

PROYECTO DE INVESTIGACION APLICADA (PIA) AÑO 2015-2016

1-

Estudio y Evaluación de *Seletrychode neseri* (Kelly & La Salle 2012) como Agente de Control Biológico de *Leptocybe invasa* en plantaciones de Eucaliptus en Argentina.

Equipo de trabajo

Programa Nacional de Sanidad Forestal- SENASA – Ing. Agr Verónica

Mendy **Parque Tecnológico Biofabrica Misiones-** PhD. Guillermo Salvatierra

Dirección de Recursos Forestales de la Pcia de Corrientes -Ing. Ftal Luis Mestres, Ing Ftal Ernesto Cibils.

Consorcio Forestal NEA- Coordinador Ing Ftal Fernando Digiorgi.

Empresa Forestal POMERA y POMERA Danzer -Ing. Ftal Pablo Aquino, Técnico Forestal Matías Jara.

Grupo Forestal TAPEBICUA- Ing Ftal Mirta Báez, Ing Ftal Luciano Nozzi

Empresa Forestal MASISA-

Facultad de El Salvador Cintia Meneses (Adeuda tesis).

LUGAR DE REALIZACION

UNIDAD ACADEMICA:

_Forestry and Agricultural Biotechnology Institute, University of Pretoria, FABI- Private Bag X20, Hatfield, Pretoria 0028-South Africa.

_Universidad Nacional de Misiones -UNAM.

UNIDAD EJECUTORA:

_Laboratorio (Recinto Cuarentenario) BIOFABRICA MISIONES-Ruta Nacional N°12 Misiones

_SENASA Centro Regional-CorMis-Gdor. Virasoro Corrientes

2- RESUMEN

Leptocybe invasa, es una avispa formadora de agallas en especies susceptibles de eucaliptus y está considerada como un insecto exótico invasor cuya presencia en la actualidad ha hecho estragos en varios continentes. Fue detectada en nuestro país a principios del año 2010, (Botto 2010) en el campo experimental de INTA Castelar (CABA) y en otras localidades bonaerenses. Su dispersión hacia distintas áreas forestadas del país ha sido muy rápida, afectando varias especies de *Eucalyptus* (*E. camaldulensis*, *E. dunnii*, *E. globulus*, *E. grandis*; *E. tereticornis*). Actualmente se encuentra bajo “alerta fitosanitario” (Res. SENASA 322/2011) y se halla sometida a estrictos monitoreos a nivel de viveros forestales. Dos especies de avispas parasitoides (Hymenoptera: Eulophidae, Tetrastichinae) han sido mencionadas en Australia como enemigos naturales de *Leptocybe invasa*, (*L. invasa*) ellas son: *Quadrastichus mendeli* y *Selitrichodes kricery* (Kim *et al.*, 2008). Estos parasitoides fueron introducidos en Israel para el control biológico de la “avispa de la agalla”. Un tercer biocontrolador es *Seletrichodes neseri* (Kelly & La Salle 2012) fue descrito y estudiado por investigadores de Sudáfrica como potencial controlador de *L. invasa*. Se trata de avispas ectoparásita muy pequeña (aproximadamente 1 mm); biparental (machos y hembras presentes). El tiempo de desarrollo larval del parasitoide dentro de las agallas es en promedio de 19 días. La hembra produce alrededor de 8 crías, con rango de 1 a 39, mostrando un alto potencial cuando las condiciones son óptimas. La oviposición se realiza a partir del momento de la emergencia del adulto, por lo que no existe periodo de pre-oviposición. Las hembras de *S. neseri* prefieren agallas con larvas maduras y pupas para oviponer. El rango de sexo en la progenie es de 1 macho cada 3,5 hembras. El controlador parasita larvas de *L. invasa* tanto en estado jóvenes como maduras. Ambas especies de biocontroladores pueden sobrevivir hasta seis días alimentados con agua-miel, estos parasitoides pueden atacar aproximadamente entre 2,2 y 2,5 agallas por día (Kim *et al.*, 2008). Tanto *L. invasa* como sus parasitoides posiblemente hayan co-evolucionado juntos en su ambiente natural (Australia) lo cual permite suponer una buena relación huésped-parasitoide, siendo este aspecto de importancia para el control biológico clásico de la plaga en nuestro países donde *L. invasa* es exótica (Kim *et al.*, 2008).

