

**CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES**



**CONTROL DE PAQUITAS (DIPTERA: SIMULIIDAE) EN  
VILLA TURÍSTICA CASA DE PIEDRA**

**PROVINCIA DE LA PAMPA**

**INFORME FINAL**

**FEBRERO 2012**

**EXPERTO COORDINADOR**

Lic. DIEZ, Fernando

**ASISTENTE**

BRESER, Víctor Julián

<b><u>1 INTRODUCCIÓN</u></b>	6
<b><u>1.1 Características generales ecológicas de Simúlidos</u></b>	6
<b><u>1.2 Motivos de estudio sobre Simuliidae en el mundo</u></b>	7
<b><u>1.3 Problemática</u></b>	7
<b><u>2 Desarrollo del plan de tareas</u></b>	8
<b><u>2.1 Tarea N°1</u></b>	8
<b><u>2.1.1 Procedimiento de recolecta de ejemplares</u></b>	9
<b><u>2.1.2 Condicionamiento del material para el montado permanente de larvas</u></b>	10
<b><u>2.1.3 Caracteres morfológicos observados</u></b>	11
<b><u>2.1.4 Especies identificadas en el efluente del embalse Casa de Piedra</u></b>	12
<b><u>2.2 Tarea N° 2</u></b>	12
<b><u>2.2.1 Notificaciones previas al desarrollo de la actividad N°2.</u></b>	13
<b><u>2.2.1.1 Notificación a entes provinciales y nacionales reguladores de las actividades en Río Colorado</u></b>	13
<b><u>2.2.2 Detección, presencia y ausencia de larvas de Simúlidos</u></b>	15
<b><u>2.2.3 Efecto de Bti a los 3 (tres) días de aplicación sobre larvas de Simúlidos</u></b>	16
<b><u>2.2.4 Detección presencia y ausencia de larvas de Simúlidos</u></b>	16
<b><u>2.2.5 Segunda aplicación de Bti (fase líquida)</u></b>	17
<b><u>2.3 Tarea N° 3</u></b>	17
<b><u>2.3.1 Características ecológicas de <i>Simulium jujuyense</i>, <i>Simulium bonaerense</i> y <i>Simulium wolffhuegeli</i>.</u></b>	18
<b><u>2.3.2 Bibliografía consultada</u></b>	20
<b><u>2.4 Tarea N° 4</u></b>	21
<b><u>2.5 Tarea N° 5</u></b>	25

<b><u>2.5.1 Detección de adultos de simúlidos</u></b>	25
<b><u>2.6 Tarea N°6</u></b>	26
<b><u>2.6.1 Asesoramiento</u></b>	26
<b><u>2.6.2 Información de insecticidas</u></b>	27
<b><u>2.7 Tarea N° 7</u></b>	29
<b><u>2.7.1 Censo de densidad larvaria pre y post aplicación</u></b>	29
<b><u>2.7.2 Análisis estadístico</u></b>	30
<b><u>2.7.3 Resultados del análisis estadístico</u></b>	31
<b><u>2.7.3.1 Análisis estadístico de la densidad pupal</u></b>	31
<b><u>2.7.3.2 Análisis estadístico de la densidad larval</u></b>	31
<b><u>2.8 Tarea N° 8</u></b>	33
<b><u>2.8.1 Comunicación personal con técnicos</u></b>	33
<b><u>2.8.2 Características del adulticida utilizado</u></b>	33
<b><u>2.9 Tarea N° 9</u></b>	35
<b><u>2.9.1 Procedimiento de detección de Simúlidos en estado adulto</u></b>	36
<b><u>3 Conclusiones</u></b>	37
<b><u>3.1 Acciones de manejo previas</u></b>	37
<b><u>3.2 Recomendaciones para el control larval de Simúlidos</u></b>	37
<b><u>3.3 Aplicación de Bti de Introban</u></b>	38
<b><u>3.4 Futuras aplicaciones</u></b>	38
<b><u>4 Tablas y figuras</u></b>	39

<b><u>4.1 Tabla N° 1. Caudal medio mensual del efluente del Río Colorado 2011</u></b>	39
<b><u>4.1.2 Tabla N° 2. Numero de larvas pre y post aplicación de bti anillos solidos</u></b>	39
<b><u>4.1.3 Tabla N° 3 densidad larvaria y pupal antes y después de aplicación de Bti en fase liquida.</u></b>	39
<b><u>4.2 Figuras</u></b>	41

## **Resumen**

Mediante siete meses de relevamiento, con el fin de detectar criaderos de simuliidae, para luego ser eliminados, pero antes testear si Bti de introba en fase liquida y en anillos solidos, era efectivo para dicho control. Tanto en el embalse de Villa Turística Casa de Piedra y su efluente, se pudo establecer que los estadios larvales de Simúlidos (paquitas o jejenes) se encuentran únicamente en el Río Colorado. Estos están situados a partir de 1.5 km. desde el dique, rio abajo, precisamente entre las coordenadas 38° 13,3'S, 67°11,1'O y 38° 15'S, 67°13'O. Además, las aplicaciones de Bti de introban en dichas coordenadas resultaron eficientes para el control de este insecto. En el presente trabajo se especifica todas las medidas legales que se deben tomar antes de realizar cualquier acción de control que pueda alterar la integridad ecológica y funcional de la zona a tratar. También se obtuvieron datos del comportamiento de Simuliidae en dicho rio. Para lograr obtener un control poblacional de estos dípteros. Todos estos datos sugieren que se debe realizar un manejo de mayor magnitud, ya que las altas densidades y el gran caudal del Rio Colorado en esta zona requiere de 100 litros de Bti fase liquida, cotizado en 140.067 \$ (ciento cuarenta mil sesenta y siete pesos argentinos) omitiendo honorarios de mano de obra tanto técnica como profesional aproximadamente. Previamente a este trabajo no existía referencia actualizada de la situación con respecto a este insecto que genera molestias en el ámbito turístico y disminuye la calidad de vida de la población de la Villa Turística Casa de Piedra.

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Características generales ecológicas de Simúlidos**

Los Simúlidos comprenden una familia de la clase Insecta, dentro del orden Diptera, Suborden Nematocera, Superfamilia Culicoidea.

Estos insectos son componentes comunes de los ambientes loticos. Son un grupo eurioico, por lo tanto se los encuentra en los ambientes más variados, en lo que respecta a variables físicas ambientales, por ejemplo en aguas de 0 °C hasta 20°C, desde casi los 5000 m. de altura hasta casi el nivel del mar. Siempre fueron registrados en aguas dulces pero tolerando concentraciones de salinidad relativamente alto. Además de poder explotar diferentes nichos ecológicos que presenten desde aguas turbias hasta ser prácticamente cristalinas, con sobre saturación de oxígenos o este ser prácticamente nulo, con un alto grado tenor de contaminación orgánica o estar libre de ella, aunque esto es realmente característico de cada especie. Ya que autores como Currie y Adler (2008) y Cupp (1981), consideran que son bioindicadores de calidad de agua debido a la susceptibilidad de los estadios inmaduros de Simúlidos, ante la eutrofización de aguas.

El ciclo biológico de esta familia consta de cuatro estados, adulto, el cual es sexualmente activo, se alimenta de jugos azucarados de flores que se encuentran en los ambientes que habita. Pero para poder realizar la oviposición, las hembras deben ingerir cantidades necesarias de sangre, con el fin de obtener proteínas para el desarrollo del embrión y la cutícula de los huevos.

Dependiendo de la preferencia de hospedadores de los Simúlidos se pueden clasificar en:

- Especies ornitofílicas: las cuales presentan preferencia hematofágica por especies de aves.
- Especies antropofílicas: las cuales presentan preferencia hematofágica por el humano.

Por lo tanto a la hora de realizar un control es de suma importancia determinar las especies presentes en el área de estudio, con el fin de definir la redituabilidad

de la aplicación de insecticidas sobre poblaciones de determinadas especies, ya que si estas son ornitófilas no sería de importancia aplicar productos para su control, el comportamiento de estos en el área de estudio, los diferentes factores que puedan influir en su distribución y dinámica poblacional.

## **1.2 Motivos de estudio sobre Simuliidae en el mundo.**

Los estudios de este grupo de insectos en el mundo fueron movilizados principalmente por dos problemáticas. La primera debido a su rol como vectores de parásitos, siendo estos protozoos como por ejemplo *Leucozitooon*, un género altamente patógeno que es transmitido por especies de Simúlidos ornitófilos, ocasionan una alta mortandad de aves. También Simúlidos pertenecientes al genero *simulium*, con actividad antropofílica, son vectores de un parasito llamado *Onchocerca volvulus*, el cual ocasiona Oncocercosis esta enfermedad afecta principalmente a la piel y a los ojos.

Las microfilarias a menudo llegan a los ojos, donde su invasión y muerte posterior producen deterioro de la visión y ceguera.

La segunda por sus picaduras dolorosas y molestas. Por lo general cuando las poblaciones de Simúlidos llegan a poseer altas densidades influyen negativamente en las actividades turísticas y de productividad en una región. Con el fin de controlar estas densidades se han incrementado significativamente el conocimiento de este grupo.

## **1.3 Problemática**

La problemática que movilizó la presente investigación fue enteramente por la actividad hematofágica de los adultos hembras pertenecientes a la familia simuliidae presentes en la Villa Turística Casa de Piedra. Dicha actividad genera un impacto negativo en la actividad local por las molestas picaduras de estos insectos. Que en casos extremos llevan a reacciones alérgicas considerables, presentando inflamación de extremidades o en la zona periférica de la picadura. Ya que no se ha

encontrado bibliografía que informen casos positivos de *Onchocerca volvulus* en el área de estudio ni en provincia de La Pampa.

