

**CONTROL DE NIDOS NATURALES DE *Atta cephalotes* CON**

***Metarhizium anisopliae* y *Trichoderma harzianum***

**Andres Felipe Barrera Llano**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
CARRERA DE BIOLOGÍA  
Bogotá, D.C  
06-02-06**

**CONTROL DE NIDOS NATURALES DE *Atta cephalotes* CON  
*Metarhizium anisopliae* y *Trichoderma harzianum*.**

**Andres Felipe Barrera Llano**

**TRABAJO DE GRADO  
Presentado como requisito parcial  
para optar al título de**

**BIÓLOGO  
Guillermo Arango Sereno. Director**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
CARRERA DE BIOLOGÍA**

**Bogotá, D.C**

**06-02-06**

**i**

## NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”

## **TABLA DE CONTENIDOS**

<b>Capítulo</b>	<b>Página</b>
Resumen	7
<b>1. Introducción</b>	9
<b>2. Marco teórico y revisión de literatura</b>	10
<b>2.1 Plagas en la agricultura</b>	10
<b>2.2 Hormigas cortadoras de hojas</b>	11
<b>2.3 Importancia económica</b>	17
<b>2.4 Métodos de control</b>	18
<b>2.5 Agentes biocontroladores</b>	19
<b>2.6 Agentes biocontroladores sobre cortadoras en Colombia</b>	20
<b>3. Formulación del problema y justificación</b>	21
3.1 Formulación del problema	21
3.2 Justificación de la investigación	21
<b>4. Objetivos</b>	22
4.1 Objetivo general	22
4.2 Objetivos específicos	23
<b>5. Hipótesis</b>	23
<b>6. Materiales y métodos</b>	23
6.1 Diseño de la investigación	23
6.1.1 Población de estudio y muestra	24
6.1.2 Variables del estudio	24
6.2 Métodos	24
6.3 Recolección de la información	28
6.4 Análisis de la información	29
<b>7. Resultados</b>	29
<b>8. Discusión</b>	37
<b>9. Conclusiones</b>	42
<b>10. Recomendaciones</b>	44

<b>11. Referencias</b>	<b>45</b>
<b>12. Anexos</b>	<b>51</b>

**Resumen.** Se escogieron al azar 16 colonias de *Atta cephalotes*, en la finca San Miguel del municipio de Sevilla (Valle), con el fin de evaluar la efectividad de los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Trichoderma harzianum* en el control de las colonias. Se dividieron en cuatro grupos de cuatro nidos cada uno. A cada grupo de nidos se le asignó un tratamiento. Al primer grupo se le aplicó *T. harzianum* (T1); al segundo una mezcla de *T. harzianum* y *M. anisopliae* (T2); al tercero *M. anisopliae* (T3); y los nidos que conformaron el grupo cuatro constituyeron el grupo control (T4).

Se encontró que en los nidos tratados la densidad poblacional disminuyó después de las primeras aplicaciones. Se observaron también cambios en los comportamientos habituales de los individuos que integran la colonia.

El tratamiento más efectivo, donde mayor reducción en la población se presentó, fue el T2, seguido por el T3, siendo el menos efectivo el T1. Se encontró diferencia estadística significativa entre los tratamientos y el grupo control.

El porcentaje de efectividad para los tratamientos T2 y T3 fue del 50%.

Al final del experimento se excavaron los nidos muertos y se encontraron individuos de *A. cephalotes* muertos e infectados por *M. anisopliae*.

Los resultados obtenidos en la presente investigación perfilan el uso de *M. anisopliae* como una alternativa que puede ser tomada en cuenta dentro de un programa de manejo integrado de *A. cephalotes*.

**Palabras clave:** hongo antagonista, hongo entomopatógeno, control biológico, hormiga arriera, plaga.

**Abstract.** It was chosen 16 colonies of *Atta Cephalotes*, in the property San Miguel of the municipality of Sevilla (Valle), with the purpose to evaluate the effectiveness of the mushrooms *Metarhizium anisopliae* and *Trichoderma harzianum* in the control of the colonies. They were divided in four groups of four nests each one. To each group of nests were assigned a treatment. To The first group were applied *T. harzianum* (T1); to the second were applied a combination

of *T. harzianum* and *M. anisopliae* (T2); to the third were applied *M. anisopliae* (T3); and to the control group were not applied any treatment (T4).

It was found that in the treated nests the population density went down after the first applications. It was also observed changes in the habitual behaviors of those who make part of the colony.

The most effective treatment, where bigger reduction in the population was presented, it was the T2, continued by the T3, being the less effective one the T1. It was significant statistical difference between the treatments and the control group.

The percentage of effectiveness for the treatments T2 and T3 were of 50%.

At the end of the experiment the dead nests were dug and individuals of *A. cephalotes* were found dead and contaminated by *M. anisopliae*.

The results obtained in the present investigation profile the use of *M. anisopliae* like a viable alternative in an integrate control of *A. cephalotes*,

**Key words:** antagonist fungi, entomopatogenous fungi, biological control, arriera ant, plague.

## 1. Introducción

Uno de los principales problemas a los que se enfrenta la agricultura colombiana es el de las “hormigas cortadoras de hojas” o “arrieras” que atacan gran cantidad de cultivos. Hasta el momento no han surgido mecanismos completamente efectivos para su control por lo que las pérdidas causadas son cuantiosas.

Uno de los métodos más utilizados para enfrentar el problema es el control químico. Se aplican productos de síntesis química para intentar controlar las poblaciones. Si bien es un método que muestra una alta eficacia en el corto plazo —llevando a las poblaciones plaga a un nivel de no daño económico en un corto periodo de tiempo— tiene consecuencias secundarias como erosión de suelos, contaminación de cuerpos de agua, intoxicación de especies no blanco; entre otras. Adicionalmente, se ha encontrado que las hormigas generan resistencia a los diferentes insecticidas químicos utilizados lo que reduce drásticamente su efectividad a largo plazo.

Una alternativa que no implica las consecuencias mencionadas es el control biológico. A pesar de que es un método más de carácter preventivo, numerosos ensayos demuestran que puede convertirse en un firme candidato para enfrentar el problema de plagas en la agricultura, en este caso el de la hormiga arriera. Por tal motivo, en el presente trabajo se propone evaluar el efecto de dos hongos patógenos de insectos y hongos (*Metarhizium anisopliae* y *Trichoderma harzianum* respectivamente) en el control de nidos naturales de la hormiga arriera (*Atta cephalotes*, Linnaeus, 1758) en campo, en zonas de cultivo del municipio de Sevilla Valle.

El efecto negativo de los productos químicos sobre el ambiente y la baja efectividad que presentan a largo plazo, son motivos suficientes para considerar



otras formas de control. La utilización de hongos se convierte, por tanto, en una alternativa importante en el manejo de esta plaga agrícola.

La mayoría de investigaciones en Colombia, sobre control biológico de la hormiga arriera, han sido llevadas a cabo bajo condiciones de laboratorio. Como primer paso son importantes para entender cómo funcionan los mecanismos involucrados en el control; sin embargo, la aplicación de técnicas en campo es importante ya que, como lo anotan los mismos autores, existen algunas condiciones de laboratorio que pueden generar situaciones que no permiten una lectura 100% confiable de los resultados. Desde el año 2004, cuando se hizo un experimento con el antagonista *Penicillium digitatum*, no se reportan en la literatura, estudios en campo en Colombia, es decir, continúa la situación de no conocer muy bien el comportamiento de los controladores en el campo. Por eso es importante aumentar el nivel de información, cómo, efectuando ensayos bajo las condiciones del sitio donde se va a implementar el control y teniendo en cuenta las prácticas agrícolas locales.

En el municipio de Sevilla (Valle), hasta la fecha, no se han llevado a cabo investigaciones relacionadas con el control de las hormigas cortadoras de hojas. Continúan siendo una de las plagas de mayor impacto económico en la agricultura del municipio. Se calcula que las pérdidas causadas, en cultivos como café, cítricos y yuca, por las hormigas cortadoras, en el municipio de Sevilla, superan los 700 millones de pesos al año (com pers. Ingeniero Agrónomo Jaime Montoya – Comité Departamental de Caficultores del Valle). Por tal motivo adquiere un carácter imperativo la evaluación de alternativas que posiblemente enfrenten de manera efectiva el problema.

## **2. Marco teórico y revisión de literatura**

### ***2.1 Plagas en la agricultura***

Los ecosistemas naturales son el resultado de la evolución conjunta de una gran diversidad de especies. Se encuentran en cambio permanente y los procesos de

selección natural son continuos. Un ecosistema es más estable en la medida en que menos intervenido se encuentre (Prager *et al.* 2002).

La conversión de sistemas naturales en agrícolas sugiere que estos nuevos sistemas son más propensos a la aparición de plagas debido a que son el resultado de un proceso de cambio del ecosistema original (Prager *et al.* 2002, Martínez 2003). En agricultura se considera que una población plaga es aquella que supera el umbral económico; es decir, una población que afecta de tal manera a las especies cultivadas que lleva a causar daños irremediables en los campos de cultivo propiciando grandes pérdidas económicas (Metcalf & Luckmann 1990).

## 2.2 Hormigas cortadoras de hojas

Las hormigas cortadoras son una importante plaga en los cultivos asentados en el neotrópico.

La clasificación taxonómica de la especie de hormiga con que se trabaja en el estudio es la siguiente:

Phyllum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Hymenoptera

Familia: Formicidae

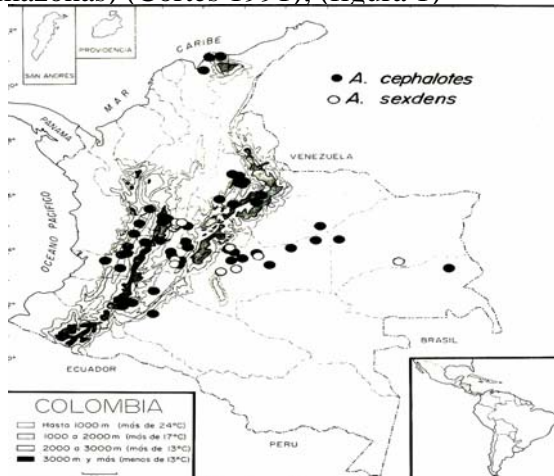
Subfamilia: Myrmicinae

Tribu: Attini

Género: *Atta*

Especie: *Atta cephalotes* (Linnaeus 1758)

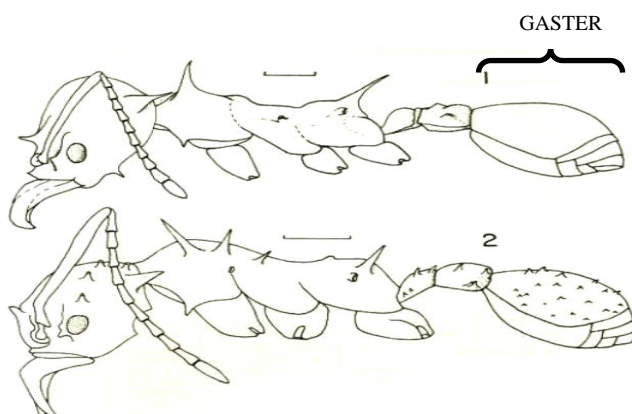
*A. cephalotes* es la especie más común encontrada en territorio colombiano, se encuentra desde Santa Marta y el Parque Tayrona (Magdalena) hasta Leticia (Amazonas) (Cortes 1991); (figura 1)



**Figura 1.** Distribución geográfica de *A. cephalotes* en Colombia (tomado de Cortes 1991).

Los individuos del genero *Atta*, contrario a los del genero *Acromyrmex*, no poseen tubérculos en el gaster (Mackay & Mackay 1986); (figura 2).