El aumento de los viajes y el comercio internacional está dando lugar a un significativo crecimiento en el número de organismos invasores que llegan nuevos entornos (Meyerson y Mooney, 2007). Específicamente en la plantación forestal, esto representa una amenaza muy grave para la sostenibilidad de las plantaciones que se han establecido con especies no autóctonas en diversas partes del mundo (Wingfield *et al.*, 2008, 2013). La avispa de la agalla, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), originaria de Australia (Mendel *et al.*, 2004) es un claro ejemplo de tal invasión.

L. invasa es una amenaza en áreas donde especies y genotipos susceptibles de Eucalyptus son plantados de manera comercial. Sus agallas afectan a plantas jóvenes de eucalipto, llevando a la deformación del árbol y retraso en el crecimiento (Nyeko, 2005). En su ambiente nativo, las poblaciones de *L. invasa* son bajas, debido a la presencia de enemigos naturales.

La característica común a las especies exóticas invasoras es sin lugar a dudas su extraordinaria capacidad biológica para invadir un nuevo ambiente, colonizarlo y dispersarse rápidamente. La “avispa de la agalla” *L. invasa* es posiblemente la que presenta el mayor “riesgo de dispersión”. Diferentes aspectos contribuyen a esto: el desarrollo críptico de la especie (dentro de las agallas), la dificultad para observar las etapas tempranas de infestación de las plantas y la dispersión antrópica motivada por las actividades de la foresto-industria, en particular el movimiento de plantas a nivel de los viveros forestales. Estas características colocan a *L. invasa* entre una de las amenazas más serias para la sanidad forestal de nuestro país (E. Botto 2010; Botto *et al.*, 2013).

Varias estrategias de manejo han sido exploradas para controlar esta plaga. El control químico ha sido probado con éxito variable, pero por sus altos costos y posible efecto negativo sobre otros agentes de control biológico, se considera una opción poco viable en plantaciones comerciales. Opciones más factibles incluyen el mejoramiento genético y selección de especies de Eucalyptus resistentes, lo cual insuere años de estudios y pruebas a campo (Dittrich - Schröder *et al.*, 2012;

Nyeko *et al.*, 2010) y / o el control biológico (Kim *et al.*, 2008). Aunque hay riesgos asociados con el control biológico (Babendreier, 2007; Barratt *et al.*, 2010), en general se considera una alternativa atractiva con respecto a otros métodos de control debido a sus beneficios económicos y ecológicos. Kim *et al.* (2008) describieron dos parasitoides de Australia para *L. invasa*, *Quadrastichus mendeli*, y *Selitrichodes kricery* Kim y La Salle (Himenóptera: Eulophidae). Estos himenópteros son ambos ectoparasitoides y se han utilizado con éxito en Israel para controlar las poblaciones *L. invasa* (Kim *et al.*, 2008). Otro parasitoide fue recolectado en Queensland Australia en el año 2010, *Seletrichodes neseri* (Kelly & La Salle 2012). Fue descrito y estudiado como potencial controlador de *L. invasa* plaga por investigadores de Sudáfrica, quienes han logrado su desarrollo e instalación exitosa a campo. Los estudios de *S. neseri* demostraron más de un 70 % de Rango de Especificidad Huésped con respecto a *L. invasa*. Este último parasitoide manifestó excelentes característica como un potencial controlador biológico de dicha plaga. Por tales razones se considera viable en nuestro país, utilizar *Seletrichodes neseri* como controlador biológico de *L. invasa*. Las posibilidades de lograr un control exitoso de la plaga introduciendo a *Seletrichodes neseri* desde Sudáfrica es elevada, según lo consultado a experto de ese país. Además, la ubicación geográfica del lugar donde se encuentra el controlador (Pretoria Sudáfrica) y el lugar donde se realizará el trabajo de cuarentena, cría y liberación (Noreste Argentina), se ubican dentro de los paralelos 20° y 30° de Latitud Sur, y, según la clasificación climática de Köppen, ambos lugares presentan un clima Subtropical sin estación seca, lo que facilitaría la adaptación del controlador biológico a nuestra región.