## **2 Desarrollo del plan de tareas**

El presente informe tiene como objetivo dar a conocer el desarrollo de las actividades correspondientes a las tareas 1), 2), 3), 4), 5), 6), 7), 8) y 9) correspondientes al plan de tareas del proyecto titulado “CONTROL DE PAQUITAS (DIPTERA: SIMULIIDAE) EN VILLA TURÍSTICA CASA DE PIEDRA”.

### **2.1 Tarea N°1**

La identificación de las especies presentes en el área de estudio es de crucial importancia, ya que cada especie presenta sus parámetros ecológicos, comportamentales, poblacionales, etc. Por ejemplo, si se detecta una población de alguna especie de *simulium*, que en su bibliografía correspondiente se indique la presencia de actividad ornitófila, no se justifica su eliminación ya que solo se alimentan de sangre de aves, pero en caso de dar con una población de *Simulium ochraceum* una de las principales especies vectores de oncocercosis según su bibliografía, si justificaría un accionar inmediato para su eliminación.

Además como anteriormente se menciona, si bien la familia abarca una amplia gama de características ambientales en su distribución, cada especie de Simúlidos posee un determinado nicho ecológico que es propio. Permittiéndonos predecir comportamientos y parámetros poblacionales.

La clasificación se puede llevar a cabo sobre todos los estados de desarrollo del ciclo biológico del insecto. Pero en el estado adulto la clasificación óptima se deber realizar sobre la genitalia del macho, el cual es muy difícil de atrapar, ya que se alimenta de néctar y no realiza hematofagia. Las pupas son difíciles de montar sin dañar el material. Por lo tanto, la clasificación se realizó sobre el estado larval. Siempre sobre los estadios más desarrollados del estado larval, donde los caracteres morfológicos pueden ser percibidos con mayor facilidad, además de presentar diferencias significativas, según la bibliografía consultada.

La tarea N°1 consistió en Obtener muestras de ejemplares con el fin de determinar la especie/s de Simuliidae presentes en el área de estudio.

Para llevar a cabo dicha tarea se procedió con la recolección de ejemplares manualmente. Directo del efluente del embalse Casa de Piedra, ya que en las orillas del embalse no se pudo detectar ningún ejemplar. Esta particularidad en la distribución según las características del cuerpo de agua haciendo referencia a la velocidad del mismo será desarrollada en la tarea 2.

### **2.1.1 Procedimiento de recolecta de ejemplares**

El procedimiento de recolecta fue el siguiente:

Primero se seleccionaron 10 puntos, fueron marcados con instrumentos de sistema global de posición y se los denominó:

Punto 1: 38° 13,300'S, 67°11,171'O

Punto 2: 38° 13,629'S, 67°11,100'O

Punto 3: 38° 13,735'S, 67°11,192'O

Punto 4: 38° 13,873'S, 67°11,415'O

Punto 5: 38° 14,204'S, 67°11,606'O

Punto 6: 38° 14,435'S, 67°11,606'O

Punto 7: 38° 14,688'S, 67°11,663'O

Punto 8: 38° 15,012'S, 67°11,727'O

Punto 9: 38° 15,343'S, 67°11,617'O

Punto 10: 38° 15,498'S, 67°11,436'O

Luego en cada punto se recolectó ejemplares de diferentes sustratos, piedras, algas filamentosas y macrófitas que se encontraban en la rivera. Con el objetivo de dar con diferentes especies ya que cada una las encuentra sobre sustratos diferentes según la bibliografía consultada.

Los diferentes sustratos fueron inmersos dentro de baldes de 20 de litros de volumen, llenos de agua cristalina, durante tres minutos. Con el objetivo de que las larvas se desprendieran del sustrato a recolectado. Posterior a esta acción se retiró el sustrato extraído de la rivera y se recolectó, utilizando pipetas tipo Pasteur, las larvas que se encontraba dentro del recipiente.

Cada ejemplar en estadio larval fue colocado en tubo tipo eppendorf con alcohol al 80 % y rotulado simbólicamente. Representando este símbolo las coordenadas posicionales, fecha de captura y recolecto.

En las siguientes colectas se focalizaron los esfuerzos sobre un solo tipo de sustrato, el cual fue dos especies de plantas:

1) *Stuckenia striata* (Ruiz & Pav.) Holub perteneciente a la Familia Potamogetonaceae. (Fig.1)

2) *Myriophyllum quitense* (Kunth) perteneciente a la Familia: Haloragaceae. (Fig.2)

Esta decisión se debió a que los estadios larvales de estos insectos solamente se encontraban sobre estas dos especies de macrofitas.

Una vez en laboratorio perteneciente a Saneamiento Ambiental de la provincia de La Pampa se precedió con observaciones a microscopio estereoscópico con un aumento de 70 X de las larvas, para determinar mediante morfología externa, tales como pigmentación, 7

esclerotización, tamaño, etc. para apartar las que se consideraran diferentes ejemplares rasgos generales. Luego 5 larvas fueron seleccionadas de estas previamente separadas por características anteriormente mencionadas, para realizar montados permanentes de las larvas.

### **2.1.2 Condicionamiento del material para el montado permanente de larvas**

El montado permanente de larvas consta en la eliminación de todos los músculos y aclarado del exoesqueleto utilizando hidróxido de potasio en una concentración del 10%. Luego sigue el proceso de deshidratación, para eliminar toda el agua que

pueda presentar el ejemplar dentro y entre sus tejidos. Por último el montado de la larva condicionada sobre un porta objeto y cubre.

Este proceso consta de cuatro pasos, los cuales serán descritos detalladamente a continuación:

1) Clarificación: se colocara el/los ejemplares a determinar en tubo de ensayo con hidróxido de potasio al 10% durante 12 hs. o 5 minutos elevando la temperatura a 70 °C. Esta última alternativa es nociva para las cerdas de la larva.

2) Lavado: se retiran del hidróxido de potasio para depositarlos en vidrio reloj con agua destilada durante cinco minutos, repitiendo tres veces como mínimo.

3) Deshidratación: se deshidratara/n la/s larva/s introduciéndola/s en soluciones crecientes de alcohol, 70%, 80%, 90% y 100% luego junto al alcohol 100% junto a cetona para diafanizarla/s, este proceso además de eliminar toda el agua, la cetona inactiva el hidróxido de potasio permitiendo que el ejemplar posteriormente montado no siga su efecto abrasivo sobre la cutícula del ejemplar.

4) Montado: entre un porta y un cubre objeto, ambos previamente humedecidos con aceite bálsamo de Canadá. Manteniéndolo aislado para siempre de cualquier agente externo.

Cada porta objeto fue rotulado con fecha, coordenadas de origen, colector y especie (luego de realizar la clasificación).

### **2.1.3 Caracteres morfológicos observados**

Una vez montados en preparados permanentes se procedió con la clasificación de las larvas. Mediante microscopios ópticos con un aumento de 400 X se visualizaron diferentes características morfológicas de interés taxonómico.

Las características observadas fueron en primera instancia coloración general del tegumento, pero primordialmente la coloración en la cabeza que estas son dadas por la implantación de músculos que se encuentran dentro de la capsula cefálica.

Se observó también la profundidad de la hendidura postgenal. Todos los ejemplares montado presentaba una profunda hendidura postgenal. La altura del puente posgenal más corto que la altura del hipostomio. El tercer artejo antenal más corto que el primer y segundo artejo antenal. Además de no presentar estructuras o accesorios perianales. Este conjunto de caracteres nos lleva dentro de la tribu Simulini. En mayor detalle se pudo visualizar que el puente postgenal era menos del 1/5 y los apóptoma cefálicos presentaban manchas a pares en la porción media y posterior, además de la lateral y basales. Los anillos anales presentaban 12 ganchos y 14.

Por otra parte se pudo diferenciar individuos que presentaban una coloración más bien pardusca a grisácea y la presencia de manchas en los apóptoma cefálicos era negativo, si bien eran pocos ejemplares (2), es muy probable que sea un registro nuevo para la provincia o simplemente dimorfismo intraespecífico. Estos ejemplares no pudieron ser clasificados pero al fin de la investigación no es de importancia ya que el número de estos era muy bajo y se encontraban junto a las demás larvas, por lo tanto serán eliminadas junto a los Simúlidos objetivos del trabajo. De igual forma se seguirá trabajando sobre estos ejemplares hasta realizar la clasificación correcta.

#### **2.1.4 Especies identificadas en el efluente del embalse Casa de Piedra**

Las especies que se registraron, pertenecen a un género, llamado *simulium*. el cual es el más abundante en todo el sur de la Argentina. Las especies registradas son *Simulium (Psaroniocomsa) jujuyense* Enderlein y *Simulium (Psaroniocomsa) bonaerense* Coscaron y Wigodzinsky.

Muy probablemente se encuentre también *Simulium (Ectemnaspis) wolffhuegeli* Enderlein, ya que está registrada para el Río Colorado y el norte de la Patagonia por Coscarón-Arias, Cecilia L. y Coscarón Sixto.

## **2.2 Tarea N° 2**

Los Simúlidos se distribuyen en forma discontinua dentro de un mismo río, estando influenciado por diferentes variables ambientales. Estas pueden ser: velocidad del agua, cobertura vegetal del fondo del río, tipo y cantidad materiales arrastrados en suspensión en el río, tasa de sedimentación de estas partículas, cantidad de luz etc.

Por lo tanto la detección de estas zonas de proliferación así como la determinación de la densidad que justifique la aplicación del producto, proveerán de mayores beneficios tanto económicos, como objetivos del proyecto.

