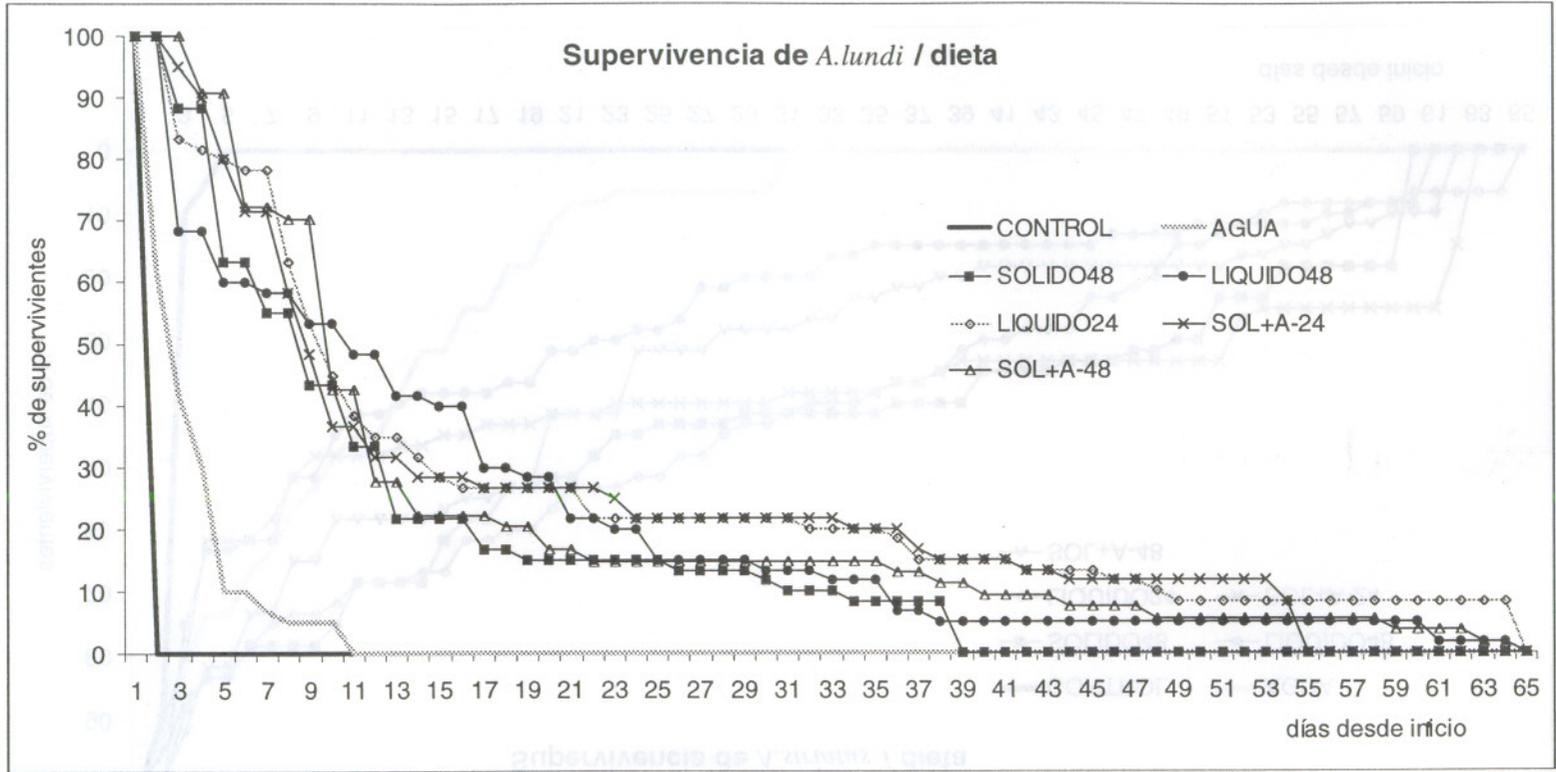


Figura N° 1: Curvas de supervivencia de *A.lundi*.