4-

- Evaluar como Potenciales Agentes de Control Biológico de *Leptocybe invasa* a *Selitrichodes neseri* (Kelly & La Salle 2012).

5-

- El ACB se introducirá al país con el objeto de utilizarlo como biocontrolador de *Leptocybe invasa*; y lograr su establecimiento a campo a fin de disminuir los niveles de ataque por *L. invasa* y lograr conformar un sistema biológico natural (controladores-huésped) como en su área de origen.

- Incentivar la participación de organismos internacionales avanzados en la problemática en la formulación e implementación del control biológico para el control de *L. invasa*.

6-

En la Argentina *Leptocybe invasa* carece hasta el momento de controladores biológicos específicos. Es importante destacar que *Seletrichodes nesei* fue exitosamente introducido desde Australia a Sudáfrica; el porcentaje de parasitismo es relativamente elevado y no presenta hasta el momento huéspedes alternativos a *L. invasa*, aunque esto será confirmado con las respectivas Pruebas de Rango Especificidad de Huésped correspondientes.

Se espera que con la potencial introducción de *S. nesei* como factor de mortalidad, *L. invasa* alcance un equilibrio poblacional a niveles más bajos que los actuales.

La introducción de *S. nesei* a la Argentina deberá satisfacer las siguientes etapas una vez remitido desde el país proveedor (Sudáfrica).

Primera Etapa (Laboratorio)

1-Introducción del Agente de Control Biológico: envío del material desde el laboratorio de cría (Sudáfrica) y Recepción en Cuarentena (a confirmar).

2-Multiplicación del “stock recibido” en recinto cuarentenario sobre larvas de *L. invasa* obtenidas en campo y/o laboratorio según disponibilidad.

3-Durante esta etapa se procurará desarrollar una producción del parasitoide estable, que mínimamente asegure la disponibilidad de material experimental para las Pruebas de Rango Especificidad de Huésped (PREH).

4-Evaluación en laboratorio de las PREH. Las pruebas incluirán experimentos en condiciones controladas (T°, HR, Luz) de oferta de larvas del huésped al parasitoide con y sin opción en arenas experimentales “*ad hoc*” (Ej., cápsulas de Petri) según lo indicado en estos casos.

5-Estudios biológicos sobre *S. nesei*. Una vez establecida la cría del parasitoide se conducirán estudios sobre la biología del mismo a los efectos de: maximizar su producción en laboratorio para aumentar el área colonizada en el país; evaluar convenientemente su proceso de colonización en el campo mediante la estimación de parámetros vitales.

6-Crianza y masificación de agentes de control biológico.

Segunda etapa: (semicampo y campo)

7-Colonización controlada (jaulas de manga en campo) en dos sitios. Esto estará sujeto a la disponibilidad del material multiplicado en la Cuarentena y de personal capacitado en los sitios de referencia.

8-Después de las liberaciones del parasitoide, se procederá a un exhaustivo monitoreo del parasitismo larval, ya sea mediante el empleo de larvas de *L. invasa* a partir de agallas de eucalipto en laboratorio o bien en base a la colecta de estos en el campo y su posterior análisis en laboratorio.

9-Evaluación del establecimiento y dispersión de parasitoide liberado. Los monitoreos mencionados anteriormente se deben repetir en cada área de colonización a los efectos de evaluar el establecimiento de los parasitoides así como su nivel de actividad (parasitismo).

10-Generación de documentación.

7- PRODUCTOS ESPERADOS

Como resultado de las actividades planteadas se pretende

- Lograr la introducción, producción e instalación del Agente de Control Biológica en el territorio Argentino.
- Reducir los ataques y daños en plantaciones a campo producidos por *L. invasa*.
- Disponer de un sistema de control sustentable y en equilibrio con el ambiente.
- Generar material de difusión y transferencia de la información para la implementación de las estrategias de control logradas.

