

# ***Informe Final***

**Mayo 2008**

**CONTROL BIOLÓGICO DE HORMIGAS  
CORTADORAS (Géneros Atta y Acromirmex) CON HONGOS  
ENTOMOPATÓGENOS**

**INICIO 1-11-2007  
FINALIZACIÓN 29-06-08**

## **Equipo:**

PhD. Ing. Agr. Alda Rodríguez. BIO Uruguay.  
Tec. Asdrúbal Viana. BIO Uruguay.  
Sra. Yaqueline Acuña. BIO Uruguay.  
Tec. Fernando González. Forestal Oriental.  
Sr. Juan Alvez Forestal Oriental.

## **Agradecimientos:**

A Forestal Oriental por apoyar el desarrollo de esta investigación .  
A trabajadores de Forestal Oriental y BIO Uruguay.

## I Descripción de la investigación.

### **Objetivo:**

Evaluar en condiciones de campo el efecto de hongos entomopatógenos mas promisorios a nivel de laboratorio para el control de hormigas cortadoras (géneros Atta y Acromirmex).

### **Diseño:**

En ensayos a campo, tratamientos con 4 repeticiones, un hormiguero considerado una repetición.

### **Parámetros a evaluar:**

En ensayos de patogenicidad a campo: actividad (hormigas/minuto) y persistencia.

En ensayos de patogenicidad en laboratorio: Mortalidad en porcentaje.

En ensayos de viabilidad: Esporas germinadas en porcentaje.

### **Metodología:**

En ensayos de patogenicidad a campo.

Selección de hormigueros con actividad en campos de Forestal Oriental y BIO Uruguay, donde se realizarán aplicaciones y evaluaciones semanales.

Las aplicaciones se realizan con 20-40 gr. del bio-hormiguicida conteniendo  $10^9$  conidios/gramo. Como atrayente se utiliza jugo de naranja al 6%, mezclado con el bio-hormiguicida, y puesto a disposición en el camino principal del hormiguero a 20 cms de éste (Foto 1).

Foto 1. Aplicación a campo.



Los aislamientos utilizados en los diferentes ensayos fueron:

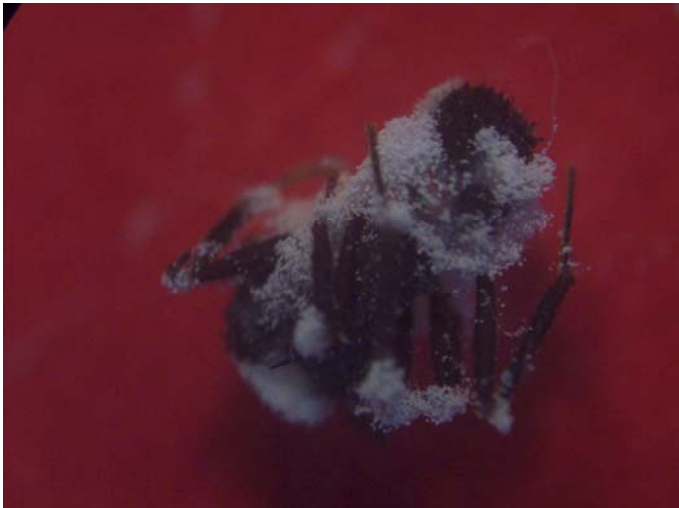
- B2 *Beauveria bassiana* (cepa aislada en BIO Uruguay que presentó niveles de patogenicidad en laboratorio de 93%)
- M558 *Metarhizium anisoplae* (cepa aislada en BIO Uruguay que presentó niveles de patogenicidad en laboratorio de 50%)
- B2 RH N, Aislamiento de B2 *Beauveria bassiana*, colectadas en hormigas muertas de hormigueros tratados.
- B2 RH P, *Paecilomyces furmosoroeos*. Aislamiento de hormigas colectadas de hormigueros tratados.
- Boll 3 Aislamiento de *Beauveria bassiana* de hormigas colectadas muertas em BIO Uruguay.
- VH *Verticillium lecanii* colectadas muertas em BIO Uruguay.

En ensayos de patogenicidad en laboratorio.

Se colecta 200 gr del interior de hormigueros nunca tratados, conteniendo hormigas vivas, se coloca en frascos con tapa malla y se aplica alimentación, humedad y 1 gr de arroz conteniendo  $1 \times 10^9$  conidios de hongo entomopatógeno.