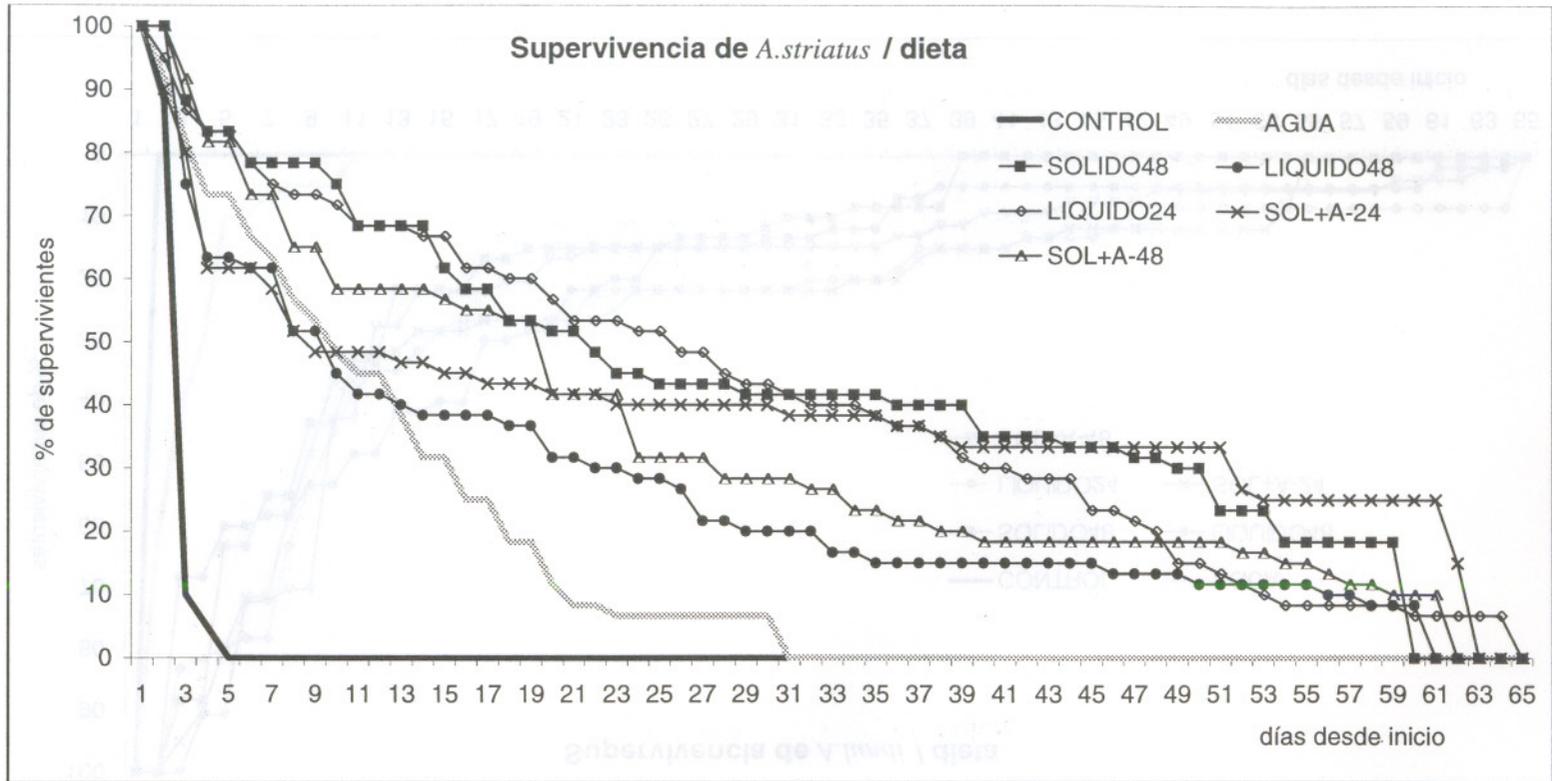


Figura N° 2: Curvas de supervivencia de *A. striatus*.