Además se caracterizan por tener tres pares de espinas en el dorso del tórax (Link, 1997).

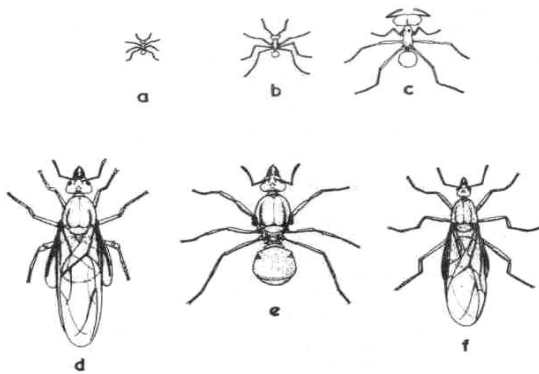


**Figura 2.** Diferenciación morfológica de los generos *Atta* y *Acromyrmex*. (1) genero *Atta* (2) genero *Acromyrmex* (modificado de Mackay y Mackay 1986).

Los miembros de la tribu Attini están divididos en más de 200 especies y aproximadamente 12 géneros (Chapela et al. 1994). Estos a su vez se encuentran divididos en tres grandes grupos, definidos con base en características como tamaño de la colonia, polimorfismo de sus integrantes y sustratos utilizados para el cultivo del hongo (Cherret et al. 1989).

Las hormigas pertenecientes al genero *Atta* se encuentran dentro del “grupo derivado”, que se caracteriza por formar colonias de gran tamaño, por presentar alto grado de polimorfismo y por que este polimorfismo está en estrecha relación con las labores llevadas a cabo por cada uno de los miembros de la colonia (Cherret et al. 1989; Hart et al. 2002).

Un hormiguero está formado por miembros permanentes (sin alas) y miembros temporales (alados). El primer grupo lo conforman la reina fecundada y las obreras estériles (pequeñas -jardineras, nodrizas, escoter-; medianas -cortadoras, cargadoras- y grandes -soldados-). El segundo grupo se forma cuando la colonia ha alcanzado cierto grado de madurez y lo componen las reinas vírgenes y los machos alados (figura 3), que van a fecundarlas en el vuelo nupcial (Aguilar, 1992), que se presenta en las temporadas de invierno más intensas del año (finales de abril – comienzos de mayo; comienzos de las lluvias de final de año en octubre).



**Figura 3.** Castas que conforman una colonia de *A. cephalotes* (a) obrera pequeña (b) obrera mediana (c) obrera grande (d) reina alada (e) reina sin alas (f) macho alado.

Cada uno de los individuos pertenecientes a las castas mencionadas cumple una labor específica y complementaria.

La reina es la hembra fecundada, su función es la de fundar la colonia (proceso que se describirá más adelante) y producir huevos durante toda su vida, que puede llegar hasta los 10 – 15 años (Hölldobler & Wilson, 1990).

Las obreras estériles constituyen la mayor población de un hormiguero. Las obreras más grandes son denominadas soldados, su función es defender la colonia y se caracterizan por tener la cabeza y las mandíbulas muy desarrolladas. Su tamaño puede ser mayor a los 9 mm y son la última casta en aparecer debido a la

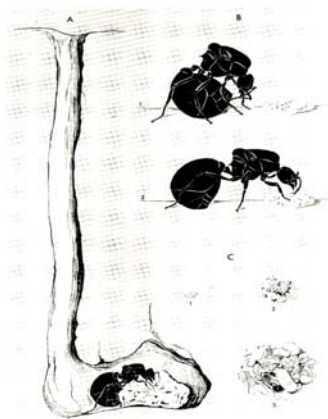
gran inversión energética que representa producirlos (Cortes 1991; Madrigal 2003).

Las obreras medianas, que miden entre 6 mm y 4 mm, pueden ser cortadoras o cargadoras. Están encargadas de cortar las hojas, transportarlas al interior de la colonia y de excavar el suelo para la construcción de cámaras con diversos fines (almacenamiento del hongo, almacenamiento de desechos, cementerios) y canales de comunicación entre las mismas (Aguilar 1992).

Las obreras pequeñas, cuyo tamaño oscila entre 1.6 mm a 3 mm, se pueden subdividir según sus funciones en escoterías – que son las que viajan sobre los pedazos de hojas que están siendo transportados por las cargadoras y las van limpiando de elementos extraños-; jardineras – que se encargan de cortar los pedazos de hoja en fragmentos más pequeños para colocarlos en los cultivos de hongo – y las nodrizas que son las responsables de alimentar, cuidar y transportar las larvas, mantener la reina limpia, asear a las obreras y demás componentes de la colonia (Hölldobler y Wilson 1990) .

Una colonia de hormigas *Attini* comienza cuando una hembra fértil acarrea en la cavidad infrabucal hifas del jardín parental en una bolita. Todo el futuro alimento de la colonia se deriva de esta pequeña bolita que es conocida como “pellet infrabucal” (Wilson 1971).

Después de las lluvias más fuertes de verano, machos y hembras de hormigueros adultos salen para su vuelo nupcial. Los machos mueren después de la fecundación. Las hembras fertilizadas durante el vuelo por los machos alados, descienden a tierra, se arrancan las alas con el auxilio de sus patas y en seguida cavan en el suelo un túnel vertical de aproximadamente 10 cm de profundidad. A cierta profundidad excavan una cámara lateral y con el suelo de la excavación obstruyen la entrada del nido. La hembra expelle la bolita y la abona con sus líquidos anales (Wilson 1971); (figura 4).



**Figura 4.** Proceso de fundación de una colonia de *A. cephalotes* (tomado de Wilson 1971).

Cuando las hifas prosperan los huevos son puestos sobre ellas y la colonia comienza su crecimiento. La reina continuamente limpia tanto las hifas como las crías. A medida que la población aumenta, la reina ve sus obligaciones reducidas, al punto que en cierto momento la retirada de los huevos de su cavidad anal es efectuada por obreras (Hölldobler & Wilson 1990).

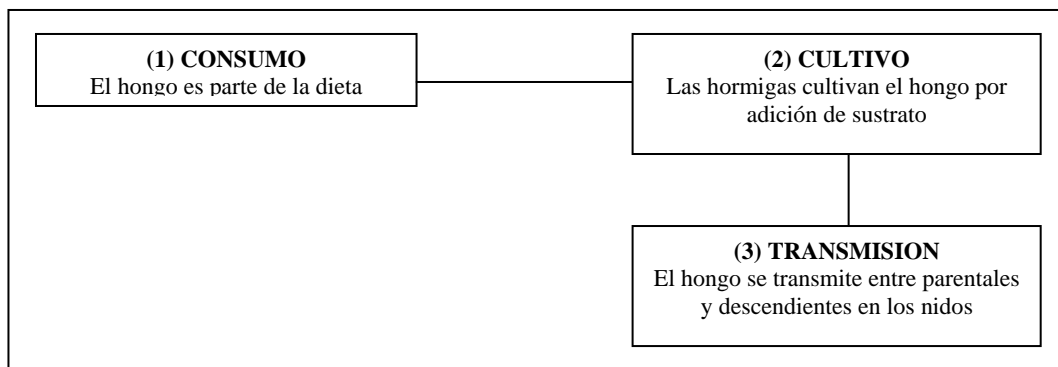
Un hormiguero maduro puede tener más de tres millones de obreras, ocupar una superficie de 100 metros cuadrados y tener más de tres metros de profundidad (Madrigal y Yepes 1996, Madrigal 2003).

La alimentación de estas hormigas la constituye, en gran parte, un hongo simbiote (basidiomiceto saprofitico de la familia Lepiotaceae) que ellas cultivan dentro de sus nidos (Wilson 1971; Mueller *et al.* 1998; Diamond 1998; Mueller *et al.* 2001). El sustrato utilizado para el crecimiento del hongo consiste en hojas que cortan de las plantas atacadas (Cherret *et al.* 1989).

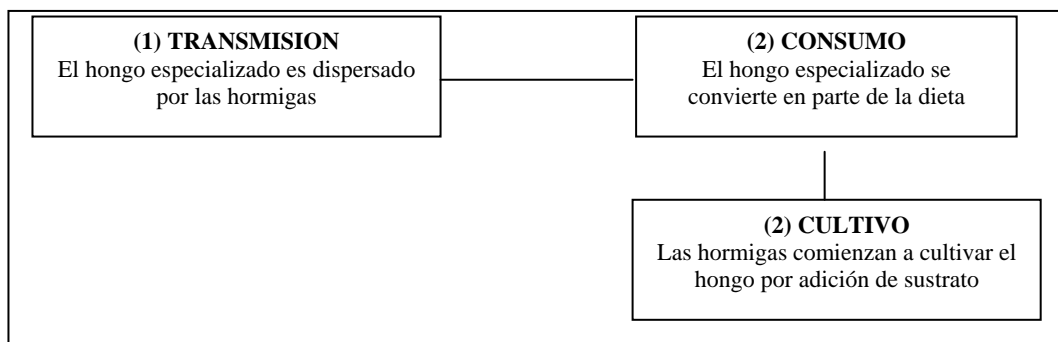
El hongo ayuda a detoxificar las plantas que puedan contener elementos tóxicos como sustancias fenólicas y compuestos nitrogenados, adicionalmente degrada la celulosa del material vegetal y la transforma en azúcar que es usado como alimento (Howard, 1987; Howard 1988; Cherret *et al.* 1989; Cortés y León, 2003). Por su parte las hormigas brindan al hongo protección contra competidores y parásitos (por medio de especializados mecanismos como secreción de

sustancias bactericidas, inhibidores de crecimiento de semillas y constante remoción de posibles contaminantes), sustrato para su crecimiento y dispersión (Cherret *et al.* 1989; Diammond, 1998; Curie *et al.* 2003;).