Las actividades consistió en: **“Detectar los puntos de mayor densidad poblacional de larvas y eliminarlas con fumigaciones con Bti.”**

### **2.2.1 Notificaciones previas al desarrollo de la actividad N°2.**

#### **2.2.1.1 Notificación a entes provinciales y nacionales reguladores de las actividades en Río Colorado**

Con respecto a la fumigación en sí, ante cualquier acción a llevar a cabo sobre las aguas pertenecientes al Río Colorado, se debe proceder a solicitar la aprobación y/o notificar ante diferentes entes provinciales y nacionales reguladores de las actividades sobre este río, el desarrollo de dichas actividades.

A continuación se detallara las leyes explicar las acciones que se realizaron para la aprobación de aplicaciones puntuales de Bti (*Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis*).

El Río Colorado, donde fueron detectados los Simúlidos, es un límite geográfico natural interprovincial entre varias provincias (en nuestro caso la provincia de Río Negro y La Pampa). Es un recurso de vital importancia para la región, pues abastece necesidades de irrigación para las actividades agrícola ganaderas y de agua potable para los pueblos y ciudades a sus márgenes, por lo tanto es altamente sensible y vulnerable a los incidentes contaminantes, como así también a la contaminación operativa.

Dicho curso de agua se encuentra regulado por COIRCO (Comité Inter-jurisdiccional del Río Colorado), el cual se encarga de estudiar todo lo relativo a la regulación, aprovechamiento y distribución de las aguas del Río Colorado.

Este comité es también la autoridad de aplicación de la ley 25.688, Régimen de Gestión Ambiental de Aguas, que establece en su artículo 5° la utilización de las aguas como:

- *La colocación, introducción o vertido de sustancias en aguas superficiales, siempre que tal acción afecte el estado o calidad de las aguas o su escurrimiento.*

También se necesitó la aprobación del gobierno provincial por parte de la ley 25.675, Ley General del Ambiente, ya que entre sus principios se encuentra el siguiente:

- *Principio de solidaridad: La Nación y los Estados provinciales serán responsables de la prevención y mitigación de los efectos ambientales transfronterizos adversos de su propio accionar, así como de la minimización de los riesgos ambientales sobre los sistemas ecológicos compartidos.*

En nuestra provincia contamos con la ley 1.914, Ley Ambiental Provincial, que en sus artículos 30° y 34° mencionan:

- Artículo 30.- La autoridad de aplicación, en coordinación con los demás organismos competentes de la Provincia, llevará y mantendrá actualizado un registro de actividades riesgosas y contaminantes.
- Artículo 34.- Será organismo de aplicación de la presente Ley la Subsecretaría de Ecología, sin perjuicio de la incumbencia ambiental de cada una de las reparticiones provinciales.

Y en su decreto reglamentario 2139/03, aspectos generales-objeto, se observan las líneas:

- El deber de todos los habitantes de proporcionar a las autoridades provinciales la información que éstas requieran en el ejercicio de sus atribuciones para el control y vigilancia del ambiente;

- El derecho del Estado Provincial a supervisar y controlar la implementación de prácticas adecuadas en la utilización de los recursos naturales;

Por lo tanto, para dar inicio a las actividades pertinentes primero debe obtenerse y presentarse los permisos y aprobaciones correspondientes ante las autoridades ya mencionadas, con el fin de que las partes actuantes estén debidamente notificadas y de acuerdo con las acciones a seguir.

### **2.2.2 Detección, presencia y ausencia de larvas de Simúlidos**

Debido a la creciente del Rio Colorado. Las aéreas a fumigar ya determinadas en la tarea N°1 se encontraban bajo 1 a 1,5 metros de agua, esto fue debido a una liberación de mayores caudales de parte de la empresa reguladora.

El embalse cuenta con 3 actividades principales:

- 1) Regulación de crecidas
- 2) Riego de la zona
- 3) Producción de electricidad

Gracias a que la producción de electricidad es la única de estas actividades que le proporciona ganancia a la empresa, la mayor parte del año liberan un caudal que es denominado “caudal ecológico”, el cual está pautado para mantener la vida en el rio y sus zonas aledañas. Este caudal es de 25m<sup>3</sup>/s, pero puede ser mayor en los momentos que el embalse se encuentre en un límite de agua determinado por le empresa, para que este no supere los parámetros de contención del agua, ver Tabla 1.

Otra de las modificaciones en el caudal es el consumo productivo, para el momento de nuestra última visita ya se había definido la cantidad de hectáreas a regar rio abajo y por lo tanto el embalse desde hace casi 2 meses estaba evacuando un caudal de 60m<sup>3</sup>/s a 100m<sup>3</sup>/s, variando entre esos valores entre semanas.

Por tal motivo, las zonas de mayores densidades determinadas cercanas a la orilla, en los meses de junio de 2011, se encontraban 1 a 1,5 metros bajo agua, habiéndose generado una nueva orilla, borrando 3 metros de playa costera.

Por este inconveniente tuvo que realizarse un nuevo muestreo para definir donde se encontraban las nuevas aéreas de alta densidad larval, y así poder fumigarlas.

Pero si el río va a modificar su caudal dependiendo de factores productivos y económicos durante todo el año, es un trabajo constante para la ubicación de estos puntos de alta densidad larval, el que debe realizarse para el control de simúlidos, por lo menos en los primeros kilómetros luego del embalse.

El punto donde se determinó densidad pre y post aplicación fue en el punto N° 10 perteneciente al primer informe parcial, de dicho proyecto. Esto fue debido a la inaccesibilidad del terreno. Las aplicaciones de Bti se llevaron a cabo por medio de anillos sólidos y no bti en fase líquida. Estos anillos fueron colocados dentro de bidones de 5 litros en un número de 25 (Fig. 3). A estos bidones se los anclo dentro del río, además de ser perforados para que el producto fuera liberado gradualmente. Previa a esta aplicación se censo el número de estadios larvales de simúlidos en una transecta de 100 metros. Luego se procedió con la aplicación del producto en la forma anteriormente descrita y se determinaron el número de larvas en la transectas posterior a la aplicación.

### **2.2.3 Efecto de Bti a los 3 (tres) días de aplicación sobre larvas de Simúlidos**

El número de larvas que se aprecian en la tabla 2, prácticamente no fluctuaron ante la aplicación de bti en forma de anillos sólidos a los tres días de su aplicación. De esto se puede concluir que este producto en dicha modalidad de aplicación es inocuo para larvas de simúlidos en el Río Colorado. Pero nosotros creemos que su efectividad no pudo ser apreciada por el escaso tiempo de muestro, teniendo en cuenta que las larvas deben morir por inanición. Por lo tanto se procederá a realizar un relevamiento al mes de la aplicación con el fin de determinar si el producto tiene eficacia a largo plazo. De ser así estos datos nos permitirían concluir con el objetivo

o parte del proyecto. Que sería generar el conocimiento suficiente como para disminuir la población de simúlidos.

#### **2.2.4 Detección presencia y ausencia de larvas de Simúlidos**

Partiendo desde la represa en dirección río abajo se recolectaron ejemplares de plantas pertenecientes a la especie *Myriophyllum quítense*, que pertenece a la familia Haloragaceae, y de la especie *Stuckenia striata* perteneciente a la familia Potamogetonaceae. Se detecto presencia de larvas de Simúlidos en el punto cuyas coordenadas son 15,498'S, 67°11,436'O, en este punto se pudo apreciar la presencia de *Myriophyllum quítense*, a orillas del río, las cuales posterior al crecimiento del este no se encontraron ni Simúlidos ni *Myriophyllum quítense*, luego de 2 meses *Myriophyllum quítense* recolonizo esta zona, permitiéndoles a los estados larvales de Simúlidos también colonizar nuevamente la periferia del río. Una vez detectadas las larvas y tomadas las coordenadas se procedió a realizar los cálculos correspondientes para poder determinar la cantidad de Bti y la velocidad a la cual se debe verter para tener un óptimo resultado.

#### **2.2.5 Segunda aplicación de Bti (fase liquida)**

En el presente bioensayo se utiliza Introban, compuesto por Bti en fase liquida, cuyo agente activo es una proteína formada por una bacteria llamada *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* cero tipo H14. La cantidad de Bti a aplicar depende de diferentes variables, como por ejemplo la velocidad del cuerpo de agua lotico, densidad de larvas. La variable más importante a tener en cuenta es el caudal del río o en el sector del río a tratar, ya que este va a diluir el producto y este es solamente activo en ciertas concentraciones. La concentración de Bti a utilizar en la presente actividad correspondiente al estudio "Control de Paquitas (Diptera: Simuliidae) en Villa turística Casa de Piedra", fue Bti en fase liquida a aplicar por criadero detectado es de 15,6 gramos por segundo de Bti en fase liquida en forma continua durante 10.6 minutos, en un punto fijo. Utilizándose un total de 10 litros por punto de

aplicación (Fig.4). Los resultados son de la aplicación, si fue efectiva o no para eliminar o controlar la densidad larvaria de Simúlidos se presentan en la tarea N° 7.

### **2.3 Tarea N° 3**

Investigar y recolectar información de fuentes fiables, sobre las especies presentes en un área de estudio es de crucial importancia. Primero nos permite predecir en que lugares se pueden encontrar ejemplares de estas especies que no hayan sido monitoreados previos a la lectura de bibliografía adecuada. También permite lograr pronosticar si ante diferentes fluctuaciones de ciertos factores ambientales, como temperatura, heliofanía, velocidad del viento, ph, salinidad, velocidad del agua, etc. las poblaciones aumentaran o disminuirán su densidad, si realizaran actividad de oviposición, si los adultos emergerán o permanecerán en formas preimaginales, así como en qué estado preimaginal se encontraran. De esta manera a la hora de realizar controles adaptativos sobre determina especie, conocer su respuestas ante diferentes variables pueden determinar la factibilidad del manejo de control.