8-

El proyecto plantea un conjunto de objetivos que permitirán lograr el desarrollo de una estrategia que control y lucha contra *L. invasa*, específica y sustentable ambientalmente. Además de desarrollar actividades que vincularan instituciones educativas, de investigación y sector privado (empresas) de la región. Además, busca contribuir y aportar la información obtenida a proyectos forestales a nivel nacional que se encuentran trabajando en esta temática. Se busca con esto:

- Fortalecer los procesos de innovación tecnológica e investigación.
- Integración con otros proyectos institucionales especialmente aquellos dedicados a investigación que permitan potenciar resultados, capacitar y abrir nuevas líneas de investigación.

- Elaboración de documentos en conjunto con los grupos participantes que permitan difundir la información generada.
- Lograr un equipo técnico calificado para llevar adelante el desarrollo de nuevos desafíos.
- Generar estrategias de control para atenuar la presencia de *L invasa* en la región.

9-

La sostenibilidad del proyecto estará dada por los avances que se vayan produciendo de acuerdo con lo comprometido lo cual será en función de la disponibilidad de recursos económicos y recursos humanos en tiempo y en forma.

10-

La autoevaluación consistirá en realizar reuniones y talleres a lo largo del tiempo con el objetivo de analizar la evolución del trabajo en laboratorio, monitoreo a campo, mejorar las técnicas y metodología aplicada. Se evaluará el aporte y la participación de los integrantes del grupo con el fin de ir mejorando y obtener mejores resultados del proyecto.

11-

El equipo de trabajo cuenta con profesionales formados en temática de Protección Vegetal, con experiencia en Sanidad Forestal y Entomología. Es un equipo joven proactivo y con ideas innovadoras que está integrado por profesionales de entidades públicas y privadas aportando su experiencia y sus capacidades desarrolladas en la temática. Además contamos con una persona con un claro perfil en laboratorio, que se ha ido capacitando en la medida de las posibilidades y creemos que sería oportuno desarrollar ese potencial y utilizarlo específicamente en temas de detección y estudio de plagas para la región Noreste de nuestro país. Para llevar adelante este proyecto contamos con intensión de parte de la Biofabrica Misiones de armar un recinto cuarentenario ubicado estratégicamente en la región problema y además con las instalaciones del Centro Regional Senasa Cor-Mis. Para la liberación controlada del Biocontrolador contamos con parcela a campo de eucaliptus que serán cedidas por las empresas que integran el proyecto para llevar adelante la liberación y monitoreo controlado del parasitoide. A fin de reforzar la investigación necesitamos

contar con los siguientes materiales, Microscopio electrónico (aumento 100 x 1000), Lupa Binocular estereoscópica con luz alógena, materiales de laboratorio como ser frascos de vidrio, tubos de vidrios, frascos con tapa a roscas, Eppendorff, mangas de cría de nylon blanco con visor y cintas en los extremos para cerrarlas sobre ramas, esto permite el estudio de los insectos in situ, colocando en las ramas donde viven. Lupa mano alto aumento. Jaulas de cría.

12-

FECHA DE INICIO	SEPTIEMBRE 2015
FECHA FINALIZACION	DICIEMBRE 2016
DURACION DEL PROYECTO	15 MESES

13-

ACTIVIDADES	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Febr	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Julio	Agost	Sep	Dic
Contacto con especialistas Sudáfrica	X														
1. Introducción del ACB desde Sudáfrica y cuarentena.		X	X												
2. Multiplicación del "stock recibido" en recinto cuarentenario.				X											
3. Desarrollo y producción estable del parasitoide				X	X	X									
4. Evaluación en laboratorio de las PREH				X	X	X									
5. Estudios biológicos sobre <i>S. nigeri</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
6. Crianza/masificación del control biológico.					X	X									
7. Colonización Controlada (jaulas de manga en campo)						X	X								
8. Liberación del parasitoide								X	X	X					
9. Evaluación del establecimiento y dispersión de parasitoide liberado.								X	X	X	X	X	X	X	X
10. Generación de documentos de crianza.												X	X		