La asociación simbiótica entre hongos y hormigas comenzó hace unos 50 millones de años (Chapela *et al.* 1994, Mueller *et al.* 2001). Existen dos modelos que intentan explicar cómo comenzó y cómo se dio el paso de predación en ancestros a micofagia (consumo de hongos) en los grupos derivados. El primero se conoce como el modelo de “consumo primero”, el segundo como modelo de “transmisión primero”; (figuras 5 y 6).



**Figura 5.** Modelo “Consumo Primero”, planteado para intentar explicar el origen de la simbiosis entre hormigas cortadoras y el hongo del que se alimentan (Modificado de Mueller *et al.* 2001).



**Figura 6.** Modelo “Transmisión Primero”, planteado para intentar explicar el origen de la simbiosis entre hormigas cortadoras y el hongo del que se alimentan (Modificado de Mueller *et al.* 2001).

La especie de hongo puede variar según la especie de hormiga y las condiciones del sitio donde se encuentren (Green *et al.* 2002).

Es bien conocido el papel ecológico que las arrieras desempeñan en los ecosistemas donde establecen sus colonias.

Participan en la redistribución y concentración de nutrientes liberados en el material desechado del jardín del hongo (Cortés y León 2003; Abril y Bucher 2004). Aumentan los contenidos de Ca, Mg K y materia orgánica, son dispersoras de semillas e impulsan la sucesión secundaria desde ecosistemas de pradera hasta formaciones boscosas (Cortés y León 2003). También provocan traslocación de horizontes del suelo y aumentan el intercambio gaseoso del mismo (Cortés y León 2003; Abril y Bucher 2004).

### **2.3 Importancia económica**

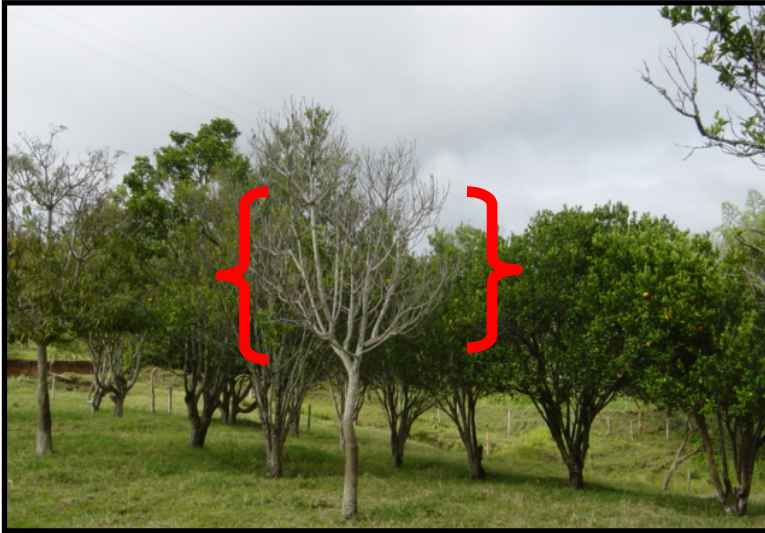
Las hormigas arrieras representan una de las cinco plagas más limitantes de la agricultura neotropical (Zanuncio et al. Sin año, Cherret *et al.* 1989, Cortes 1991, Madrigal y Yepes 1996, Vélez 1997, Madrigal 2003). En Brasil se les responsabiliza por el corte anual de 180 millones de toneladas de materia vegetal y por el movimiento de 200 millones de metros cúbico de suelo (Zanuncio *et al.* Sin año).

Según Vélez 1997 y Madrigal 2003 los daños causados por las cortadoras son: el número de cabezas de ganado se reduce entre el 10% y el 30%. Para Norte y Sur América se calculan pérdidas por más de mil millones de dólares al año. En Antioquia (Colombia) se reporta abandono de cultivos por la destrucción del 98% de las plántulas y más de mil millones de pesos anuales en pérdidas en la década del ochenta.

Del 2003 en adelante no se conocen informes detallados del daño ocasionado por esta especie.

Las hormigas cortadoras de hojas afectan más de diez cultivos en Colombia. Es bien conocido su efecto destructor sobre plantaciones de yuca, cacao, café, maíz, caña de azúcar, cítricos, mango, soya, tabaco, nogal, eucalipto, teca y pino pátula; entre otros (Zanuncio *et al.* Sin año; Vélez 1997; Madrigal 2003); (figura 7).





**Figura 7.** Árbol de naranja defoliado por las hormigas cortadoras de hojas

#### ***2.4 Métodos de control***

Se han empleado principalmente métodos químicos para el control de las poblaciones de las hormigas cortadoras de hojas, que consisten en la aplicación de productos de síntesis química (Cortes 1988, Jiménez y Muñoz 1990, Gasca y Zenner 1993, Madrigal y Yepes 1996, Vélez 1997, López y Orduz 2002, Madrigal 2003); entre ellos se destacan los compuestos organofosforados como el producto comercial Lorsban<sup>R</sup> (su ingrediente activo es Clorpirifos Metil) (Madrigal y Yepes 1996, López y Orduz 2002). Los métodos mecánicos, físicos y culturales son menos comunes (Madrigal y Yepes 1996, Vélez 1997, Madrigal 2003).

Desde comienzos de la década de los noventa hasta la fecha, ha cobrado especial importancia el control biológico (Aguilar 1992, López *et al.* 1999, Cortes 1991, Ortiz *et al.* 1999, López y Orduz 2002). Es una alternativa a los dos procedimientos descritos. Se utilizan poblaciones de depredadores, parasitoides y patógenos para intentar disminuir las poblaciones plaga hasta un punto de no daño económico al mismo tiempo que se ocasiona el menor impacto posible en las condiciones naturales (Valenzuela 1993, Van Driesche & Bellows 1996, Hawkins & Cornell 1999).

## 2.5 Agentes biocontroladores

Dentro de los patógenos más utilizados en agricultura se encuentra *M. anisopliae*. Ataca naturalmente más de 300 especies de insectos de diversos ordenes, ha sido utilizado para controlar poblaciones de insectos plaga como *Aeneolamia varia*, *Rhammatocerus schistocercoides*, *Spodoptera frugiperda*, *Frankliniella occidentales*, *Hypothenemus hampei*, entre muchos otros (Correal *et al.* 1998; Espinel *et al.* 1998, Giraldo *et al.* 2001, Monzón 2001; Aponte y Uribe 2001, Maniania *et al.* 2002).

Es un hongo patógeno de insectos con un rango de hospederos bastante alto,. Sin embargo, se ha demostrado que posee una alta especialización en su hospedero inmediato debido a la alta variabilidad genética que ocurre naturalmente en esta especie (St. Leger *et al.* 1991).

Su actividad infectiva comienza cuando las esporas se adhieren a la cutícula del insecto por medio del apresorio (estructura de fijación). La degradación de la cutícula se realiza gracias a la acción de enzimas pertenecientes al grupo de la hidrolasas (proteasas, lipasas, n – acetilglucosaminidasas, fenoloxidasas y quitinasas) (St. Leger *et al.* 1991; Monzón 2001). Con posterioridad al proceso de degradación, y por medio de la hifa de penetración o haustorio, el hongo, produce hifas invasoras que se ramifican, colonizan y liberan una serie de toxinas en la cavidad hemocelica que terminan causándole la muerte al insecto (etapa de momificación) (St. Leger *et al.* 1991).

Los insectos muertos por este hongo son cubiertos completamente por el micelio, que es de color blanco hasta que se torna de color verde cuando esporula (Monzón 2001).

Por su parte, los hongos pertenecientes al genero *Trichoderma* tienen una acción antagonista sobre hongos y su uso como agente de control es bien conocido. Han

sido utilizados para combatir fitopatógenos como *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum*, *Sclerotinia minor*, *Alternaria alternata*, *Pythium* sp., *P. aphanidermatium*, *Phytophthora nicotiana*, *P. capsici* y *Rhizoctonia solani*, entre otros (Jones & Stewart 1997, Stefanova *et al.* 1999, Roco y Pérez 2001, Nicholls & Altieri 2000, Fonseca 2002, Díaz y Navarrete 2002, Garzón 2002, Kükük & Kivac 2004).

Su modo de acción consiste en competir por espacio, nutrientes y oxígeno por medio de la producción de enzimas líticas y antibióticos antifúngicos (Ibarra y Varela 2002; Kükük & Kivac, 2004). Uno de los principales mecanismos de biocontrol de *Trichoderma* spp. está basado en la hidrólisis de la pared del patógeno mediante la excreción de enzimas hidrolíticas exoquitinasas y b 1-3 glucanasas (Clavijo y Cotes (sin año) citando a Ridou *et al.* 1989, Sivan y Chet 1989; Cotes 1993). Las quitinasas microbianas son enzimas que hidrolizan la quitina, que es el principal carbohidrato de la pared celular de los hongos (Clavijo y Cotes (sin año)).

*T. harzianum* es un micoparásito (Carsolio *et al.* 1998). El parasitismo generado por hongos provoca una serie de daños morfológicos sobre la especie blanco y consiste en la digestión enzimática del huésped por parte del parásito (Carsolio *et al.* 1998; Monzón, 2001); esta actividad se inicia con la cobertura de las hifas patógenas por el antagonista, continúa con el succionamiento de los nutrientes y concluye con la lisis de las hifas cubiertas (Lorenzo *et al.* 2001).

También es considerado como saprofito facultativo (Carsolio *et al.* 1998). Se considera saprofitos aquellos organismos que se alimentan de sustancias orgánicas en descomposición (Prager *et al.* 2000).

## **2.6 Acción biocontroladora sobre hormigas cortadoras en Colombia**

La actividad patógena de *M. anisopliae* sobre individuos de hormigas cortadoras ha sido evaluada por López *et al.* (1999), y López y Orduz (2002). Han encontrado que efectivamente si existe una acción patógena por parte del hongo,

por lo que en este caso se evalúa como candidato en el intento por controlar las hormigas.