Si bien fueron detectadas dos especies del género *Simulium*, debido a registros anteriores, obtenidos de la bibliografía consultada, también se procederá a desarrollar las características ecológicas y comportamentales obtenidas de publicaciones de carácter científico de la especie *Simulium (Ectemnaspis) wolffhuegeli* Enderlein.

La tarea N°3 consistió de la siguiente actividad: **“Lectura informativa e investigación sobre el ciclo biológico y características ecológicas de la especie pertenecientes a la familia de simuliidae en cuestión.”**

#### **2.3.1 Características ecológicas de *Simulium jujuyense*, *Simulium bonaerense* y *Simulium wolffhuegeli*.**

Las especies de Simúlidos presentan el estado larval acuático, al igual que el estado de pupa. Nuestros estudios se focalizaran sobre la larva ya que esta margina necesariamente a cuerpos de agua. Estos cuerpos de agua deben presentar

movimiento, “cuerpos de agua continentales loticos”. Estas especies están registradas para todo el cono sur de la Argentina.

Según la profundidad las larvas y pupas viven en su mayoría próximos a los 50 cm. Solamente alcanzan mayores profundidades cuando las aguas son muy cristalinas.

La velocidad de la corriente también es un factor determinante de la distribución de estas especies. Estas especies presentan reofilia positiva. Al utilizar el oxígeno disuelto en el agua y las partículas orgánicas en suspensión, a mayor velocidad mayor volumen de agua filtrarán y mayor será la cantidad de partículas que podrán filtrar. Por lo tanto la velocidad es un factor muy estricto de su nicho ecológico. Solamente *S. jujunyense*, considerada a una especie de llanura, pueden vivir en cursos de agua con una baja velocidad, siendo registradas en cursos de agua de 2 cm./seg. velocidad mínima. Aunque *S. jujunyense* igualmente puede ser encontrada en aguas que alcancen una velocidad de hasta 50 cm./seg.

Jörg (1958) da datos comparativos de la cantidad de mesoplancton: en arroyos de baja velocidad donde vive *S. jujuyense*, alcanza 100 cm<sup>3</sup> por m.<sup>3</sup> de agua filtrada, en cambio en aguas más veloces obtuvo cifras de 10 cm<sup>2</sup> por m<sup>3</sup>. Este autor considera que en corrientes con velocidades inferiores 20 cm./seg. Es necesario que el contenido de plancton en superficies sea de alrededor de 100 cm<sup>3</sup> para que críen larvas de simuliidae.

Las tres especies están consideradas como especies antropófilas. Aunque se ha registrado picaduras por parte de estas especies en otros mamíferos. Además hay registros de que hay diferencia en las zonas de preferencia para realizar la actividad hematofágica sobre el hospedador. *S. jujunyense* pica sobre el rostro y los miembros anteriores y *Simulium wolffhuegeli* cuando pican sobre equinos lo hacen sobre el pabellón del oído, en cambio *S. jujunyense* lo hace en el abdomen del animal.

La temperatura es un factor de gran importancia en el área de estudio. En temporadas de bajas temperaturas no se han registrado adultos, a diferencia de las temporadas de alta temperatura. Solamente *Simulium wolffhuegeli* presenta datos en la bibliografía de una amplitud térmica que le permite soportar los calores de verano. Aunque muchas veces los datos empíricos contradicen a la bibliografía y los

controles se deben ajustar al comportamientos de las especie en las circunstancia dadas.

La heliófania influye en forma positiva a la cría de larvas de Simúlidos. Estas se mueven hacia las zonas donde la luz es mayor y durante mayor tiempo. 15

Probablemente debido a que la productividad de las zonas iluminadas, siempre refiriéndose a las diatomeas que son la fuente principal de alimento de estas larvas.

Estas tres especies son prácticamente las únicas que pueden sobrevivir en aguas turbias. Si bien la turbidez no es un factor determinante si lo es el material en suspensión que transportan las aguas. Lo cual generan una baja productividad de algas (alimentos de Simúlidos) y dificultar la alimentación de las larvas debido a la acumulación de partículas en las en los abanicos cefálicos.

Con respecto a la salinidad la mayoría de las especies de la familia Simulidae son sensibles a esta variable. Pero las especies presentes en el Rio Colorado han sido registradas en condiciones que para otras especies sería contraproducente y letal.

El tamaño del curso de agua también es determinante en la presencia de las especies, en la bibliografía si bien mencionan a estas tres especies solamente en lechos de pequeños a medianos. En los muestreos correspondientes a la tarea N°1 se las detecto en lechos mayores del Rio Colorado.

### **2.3.2 Bibliografía consultada**

- Coscaron S. 1981. Fauna de agua dulce de la Republica Argentina. *Fecic*.Vol. XXXVIII. Fasciculo 1 Simulidae.105pp.
- Henry A. A. y González C. R. Influencia de la temperatura del agua en la distribución de estados inmaduros de simuliidae (diptera, insecta) en el río lluta, arica, chile. *IDESIA*. Vol 26: 45-459.
- Martínez Ruiz, R. E., Rubio, M. P.1999.Estudio faunístico y ecológico de los smúlidos (Diptera, Simuliidae) del Río Cidacos a su paso por La Rioja. Zubia. Monográfico,N°11. 60-80 pp.

- Coscarón S. y Wygodzinsky P. 1984. Notas sobre Simúlidos neotropicales VII. Sobre los Subgéneros *Psaroniocompsa* Enderlein y *Naequalium*, Subden. Nov. Arq. Zool., S. Paulo. Vol 31(2): 37-103.
- Itibere da Cunha M. C., Coscarón S. Y Azevedo de Bassi, R. M. 1998. Determinación de los estadios larvales de *Simulium* (díptera, Simuliidae) de Paraná, Brasil. *Acta Biol. Par.* 27 (1,2,3,4,): 57-66.
- AJ Shelley A. J., Hernández L. M. y Davies J .B. 2004. Blackflies (Diptera: Simuliidae) of Southern Guyana with Keys for the Identification of Adults and Pupae - A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* Vol. 99(5): 443-470.
- J. Shelley. 1991. Simuliidae and the Transmission and Control of Human Onchocerciasis in Latin America. *Cuadernos de Saúde Pública.* 7(3): 310-327.
- Hernández, I. m., Montes de Oca f., Penn m., Massaferro j. Marré a. y Brooks s. j. 2009. "Jejenes" (Diptera: Simuliidae) of Nahuel Huapi National Park, Patagonia, Argentina: Preliminary results. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 68 (1-2): 193-200.
- Vergara, V. Salas L. y Camino N. 2010. Ocurrencia, Prevalencia e Incidencia Parasitaria de Mermithidae (Nematoda) en Larvas de *Simulium* (*Ectemnaspis*) *wolffhuegeli* Enderlein en un Curso de Agua de Catamarca. *Huayllu-Bios.* Nº 4.74.
- Jean-marc h.,' Escaffre, h., Darriet f., Lochouarn I., Riviere f. and Back c. An episode of resistance to permethrin in larvae of *simulium* sp. *uamosum* (diptera: simuliidae) from cameroon, after 3% years of control. *journal of the american mosquito control.* Vol 2:184-186.
- Zeledón R. y Vieto P. L. 1957. Contribución al estudio de los Simúlidos de Costa Rica (Diptera: Nematocera).- Sobre el *Simulium panamense* Fairchild, 1940. *Rev. Bioi. Trop.* 5(1):20-33.
- Lewis, d. j. y r. Ibañez de Aldecoa. 1964 Los simulidos y su relacion con la oncocercosis humana en -venezuela septentrional. *Boletin de la oficina sanitaria Panamericana.* 37-54.
- Arevalo, I. A. L. 2010. Presencia de Simúlidos Ornitofílicos en el Parque Nacional Natural (PNN) Chingaza: Implicaciones en la Transmisión del Hemoparásito *Leucocytozoon* sp. Tesis de Magíster, Universidad Nacional de

Colombia ,facultad de medicina maestría en infecciones y salud en el trópico pp.

- Franco, R. R. S. 1994. Ecología larvaria de tres especies de Simuliidae (diptera :nematocera) en una comunidad endémica de Oncocercosis del sur de México. Tesis de Magíster, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas.86 pp.

#### **2.4 Tarea N° 4**

El constante perfeccionamiento de los integrantes del proyecto lo creemos totalmente necesario para mantener actualizado los conocimientos y formas de analizar los datos obtenidos así como la forma de discernir diferentes problemáticas y obstáculos que se van presentando en el desarrollo de las actividades del proyecto.

