


TOXICIDAD DE LA AZADIRACTINA SOBRE OBRERAS FORRAJERAS Y MINICOLONIAS DE *Atta mexicana* (SMITH) EN LABORATORIO

Nadia Luz García-Olivos, Alejandro Rojas-Acosta, Ivonne Landero-Torres, R. Carlos Llarena-Hernández, Joaquín Murguía-González, Miguel Ángel García-Martínez 

Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Región Orizaba-Córdoba, Universidad Veracruzana, Josefa Ortiz de Domínguez S/N Col. Centro, Peñuela, Amatlán de los Reyes, C. P. 94945, Veracruz. México.

 Autor de correspondencia: miguelgarcia05@uv.mx

RESUMEN. Las hormigas arrieras del género *Atta* son consideradas como plagas debido a sus hábitos defoliadores, causando enormes pérdidas económicas en diversos cultivos; una estrategia para el manejo integral de esta plaga es el uso de productos bioinsecticidas que son tóxicos para las hormigas obreras forrajeras. En este estudio se evaluó el efecto tóxico de tres concentraciones de azadiractina sobre obreras forrajeras y minicolonias de *Atta mexicana* en condiciones de laboratorio. Se determinaron y evaluaron las concentraciones letales de azadiractina para eliminar el 10, 50 y 90 % de la población experimental de hormigas de la casta obrera subcasta forrajera y en minicolonias. La aplicación directa de azadiractina sobre minicolonias de *A. mexicana* reduce significativamente la actividad de forrajeo. Las minicolonias expuestas a la CL_{10} disminuyeron su actividad un 37 %, las expuestas a la CL_{50} disminuyeron un 70 % y las expuestas a la CL_{90} un 87 %. Estos hallazgos experimentales podrían estimular la aplicación de azadiractina en campo y asegurar un control químico efectivo y de baja residualidad, de las hormigas cortadoras que atacan los cultivos hortícolas de México.

Palabras clave: *Atta mexicana*, hormigas arrieras, toxicidad, azadiractina.

Azadiractin toxicity on leaf-cutting ants and *Atta-mexicana* mini-colonies (Smith) in laboratory

ABSTRACT. The leaf cutting ants (genus *Atta*) are considered as pests due to their defoliation habits, causing enormous economic losses in various crops; A strategy for the comprehensive management of this pest is insecticides and the use of bioinsecticidal products that are toxic to forage worker ants. In this study, the toxic effect of three concentrations of azadirachtin on leaf cutting ants and mini-colonies of *Atta mexicana* was evaluated under laboratory conditions. Lethal concentrations of azadirachtin were determined and evaluated to eliminate 10, 50 and 90 % of the experimental population on ants of the working class forage subcaste and minicolonies. The direct application of azadirachtin on minicolonies of *A. mexicana* significantly reduces the activity foraging. The minicolonies exposed to CL_{10} decreased their activity by 37 %, those exposed to CL_{50} decreased by 70 % and those exposed to CL_{90} by 87 %. These experimental findings could stimulate the application of azadirachtin in the field and ensure effective chemical control and low residuality of cutter ants that attack horticultural crops in Mexico.

Keywords: *Atta mexicana*, Leaf cutting ants, azadiractin toxicity.

INTRODUCCIÓN

Las hormigas arrieras del género *Atta* también conocidas como cortadoras de hojas o defoladoras, son un grupo de insectos perteneciente al Orden Hymenoptera, Familia Formicidae y Tribu Attini (Ward *et al.*, 2015). Estas hormigas cultivan dentro de sus nidos un hongo con el que alimentan a sus larvas. Para cultivarlo utilizan fragmentos de hojas, flores y frutos que cortan de las plantas cercanas. Debido a sus hábitos de forrajeo, son consideradas como plaga de muchos cultivos, principalmente de árboles frutales y hortalizas en México y en otros países de Sudamérica. Cuando no son controladas ocasionan pérdidas significativas en el rendimiento de los cultivos (Della-Lucia *et al.*, 2014).

Las hormigas arrieras se han intentado controlar comúnmente con insecticidas químicos de amplio espectro, altamente tóxicos y de baja especificidad, otros métodos menos comunes para controlar

estas hormigas incluyen la excavación y eliminación del nido. Entre los métodos de control biológico utilizados contra estas hormigas se encuentran los hongos entomopatógenos, micopatógenos y extractos vegetales (Della Lucia *et al.*, 2014).