Las evaluaciones se realizan 10 días después, contabilizando hormigas muertas y vivas. Las primeras se colocan en cámara húmeda para evaluar presencia y desarrollo de hongo entomopatógeno (Foto 2).

Foto 2. Desarrollo de hongo entomopatógeno sobre hormiga.



En ensayos de viabilidad.

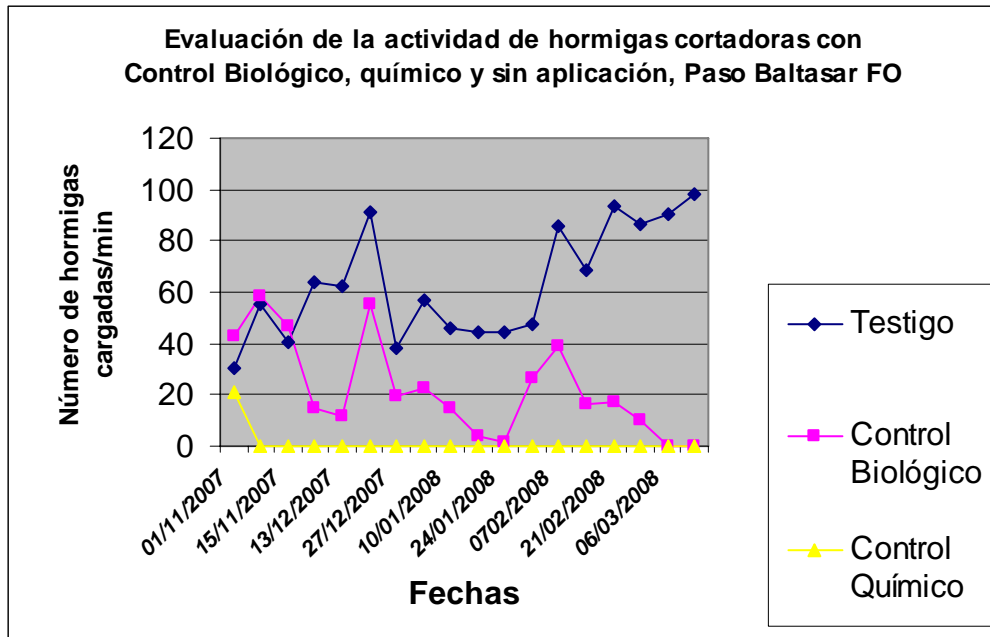
Las diluciones de los aislamientos de hongos entomopatógenos se siembran en slides sobre Agar Agua, a las 48 horas se contabiliza conidios germinados y totales.

## II Ensayos realizados y resultados.

### Ensayo 1. Patogenicidad a campo. Evaluación de la actividad de hormigas cortadoras con Control Biológico, químico y sin aplicación, Paso Baltasar FO

#### Tratamientos 3:

- Testigo químico (fipronil)
- aislamiento de hongo entomopatógeno
- sin aplicación.



**Grafica 1.**

Como se observa en la Gráfica 1, de datos acumulados, la población de hormigas muestra similar tendencia en el tratamiento Testigo sin aplicación y Control Biológico. Sin embargo este último llega a niveles mínimos entre la cuarta y quinta semana, retomando actividad y volviendo a decaer mientras el testigo continúa su evolución.