La tarea N° 4 consistió en: **Perfeccionamiento en la temática de estudio, con asesoramiento y entrenamiento por parte del instituto dependiente del CONICET C.E.P.A.V.E (Centros de Estudios Parasitológicos y Vectores) y el Museo de La Plata, en caso de ser necesario.**

El perfeccionamiento por parte de estos dos entes no pudo lograrse en términos legales, a pesar de solicitarlo. El motivo fue por el hecho de no presentar disponibilidad horaria y así el asesoramiento en esta temática no se realizó dentro de la infraestructura de estas dos grande instituciones de gran prestigio en el ámbito académico y no fue posible el acceso a las vastas colecciones entomológicas. Pero por otro lado, si tuvimos asesoramiento mediante comunicaciones personales vía mail y telefónicas con investigadores pertenecientes al C.E.P.A.V.E (Centros de Estudios Parasitológicos y Vectores) instituto dependiente del CONICET. En las comunicaciones fuimos asesorados con:

- **Técnicas de aplicación con larvicidas:** en este asesoramiento nos recomendaron la aplicación de Bti que constato con cepas de *Bacillus thuringiensis* variedad *israelensis* H14, la cual es estrictamente nocivo contra organismos pertenecientes a las familias Simuliidae y Culicidae. Además de

indicarnos las concentraciones que ellos estuvieron utilizando en la cuenca del Río Salado, pcia.de Buenos Aires, También recomendaron aplicaciones cada 15 días, si bien estas indicaciones surgen de experiencias realizadas por este investigador, no son aplicables en nuestra área de acción, ya que los ríos son totalmente diferentes en lo que respecta al caudal. A pesar de la diferencia en los ríos anteriormente mencionada, las técnicas de aplicación así como el producto a aplicar están siendo utilizadas en este proyecto, variando solamente la concentración y cantidad de producto a utilizar, dependiendo del caudal del Río Colorado, que es nuestra área de estudio. El asesoramiento mediante comunicaciones personales fueron realizadas por parte del Dr. Horacio Marino.

- **Metodología de recolección de ejemplares de Simúlidos:** como bien en el primer informe del proyecto titulado:” CONTROL DE PAQUITAS (DIPTERA: SIMULIIDAE) EN VILLA TURÍSTICA CASA DE PIEDRA” dimos características tanto ecológicas como morfológicas de las larvas de simúlidos y unas de estas era: la capacidad de sujetarse fuerte mente a las superficie de vegetales acuáticos presentes en el rio y la necesidad de fuertes corrientes de agua para sobrevivir. Esto genera una dificultad en la recolección de estos ejemplares. La técnica de recolección utilizada, detallada en la tarea N° 2, fue instruida por Prof. Gustavo C. Rossi y Dr. Horacio Marino, ambos investigadores de C.E.P.A.V.E (Centros de Estudios Parasitológicos y Vectores) instituto dependiente del CONICET.
- **Aportes bibliográficos:** gran parte de la bibliografía utilizada en el perfeccionamientos, actualización e incremento en el conocimiento de la temática en cuestión, fue proporciona vía mail por Prof. Gustavo C. Rossi y Dr. Horacio Marino, ambos investigadores de C.E.P.A.V.E (Centros de Estudios Parasitológicos y Vectores) instituto dependiente del CONICET.

Cabe mencionar también que se realizó un curso de Nomenclatura Taxonómica en el Museo Bernardino Rivadavia, Capital Federal, provincia de Buenos Aires. A cargo de la Dr. Cristina Scioscia y Dr. Bachman A. O. El curso consto con 40 horas reloj, cursadas en 5 días de la semana más examen final de aprobación. En el mes de Agosto de 2011. Todos los exámenes, cursada, y prácticos fueron aprobados satisfactoriamente.

Programa del correspondiente curso:

1. Sistemática y taxonomía zoológicas. Breve historia de las clasificaciones del reino Animalia. Los sistemas de Aristóteles y de Linné, y sus antecedentes. Criterios de la clasificación de los animales; su necesaria heterogeneidad. Rápida reseña de las bases de la taxonomía moderna. Taxones 'naturales' y 'artificiales'. Taxones monofiléticos y polifiléticos; los parafiléticos. La taxonomía filogenética.

2. Necesidad de un sistema de nomenclatura zoológica. Los sistemas anteriores a Linné, especialmente el de Ray. La 10ª edición del *Systema Naturae* (1758). Relación entre taxonomía y nomenclatura. Inestabilidad inevitable.

3. Rápida reseña de la legislación sobre nomenclatura zoológica, antecedentes. El primer congreso internacional de Zoología (París, 1889). La comisión internacional (Leiden, 1895, Cambridge, 1898). El quinto congreso (Berlín, 1901). Las reglas internacionales (1905), sus adiciones y enmiendas. El código internacional (1961, 1964, 1985, 1999). El *Bulletin of Zoological Nomenclature*. El proyecto BioCode.

4. Principios básicos del código: estabilidad, claridad y universalidad de la nomenclatura. Ordenamiento del código y sus apéndices; artículos y recomendaciones. Independencia de la nomenclatura zoológica. Nombres excluidos. Criterios de 'publicación' y de fechas de publicación. Niveles taxonómicos incluidos, grupos especie, género y familia; status coordinado en cada uno; niveles excluidos y su tratamiento nomenclatorial. Acciones nomenclatoriales. Criterio de nombre disponible y de *nomen nudum*, en general y para cada grupo; fechas para su aplicación. La ley de homonimia; excepciones. El *Nomenclator Zoologicus* de Neave (1940), sus antecesores y su continuidad. Nombre válido, ley de prioridad, excepciones. Sinónimos objetivos y subjetivos. Tratamiento de nombres de ejemplares y de taxones mal identificados, y de sinónimos. El *nomen oblitum*.

5. Formación de nombres, reglas generales. Características gráficas. Ortografía. Transliteraciones. Nombres de los taxones de los grupos especie, género y familia. Binomen y trinomen. Concordancia gramatical. Grafías correctas e incorrectas, su interpretación y su tratamiento; uso del guión. Nuevas combinaciones. Sufijos de los nombres del grupo familia. Enmiendas justificadas e injustificadas, su tratamiento. Citación del autor y de la fecha de publicación.

6. Tipos, conceptos generales. Especie tipo y género tipo, su designación original y ulterior, y por indicación. Caso de los grupos colectivos y de los icnotaxones. Casos de taxones tipo mal identificados. Ejemplares tipo de taxones de grupo especie, su valor; su conservación y rotulación. Tipos portadores de nombre: *typus* (=holotypus), *syntypi*, *hapantotypus*, condiciones para la designación del *neotypus*. Tipos no portadores de nombre: *paratypi*; caso del *allotypus*. Designación de *lectotypus* y *paralectotypi*; uso del término '*cotypus*'. La situación de los *metatypi* y *homoeotypi*. Localidad tipo, estrato tipo, hospedador tipo. Los '*topotypi*'.

7. Atribuciones de la Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica; casos en que interviene; ejercicio de sus '*plenos poderes*'. La constitución y el estatuto. Opiniones y correcciones oficiales. Las declaraciones (enmiendas provisionales del código). Validez y perdurabilidad de las decisiones. Las listas oficiales y los índices. Situación de los casos en trámite. Autoridad para las enmiendas definitivas del código.

## **2.5 Tarea N° 5**

Generalmente todos los insectos se comportan como R estrategas, esto consta en la producción masiva de filiales en las primeras épocas de oviposición del año o temporada. Esto asegura una gran cantidad de descendencia a partir de una baja densidad de parentales. Luego de la temporada cesan las oviposiciones, quedando solamente los estados capaz de soportar las condiciones adversas. Una vez que el ambiente se torna favorable comienza nuevamente el ciclo, con incrementos exponenciales de individuos.

La finalidad de la tare N° 5 es intentar cortar con este ciclo, mediante la eliminación de de los primeros adultos emergidos.

La tarea N° 5 consistió en: **Detección de las primeras emergencias de adultos posterior al invierno para actuar tempranamente y prevenir las primeras oviposiciones del año. La prevención de las mismas se llevarán a cabo mediante la eliminación de estados de adultos de simúlidos con productos insecticidas, influyendo negativamente en la dinámica poblacional.**

### **2.5.1 Detección de adultos de simúlidos**

Desde el mes de julio hasta noviembre de 2011, una vez por mes se procedió con el intento de captura de individuos adultos pertenecientes a la familia Simuliidae. Se utilizó red entomológica y sebo humano. Para estandarizar los muestreos sobre una persona se realizaron 10 brazadas con la red entomológica. Luego la red se introduce dentro de una refrigerador a  $-18^{\circ}\text{C}$  durante dos horas, ocasionando que los ejemplares, en caso de ser capturados, perezcan o permanezcan adormecidos, permitiendo la rápida y fácil determinación a nivel de Familia.

Las áreas de captura fueron dos, una fue dentro de la Villa Turística Casa de Piedra ( $38^{\circ} 13,300'S$ ,  $67^{\circ}11,171'O$ ) y el segundo fue a dos kilómetros del primer punto sobre las orillas del Río Colorado ( $38^{\circ} 15,498'S$ ,  $67^{\circ}11,436'O$ ). Si bien las primeras emergencias de los adultos van a ser detectadas en cercanías del Río Colorado, sobre estos no se podrá actuar con insecticidas, ya que estos productos no son como Bti, sino que son órganos fluorado, clorado o fosforados. Estos productos se caracterizan por tener una alta residualidad y ser tóxicos para diferentes cordados acuáticos. Pero una vez que se detecte los adultos dentro de la Villa Turística Casa de Piedra si se procederá a su eliminación.

Hasta el momento se capturaron solamente dos hembras en cercanías del río fueron detectadas en el mes de noviembre, si bien es el comienzo del periodo de oviposición, la densidad de adultos no es alta como para justificar aplicaciones de insecticida. Además en cercanías de La Villa Turística no se han detectado aun adultos.