Los insecticidas biológicos son una alternativa para el control de las hormigas arrieras porque son considerados racionales, sustentables y amigables con el ambiente. Estos no provocan daños en la salud humana ni en organismos benéficos o enemigos naturales de las plagas, debido a su alta especificidad y baja residualidad (Serratos *et al.*, 2017). Los bioinsecticidas formulados a base de extractos vegetales representan una estrategia biorracional para el control de plagas como las hormigas cortadoras (Della Lucia *et al.*, 2008). Entre estos sobresale la azadiractina que es extraída de las semillas del árbol del "nim" (*Azadirachta indica* Juss). Este compuesto ha sido propuesto como un insecticida orgánico altamente tóxico para la mayoría de los insectos, incluyendo a las hormigas cortadoras (Santos *et al.*, 2007).

Dado que la producción agrícola libre de insecticidas podría impactar positivamente en la rentabilidad económica de los cultivos frutales, ornamentales y de hortalizas en México, es necesario implementar estrategias que motiven este manejo orgánico. Estudios previos han demostrado que *A. mexicana* es una de las especies de hormigas cortadoras más abundantes en gran parte de México y genera importantes pérdidas económicas en diversos cultivos.

Ante esta plaga que amenaza los recursos hortícolas del país, diversos productores han expresado su interés en encontrar alternativas para controlar dicho insecto (Serratos *et al.*, 2017). Por todo lo anterior, la finalidad de este trabajo fue evaluar la toxicidad de tres concentraciones de azadiractina sobre hormigas obreras subcasta forrajera de *A. mexicana* y minicolonias que incluyen al hongo simbiote, bajo condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODO

Esta investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias Región Orizaba-Córdoba de la Universidad Veracruzana. Esta se encuentra en la congregación de Peñuela, municipio de Amatlán de Los Reyes, Veracruz, México. Se ubica en los 18° 51'39.06" N y 96° 54'9.91" W con una elevación de 754 m y un clima cálido. El paisaje está dominado por agroecosistemas de caña de azúcar y asentamientos humanos y en pequeña proporción se observan remanentes de selva mediana subperennifolia (Landerro-Torres *et al.*, 2014).

La colonia de hormigas con la cual se realizaron los experimentos pertenece a un conjunto de reinas capturadas en mayo de 2010 en un cafetal de Coatepec, Veracruz. La azadiractina utilizada en el presente estudio se obtuvo de un insecticida comercial llamado Azanim® al 3 % (30,000 ppm o 30 g/L), el cual es un insecticida botánico natural u orgánico elaborado a base de aceite refinado de "nim", este aceite es formulado como concentrado emulsionable que se diluye en agua para ser aplicado en forma de aspersion directa; este producto se elabora en la India y es envasado en México (Celaya, Guanajuato) para uso exclusivamente agrícola (BIOKRONE, 2017).

Los experimentos de toxicidad sobre las minicolonias se diseñaron en bloques completamente al azar, cada bloque representò una concentración diferente de azadiractina. Este diseño constó de cinco repeticiones, tres tratamientos (CL_{10} , CL_{50} y CL_{90}) y un testigo. Cada concentración de azadiractina evaluada se aplicó directamente sobre 30 hormigas depositadas dentro de recipientes de plástico transparente de 7 cm de altura y 8 cm de diámetro, aplicando 2.5 mL de la solución acuosa utilizando un atomizador. Cada experimento incluyó un tratamiento testigo, compuesto de una tarrina con 30 hormigas al cual se le aplicaron 2.5 mL de agua destilada estéril. Todas

las muestras fueron mantenidas en el laboratorio a una temperatura de 25 ± 2 °C y se registró el número de hormigas muertas a 100 h de exposición al insecticida. La variable de respuesta fue el número de hormigas muertas y se expresó como el porcentaje de mortalidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar las concentraciones letales 10, 50 y 90 % se evaluaron 15 concentraciones diferentes de azadiractina sobre un total de 2,400 obreras forrajeras. Del total de la población experimental, el 94 % fue expuesto a diferentes concentraciones de azadiractina y el 6 % restante sirvió como grupo testigo. La mortalidad registrada por cada una de las concentraciones evaluadas varió significativamente en función del aumento de la concentración de azadiractina ($F = 142.5$, $gl = 20$, $P < 0.001$) (Figura 1). A las 100 h post-aplicación se determinó que las concentraciones que teóricamente representan las CL_{10} , CL_{50} y CL_{90} fueron de 1.82×10^{-9} , 2.6×10^{-6} y 5.1×10^{-0} ppm, respectivamente.