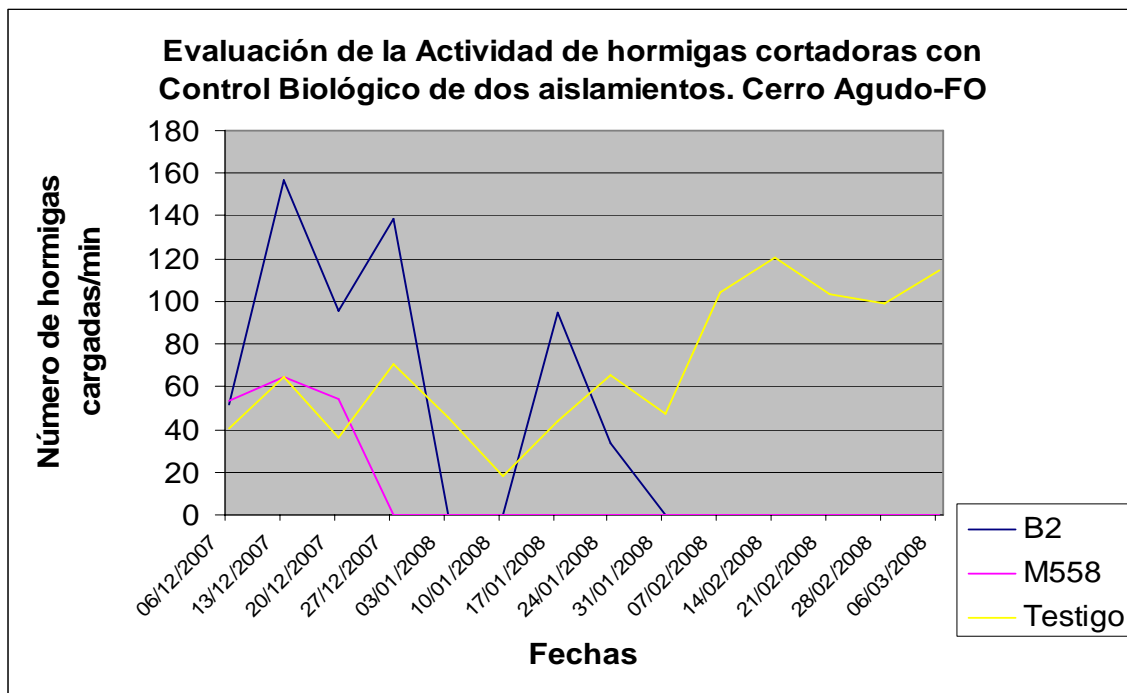
En los datos parciales de cada repetición (hormigueros) 2 quedan sin actividad en la cuarta semana, 1 queda sin actividad en la misma fecha retomando y vuelve a disminuir, el cuarto continúa hasta la octava semana, quedando finalmente todos los hormigueros desactivados y sin hormigas vivas en su interior.

**Ensayo 2. Patogenicidad a campo. Evaluación de la actividad de hormigas cortadoras con Control Biológico de dos aislamientos. Cerro Agudo-FO**

**Tratamientos 3:**

- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa B2.
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa M558.
- Testigo sin aplicación.

**Gráfica 2.**



Al observar esta Gráfica, de datos acumulados, la población de hormigas desciende drásticamente en la cuarta semana (tratamiento con aislamiento M558) quedando hormigueros sin actividad y sin hormigas. Con el aislamiento B2 observamos aumento de la población en la segunda, cuarta y sexta semana, quedando sin actividad a la octava semana. El tratamiento testigo muestra un incremento continuo de hormigas.

**Ensayo 3. Patogenicidad en laboratorio. Evaluación de la mortalidad de hormigas cortadoras con diferentes aislamientos.**

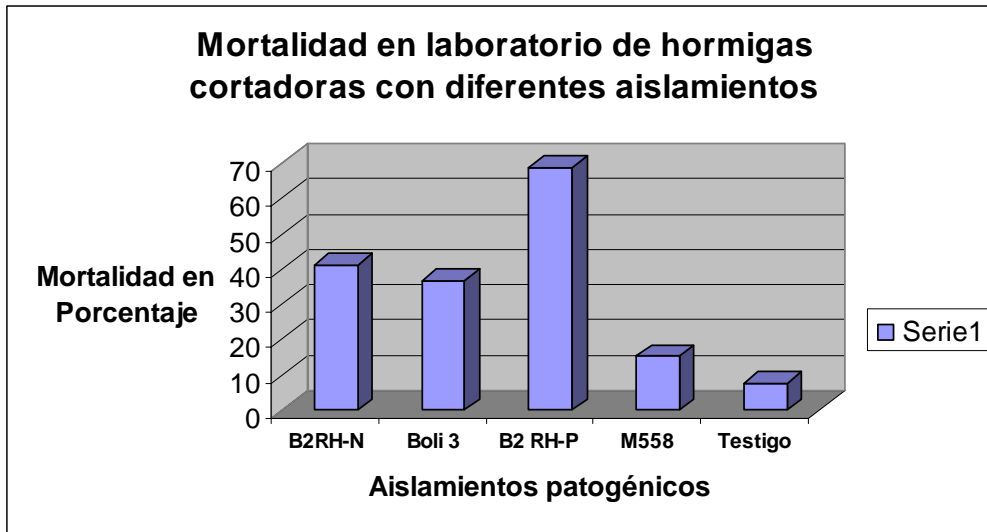
**Tratamientos 8:**

- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa B2 RH N.
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa M558.

- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa Boli 3
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa B2 RHP
- Testigo sin aplicación.

En este ensayo y el siguiente se busca conocer el comportamiento patogénico de nuevos aislamientos provenientes de hormigas muertas extraídas de hormigueros tratados.

Grafica 3.



Los datos presentan un comportamiento muy bueno del aislamiento B2 RHP, con mortalidad de hormigas superior al 60%. En microcultivo se identifica como *Paecilomyces fumosoroseos*.

Foto 3. Micro cultivo de hongo entomopatógeno para su identificación.



Foto 4. Estructura reproductiva que caracteriza a *Paecilomyces fumosoroseos*

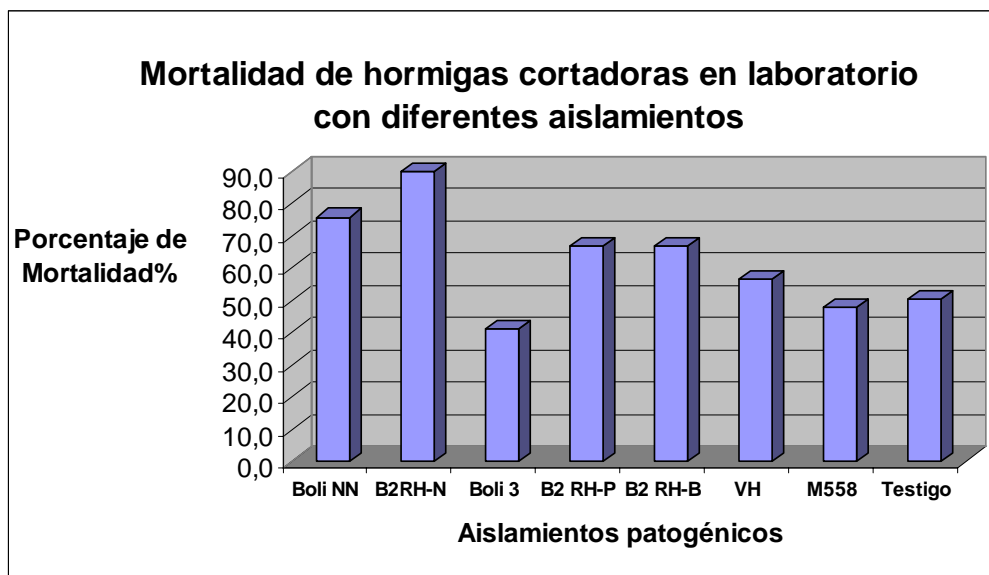


**Ensayo 4. Patogenicidad en laboratorio. Evaluación de la mortalidad de hormigas cortadoras con diferentes aislamientos.**

**Tratamientos 8:**

- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa B2 RH N.
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa M558.
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa Boli 3
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa VH
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa B2 RHP
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa B2RH NN
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa B2 RH B
- Testigo sin aplicación.

Gráfica 4.



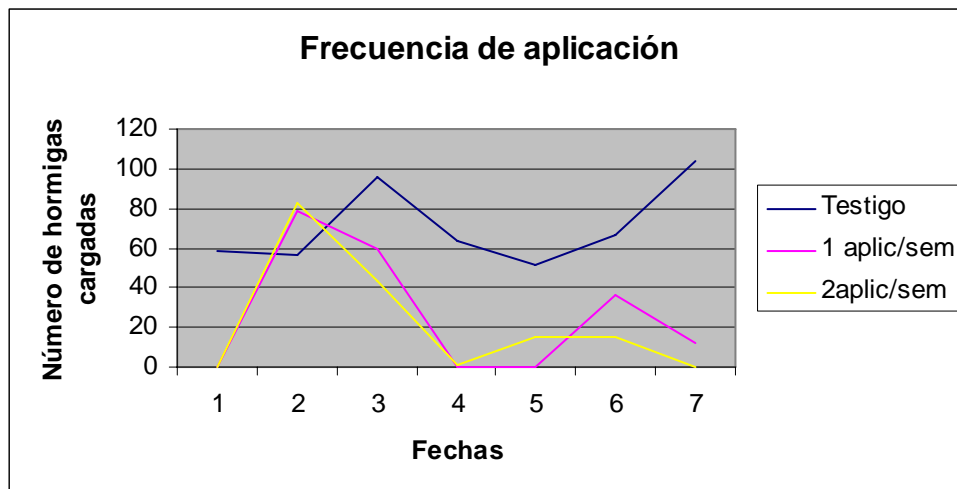
En esta evaluación el aislamiento B2RHP vuelve a mostrar mortalidad superior al 60 %, al igual que los tres reaislamientos de B2 de *Beauveria bassiana*, destacándose B2RHN que se acerca al 90 % de Mortalidad.