### **2.6 Tarea N°6**

A la hora de realizar controles sobre poblaciones de Culícidos o Simúlidos, se debe ser realmente cauteloso con los productos a utilizar. En la actualidad el producto más utilizado en el mundo es Bti. Para combatir los adultos, los insecticidas que se utilizan varían con el organismo a combatir y en las zonas a aplicar. Dependiendo de la actividad humana. Muchos de estos compuestos presentan una alta residualidad. Así, los compuestos organofosforados deben ser evitados ya que son altamente tóxicos. Para evitar contaminaciones de cuerpos de agua y prevalecer la salud

humana se recomiendan aplicar productos de bajo poder residual y toxicidad. Uno de los compuestos que presenta estas características es la  $\beta$ -Cipermitrina.

La actividad de la Tarea N°6 comprendió en: **“Asesoramiento, información y formación curricular concerniente al insecticida: composición química, comportamiento, toxicidad, técnicas de aplicación y seguridad.”**

### **2.6.1 Asesoramiento**

El asesoramiento se llevo a cabo mediante comunicación personal mediante via telefónica y mail, con profesionales y laboratorios interiorizados en el tema. Los cuales proveyeron de bibliografía y por medio de comunicación telefónica (la comunicación fue telefónica debido a que el profesional se encontraba realizando manejos de control en la República de Bolivia) dieron detalles las técnicas de aplicación implementadas por ellos.

En estas comunicaciones todos concordaron en la focalización del control sobre el estado larval del insecto en cuestión, usando Bti, el cual podía ser tanto de Introban, como H14. 18

Las técnicas de aplicación variaron dependiendo el caudal del río. Pero todos los profesionales convergieron en las mismas técnicas de aplicación. Cuando el curso de agua superaba 300 m<sup>3</sup>/seg. la aplicación no podría realizarse por vertido del producto rio arriba unos 100 a 200 metros a la zona donde se quiera realizar el impacto. Para río con menor caudal si se podía aplicar este método. El Río Colorado supera este caudal por lo tanto el método a utilizar será por pulverización, con pulverizadoras tipo mochila de 20 litros o más. Estas aplicaciones deberán realizarse sobre las orillas del río en las aéreas de mayor densidad larvaria que fueron detectadas en la tarea N° 2.

Los profesionales que nos asesoraron son ingeniero Guillermo Delgado, representante del laboratorio de “Chemotecnica”. y Dr. Horacio Marino perteneciente al Centro de Parásitos y Vectores Entomológico (CEPAVE).

## 2.6.2 Información de insecticidas

- **Bti:** EL producto que utilizaremos para la eliminación de los estados larvarios será BTi, el cual fue recomendado por todos los profesionales y laboratorios que fueron consultados. Este compuesto es de origen Biológico y no sintético como otros productos. Este consta de una solución en la que se encuentra en suspensión diferentes concentraciones de bacterias *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis*. Las cuales en Es una bacteria Gram-positiva, aerobia estricta, que durante su ciclo de vida presenta dos fases principales: crecimiento vegetativo, donde las bacterias se duplican por bipartición, y esporulación, que produce cristales parasporales que contienen  $\delta$ - endotoxinas responsables de su actividad insecticida selectivo durante la III a V paso de la esporulación. En mayor detalle produce tres toxinas Cry (Cry4A, Cry4B y Cry11A) y dos toxinas Cyt (Cyt1A y Cyt2A) con alta actividad insecticida contra larvas de diferentes especies de mosquitos y otros dípteros. Después de la ingestión de insectos susceptibles, estos cristales se disuelven en la luz del intestino medio. Bajo la acción de las proteasas intestinales, las endotoxinas se convierten en toxinas activas que se unen a los receptores presentes en las microvellosidades, causando daños a la fuerte las células epiteliales del intestino medio Esto significa que para matar a su insecto blanco, las toxinas Cry y Cyt se insertan en la membrana de las células apicales del intestino formando un poro que permite el paso de iones y agua, provocando un desbalance osmótico y finalmente la lisis celular. Sin embargo, las toxinas Cry y Cyt tienen mecanismos diferentes para interactuar con la membrana. Es importante mencionar que el mecanismo más altamente inocuo para diferentes mamíferos y vertebrados, según la bibliografía y los profesionales consultados. La forma de aplicación de este producto puede ser en fase líquida o en forma de anillos los cuales en contacto con el agua comienzan a liberar cristales, de la endoproteína anteriormente mencionada, gradualmente.
- **Beta-cipermetrina** La Beta-cipermetrina es un compuesto sintético. La fórmula molecular es la siguiente  $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$ . La nomenclatura es Mezcla con relación 2:3 de (1R)-cis-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-

dimetilciclopropano carboxilato de (S)-alfa-ciano-3-fenoxi-bencilo y (1S)-cis-3-(2,2-dicloro vinil)-2,2-dimetilciclo-propano carboxilato de (R)-alfa-ciano-3-enoxibencilo con (1R)-trans-3-(2,2-diclorovinil)-2,2 (dimetilciclopropano carboxilato de(S)-alfa-ciano-3-fenoxibencilo,(1S)-trans-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato de (R)-alfa-ciano-3-fenoxibencilo. Este compuesto es llamado vulgarmente órgano clorado, pero dentro de los piretroides de uso común es el de menor toxicidad. Esto viene aparejado con un menor poder de volteo, o sea dentro de los piretroides es uno de los de menor eliminación de adultos. Pero es aconsejable utilizarlos por su baja permanencia en el ambiente. Por lo tanto es utilizable en hogares y parques recreativos. Generalmente es aplicado en emulsión junto a gasoil para que permanezca más tiempo en suspensión. Cuando se aplica es te producto hay que tener en cuenta la humedad, lo que permite que el producto se mantenga mayor tiempo en suspensión y el viento. El viento es un factor realmente relevante, si re fumiga con este producto el mismo viento puede desplazarlo hacia zonas no deseadas. Por lo tanto siempre hay que ser precavido con los cuerpos de agua, esta precaución es regla general para todos los insecticidas menos el Bti. Ya que en contacto en el caso particular de la Beta-cipermetrina es considerada altamente toxica para peces e insectos acuáticos y levemente para aves acuáticas. Si bien en el área de estudio ya se está aplicando este producto por es de vital importancia que se realice un manejo premeditado con el fin de que el piretroide no llegue a entrar en contacto con el agua del embalse. Si y solo si se respeta esta condición la Beta-cipermetrina es el insecticida correcto para el control de Simúlidos adultos en Casa de Piedra.

## **2.7 Tarea N° 7**

Determinar si el número por superficie cuadrada de ejemplares de Simúlidos previa y posteriormente a aplicación de Bti tiene como finalidad determinar la efectividad de dicho producto como control de estos insectos. Por lo tanto provee de evidencia para la selección del insecticida más eficiente. Generando una optimización del uso de los fondos a la hora de realizar fumigaciones de mayor proporción.

Por lo tanto la tarea N° 7 consistió en: “Relevamiento de densidad previa y posterior a cada aplicación de insecticida, con el fin de verificar la efectividad del método aplicado.”

### **2.7.1 Censo de densidad larvaria pre y post aplicación**

Luego de determinar la presencia o ausencia se procedió con el censo de densidad larvaria pre y post aplicación de Bti en fase líquida. Esta actividad consistió en determinar el número de *Myriophyllum quítense* por metro cuadrado a orillas del río. Esta macrofita se encontró en un promedio de 3,5 ejemplares por  $\frac{1}{4}$  de  $m^2$  de superficie. Los sustratos (*Myriophyllum quítense*) fueron inmersos dentro de baldes de 20 de litros de volumen, llenos de agua cristalina, durante tres minutos. Con el objetivo de que las larvas se desprendieran del sustrato a recolectado. Posterior a esta acción se retiró el sustrato extraído de la rivera y se recolectó, utilizando pipetas tipo Pasteur, las larvas que se encontraba dentro del recipiente.

Cada ejemplar en estadio larval fue colocado en tubo tipo eppendorf con alcohol al 80 % y rotulado simbólicamente. Representando este símbolo las coordenadas posicionales, fecha de captura y recolecto. Una vez en laboratorio se procedió con observaciones y conteo de ejemplares de Simúlidos, llevado a cabo con un microscopio estereoscópico a un aumento de 70 X de las larvas, para determinar el número de ejemplares presentes por cada *Myriophyllum quítense* colectada y luego poder determinar el número de larvas por  $m^2$ . Este procedimiento se realizó tanto antes de la aplicación de Bti fase líquida, así como posterior a esta aplicación.

En la tabla N° 3 se presentan la densidad larvaria y pupal antes y después de aplicación de Bti en fase líquida. Denominándose “pre-aplicación a la densidad previa a la aplicación y post-aplicación a la densidad posterior.

### **2.7.2 Análisis estadístico**

Una vez que se recolectaron los datos el siguiente paso fue determinar si hay diferencia significativa entre las densidades previas a la aplicación del producto larvicida, así como posteriores a estas acciones. Debido a que las muestras nunca

son similares el error de muestreo debe ser eliminado analizando los datos con algún estadístico que permite determinar diferencias entre las medias de ambos muestreos.

En primer lugar se opto por el test de análisis de varianzas, el cual posee dos supuestos para poder ser implementado. En el primer supuesto la distribución de la muestra debe ser normal. Tal supuesto puede ser testeado con el teste de Shapiro wilks. Este test arrojó que los datos no se distribuyen en forma normal por lo tanto optamos por analizar estos datos con el test no paramétrico de Mann-Whitney, ya que presenta solamente dos poblaciones. Para correr este estadístico y el anterior se utilizó el programa SPSS 20. A continuación se presentan los resultados de dichos análisis. El análisis se aplicó tanto como para densidad larval como para densidad pupal.