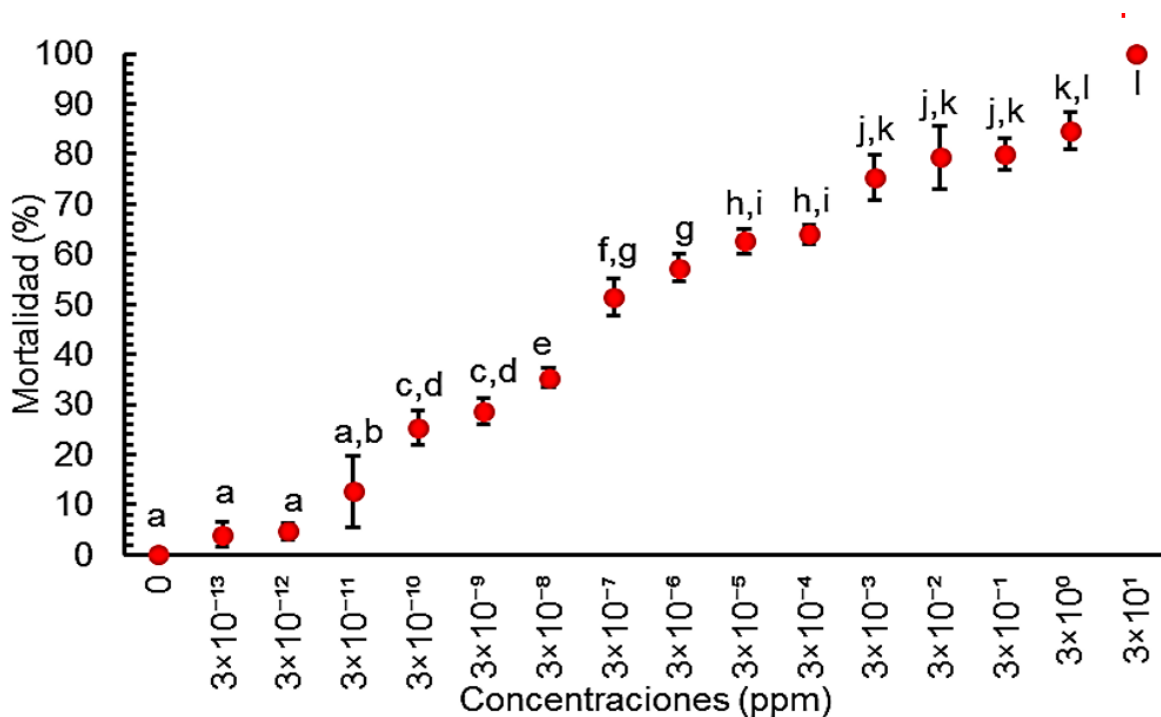


Figura 1. Comparación de diferentes concentraciones de azadiractina para determinar las concentraciones letales 10, 50 y 90 %. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey HSD, $P = 0.05$).

En el experimento de confirmación de las concentraciones letales 10 % (1.82×10^{-9} ppm), 50 % (2.6×10^{-6} ppm) y 90 % (5.1×10^{-0} ppm) se observó una mínima variación en cuanto el número de hormigas muertas esperado para cada concentración (Figura 2). Los porcentajes de mortalidad causados por las tres concentraciones evaluadas varió significativamente en función del aumento de la concentración de azadiractina ($F = 2259.3$, $gl = 3$, $P < 0.001$). Estos resultados evidenciaron que efectivamente, las concentraciones letales determinadas teóricamente correspondieron empíricamente con el porcentaje de mortalidad esperado (10, 50 y 90 %).