**Ensayo 5. Frecuencia de aplicación. Evaluación de la actividad de hormigas cortadoras con Control Biológico, con una y dos aplicaciones semanales.**

**Tratamientos:**

- Testigo (sin aplicación)
- Aplicación de Control Biológico una vez por semana.
- Aplicación de Control Biológico dos veces por semana.

**Gráfica 5.**



Con esta prueba se buscó obtener información acerca de la eficiencia en control de hormigas cortadoras aumentando la frecuencia de aplicación. Los datos muestran que el comportamiento es muy similar entre 1 o 2 aplicaciones de bio hormiguicida por semana.

**Ensayo 6. Patogenicidad a campo. Evaluación de hormigas cortadoras con control biológico de 5 aislamientos. Cerro Agudo-FO**

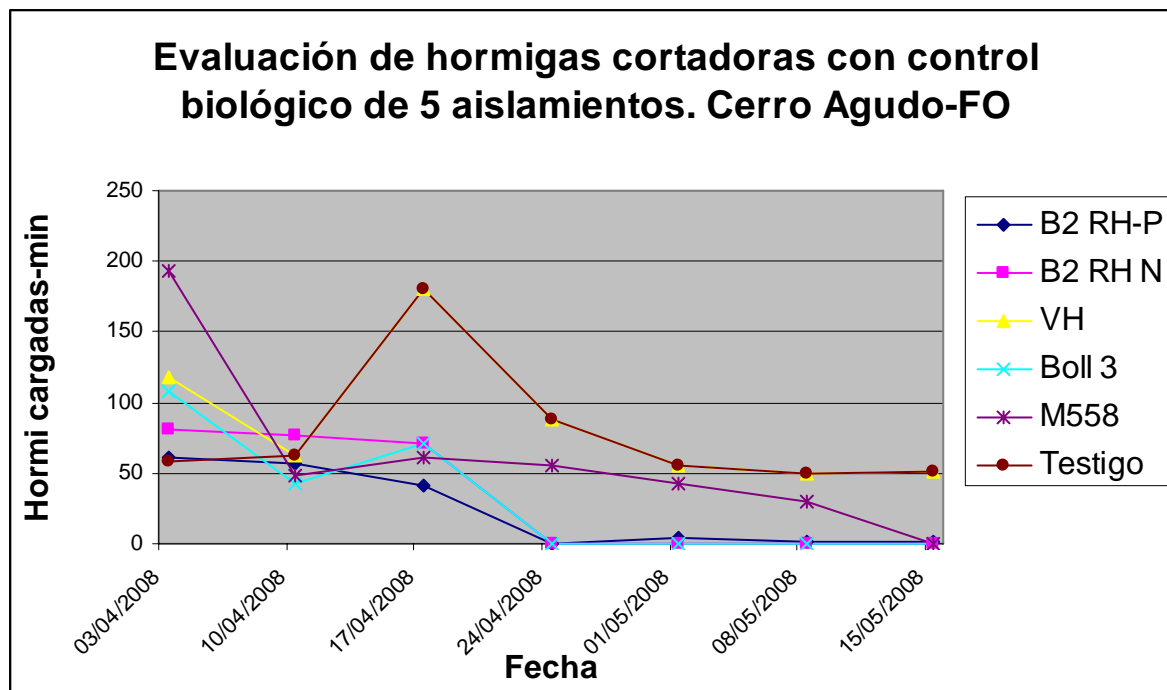
**Tratamientos: 6**

- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa B2 RH N.
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa M558.
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa Boll 3
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa VH
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa B2 RHP
- Testigo sin aplicación.

**Descripción de 24 hormigueros del ensayo**

<b>NºHormiguero</b>	<b>Hormiga</b>	<b>Nido / Tipo</b>
1,6,9,10,12,11,12,13,20,21,22,23,24	<i>Acromyrmex lundi</i> , cortadora negra minera	subterráneo
2,3,4,5,7,14,15,19	<i>Atta sexdens</i> , cortadora negra	montículo
8,16,17,18	<i>Acromyrmex heyeri</i> , cortadora colorada	montículo

Gráfica 6.