### **2.7.3 Resultados del análisis estadístico**

#### **2.7.3.1 Análisis estadístico de la densidad pupal**

##### **Rangos**

	muestra	N	Rango promedio	Suma de rangos
Nºpupas	pre aplicación	5	13,10	65,50
	Post aplicación	13	8,12	105,50
	Total	18		

##### **Estadísticos de contraste<sup>a</sup>**

	Nºpupas
U de Mann-Whitney	14,500
W de Wilcoxon	105,500

Z	-1,958
Sig. asintót. (bilateral)	,050
Sig. exacta (Sig. unilateral)]	,075 <sup>b</sup>

a. Variable de agrupación:  
muestra

b. No corregidos para los  
empates.

### 2.7.3.2 Análisis estadístico de la densidad larval

#### Rangos

	tratamien to	N	Rango promedio	Suma de rangos
Nºlarvas	pre	5	12,40	62,00
	post	13	8,38	109,00
	Total	18		

#### Estadísticos de contraste<sup>a</sup>

	Nºlarvas
U de Mann-Whitney	18,000
W de Wilcoxon	109,000
Z	-1,466
Sig. asintót. (bilateral)	,143
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,173 <sup>b</sup>

a. Variable de agrupación:  
tratamiento

b. No corregidos para los  
empates.

Estos resultados nos permiten concluir que no hubo diferencia significativa entre la densidad larvaria antes y después de la aplicación de Bti en fase líquida. La densidad de pupas previas y posteriores a la aplicación de Bti. Por lo tanto esto nos indicaría que Bti de Introbán H14 si es efectivo para el control de Simúlidos. Estos resultados, donde el número de larvas no fue alterado, pueden ser explicado con la recolonización de larvas provenientes de otros sectores del río. Teniendo en cuenta que estos insectos en estado larval son móviles. Por lo tanto no se vio alterado en número de larvas. En cambio las pupas son inmóviles y necesitan un tiempo entre 7 y 10 días para que las nuevas larvas puedan pasar al estado de pupas. De esta forma se puede explicar como el número de pupas si vario después de una aplicación y no así la densidad de larval.

## **2.8 Tarea N° 8**

Las fumigaciones a realizar deben realizarse bajo ciertas condiciones. La humedad por ejemplo genera que el insecticida permanezca durante más tiempo en suspensión aumentando las posibilidades de que este pueda ser llevado por el viento a zonas donde no se desea aplicar dicho producto. Otra característica de importancia es el nivel de toxicidad. Por lo tanto mantener informado al personal técnico que realice las aplicaciones del producto a utilizar es de suma importancia ya sea tanto para la efectividad en el volteo de insectos blanco como en la salud de los turistas y ambiente.

Debido a lo anteriormente mencionado la tarea N° 8 consistió en: “Presenciar las fumigaciones para controlar que sean realizadas de manera adecuada con respecto a los puntos clave de aplicación y dependiendo de las condiciones climáticas.”

### **2.8.1 Comunicación personal con técnicos**

Debido a que las aplicaciones de insecticidas adulticida no se realizan en forma programada con un tiempo suficiente de anticipación como para presenciarlas, se opto por comunicarnos con dicho técnicos en forma personal. De estas comunicaciones se nos informo la forma de operar a la hora de aplicar el producto.

Además el producto químico a utilizar en para el control de simúlidos en estado adultos. En el caso del larvicida se utilizó Bti y las aplicaciones fueron realizadas por el mismo profesional coordinador del presente proyecto y el técnico ayudante. En cada aplicación se tomaron todas las medidas preventivas.

### **2.8.2 Características del aduictida utilizado**

Ingrediente activo: Beta cipermetrina. Familia química: Insecticida piretroide. Nomenclatura: Mezcla con relación 2:3 de (1R) – cis – 3 - (2,2 - diclorovinil) -2,2 dimetilciclopropano carboxilato de (S) alfa - ciano - 3 - fenoxi- bencilo y (1S)-cis-3-(2,2-dicloro vinil) - 2,2 - dimetilciclo - propano carboxilato de (R) - alfa- ciano – 3 - fenoxibencilo con (1R) - trans -3- (2,2 - diclorovinil) - 2, 2- (dimetilciclopropano carboxilato de (S) - alfa - ciano - 3 - fenoxibencilo y (1S) – trans - (2,2 - diclorovinil)-2,2 - dimetilciclopropanocarboxilato de (R) - alfa-ciano-3-fenoxibencilo.

Formula molecular: C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>.

Ropa a utilizar durante las aplicaciones: Ropa de trabajo: Según las concentraciones dadas, usar overalls o uniforme de mangas largas y cabeza cubierta. Para exposiciones largas como en el caso de derramamiento usar trajes que cubran todo el cuerpo, totalmente cerrados como trajes de goma contra lluvia. Los elementos de cuero (tales como zapatos, cinturones y mallas de reloj) que se hayan contaminado deben ser sacados y destruidos. Lavar toda la ropa de trabajo antes de reusar (separadamente de la del hogar). Protección Ocular: Por salpicaduras, nieblas o exposición al vapor, usar anteojos protectores o protector facial. Protección respiratoria: Por salpicadura, niebla, o exposición al vapor, usar como mínimo una máscara purificadora de aire aprobado para pesticidas. Guantes: Usar guantes protectores de neopreno. Lavar bien los guantes con agua y jabón antes de sacárselos. Revise regularmente por pequeñas fisuras. Higiene Personal: Debe haber agua disponible en caso de contaminación de piel u ojos. Lavar la piel expuesta antes de comer, beber o fumar. Ducharse al finalizar el trabajo.

Toxicidad: Efectos crónicos por sobrexposición: en estudios con animales de laboratorio, la beta cipermetrina no causa toxicidad reproductiva, teratogenicidad, neurotoxicidad o carcinogenicidad en ratas.

Medidas de primeros auxilios: Ojos: Lavar con abundante agua limpia por al menos 15 minutos. Si hay irritación y persiste, llamar al médico. Piel: Lavar con abundante agua y jabón. Si hay irritación y persiste, llamar al médico. Inhalación: Trasladar a un ambiente no contaminado. Si hay dificultades respiratorias o molestias, llamar al médico. Ingestión: Tomar 1 ó 2 vasos de agua. Nunca dar nada por boca a una persona inconsciente, llamar al médico. Nota al médico: No administrar leche, crema u otras sustancias que contengan grasas vegetales o animales ya que ellas aumentan la absorción de beta cipermetrina. La estimulación del sistema nervioso central puede ser controlada por sedación, por ejemplo, con barbituratos. Puede causar sensaciones reversibles de piel (parestesia), las cremas comunes han sido encontradas útiles en la reducción de la incomodidad. El tratamiento es aislar al sujeto de la exposición, seguido por cuidados sintomáticos y de apoyo.

Acción en el medio ambiente: la beta cipermetrina es rápidamente hidrolizable bajo condiciones básicas (pH = 9) pero, bajo condiciones acídicas y neutras, la vida media puede ser de 20 a 29 días. La beta cipermetrina tiene una alta afinidad hacia la materia orgánica y presenta un Kow de 5 x 10. El material se degrada fácilmente y no es móvil en suelo. Toxicidad en Peces y Aves. La cipermetrina es considerada altamente tóxica para peces y artrópodos acuáticos. Se debe tener cuidado para evitar la contaminación del medio ambiente acuático. La cipermetrina es ligeramente tóxica para las aves.

Debido a estas características el producto utilizado es adecuado para este tipo de empleo, siempre y cuando no sea vertido al embalse tal como se les comunico al personal encargado de aplicarlo. La información más importante a la hora de realizar las acciones de control sobre adultos así como las medidas de seguridad fueron comunicadas en forma personal cumpliendo así con el objetivo de esta tarea. Una vez que se les ha informado al personal de las características del producto, corre por la propia responsabilidad de cada técnico en respetar las pautas o medidas preventivas a optar a la hora de realizar las tareas de fumigaciones.

## **2.9 Tarea N° 9**

Detallar el mes en el cual comienzan a emerger los adultos de o en si se mantienen las emergencias de adultos a lo largo de todos los meses del año, es de vital importancia para fijar las fechas de fumigación de adultos. Esta información además

nos permitirá comprender el ciclo biológico de estos insectos en sur de la provincia de La Pampa. Permitiendo determinar en cual momento del año son más susceptibles. Obteniendo así un mayor impacto en la densidad poblacional con un menor costo, o sea con menor cantidad de insecticida a aplicar y por consecuencia un menor impacto posible en el ecosistema.

Debido a lo anteriormente mencionado la tarea N° 9 consistió en: “Mantener la detección de emergencias para determinar el período en el cual es efectivo terminar las fumigaciones y proporcionar más información sobre el comportamiento del insecto.”