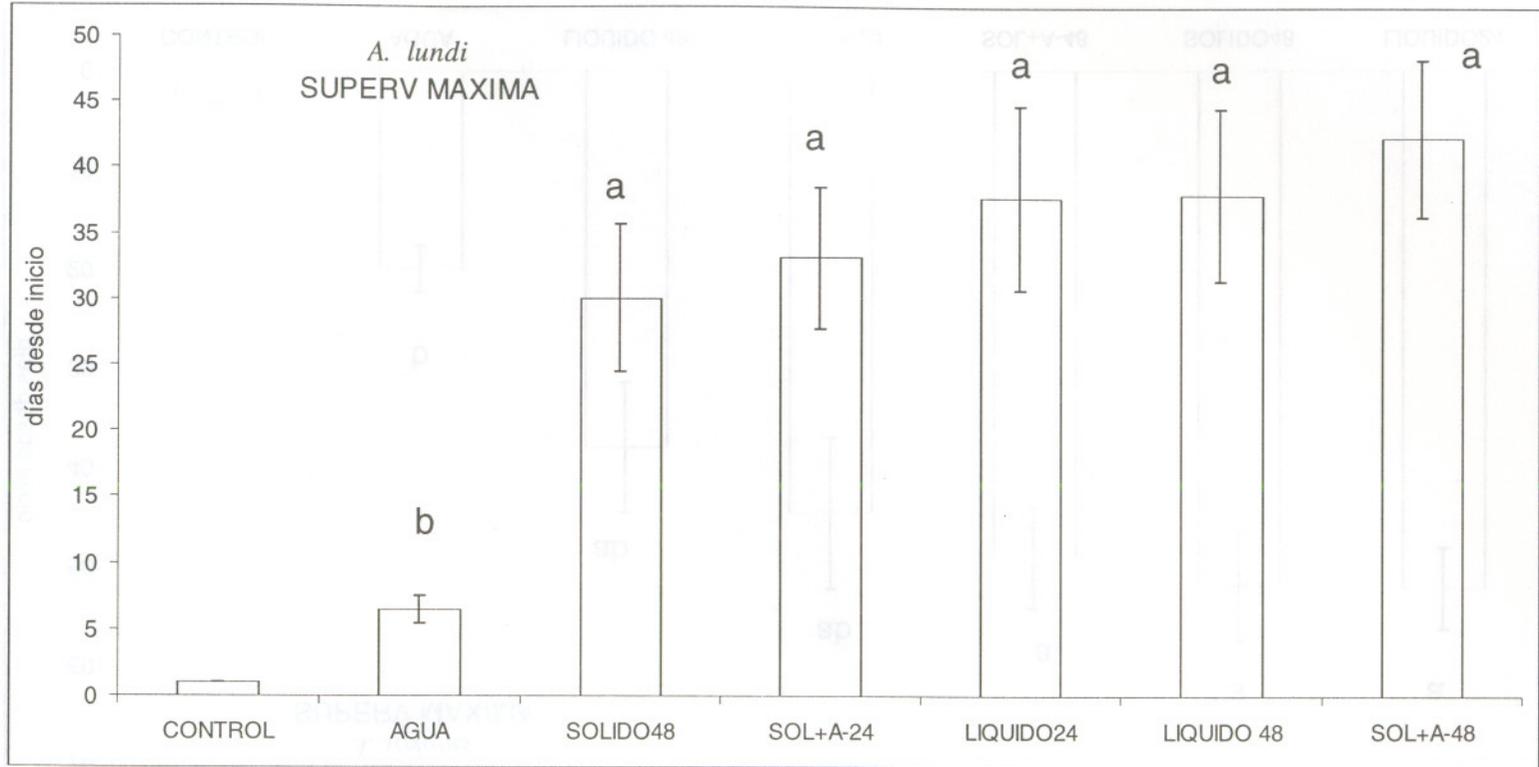


Figura N° 3: Resultado de las pruebas estadísticas para supervivencia máxima de *A. lundii*.