Los antagonistas evaluados para combatir los nidos de *A. cephalotes* son *Trichoderma* spp. (Ortiz *et al.* 1999, Ortiz y Orduz 2000, López y Orduz 2002), *Gliocadium* spp. (Ortiz y Orduz 2000) y *P. digitatum* (Jaramillo 2004), se ha encontrado que estos hongos ejercen una acción antagonista sobre el hongo simbiote de las hormigas arrieras. Pese a haber encontrado resultados positivos en el control, solo dos de las evaluaciones mencionadas se han realizado en campo (López y Orduz 2002; Jaramillo 2004).

Dichas evaluaciones proyectan a este hongo antagonista como posible candidato en la lucha contra la que, actualmente y según los propios agricultores, es la plaga más limitante en la agricultura Sevillana.

Por medio de la utilización de hongos entomopatógenos y antagonistas para control de nidos de hormiga arriera, se estaría atacando tanto a los individuos que conforman la colonia como a su principal fuente de alimento. Esta situación se convierte en una gran ventaja en el momento de querer exterminar un nido.

### **3. Formulación del problema y justificación**

#### ***3.1 Formulación del problema***

¿Es la utilización de *M. anisopliae* y *T. harzianum* efectiva en el control de nidos naturales de *A. cephalotes* en zonas de cultivo del municipio de Sevilla (Valle)?

#### ***3.2 justificación de la investigación***

El efecto negativo de los productos químicos sobre el ambiente y la baja efectividad que presentan a largo plazo, son motivos suficientes para considerar

otras formas de control. La utilización de hongos se convierte, por tanto, en una alternativa importante en el manejo de esta plaga agrícola.

Cabe anotar que la mayoría de investigaciones en Colombia han sido llevadas a cabo bajo condiciones de laboratorio. Como primer paso son importantes para entender cómo funcionan los mecanismos involucrados en el control; sin embargo, la aplicación de técnicas en campo es importante ya que, como lo anotan los mismos autores, existen algunas condiciones de laboratorio que pueden generar situaciones que no permiten una lectura 100% confiable de los resultados. Por ello las recomendaciones al agricultor no son precisas y continúa la situación de no conocer el comportamiento del controlador en el campo. Adicionalmente se ha encontrado que los métodos culturales (como la aplicación de gasolina y agua a los hormigueros) y físicos (aradas y rastrilladas) son ineficientes

En Sevilla (Valle), hasta la fecha, no se han llevado a cabo investigaciones relacionadas con el control de las hormigas cortadoras de hojas, por lo que continúan siendo una de las plagas de mayor impacto económico en la agricultura del municipio.

Dentro de los cultivos que sufren mayor daño a causa del ataque de las hormigas se cuentan cítricos, gramíneas, café, yuca, maíz y fríjol. Se calcula que las pérdidas causadas por las hormigas cortadoras en Sevilla pueden superar los 700 millones de pesos al año (com pers. Ingeniero Agrónomo Jaime Montoya – Comité Departamental de Cafeteros del Valle).

## **4. Objetivos**

### ***4.1 Objetivo general***

Evaluar la capacidad de *M. anisopliae* y *T. harzianum* para controlar nidos naturales de *A. cephalotes* en zonas de explotación agrícola del municipio de Sevilla (Valle).

#### **4.2 Objetivos específicos**

Determinar el efecto de la aplicación de *M. anisopliae* sobre la densidad poblacional en nidos de *A. cephalotes*.

Probar la acción antagonista en condiciones naturales de *T. harzianum* sobre el hongo simbionte de *A. cephalotes* y determinar su efecto sobre la densidad poblacional.

Determinar el efecto de la aplicación de *T. harzianum* en combinación con *M. anisopliae* sobre la densidad poblacional de nidos naturales de *A. cephalotes*

#### **5. Hipótesis**

La aplicación de *M. anisopliae* y *T. harzianum* es efectiva en el control de nidos naturales de *A. cephalotes* en zonas de explotación agrícola del municipio de Sevilla (Valle).

#### **6. Materiales y métodos**

##### **6.1 Diseño de la investigación**

Se trata de un diseño de bloques completos al azar.

- i) Factor de diseño: aplicación de hongos entomopatógenos y antagonistas
- ii) Niveles del factor de diseño: nidos sin aplicación de los hongos entomopatógenos y antagonistas y nidos con la aplicación de los hongos entomopatógenos y antagonistas
- iii) Variable respuesta: densidad poblacional, presencia/ ausencia de *T.harzianum* en los jardines del hongo simbionte y presencia/ ausencia de *M. anisopliae* en individuos pertenecientes a las colonias.
- iv) Unidad de respuesta: hormigas y jardines del hongo simbionte
- v) Unidad de muestreo: nidos de *A. cephalotes*

### 6.1.1 Población de estudio

Nidos naturales de *A. cephalotes* ubicados en La finca San Miguel del municipio de Sevilla (Valle). Sevilla se encuentra ubicado a 4° 16' 6'' Latitud Norte y a 75° 56' 06'' Longitud Oeste. La temperatura promedio es de 18°C, la precipitación media anual es de 1858 mm, la humedad relativa es de 77.5% y se encuentra a 1620 msnm (Betancourt 1999).

Fueron escogidos cuatro nidos por tratamiento.

### 6.1.2 Variables de estudio

En la tabla 1, se presenta el cuadro de operacionalización de las variables. En él se describen cuáles son las variables a analizar dentro del estudio, por qué fueron escogidas y cuáles son sus indicadores.

**Tabla 1.** Cuadro de operacionalización de variables

ASPECTO ANALIZADO	CRITERIO DE ANÁLISIS	VARIABLE DEFINIDA	INDICADOR DE LA VARIABLE
Patogenicidad de <i>M. anisopliae</i>	Capacidad de producir una epizootia	Densidad poblacional	Cambio en los flujos promedio nido/minuto/semana  Presencia/ ausencia de <i>M. anisopliae</i> en individuos de <i>A. cephalotes</i> en el periodo cinco
Antagonismo de <i>T. harzianum</i>	Capacidad de generar mecanismos de competencia	Densidad poblacional.	Cambio en los flujos promedio nido/minuto/semana  Presencia/ausencia de <i>T. harzianum</i> . en los jardines del hongo simbiote en el periodo cinco

### 6.2 Métodos

#### i) Cepas microbianas

Las cepas de *T. harzianum* y *M. anisopliae* fueron adquiridas en el Centro Internacional de Investigaciones del Café, CENICAFE, con sede en el municipio de Chinchiná (Caldas) y en el laboratorio SANOPLANT ubicado en el municipio de Palmira (Valle). Las cepas están debidamente certificadas por las instituciones proveedoras y son utilizadas en el control de plagas agrícolas.

ii) Reproducción de las cepas de *T. harzianum*. y *M. anisopliae*

Se inoculó arroz estéril con el micelio de los hongos y se incubó a 25°C por diez días hasta obtener cultivos esporulados (figuras 8 y 9).



**Figura 8.** Cultivo esporulado de *M. anisopliae*



**Figura 9.** Cultivo esporulado de *T. harzianum*

Por medio de un conteo realizado con cámara de Neubauer se determinó que la concentración del cultivo de *T. harzianum* era de  $1.0 \times 10^9$  esporas/ g y la del cultivo de *M. anisopliae* era de  $1.0 \times 10^8$  esporas /g.

Posteriormente se procedió a pulverizar el arroz, por medio de un molino de aspas, con el fin de que la granulometría permitiera la aplicación con insufladora (figura 10).





**Figura 10.** Hongos pulverizados para facilitar las aplicaciones en campo y la entrada del producto al hormiguero.

Este procedimiento se llevo a cabo en las instalaciones de AGROTECNIA Ltda, donde se encontraron las condiciones adecuadas para llevarlo a cabo.

iii) Escogencia, medición y numeración de los nidos

En la finca San Miguel, ubicada en la vereda La Cuchilla del municipio de Sevilla (Valle) se escogieron al azar, numeraron y marcaron 16 nidos de *A. cephalotes* (cuatro nidos por tratamiento incluyendo el grupo control). La finca San Miguel fue escogida ya que representa el típico caso de predio donde no se realiza ningún tipo de control de plagas, además de ser de de fácil acceso y presentar una gran cantidad de nidos de *A. cephalotes*.

A estos nidos se les determinó el área midiendo las distancias entre los orificios más lejanos en direcciones perpendiculares.

iv) Evaluación de la actividad de cada nido

Una vez por semana y por triplicado se registró, por medio de un contador manual y un cronómetro (figura 11), el número de hormigas que entraban y salían del nido por minuto en cada una de las entradas y se determinó el flujo promedio de hormigas/ nido /minuto/ semana.



**Figura 11.** Materiales utilizados en el conteo del flujo de hormiga por minuto en los nidos seleccionados

Esta información se recogió después de las 17:00, cuando la actividad de las hormigas aumenta y la intensidad solar disminuye (Cortés y León, 2003).

v) Aplicación de los tratamientos

- Tratamiento 1: *T. harzianum* (hormigueros marcados con estacas rojas- H.R).
- Tratamiento 2: *M. anisopliae* y *T. harzianum* (hormigueros marcados con estacas amarillas- H.AM )
- Tratamiento 3: *M. anisopliae* (hormigueros marcados con estacas azules- H.AZ).
- Control: ninguna aplicación (hormigueros marcados con estacas naranjas- H.N).

Los hongos se aplicaron en polvo por medio de insufladora (figura 12).



**Figura 12.** Método de aplicación de los hongos.

Se aplicaron 20g/m<sup>2</sup> . Esta dosificación es la más empleada en el control de nidos de *A. cephalotes* (Madrigal 2003).

Los tratamientos se aplicaron al final de cada periodo de trabajo, comenzando las aplicaciones al final del segundo periodo.

### 6.3 Recolección de la información

Los efectos de los tratamientos se cuantificaron mediante la observación directa de la actividad de los nidos escogidos (cambio en los flujos nido/minuto/semana). Una vez por semana y por triplicado se registró el número de hormigas que entraban y salían del nido por minuto en cada una de las entradas y se determinó el flujo promedio de hormigas/ nido/ minuto/ semana. El registro se llevo a cabo después de las 17:00, cuando la actividad de las hormigas aumenta y la intensidad solar disminuye (Cortés y León 2003).

Antes de aplicar los tratamientos se evaluó, en el periodo dos (tabla 2), el flujo normal de las hormigas por minuto en cada uno de los nidos. Lo anterior con el fin de comparar cómo cambian estos valores, flujo normal, luego de ser aplicados los tratamientos.