14-

COSTO TOTAL DEL PROYECTO: 100%
TOTAL APORTE DE LA PARTE..... %	\$ 100.000
SENASA	
INGRESO DEL CONTROLADOR AL PAIS (Desde Sudáfrica)	
EQUIPAMIENTO LABORATORIO	
CAPACITACION PERSONAL LABORATORIO	
TOTAL APORTE DE LA CONTRAPARTE%	
BIOFABRICA MISIONES	
RECINTO CURENTENARIO (realizando los cálculos Modificaciones)	\$
PERSONAL A CARGO DEL DESARROLLO DEL BIOCONTROLADOR	\$ 57.000
EMPRESAS INVOLUCRADAS (*)	
LIBERACION Y MONITOREO DEL PARASITOIDE	\$17.800
DIRECCION DE RECURSOS FORESTALES PROVINCIA DE CORRIENTES (esperamos reunión para ver los aportes)	
CONSORCIO FORESTAL NEA (esperamos reunión para ver los aportes)	

(*) Empresas Forestales: Pomera Maderas, Grupo Tapebicua, Masisa S.A, Pomera Danzer.

15-

Aquino, D. A.; Botto, E.N.; Loiácono M.S; Pathauer,P. Avispa de la agalla del eucalipto” Leptocybe invasa Fischer & Lasalle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae), en Argentina. RIA, Vol., 37. No: 2, Agosto 2011. Pp: 159-164.

- BOTTO, E. N. 2010. Detección de Hymenoptero formador de agallas en eucaliptos (Hymenoptera: Chalcidoidea, Eulophidae) 99% de similitud biológica y morfológica con *Leptocybe invasa* Fisher and LaSalle, gen. n. and sp. n., 2004. Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas (SINAVIMO)
- Cuello, E. M.; Andorno, A.V; Hernández, C.M; Dell' Arciprette, V.; Botto, E.N. Insectario de Investigaciones en Lucha Biológica – IMYZA – INTA, Castelar, Buenos Aires, Argentina.
- Presencia de *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), la “avispa de la agalla del eucalipto”, en Argentina. Eduardo N. Botto, Daniel Aquino, Marta Loiacono, Pablo Pathaue.
- FAO 2007. *Leptocybe invasa* Fisher & La salle. 4. FAO - Forestry Department. <http://www.fao.org/forestry/13569-1-0>.
- Kim IK, Mendel Z, Protasov A, y Blumberg D. 2010. Taxonomy, biology, and efficacy of two Australian parasitoids of the eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). *Zootaxa* 1910:1-20.
- Mendel Z, Protasov A, Fisher N, y La Salle J. 2004. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n.(Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. *Australian Journal of Entomology* 43(2):101–113.
- Mendel Z, Protasov A, Fisher N, y La Salle J. 2004. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. *Australian Journal of Entomology* 43(2):101–113.
- COSTA, V., A. E. BERTI FILHO, C. F. WILCKEN, J. L. STAPE, J. LASALLE & L. de D. TEIXEIRA. 2008. *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* Fischer & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) in Brazil: new forest pest reaches the New World. *Rev. Agric.*, 83 (2): 136-139.
- QUEIROZ, D.L et al. Dispersão de *Leptocybe invasa* no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 24., 2012, Curitiba, PR. Anais... Curitiba: SEB/UFPR, 2012. V.1, p.246-246.
- MENDEL, Z. et al. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen.& sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. *Australian Journal of Entomology*, v.43, p.101-113, 2004.
- NADEL, R.; SLIPPERS, B. *Leptocybe invasa*, the blue gum chalcid wasp. Information Sheet, 2011. 5p. Disponível em: <<http://www.forestry.co.za/uploads/File/home/notices/2011/ICFR%20IS01-2011gallwasp.pdf>>. Acesso em: 25 jan. 2013