En este ensayo se incorporan los nuevos aislamientos obtenidos de hormigas muertas o reaislamientos para el control a campo de hormigas cortadoras. Los tratamientos con mayor eficiencia e igual comportamiento, que desactivan hormigueros en la cuarta semana son B2 RH N, Boll 3 y B2 RHP.

VH sigue una curva similar al testigo sin aplicación y el M558 tuvo una disminución gradual y lenta de hormigas.

**Ensayo 7. Patogenicidad a campo. Evaluación de hormigas cortadoras con control biológico de 5 aislamientos. BIO Uruguay.**

**Tratamientos: 6**

- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa B2 RH N.
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa M558.
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa Boll 3
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa VH
- Aislamiento de hongo entomopatógeno cepa B2 RHP
- Testigo sin aplicación.

**Descripción de 24 hormigueros del ensayo**

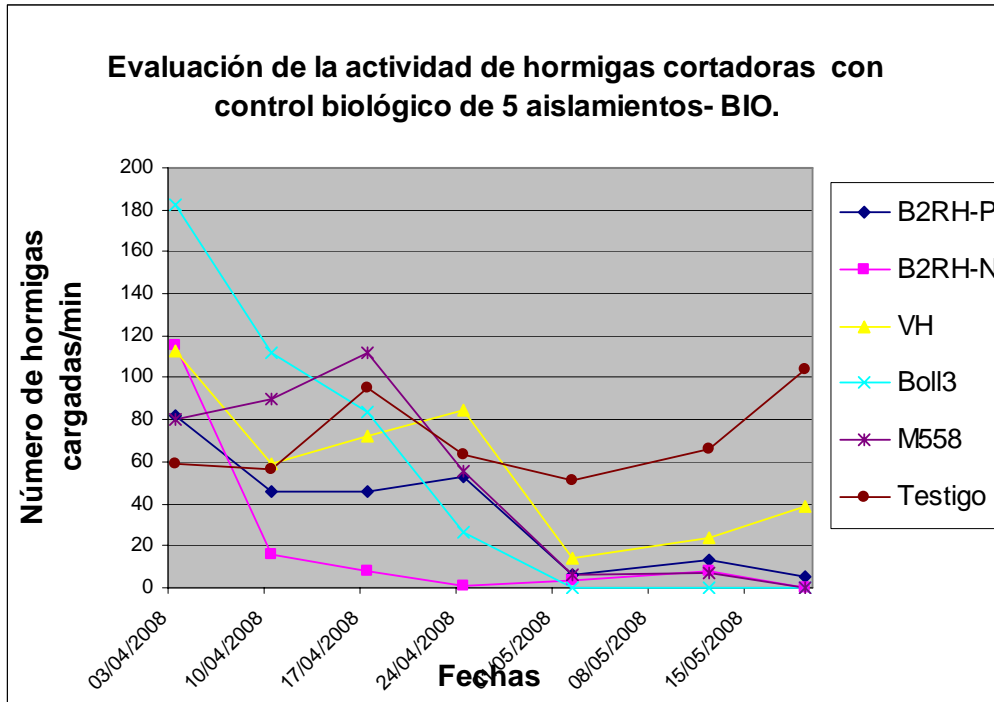
NºHormiguero	Hormiga	Nido / Tipo
10,11,1,2,3,12,29	<i>Acromirmex lundi</i> , cortadora negra minera	subterráneo

**INFORME FINAL.**

*Control Biológico de hormigas cortadoras (Atta sp. y Acromyrmex sp.) con hongos entomopatógenos. Forestal Oriental-BIO Uruguay. Noviembre 2007 a mayo 2008.*

8,19,13,15,16,4,21,23	<i>Atta sexdens</i> , cortadora negra	montículo
17,18,20,6,7,9,14,5,22	<i>Acromyrmex heyeri</i> , cortadora colorada	montículo

Grafica 7.



Los datos correspondientes destacan iguales resultados al ensayo anterior donde Boll 3, B2 RH P, B2 RH N, desactivan hormigueros entre la cuarta y quinta semana.

Foto 5. Hormiguero desactivado.



Foto 6.



**Ensayo 7. Viabilidad con diferentes atrayentes. Evaluación a campo y laboratorio.**

**Tratamientos: 5**

- Naranja fruta al 6%.
- Naranja Dulce sintética
- Aceite de Naranja
- Naranja Polvo
- Testigo sin aplicación.