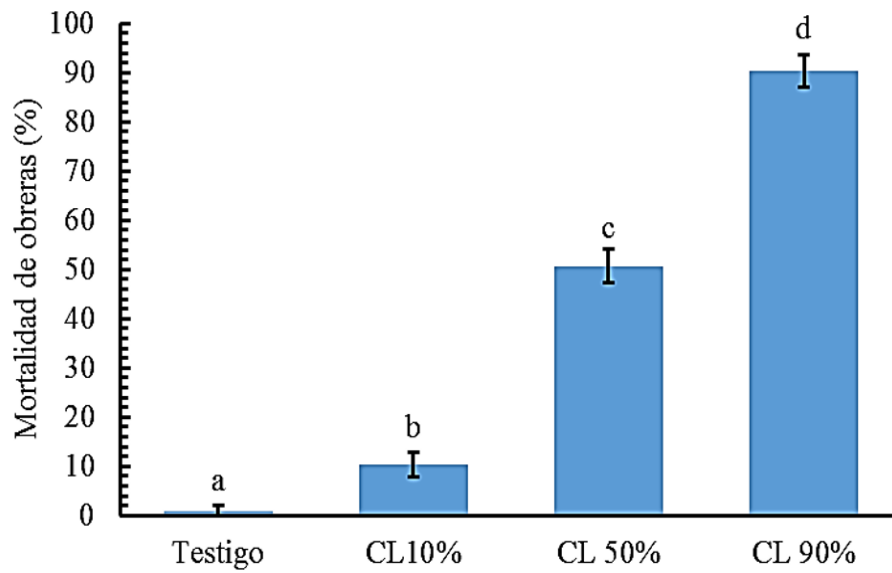


Figura 2. Confirmación de las concentraciones letales 10, 50 y 90 %. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey HSD, $P = 0.05$).

La actividad de hormigas fue alta antes de la exposición a la azadiractina y no presentaron diferencias entre ellas ($F = 0.7$, $gl = 1$, $P = 0.3$) (Figura 3). Sin embargo, la actividad de hormigas de las minicolonias tratadas con azadiractina disminuyó considerablemente después de 100 h de exposición ($F = 100.8$, $gl = 1$, $P < 0.001$). Aunque se observó que el promedio de hormigas activas de las minicolonias testigo disminuyó un 15 %, no se observaron diferencias significativas con la actividad de hormigas registradas 100 h antes de la exposición (Figura 3). En el caso de las minicolonias expuestas a la CL_{10} se observó que la actividad disminuyó un 37 %, la expuesta a la CL_{50} disminuyó un 70 % y la expuesta a la CL_{90} un 87 %.

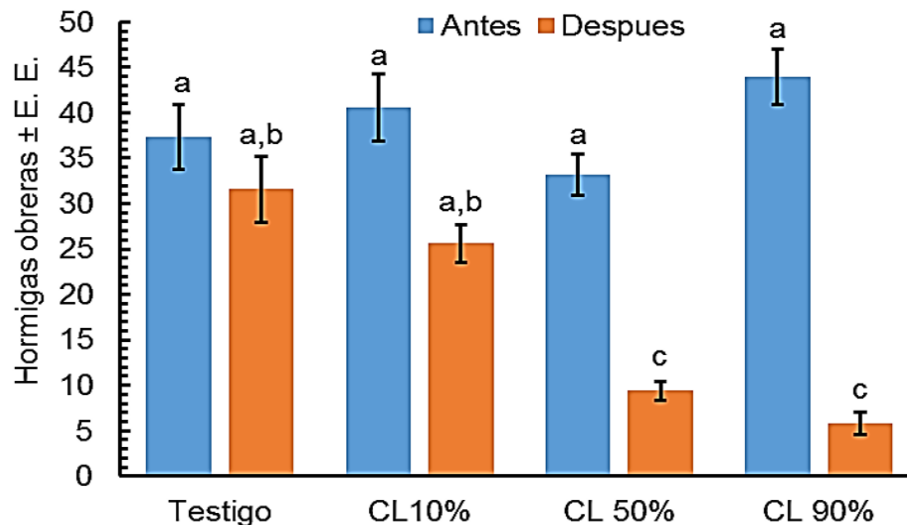


Figura 3. Actividad de hormigas obreras medida como el número de hormigas en movimiento en un lapso de un minuto en la cámara de forrajeo antes y después de la aplicación de las concentraciones letales (10, 50 y 90 %). Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey HSD, $P < 0.05$).

Las concentraciones letales obtenidas (10, 50 y 90 %) permiten concluir que la azadiractina es altamente tóxica, puesto que las concentraciones mencionadas son menores a 3×10^1 ppm de azadiractina, la cual es la formulación comercial al 3 %, este resultado coincide con las estimaciones determinadas por Rojas-Acosta (2017), quien detectó la susceptibilidad de *A. mexicana* a diferentes concentraciones altas ($> 3 \times 10^1$) de azadiractina al 3 % en laboratorio, de acuerdo con la clasificación de toxicidad propuesta por la Organización Internacional para la Lucha Biológica (OILB) (Hassan, 1994), la cataloga como altamente tóxica para esta especie de hormiga cortadora. este autor. La alta efectividad de la azadiractina aplicada por contacto que se registra en este estudio, se puede deber al efecto que tiene este tetraterpenoide sobre la actividad hormonal y alimentaria de las hormigas. Basados en estos hallazgos, el uso de la azadiractina para el control de la hormiga *A. mexicana* podría resultar en un manejo agroecológico de esta especie y que además es amigable con el ambiente.