**Tabla 2.** Cronograma de actividades a realizar en campo

SEMANAS	P1 <sup>a</sup>		P2 <sup>b</sup>		P3		P4		P5	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Escogencia, medición y numeración de los nidos	■									
Reproducción de las cepas	■									
Determinación del flujo normal de los nidos			■	■						
Primera aplicación de los tratamientos				■						
Monitoreo de los flujos					■	■				
Segunda aplicación de los tratamientos						■				
Monitoreo de los flujos							■	■		
Tercera aplicación de los tratamientos								■		
Monitoreo de los flujos									■	■

<sup>a</sup> P: periodos en los que se encuentra dividido la etapa de campo

<sup>b</sup> Las aplicaciones se efectuaron al final de cada periodo, comenzando en el periodo dos.

Los valores de los monitoreos de los flujos y las observaciones se consignaron en hojas de campo elaboradas para este fin (anexo 1).

Al final del trabajo de campo se procedió a excavar los nidos y a recolectar muestras de los jardines del hongo simbionte para evidenciar, macroscópicamente, la contaminación por el hongo antagonista (*T. harzianum*) y determinar la presencia de hormigas infectadas por el hongo entomopatógeno (*M. anisopliae*).

La anterior metodología fue desarrollada por López y Orduz (2002) y se desarrolló en el presente estudio, con las modificaciones que fueron necesarias de acuerdo con las condiciones particulares del caso, previa autorización de los autores.

#### 6.4 Análisis de la información

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) y a una prueba de diferencias mínimas significativas (DMS).

### 7. Resultados

La Finca San Miguel es una propiedad dedicada a la ganadería. El control de la hormiga arriera, y en general de ninguna otra plaga, no se efectúa en este predio hace aproximadamente diez años, un claro indicativo de esto es la presencia de nidos con un área mayor a 70 m<sup>2</sup> (tabla 3).

**Tabla 3.** Tamaño de los hormigueros seleccionados en el área de estudio

Nido (código)	Tratamiento	Tamaño (m <sup>2</sup> )
HR1	T1	71.2
HR2	T1	5.0
HR3	T1	64.7
HR4	T1	8.2
HAM1	T2	69.9
HAM2	T2	39.7
HAM3	T2	17.0
HAM4	T2	2.95
HAZ1	T3	7.5
HAZ2	T3	2.8
HAZ3	T3	13.2
HAZ4	T3	3.9
HN1	T4	34.3
HN2	T4	1.6
HN3	T4	34.3
HN4	T4	1.3

A cada nido seleccionado se le formuló una dosis con el criterio de 20 g/m<sup>2</sup>, las cantidades asignadas fueron desde 39 g hasta 2364 g (tabla 4), lo cual se convierte también en una clara evidencia de la variedad en el tamaño de los nidos y en la magnitud del problema dentro del predio y en el municipio.

**Tabla 4.** Cantidades de hongo establecidas para cada nido de acuerdo con su tamaño

<b>Nido (código)</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Dosis (g)</b>
HR1	<i>Trichoderma harzianum</i>	1420
HR2	<i>Trichoderma harzianum</i>	100
HR3	<i>Trichoderma harzianum</i>	1290
HR4	<i>Trichoderma harzianum</i>	160
HAM1	<i>Metarhizium + Trichoderma</i>	1400
HAM2	<i>Metarhizium + Trichoderma</i>	800
HAM3	<i>Metarhizium + Trichoderma</i>	340
HAM4	<i>Metarhizium + Trichoderma</i>	60
HAZ1	<i>Metarhizium anisopliae</i>	160
HAZ2	<i>Metarhizium anisopliae</i>	60
HAZ3	<i>Metarhizium anisopliae</i>	260
HAZ4	<i>Metarhizium anisopliae</i>	80
HN1	Control	0
HN2	Control	0
HN3	Control	0
HN4	Control	0

Los primeros 15 días del experimento constituyeron una fase exploratoria, donde se observó el comportamiento natural de las hormigas y las características físicas de las colonias (forma de las bocas, textura del suelo, coberturas vegetales en su área de influencia, entre otros) antes de que fueran aplicados los tratamientos. También se excavaron algunos nidos adicionales que no hacen parte de los seleccionados para observar los jardines del hongo simbiote en condiciones de no perturbación.

Se apreció que el micelio producido por el hongo simbiote es de color violeta y consistencia esponjosa. Se observaron los pedazos de plantas cortadas en pleno proceso de descomposición, al igual que una gran cantidad de obreras mínimas

efectuando las labores relacionadas con su cuidado. En las cámaras donde había hongo simbiote, este se encontraba en gran cantidad (figura 13).



**Figura 13.** Jardín de hongo simbiote, se aprecia su color violeta, y (↓) las hojas en proceso de descomposición.

Dentro de las características comportamentales de las hormigas se observó que no es común divisar soldados a lo largo del territorio ocupado por las colonias. También pudo apreciarse que siempre existen una o dos entradas dedicadas al forrajeo independientemente del tamaño del hormiguero.

Se confirma con las observaciones lo planteado por Cortes y León, 2003 respecto al horario de mayor actividad de las hormigas, ya que tanto las actividades remoción de suelo y corte- entrada de alimento se intensifican luego de las 17:00.

Las medidas de vigilancia llevadas a cabo por parte de las escoterías son intensas en las entradas e inmediaciones, procurando siempre no permitir la entrada de elementos extraños a la colonia.

Los pequeños trozos de suelo cargados desde el interior de la colonia son dejados muy cerca de la entrada, lo que da lugar a la forma característica de los nidos de *A. cephalotes*, los cuales después de cierto tiempo de actividad, y siempre y cuando no llueva y no sean pisados por ganado o humanos, adquieren forma de volcán (figura 14).





**Figura 14.** Montículo de suelo ubicado a la entrada de un nido de *A. cephalotes*

Se observó que en el área colonizada por un hormiguero no se presenta ningún tipo de crecimiento de vegetación (figura 15).



**Figura 15.** Hormiguero maduro de *A. cephalotes*, se observa que no hay vegetación en el área ocupada por la colonia

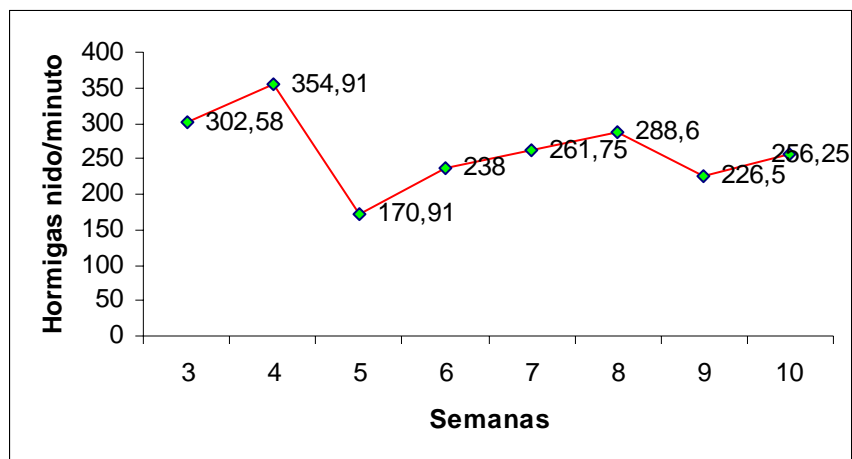
El suelo que se encuentra alrededor de las bocas de entrada al hormiguero, suelo que ha sido removido desde el interior, presenta apariencia granulosa y alto grado de humedad.

Luego de las dos semanas exploratorias y de dos semanas de conteo del flujo normal de las hormigas se comenzaron a aplicar los tratamientos en la dosis establecida para cada nido con el criterio mencionado.

En todos los nidos tratados se observó tanto disminución en el flujo de hormigas como cambios en su comportamiento y en las características físicas del hormiguero y su entorno.

Luego de las primeras aplicaciones fue más común observar soldados y escoterías (estas últimas aglomeradas) alrededor de las entradas. Los gránulos de suelo removidos comenzaron a ser dejados más lejos de las entradas y al otro día de haber comenzado las aplicaciones las hormigas comenzaron a remover los agentes contaminantes, es decir, el hongo entomopatógeno y el hongo antagonista.

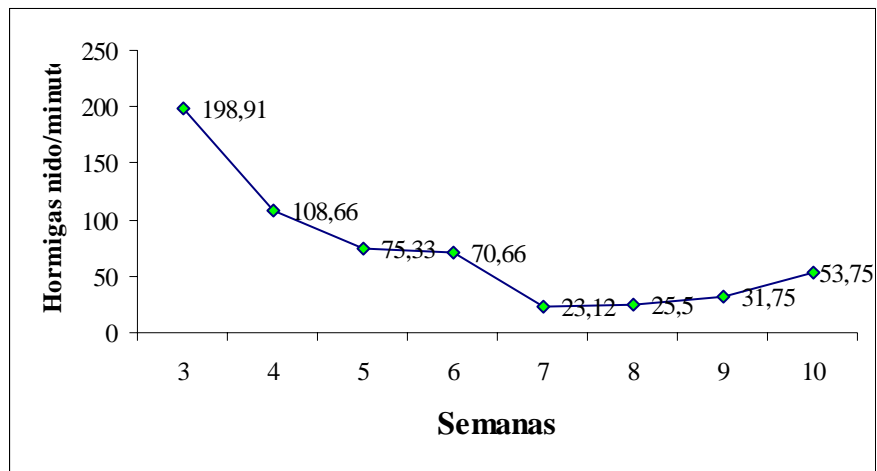
En los hormigueros tratados con *T. harzianum* (T1) la población se redujo de 302.58 y 354.91 en el periodo dos a 226.5 y 256.25 en el periodo cinco (figura 16), es decir hubo un deceso del 26.58% en la densidad poblacional



**Figura 16.** Flujos promedio de hormigas/nido/minuto/semana de los nidos tratados con el hongo antagonista *T.harzianum*.

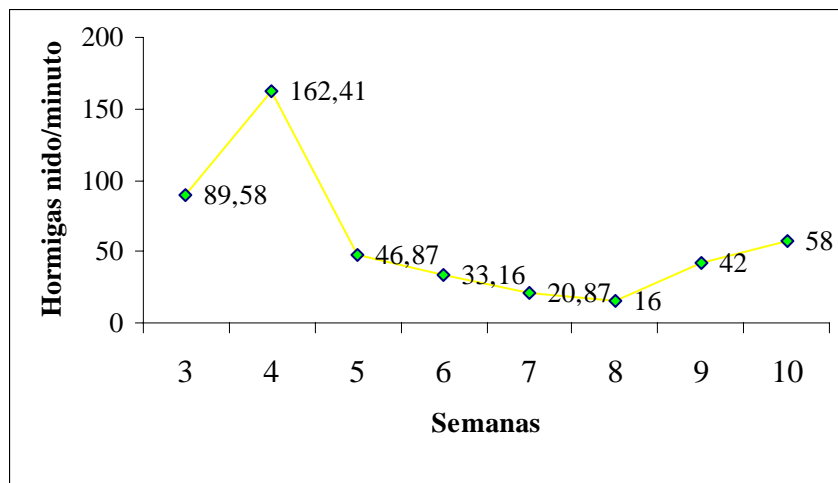
En los nidos tratados con *M. anisopliae* (T3) se presentó un descenso en la población desde 198.91 hormigas en la semana tres (periodo uno) hasta 53.75 hormigas en la semana diez (periodo cinco); (figura 17). La densidad poblacional se redujo en un 72.21%.