### **2.9.1 Procedimiento de detección de Simúlidos en estado adulto**

El procedimiento de detección de adultos de Simúlidos es relativamente sencillo ya que las hembras son atraídas por los humanos, son la fuente de proteínas para poder llevar a cabo la oviposición. Por lo tanto se utilizó como sebo al mismo operador y los estados adultos fueron colectados con red entomológica. Luego son sacrificados con bajas temperaturas y montados sobre un triangulo de medio centímetro de base pinchados con un alfiler entomológica y rotulados con lugar y fecha de captura. Los muestreos se realizaron desde 1 de marzo hasta 20 de diciembre de 2011. Registrándose adultos en los meses de marzo, abril, mayo y diciembre. Además se sabe de la presencia de adultos en los meses de enero y febrero por medio de comunicación personal con técnicos que realizan fumigaciones de adultos en Villa Turística Casa de Piedra. Durante los meses de junio, julio, agosto, septiembre, octubre y noviembre no se registraron adultos. Esto nos permite concluir que durante los meses de mayor temperatura es cuando están presentes los estados adultos de Simúlidos. También sería recomendado que las fumigaciones de adultos se intensificaran en el mes de mayo y febrero, sincronizada con fumigaciones con Bti en el rio en los puntos donde se detecto estadios larvales. También agregar una fumigación de larvas en el mes de julio, ya que las larvas fueron encontradas todo el año en el río. De esta forma el ciclo biológico de Simúlidos estaría interrumpido por las aplicaciones y la densidad de individuos bajaría notablemente para la temporada de reproducción del año próximo. De esta

forma se podría llevar un control eficiente y sin tener que tomar medidas y acciones durante todo el año, si no en los meses anteriormente mencionados

Representación de los meses donde se detectó emergencia de adultos de Simúlidos. Los casilleros negros representan los meses en los cuales se capturaron adultos.

ener	febrer	marz	abri	may	junio	juli	agost	septiembr	octubre	noviemb	diciem		
o	o	o	l	o		o	o	e		re	bre		

### **3 Conclusiones**

#### **3.1 Acciones de manejo previas**

Mediante siete meses de relevamiento, tanto en el embalse de Villa Turística Casa de Piedra y su efluente, se pudo establecer que los estadios larvales de Simúlidos (paquitas o jejenes) se encuentran únicamente en el Río Colorado. Estos están situados a partir de 1.5 km. desde el dique, río abajo, precisamente entre las coordenadas 38° 13,3'S, 67°11,1'O y 38° 15'S, 67°13'O. Además se los encontró solamente sobre macrofitas, las cuales son:

- 1) *Stuckenia striata* (Ruiz & Pav.) Holub perteneciente a la Familia Potamogetonaceae.
- 2) *Myriophyllum quitense* (Kunth) perteneciente a la Familia: Haloragaceae.

Por lo tanto las acciones realizadas previamente con insecticidas con el fin de controlar estados larvales de Simúlidos sobre el embalse realizadas años anteriores de Villa Turística Casa de Piedra fueron ejecutadas sin argumentos y en vano. Nuestros resultados sugieren que los esfuerzos de control deben dirigirse sobre en efluente del Embalse Casa de Piedra.

#### **3.2 Recomendaciones para el control larval de Simúlidos**

Para el control de estos insectos, se debe realizar aplicaciones de larvicida en las porciones del río anteriormente enunciadas donde fueron detectados. Dicho larvicida debe ser inocuo para la biodiversidad del río con el fin de evitar inconvenientes con autoridades provinciales de medio ambiente, autoridades correspondientes al Río Colorado y autoridades de provincias limítrofes. Por esto, su accionar debe ser altamente específicos sobre simuliidae. Por este motivo el producto que recomendamos es Introban, compuesto por Bti en fase líquida, cuyo agente activo es una molécula proteínica formada por una bacteria llamada *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* cero tipo H14.

A través de bioensayos, en la porción efluente del Río Colorado, se determinó significativamente la efectividad del producto con una disminución pupas, debido a la eliminación de larvas por lo cual disminuyó el número de pupas. Las larvas fueron recolonizando las áreas tratadas y por este motivo no se detectó diferencia significativa en la densidad larval antes y después de la aplicación. La diferencia de densidad de pupas fue hallada utilizando tratamientos con Bti, con un  $U = 14,5$  y  $p < 0.05$  analizado mediante el test no paramétrico de U de Mann-Whitney.

### **3.3 Aplicación de Bti de Introban**

La cantidad de Bti en fase líquida a aplicar por criadero detectado es de 15,6 gramos por segundo de Bti en fase líquida en forma continua durante 10.6 minutos, en un punto fijo. Utilizándose un total de 10 litros por punto de aplicación. El total de vertido de Bti se debe realizar en diez áreas en las cuales se detectó Simúlidos en estado larval, las cuales están comprendidas entre las coordenadas anteriormente detalladas. Las aplicaciones se deben realizar a 25 metros río arriba del área donde se desea que actúe el larvicida, con una periodicidad no mayor a 12 días. Los puntos de aplicación deben estar separados por 200 metros. Los meses en los cuales las fumigaciones serán óptimas son mayo y junio, debido a la disminución del caudal del río y la baja densidad de adultos, permitiendo interrumpir el ciclo biológico de las especies de Simúlidos presentes en la zona.

### **3.4 Futuras aplicaciones**

El precio actual de 10 litros de Bti en fase líquida de introban es de 2.334,45\$ (dos mil trescientos treinta y cuatro pesos con cuarenta y cinco centavos) pesos argentinos (precio sujeto a inflación y devaluación del peso).

Por lo tanto para realizar una correcta fumigación futura en todos los sectores donde se detectaron Simúlidos está estimada en 140.067 \$ (ciento cuarenta mil sesenta y siete pesos argentinos) omitiendo honorarios de mano de obra tanto técnica como profesional.

Cabe aclarar que los resultados a lograr son la disminución de la densidad poblacional de Simúlidos hasta un nivel en el cual que deje de ser un problema para la Villa Turística Casa de Piedra.

La erradicación total del insecto es una meta inalcanzable y ecológicamente errónea, ya que la desaparición de una especie puede generar nuevas problemáticas de índole semejante a la actual.

#### **4 Tablas y figuras**

##### **4.1 Tabla N° 1. Caudal medio mensual del efluente del Río Colorado 2011**

Mes	Caudal promedio erogado (m3/seg.)
Enero	121
Febrero	117
Marzo	94
Abril	67
Mayo	33
Junio	33
Julio	30
Agosto	66
Septiembre	93
Octubre	82

**4.1.2 Tabla Nº 2. Numero de larvas pre y post aplicación de bti anillos solidos**

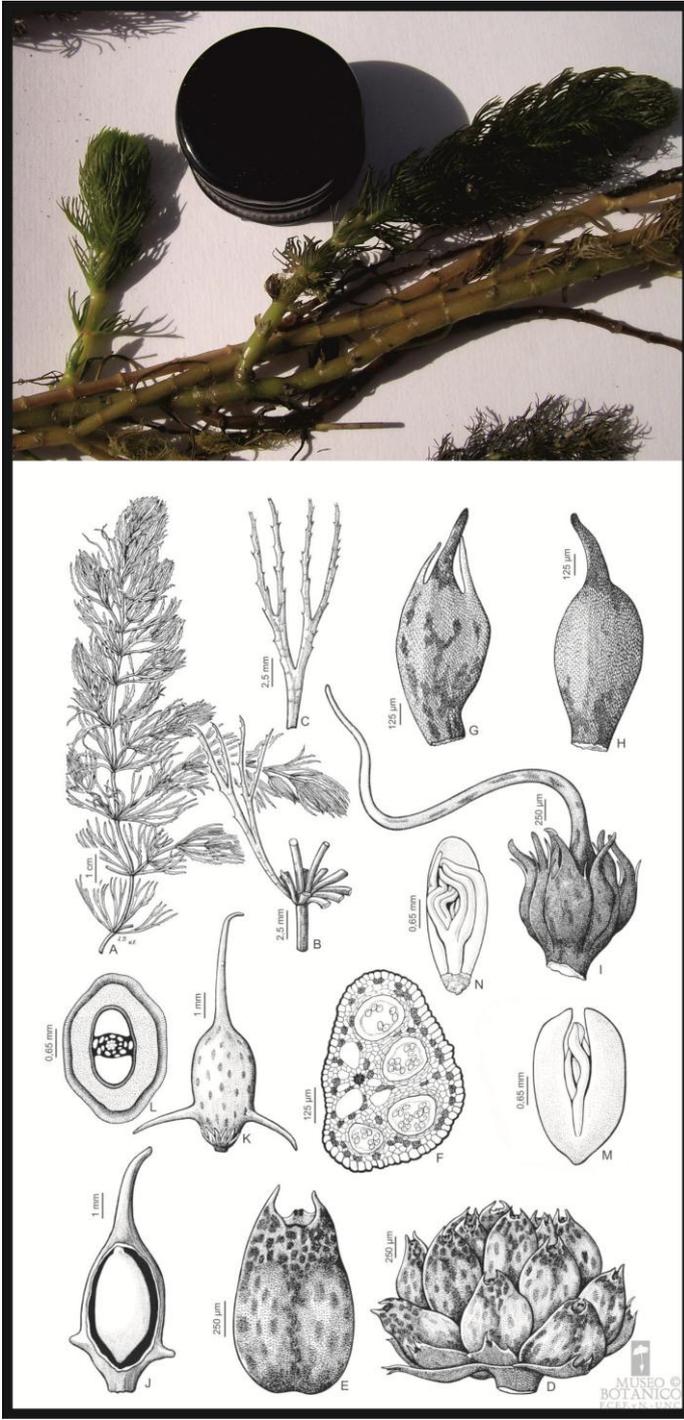
Tratamiento	Número de Larvas
Pre-aplicación	20
Post-aplicación	22
Post-aplicación	20
Post-aplicación	23

**4.1.3 Tabla Nº 3 densidad larvaria y pupal antes y después de aplicación de Bti en fase liquida.**

muestra	Pre-aplicación		Post-aplicación	
	larvas	pupas	larvas	pupas
1	2	2	2	0
2	4	0	0	0
3	2	1	0	0
4	4	3	4	3
5	8	5	0	1
6			0	0
7			0	0
8			3	0
9			5	3
10			0	0
11			3	0
12			5	1
13			3	0

## 4.2 Figuras

**Fig. 1. *Ceratophyllum demersum***





**Fig. 3. Aplicación de Bti en anillos solidos anclados en bidones de 5 lt.**



**Fig. 4. Aplicación de Bti en fase liquida**