En general, las concentraciones letales teóricas estimadas coincidieron con la mortalidad observada en las pruebas de confirmación. Durante la realización de la prueba de confirmación de la mortalidad, se realizó un manejo apropiado de los individuos de la población experimental, para evitar al máximo la mortalidad causada por manejo. Los resultados obtenidos para la hormiga arriera (*A. mexicana*) y probablemente para otros grupos de hormigas cortadoras (*Atta* spp. y *Acromyrmex* sp.), permiten concluir que se trata de un modelo práctico y viable para continuar evaluando productos insecticidas, por su fácil manejo en laboratorio, tal como lo señalaron Santos-Oliveira *et al.* (2007).

La actividad de las hormigas forrajeras dentro de las minicolonias disminuyó considerablemente después de exponerlas directamente a la azadiractina. Esta disminución puede ser explicada por la autodetección de agentes contaminantes en las hormigas expuestas a la azadiractina, aunque las hormigas contaminadas evitan el contacto con el resto de la colonia para no propagar el contaminante adherido a su exoesqueleto. Otro posible factor que puede explicar la disminución en la actividad de las hormigas forrajeras, es el desequilibrio hormonal que causa la azadiractina en los insectos, ante esta alteración hormonal de las obreras expuestas era de esperarse que su actividad de forrajeo se viera disminuida. Diversos autores han mencionado que existen mecanismos implicados en la seguridad sanitaria de los jardines del hongo simbiote (Serratos-Tejeda *et al.*, 2017), entre los cuales se encuentran el aseo y eliminación de residuos para evitar la propagación del material potencialmente dañino.

CONCLUSIONES

La azadiractina utilizada (Azaním®) es altamente tóxica sobre las obreras forrajeras de *A. mexicana*, especie que constituye un modelo adecuado para estudiar la toxicidad de insecticidas de origen natural, como lo es la azadiractina en laboratorio. La concentración de 5.1×10^0 ppm de azadiractina redujo en un 90 % la población experimental de hormigas obreras forrajeras de *A. mexicana*, siendo la más tóxica para las minicolonias.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jorge Valenzuela por facilitar las hormigas utilizadas en los ensayos.

LITERATURA CITADA

Biokrone 2017. Biokrone excellence in biotechnology de BIOKRONE S.A. DE C.V. Disponible: <http://www.biokrone.com/index.php> Consultado: Enero 2017

- Della-Lucia, T. M., Gandra, L. C., and Guedes, R. N. (2014). Managing leaf-cutting ants: Peculiarities, trends and challenges. *Pest Management Science*, 70 (1), 14–23. <https://doi.org/10.1002/ps.3660>
- Hassan S. A. 1994. Activities of the IOBC/WPRS working group. Pesticides and beneficial organisms. Internacional Organisation for Biological Control/ Working Group Integrated Control in Protected Crops. *Bulletin 17*: 1-5. Recuperado de https://www.iobc-wprs.org/expert_groups/01_wg_beneficial_organisms.html
- Landero-Torres, I., García-Martínez, M. Á., Galindo-Tovar, M. E., Leiva-Ovalle, O. R., Lee-Espinosa, H. E., Murguía-González, J., and Negrín-Ruiz, J. (2014). An Ornamental Heliconias Crop as a Reservoir of the Native Myrmecofauna: A case of Tropical Horticulture in Central Veracruz, Mexico. *Southwestern Entomologist*. <https://doi.org/10.3958/059.039.0113>
- Rojas-Acosta A. 2017. *Efectividad insecticida de la azadiractina sobre la hormiga arriera Atta mexicana (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) en laboratorio*. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Región Orizaba-Córdoba, Campus Peñuela. Amatlán de los Reyes, Veracruz, México.
- Santos, A. V., Oliveira, B. L., and Samuels, R. I. 2007. Selection of entomopathogenic fungi for use in combination with sub-lethal doses of imidacloprid: Perspectives for the control of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). *Mycopathologia*. <https://doi.org/10.1007/s11046-007-9009-8>
- Serratos, C., García, A. A., Cecilia, B., Torres, P., and López, F. 2017. Alternativa agroecológica para el manejo de *Atta mexicana* en Puebla , México. *Southwestern Entomologist*, 42(1), 261–273. <https://doi.org/10.3958/059.042.0123>
- Valdés-Rodríguez O. A., Pérez-Vázquez A. y Palacios-Wassenaar, O. M. 2016. Insectos plaga en cultivo asociado de *Ricinus communis* y *Moringa oleifera* en el centro de Veracruz, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 11*: 2233-2239. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i11.805>