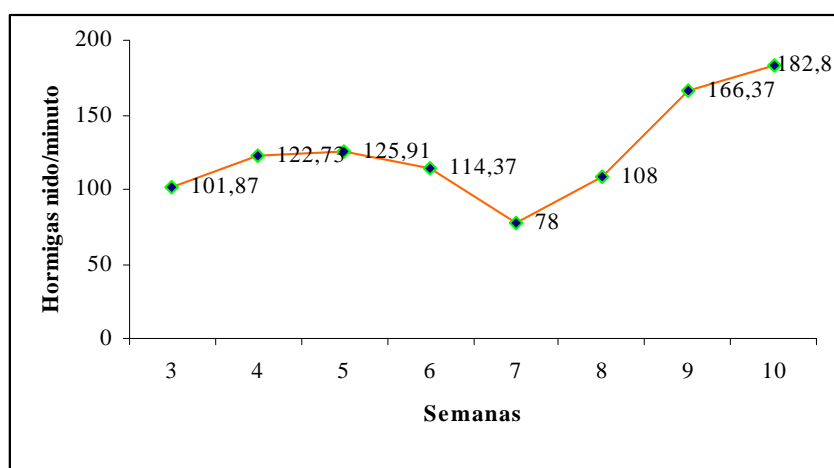
**Figura 17.** Flujos promedio de hormigas/nido/minuto/semana de los nidos tratados con el hongo entomopatógeno *M.anisopliae*.

En las colonias tratadas con la combinación *M. anisopliae* y *T.harzianum* (T2) se presentó un brusco descenso después de la primera aplicación. Reduciéndose el número de individuos contabilizados de 162.41 en la semana cuatro a 46.87 en la semana cinco (periodo tres); (figura 18). Al final del experimento se presentó una reducción del 60.32% en el flujo de hormigas.



**Figura 18.** Flujos promedio de hormigas/nido/minuto/semana de los nidos tratados con *M. anisopliae* y *T. harzianum*

Los hormigueros que conforman el grupo control (T4) presentaron un aumento en su densidad poblacional, el conteo de hormigas paso de 101.87 en la semana tres a 182.8 en la semana 10 (figura 19); es decir aumentó en un 55.45%.



**Figura 19.** Flujos promedio de hormigas/nido/minuto/semana de los nidos a los que no se les aplico ningún hongo.

Luego de realizar el análisis de varianza (ANAVA), con un nivel de significancia del 0.05%, para los datos obtenidos, se encontró que existen diferencias significativas entre tratamientos (tabla 5).

**Tabla 5.** ANAVA para la variable hormigas/nido/minuto/semana

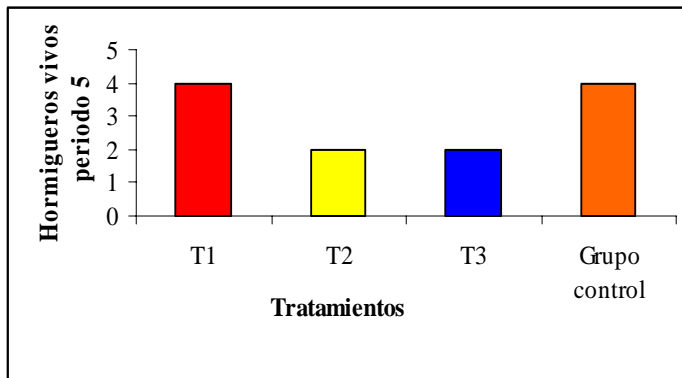
Fuentes de variación	Grados de libertad	S.C	C.M	F.c	F.t 5%
Bloques	7	32364.622	4623.5	2.31	2.49
Tratamientos	3	214956.96	71652.32	35.87	3.07*
Error	21	41949.11	199.75		
Total	31	289270.7			

Luego de encontrar que existían diferencias entre tratamientos, por medio de una prueba de diferencias mínimas significativas (DMS), se estableció que los tratamientos más efectivos (los que redujeron en mayor proporción los flujos de hormigas) en el control de las colonias fueron el dos y el tres, es decir, *M. anisopliae* y la combinación de *M. anisopliae* y *T. harzianum* respectivamente (tabla 6). También puede apreciarse en la tabla 6 que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos y el grupo control.

**Tabla 6.** Análisis DMS para los tratamientos

DMS: 46.47			
T1 - T2	206.41	*	Diferencia estadística significativa
T1 - T3	194.66	*	Diferencia estadística significativa
T1 - T4	137.73	*	Diferencia estadística significativa
T4 - T2	68.68	*	Diferencia estadística significativa
T4 - T3	56.93	*	Diferencia estadística significativa
T3 - T2	11.75	ns	No significativa

Si bien es cierto no se presentó mortalidad del 100% de los nidos con ninguna de las aplicaciones, si se encontró una mortalidad del 50% para los hormigueros a los que se les aplicó los tratamientos dos y tres (figura 20). En los nidos muertos se observó que hubo colonización de plantas de rápido crecimiento y que el suelo pasó de ser granuloso y húmedo a compacto y seco.



**Figura 20.** Nidos muertos por tratamiento al final del experimento

Al final del experimento se excavaron los nidos tratados. En los hormigueros a los que se les aplicaron los tratamientos dos y tres fue difícil encontrar cámaras donde hubiera jardines de hongo como los encontrados en los hormigueros no perturbados. Los jardines encontrados mostraban signos de deterioro como resequead, una capa algodonosa de color blanco recubriéndolos y ausencia de obreras mínimas cuidándolos. Se encontraron también en estos nidos cadáveres de individuos infectados por el hongo entomopatógeno (figura 21).



**Figura 21.** Obreras pequeñas, medianas y grandes infectadas por *M. anisopliae*

El hecho de haber encontrado reinas muertas en hormigueros que, debido al cese de flujo y al cambio en sus características físicas, se presumía estaban muertas, es uno de los aspectos más significativos de los resultados obtenidos (figura 22).



**Figura 22.** Reina muerta encontrada en uno de los nidos tratados con *M. anisopliae*. (↓) Se observa la esporulación del hongo en el gaster del individuo.

## 8. Discusión

El insuflado como técnica de aplicación de productos, principalmente químicos, que tienen por objeto el control de nidos de hormigas cortadoras constituye una valiosa y tradicional práctica arraigada en las costumbres tradicionales de los agricultores. Por medio de la utilización de este elemento se logra una alta penetración del producto en los túneles más profundos (Link, 1997). Estos túneles profundos conducen a las cámaras donde se encuentra la reina y donde se pueden encontrar también jardines del hongo simbiote (Hölldobler y Willson, 1990), ambos pilares de la vida de un hormiguero. Adicional al alto poder de penetración que representa la utilización de ese método de aplicación, se encuentra el hecho de que los agricultores lo han usado durante muchos años, situación que se convierte en un punto favorable en el correcto proceder para obtener éxito al momento de implementar la técnica.

La disminución de las actividades de forrajeo en todos los nidos tratados puede deberse, a que las hormigas tenían como prioridad remover los contaminantes, ya que estos comenzaron a disminuir la población de los hormigueros la semana

después de ser aplicados. La respuesta biológica de la colonia (cambios en el comportamiento) es inmediata. Si bien es cierto esta rápida respuesta puede convertirse en un mecanismo efectivo para descontaminar el nido, es bien sabido que el efecto, tanto del antagonista como del entomopatógeno, es residual, situación que le dificulta a las hormigas la erradicación del 100% del inóculo de los hongos aplicados.

Un comportamiento que puede servir como indicativo del impacto causado por la introducción de *M. anisopliae* y *T. harzianum* es que al otro día de ser insuflados las hormigas comenzaron a remover los pequeños gránulos de producto del interior del nido (figura 23), al tiempo que comenzaban a dejarlos más alejados de las bocas.



**Figura 23.** Gránulos de hongo pulverizado removidos desde el interior de la colonia por individuos de *A. cephalotes*

En ningún caso se observó, como lo anotan Jaramillo, 2004 y López y Orduz, 2002, que las hormigas cubrieran los gránulos con suelo para que ningún individuo tuviera contacto con ellos. Por tanto este suelo seguía representando, exteriormente, una posible fuente de contaminación para las obreras que pasaran cerca o sobre este. El viento podría también transportar esporas de los hongos hacia el interior de la colonia o cerca de alguna entrada, convirtiéndose por tanto, en un agente diseminador del inóculo.

En dos de los tres tratamientos con hongos (ambos tratamientos incluían *M. anisopliae*) se presentó el 50% de mortalidad de las colonias, estos resultados son comparables con los obtenidos por Lopez y Orduz, 2002, donde al final del experimento se presento 100% de mortalidad en los hormigueros tratados con *M. anisopliae*. Estos resultados son un indicativo de la alta capacidad que tiene el hongo entomopatógeno *M. anisopliae* para producir una epizootia.

La diferencia encontrada en el porcentaje de efectividad puede deberse a que la cepa empleada por López y Orduz, 2002 fue obtenida de una reina de *A. cephalotes* infectada por el hongo entomopatógeno (López *et al.* 1999). Este hecho hace evidente la alta capacidad de especialización de esta especie en su hospedero inmediato y la importancia que tiene el proceso de selección de cepas cuando se quiere iniciar un programa de control microbiológico.

Es cierto que las cepas utilizadas en este trabajo están certificadas por las entidades proveedoras como efectivas en el manejo de insectos plaga en agricultura (ver numeral 6.2) sin embargo, no se encuentran adaptadas a las condiciones particulares del huésped (*A. cephalotes*) y su ambiente, hecho que puede significar una menor capacidad de acción sobre el mismo. A pesar de esto se eligió trabajar con cepas comerciales, ya que son este tipo de productos a los que tienen acceso los agricultores.

También concuerda con López y Orduz 2002, el hecho de que los tratamientos menos efectivos fueron *T. harzianum* (en el presente trabajo) y *T. viridae* (en el caso de los autores mencionados).