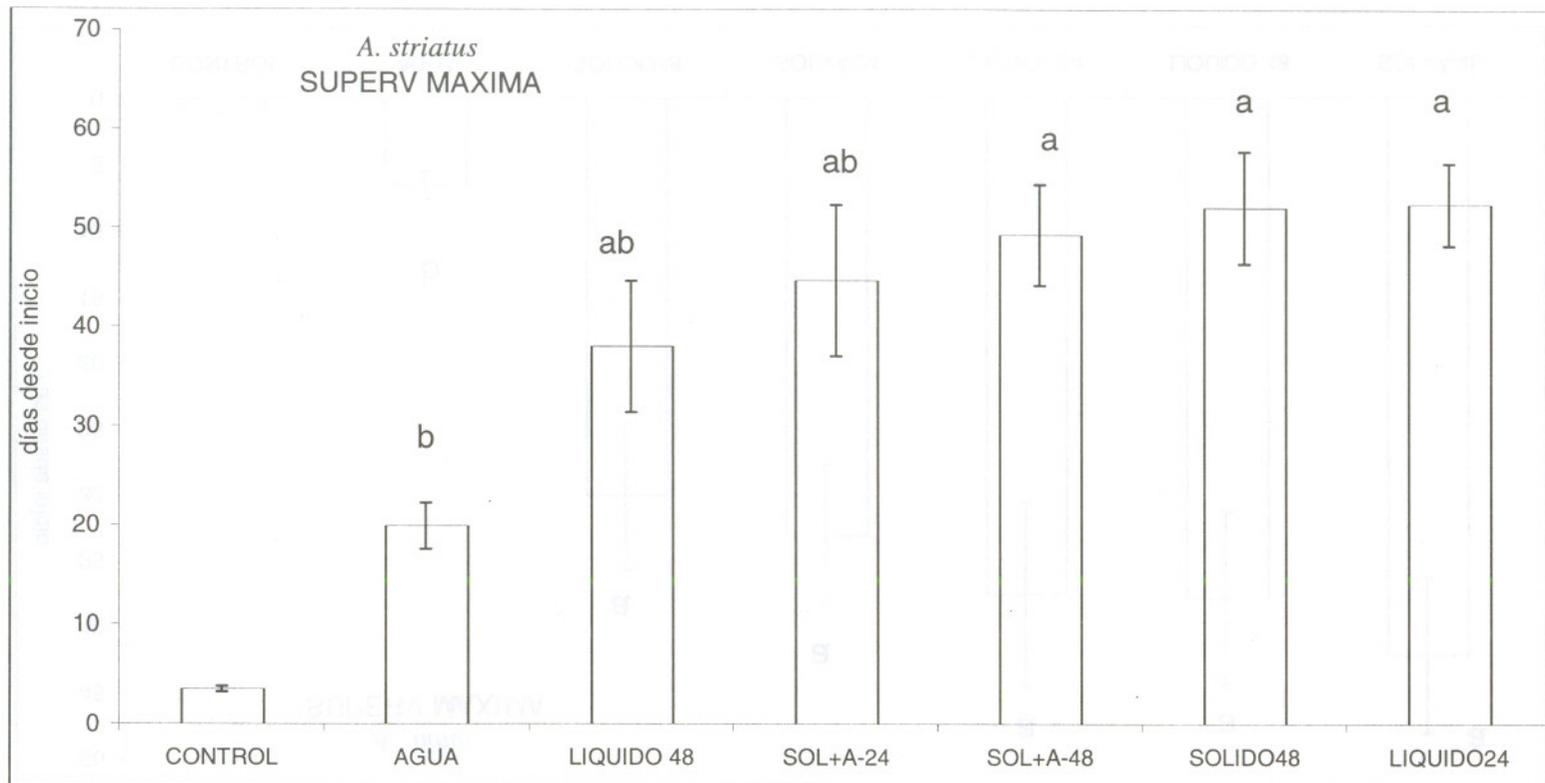


Figura N° 4: Resultado de las pruebas estadísticas para supervivencia máxima de *A. striatus*.

Tabla Nº 1

Parámetros ajustados para la función de Weibull para *A. lundi*.

TRATAM	Alfa	5gl	4gl		B	5gl	4gl
CONTROL	-	-	-		-		
AGUA	1,715	X-		AGUA	3,402	X	-
SOLYA48	1,133	X	X	SOL48	11,783	X	X
SOL48	1,101	X	X	SOLYA48	14,309	X	X
LIQ48	0,939	X	X	LIQ48	14,540	X	X
LIQ24	0,846	X	X	SOLYA24	15,987	X	X
SOLYA24	0,839	X	X	LIQ24	16,325	X	X
Ji cuad		0,49	0,08			11,95	1,71
RESULTADO		NOS	NOS			S	NOS

Ji cuad, $\alpha = 0,05$: 5gl: 11,1 / 4gl: 9,49 / 3gl:7,81

Tabla Nº 2

Parámetros ajustados para la función de Weibull para *A. striatus*.

TRATAM	Alfa	6gl	5gl	4gl		b	6gl	5gl	4g	3gl
CONTROL	7,204	X	-	-	CONTROL	2,672	X	-	-	-
AGUA	1,326	X	X	-	AGUA	12,484	X	X	-	-
LIQ24	1,146	X	X	X	LIQ48	16,590	X	X	X	-
SOLYA48	0,930	X	X	X	SOLYA48	24,540	X	X	X	X
SOL48	0,886	X	X	X	SOLYA24	29,950	X	X	X	X
LIQ48	0,729	X	X	X	LIQ24	31,720	X	X	X	X
SOLYA24	0,476	X	X	X	SOL48	35,429	X	X	X	X
Ji cuad		18,94	0,49	0,29			59,75	29,46	14,60	4,58
RESULTADO		S	NOS	NOS			S	S	S	NOS

Ji cuad, $\alpha = 0,05$: 6gl: 12,6 / 5gl: 11,1 / 4gl: 9,49 / 3gl:7,81