Foto 7. Germinación de conidios con diferentes atrayentes.



**INFORME FINAL.**

*Control Biológico de hormigas cortadoras (Atta sp. y Acromirmex sp.) con hongos entomopatógenos. Forestal Oriental-BIO Uruguay. Noviembre 2007 a mayo 2008.*

Aislamiento	Atrayente	Germinadas	Total	%	Media	COMENTARIOS	
<b>B2</b>	Naranja fruta	12	30	40,0	62,5	hormigas dejan muy poco	
		17	19	89,5			
		22	38	57,9			
	polvo	17	30	56,7	58,4	hormigas dejan mas que naranja fruta	
		19	32	59,4			
		16	27	59,3			
	dulce	no se observan esporas germinadas				hormigas se llevan todo cebo	
	aceite	no se incluye en ensayo porque las hormigas no llevaron el cebo con este atrayerente				hormigas no se llevan nada	
	<b>M558</b>	Naranja fruta	18	32	56,3	57,7	hormigas dejan muy poco
			16	27	59,3		
15			26	57,7			
polvo		7	12	58,3	64,4	acelera el desarrollo de hifas luego de germinadas hormigas dejan muy poco	
		18	26	69,2			
		19	29	65,5			
dulce		19	33	57,6	49,5	hormigas se llevan todo el cebo	
		14	36	38,9			
		24	46	52,2			
aceite		hormigas no llevaron el cebo con este atrayerente				no se llevan el cebo	

El efecto de 3 atrayentes sintéticos no es mejor a la hora de disminuir el rechazo de las hormigas por el cebo en comparación con la utilización de naranja fruta, afectando en algunos casos la viabilidad de los conidios (disminución de la germinación).

### **III Conclusiones y recomendaciones.**

En los ensayos realizados tanto en laboratorio como campo muestran efecto patogénico sobre las hormigas cortadoras de diferentes aislamientos de hongos entomopatógenos.

En todos los casos los hormigueros tratados con hongos entomopatógenos semanalmente, (dosis de 40 gr/hormiguero, mezclado con jugo de naranja fruta al 6%, depositado a 20 cms de la entrada principal) quedaron desactivados entre la cuarta y sexta semana.

En las evaluaciones realizadas queda demostrado que no existen diferencias en el control de hormigas cuando aumentamos a 2 aplicaciones por semana.

Algunos aislamientos presentan mayor eficiencia, destacándose los aislamientos B2, B2 RH N, y Boll 3 de *Beuveria bassiana*, M558 de *Metarhizium anisopleae* y B2 RH P de *Paecilomyces fumosoroseos*.

Los ensayos realizados en el otoño mostraron un efecto mayor en el control, motivo por el cual se puede prever que aspectos climáticos (especialmente Humedad y Temperatura) favorecen el desarrollo de los entomopatógenos en otoño y sería esta la estación ideal para bajar poblaciones que vienen altas en el período de mayor actividad de hormigas.

Dado los tiempos desde inicio de aplicaciones hasta desactivación completa de hormigueros (entre la segunda y cuarta semana) se observa mayor viabilidad de controles pre-plantación y/o precosecha, momentos en los cuales es posible prescindir del control químico.

Este trabajo demuestra la posibilidad de uso de hongos entomopatógenos como alternativa no contaminante de control de hormigas cortadoras. Cabe destacar que es una práctica que se puede integrar junto a otras de manejo y control de hormigas, para lo cual resta ampliar la información referente a la cantidad de cebo a aplicar, aislamiento a usar según requerimientos climáticos, atrayentes adecuados y época del año para realizar el control según requerimientos del sector productivo correspondiente.

Dado que los aislamientos se corresponden a hongos nativos, aislados de los sistemas naturales, que representan una herramienta complementaria y viable a la gestión con químicos, que son inocuos para el personal involucrado en la tarea y para el ambiente, que demuestran el compromiso ambiental y de cuidado de la salud de los operadores, se propone dar continuidad a la investigación, generando mayor información en los siguientes puntos:

- Seguimiento de hormigueros en la primavera, para observar persistencia y comportamiento de los mismos.
- Ajustar dosis de bio-hormiguicida a aplicar.

- Investigar atrayentes que disminuyan el rechazo del bio hormiguicida.
- Generar información sobre requerimientos bioclimáticos para cada aislamiento promisorio, que permita recomendar el más adecuado según época del año.