Ortiz y Orduz, 2001 demostraron en ensayos de laboratorio el antagonismo de *Trichoderma* sp. sobre el hongo simbiote (en ese caso *Attamyces* sp.) de las hormigas arrieras . A pesar de este hecho, se observa en campo que la aplicación de este hongo no ha resultado muy efectiva, debido tal vez a los complejos y especializados mecanismos que las hormigas han desarrollado para mantener la

asepsia de sus jardines a lo largo de los cincuenta millones de años que han transcurrido desde que se inició su carrera evolutiva.

Si bien es cierto los mecanismos bioquímicos empleados por las hormigas para mantener y favorecer el crecimiento del hongo revisten de gran importancia, la plasticidad en sus comportamientos (que les confiere a su vez gran capacidad de respuesta ante condiciones adversas) puede convertirse en el factor clave al momento de enfrentar un problema de contaminación. Esta situación queda demostrada en el trabajo realizado por Ortiz *et al.* 1999, quienes luego de contaminar los jardines de una colonia establecida de forma artificial, encontraron que más del 50% de los individuos de la colonia se dedicaron a descontaminar el jardín del hongo, labor que en algunos casos fue exitosa en la lucha por mantener su fuente de alimentación viva.

Uno de los indicativos de que una colonia de hormigas ha desaparecido es la colonización de vegetación en el área que originalmente ocupaban los montículos de suelo removido. Las glándulas metapleurales de las cortadoras segregan ácido hidroxidecanoico que opera como inhibidor de la germinación de esporas y semillas dentro del nido, además de tener funciones bactericidas (Cherret *et al.* 1989).

En los hormigueros H.AZ.2, H.AZ.3 (tratamiento 3), H.AM.1 y H.AM.4 (tratamiento 2) se presentó, luego de haber cesado el flujo de hormigas, colonización del área que ocupaban por parte de arvenses y gramíneas (figuras 24 y 25). Estos fueron los hormigueros exterminados luego de las aplicaciones de los hongos.



**Figura 24.** Hormiguero tratado con *M. anisopliae* colonizado por pasto y arvenses.





**Figura 25.** Hormiguero tratado con *M. anisopliae* y *T. harzianum* colonizado por plantas de rápido crecimiento.

También fueron encontrados en estos nidos jardines del hongo deteriorado, esto debido tal vez a la ausencia de individuos que pudieran brindarle los cuidados habituales y necesarios para su supervivencia y a la colonización por parte del hongo antagonista, que pudo comprobarse gracias a la observación macroscópica de micelio colonizando su superficie.

Si bien es cierto en los nidos a los que se les aplicó el tratamiento uno se encontraron también rastros de jardín deteriorado, es posible que el impacto causado por *T. harzianum* no representara mayor peligro para la supervivencia, ya que era el único problema que los nidos presentaban. Contrario a los nidos tratados con el tratamiento tres (donde los individuos no tenían forma de liberarse de la infección de *M. anisopliae*) y el tratamiento dos (donde los individuos además de verse invadidos por el entomopatógeno tenían que luchar por librar sus jardines del antagonista).

Otro claro indicativo de la muerte de un hormiguero es el cambio en apariencia y en algunas características físicas, como humedad, en el suelo que conforma los montículos de entrada de las colonias de *A. cephalotes*. Como se observa en la figura 26 el suelo presente en una colonia muerta es compacto y seco (antes era granuloso y húmedo), esto sugiere que la construcción de túneles de comunicación y de galerías ha cesado al interior de la colonia.





**Figura 26.** Apariencia característica del suelo de la entrada de una colonia de *A. cephalotes* muerta. (▼) Suelo compacto y seco.

La muerte de la reina es un indicativo indiscutible de que un nido ha muerto, ya que sin su presencia no es posible la reproducción y la coordinación de labores de los individuos integrantes de la colonia. Como lo anota Madrigal, 2003 la colonia colapsa.

Aunque la aplicación de los tratamientos no fue 100% efectiva en el control de los nidos de *A. cephalotes*, los resultados obtenidos indican que la utilización de otras formas de control diferentes al empleo de productos químicos es viable dentro de un manejo integrado de plagas. También es importante anotar que las observaciones realizadas constituyen un importante registro de la respuesta, en condiciones naturales, tanto de las poblaciones de las especies controladoras como las de la especie plaga.

Si bien es cierto el control biológico es un método que trae menos consecuencias negativas para el ecosistema, no es la solución definitiva, ni tal vez la más adecuada para el control de plagas, en este caso de *A. cephalotes*, en la agricultura. La aparición de estas hormigas se ve favorecida por prácticas tan comunes en la agricultura como lo son la tala de bosque natural (Vieira 2003) y las intensivas fumigaciones y fertilizaciones (Howard 1987; Howard 1988).

Por tal motivo hasta que las prácticas agrícolas modernas no sean revaluadas y dejen de ser las más implementadas por los cultivadores el problema, no solo de las arrieras, si no de muchas otras plagas es de difícil solución.

## 9. Conclusiones

- El insuflado es una técnica práctica y económica para la aplicación de formulaciones sólidas, especialmente polvos. Puede ser tenido en cuenta para la aplicación de biocontroladores
- El método de propagación de las cepas, consistente en la inoculación de arroz estéril con el micelio extraído de las cepas parentales, empleado en el presente trabajo es efectivo práctico y económico.
- A partir de una semana de aplicados los hongos comienzan a verse resultados efectivos en el control, reflejados en la disminución de la densidad poblacional de los nidos.
- Los cambios en el comportamiento habitual de los integrantes de una colonia –especialmente aquellos relacionados con la defensa- se presentan con mayor rapidez que los relacionados con densidad poblacional.
- El incremento en la actividad de los soldados y las escoterías es un indicativo de la alta capacidad de respuesta que tienen las hormigas ante estímulos externos que resultan nocivos para la supervivencia de la colonia
- El nivel de adaptación que presente el biocontrolador al huésped y a su medio son características que influyen en la eficacia del control.
- El tratamiento más efectivo para el control de nidos de *A. cephalotes* en la Finca San Miguel fue *M. anisopliae* en combinación con *T. harzianum*.

- El tratamiento menos efectivo para el control de nidos de *A. cephalotes* en la Finca San Miguel fue *T. harzianum*
- Además del cese de flujo de hormigas, tanto la colonización de vegetación como el cambio en las características físicas del suelo son indicativos del estado de una colonia.

## 10. Recomendaciones

- Comparar métodos de aplicación de los hongos.
- Es importante realizar búsquedas de cepas naturales en campo.
- Tener presentes las épocas de vuelo nupcial para efectuar la búsqueda de colonias recién fundadas y no permitir su proliferación.
- Los nidos jóvenes pueden controlarse por medio del control biológico, para nidos maduros se recomienda hacer un manejo que integre los diferentes métodos de control (mecánicos, físicos, culturales, biológicos).
- Evaluar antagonistas como *Gliocadium* spp., *Penicillium* spp. y otros en condiciones naturales.
- Hacer estudios detallados acerca del impacto económico de la hormiga arriera en la agricultura colombiana y determinar los umbrales de daño económico.
- Reducir el uso de productos químicos para el control de nidos de hormigas cortadoras.

- Si se quiere exterminar un nido de cortadoras es completamente necesario matar la reina.
- Aplicar los productos controladores en las horas de mayor actividad del hormiguero. Con esto se aumenta la intensidad de contaminación dentro de la colonia.
- Al momento de implementar un programa de control de plagas es importante tener en cuenta las prácticas que tradicionalmente se han desarrollado en la zona donde se va a llevar a cabo.
- Las investigaciones relacionadas con el control de hormigas arrieras deben tener presentes las condiciones del agricultor, los recursos a los que tiene acceso y la aplicabilidad en el mundo real de las metodologías implementadas para desarrollar las investigaciones.
- La utilización de microorganismos es una práctica que debe ser incluida dentro de un programa de manejo integrado (MIP) para el control de hormigas cortadoras.

## 11. Referencias

- Abril, A.B. ; Bucher, E.H. 2004. Nutritional sources of the fungus cultured by leaf-cutting ants. *Applied Soil Ecology*. 26: 243-247
- Aguilar, M. 1992. Evaluación Del Fríjol Blanco, *Canavalia Ensiformis* (L) D.C. Como Control Del Simbionte Hormiga Arriera *Atta Laevigata*, Smith, 1958, En Cultivos De Pino Caribe *Pinus Caribeae*, Marelet, En Villanueva-Casanare. BIÓLOGO. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Bogotá-Colombia. 112 p.
- Aponte, L. ; Uribe, D. 2001. Actividad insecticida de aislamientos nativos de *Beauveria* spp. Y *Metarhizium* spp., contra larvas de II instar de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Colombiana de Entomología*. 27 (1-2): 67-72

- Betancourt, H. 1999. Inventario Ambiental de Sevilla. Técnico Agropecuario. Unidad Técnica Profesional de Sevilla UNITEPS. Facultad de Medio Ambiente. Sevilla (Valle)-Colombia. 62 p.
- Carsolio, C.; Benhamou, N.; Haran, S.; Cortés, C.; Gutierrez, A.; Chet, I.; Herrera, A. 1998. Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech 42, in mycoparasitism. *Applied and Environmental Microbiology*. 65 (3): 929-935.
- Chapela, I.H. ; Rehner, S.A. ; Schultz, T.R. ; Mueller, U.G. 1994. Evolutionary history of the symbiosis between fungus-growing ants and their fungus. *Science*. 266: 1691-1694.
- Cherret, J. M.; Powell, R. J.; Stradling, D.J. 1989. The mutualism between leaf-cutting ants and their fungus. *Royal Entomol Soc.* 14: 93-120.
- Clavijo, A. ; Cotes, A.M. Sin año. Evaluación de la actividad quitinasa en procesos de control biológico de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Lycopersici* en tomate, mediante fitoinvigoración de semillas en presencia de *Trichoderma koningii*. *Revista Colombiana de Biotecnología*. - : 58-66.
- Cortes, F. 1991. Interacción biológica entre la hormiga arriera (*Atta laevigata* F. Smith) y el frijol blanco (*Canavalia ensiformes* (L.) D.C.) en sabanas de la orinoquia colombiana. Biólogo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Bogotá-Colombia. 133 p.
- Cortes, F.; León, T.E. 2003. Modelo conceptual del papel ecológico de la hormiga arriera (*Atta laevigata*) en los ecosistemas de sabana estacional (Vichada, Colombia). *Caldasia*. 25 (2): 403-417.
- Cortes, V. E. 1988. Evaluación de productos químicos y técnicas de aplicación para el control de hormiga arriera *Atta* spp. Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Medellín-Colombia. 48 p.
- Currie, C.R. ; Wong, B. ; Stuart, A. ; Schultz, T.R. ; Rehner, S.A. ; Mueller, U.G. ; Sung, G.H. ; Spatafora, J.W. ; Straus, N.A. 2003. Ancient Tripartite Coevolution in the Attine ant-microbe symbiosis. *Science*. 299 : 386-388.
- Diamond, J. 1998. Ants, crops and history. *Science*. 281: 1974-1975.
- Díaz, J.A. ; Navarrete, D.Y. 2002. Evaluación de tres aislamientos de *Trichoderma* sp. en el control del patógeno *Pythium* sp. en cuatro variedades de crisantemo (*Dendrathera grandiflora*) en la Sabana de Bogotá. Microbiólogo (a) Industrial.

Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá-Colombia. 103 p.

Espinel, C. ; Ebratt, E.E. ; Cotes, A.M. 1998. Evaluación de cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* para el control biológico de *Rhammatocerus schistocercoides* (Orthoptera: Acrididae). *Revista Colombiana de Entomología*. 24 (1-2): 1-5.

Fonseca, L. 2002. Evaluación de *Trichoderma* sp. como controlador biológico de *Phytophthora infestans* en cultivos de *Solanum tuberosum*. Microbióloga Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá-Colombia. 84 p.

Garzón, C. 2002. Desarrollo y caracterización microbiológica y física de preformulados en polvo a base del hongo *Trichoderma Koningii* para el control de fitopatógenos. Microbióloga Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá-Colombia. 104 p.

Gasca, G.; Zenner I. 1993. Evaluación de un cebo a base de Diflurbenzon contra *Atta laevigata* (Hymenoptera. Formicidae). *Agricultura Tropical Colombia*. 30: 57-62.

Giraldo, E.M; López, Y; Delgao, F; Vélez, P.E. 2001. Actividad lipolítica y proteolítica de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* y su relación con la patogenicidad sobre *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Revista Colombiana de Entomología*. 27 (1-2): 61-65.

Green, A.M.; Mueller, U. G.; Adams, R. M. M. 2002. Extensive exchange of fungal cultivars between sympatric species of fungus-growing ants. *Molecular Ecology*. 11: 191-195.

Hart, A.G.; Anderson, C.; Ratnieks, F.L.W. 2002. Task partitioning in leafcutting ants. *Acta Ethol*. 5 : 1-11.

Hawkins, B. A; Cornell H. V. 1999. Theoretical Approaches To Biological Control. Cambridge University. United Kingdom. 412p.

Hölldobler, B.; Wilson, E.O. 1990. The Ants. The Belknap Press of Harvard University Press. Cambridge. 736 p.

Howard, J. 1988. Leafcutting ant diet selection: relative influence of leaf chemistry and physical features. *Ecology*. 69 (1): 250-260.

- Howard, J. 1987. Leafcutting ant diet selection: the role of nutrients, water and secondary chemistry. *Ecology*. 68 (3): 503-515.
- Ibarra, A.M. ; Varela, A. 2002. Aislamiento, identificación y caracterización de hongos como agentes potenciales de control biológico en algunas regiones colombianas. *Revista Colombiana de Entomología*. 28 (2): 129-137.
- Jaramillo, A. 2004. *El Penicillium* spp. para el control biológico de la hormiga arriera (*Atta cephalotes*). Ingeniero Agroindustrial. Universidad La Gran Colombia. Facultad de Ingeniería Agroindustrial. Armenia-Colombia. 45 p.
- Jiménez, L. C.; Muñoz L. 1990. Evaluación de la efectividad de siete productos químicos en el control de las hormigas cortadoras *Atta* y *Acromyrmex*. Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Medellín-Colombia. 59 p.
- Jones, E.E.; Stewart, A. 1997. Biological control of *Sclerotinia minor* in lettuce using *Trichoderma* species. 50<sup>th</sup> conferences proceedings of the New Zealand plant protection society incorporated. 154-158 pp.
- Küküç, C. ; Kivanc, M. 2004. In vitro antifungal activity of strains of *Trichoderma harzianum*. *Turk Journal Biology*. 28: 111-115.
- Link, D. 1997. Hormigas cortadoras, hábitos y su control. XII Jornadas Forestales de Entre Rios. Concordia. Brasil. 8 p.
- López, E.; Orduz S. 2002. *Metarhizium anisopliae* y *Trichoderma viridae* controlan colonias de *Atta cephalotes* en campo mejor que un insecticida químico. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 4: 71-78.
- López, E.; Romero M.; Ortiz A.; Orduz S. 1999. Primer registro de *Metarhizium anisopliae* infectando reinas de *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae) en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 25: 49-56.
- Lorenzo, M.E. ; Castellanos, N. ; López, M.O. ; Iglesias, F. 2001. Prospección de hongos antagonistas en la provincia de Cienfuegos. Efectividad y posibilidades de reproducción de cepas nativas de *Trichoderma* spp. Cienfuegos-Cuba. 43 p.
- Mackay, W.P.; Mackay, E. 1986. Las hormigas de Colombia: Arrieras del género *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). *Revista Colombiana de Entomología*. 12 (1): 23-30.

- Madrigal, A. 2003. Insectos Forestales En Colombia Biología, Hábitat, Ecología y Manejo. Editorial Marín Vieco Ltda. Medellín-Colombia. pp 369-394.
- Madrigal, A.; Yepes F. A. 1996. Las Hormigas Cortadoras y Su Control. Secretaria de Agricultura – Universidad Nacional. Medellín-Colombia. 34p.
- Maniania, N.K; Ekesi, S. Lohr, B; Mwangi, F. 2002. Prospects for biological control of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, with the entomopatogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*, on chrysanthemum. *Mycopathologia*. 155: 229-235.
- Martinez, M. M. 2003. Agricultura Biológica. Esfera Editores Ltda. Bogotá-Colombia. pp 95-115.
- Metcalf, R. L.; Luckmann, W. H. 1990. Introducción al Manejo de Plagas de Insectos. Noriega. México. 710 p.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. 63: 95-103.
- Mueller, U. G.; Rehner, S. A.; Schultz, T. R. 1998. The evolution of agriculture in ants. *Science*. 281: 2034-2038.
- Mueller, U. G.; Schultz, T. R.; Currie, C. R.; Adams, R. M.; Malloch, D. 2001. The origin of the Attine ant-fungus mutualism. *The Quarterly Review of Biology*. 76: 169-197.
- Nicholls, C.I. ; Altieri, M.A. 2000. Bases agroecológicas para el manejo de la biodiversidad en agroecosistemas: efectos sobre plagas y enfermedades. The New York Times. New York-United States. 14p.
- Ortiz, A.; Madrigal, A.; Orduz S. 1999. Evaluación del comportamiento de las hormigas *Atta cephalotes* frente a la contaminación del jardín del hongo con *Trichoderma lignorum*. *Revista Colombiana De Entomología*. 25: 169 – 177.
- Ortiz, A; Orduz, S. 2000. In vitro evaluation of *Trichoderma* and *Gliocadium* antagonism against the symbiotic fungus of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. *Mycopathologia*. 150: 53-60.
- Prager, M.; Marmolejo, F.; Bravo, N. 2000. Microbiología Aspectos Fundamentales. Impresora Feriva S.A. Palmira-Colombia. 260 p.



- Prager, M; Restrepo J. M; Ángel D. I. ; Malagón R.; Zamorano A. 2002. AGROECOLOGIA, Una Disciplina Para El Estudio Y Desarrollo De Sistemas Sostenibles De Producción Agropecuaria. Impresora Feriva S.A. Palmira-Colombia. 333 p.
- Roco, A.; Perez, L.M. 2001. *In vitro* biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* on *Alternaria alternata* in the presence of growth regulators. *Electronic Journal of Biotechnology*. 4 (2): 68-73.
- St . Leger, R.J; Goettel, D.W. ; Roberts, W; Staples, R.C. 1991. Prepenetration events during infection of host cuticle by *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 58: 168-179.
- Stefanova, M.; Leiva, A.; Larrinaga, L.; Coronado, M.F. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 16: 509-516.
- Valenzuela, G. 1993. Itinerario del control biológico de plagas en Colombia –Una aproximación a la historia-. En: Palacios, F.; Arciniegas, I.; Astudillo, A.M (eds). *Control Biológico en Colombia, Historia, Avances, Proyecciones*. Lito-Támara Ltda.. Palmira-Colombia. pp 1-8.
- Van Driesche, R. G & Bellows T. S. 1996. *Biological Control*. Chapman & may. New York-United States. 539 p.
- Vélez, R. 1997. *Plagas Agrícolas de Impacto Económico en Colombia: Bionomía y Manejo Integrado*. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín-Colombia. pp 465-478
- Vieira, R. 2003. As formigas cortadeiras (*Atta laevigata*) apresentam maiores taxas de herbivoria em áreas fragmentadas? 6ª Congresso de Ecologia do Brasil. Brasil.
- Wilson, E.O. 1971. *The insects societies*. The Belknap Press of harvard university Press. London. England. pp 27-74.
- Zanuncio, J.C.; Santos, G.P.; Firme, D.J.; Zanuncio, T.V. Sin año. Uso da isca granulada com sulfloramida 0.3%, no controle de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae).

## Anexo 1

**Fecha:**

**Observación: 1... 2... 3...**

Nido	Tratamiento	Semana	Periodo	Hormigas que entran y salen
H.R.1	<i>T. harzianum.</i>			
H.R.2	<i>T. harzianum</i>			
H.R.3	<i>T. harzianum</i>			
H.R.4	<i>T. harzianum</i>			
<b>Total hormigas</b>				
<b>Promedio</b>				
H.AM.1	<i>T. harzianum.</i> y <i>M. anisopliae</i>			
H.AM.2	<i>T. harzianum</i> p. y <i>M. anisopliae</i>			
H.AM.3	<i>T. harzianum</i> y <i>M. anisopliae</i>			
H.AM.3	<i>T. harzianum</i> y <i>M. anisopliae</i>			
<b>Total hormigas</b>				
<b>Promedio</b>				
H.AZ.1	<i>M. anisopliae</i>			
H.AZ.2	<i>M. anisopliae</i>			
H.AZ.3	<i>M. anisopliae</i>			
H.AZ.4	<i>M. anisopliae</i>			
<b>Total hormigas</b>				
<b>Promedio</b>				
H.N.1	Control			
H.N.2	Control			
H.N.3	Control			
H.N.4	Control			
<b>Total hormigas</b>				
<b>Promedio</b>				

**Comentarios y observaciones:**