LITERATURA CITADA

- BUENO, O., MORINI, M.S.C., PAGNOCCA, F., HEBLING M. & O. SILVA. 1997. Sobrevivencia de operarias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) isoladas do formiguero e alimentadas con dietas artificiais. An. Soc. Entomol. Brasil 26(1):107-113.
- CHERRETT, J.M., 1970. Possible reasons for the mutualism between leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) and their fungus. Biol. Ecol. Mediter. 7:113-122.
- DELLA LUCIA, T. (1993). As formigas cortadeiras. Ed. T.M.C.Della Lucia. Viosa. Brasil. 262p.
- HOWARD, J.J., T.P. GREEN & D.F. WIEMER. 1988. Comparative deterrence of two terpenoids to two genera of attine ants. J. Chem. Ecol. 15:2279-2288.
- LITTLEDYKE, M. & J. CHERRETT. 1976. Direct ingestion of plant sap from cut leaves by the cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera:Formicidae). Bull. Entomol. Res. 66:205-217.
- SGRILLO, R.B. 1983. A distribuição de Weibull como modelo de sobrevivencia de insetos. Ecosistema 7: 9-13.
- SOKAL, R.R.; F.J. ROHLF. 1969. Biometry. W.H. Freeman and Company. San Francisco. 776 p.