

# **HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DE HORMIGAS CORTADORAS**

Laboratorio de Micología  
Facultad de Ciencias/Facultad de Ingeniería

Lina Bettucci  
Susana Tiscornia  
Belen Corallo  
Alicia Sanchez  
Rafael Ruiz  
Sebastian Martínez  
Ana Mioneto  
Umberto Galvalisi  
Guillermo Pérez  
Paolo Giamberini

**Sandra Lupo**

- En Uruguay las hormigas cortadoras, pertenecientes al género *Acromyrmex*, generan grandes daños en la producción hortícola-frutícola y forestal.
- Actualmente el uso de insecticidas introducido en los hormigueros o distribuidos sobre el suelo constituye la forma habitual de control.
- Control biológico “la utilización de organismos vivos, o de sus productos, para evitar o reducir las pérdidas o daños causados por los organismos nocivos” **OILB** (2004).

Los organismos entomopatógenos utilizados para el control biológico incluyen virus, bacterias, hongos, protozoarios y nematodos.

**Ventajas:** Seguridad sanitaria, reducción de residuos de pesticidas en el producto, incremento de la actividad de enemigos naturales, especificidad de acción, aplicación con equipamiento convencional, producción utilizando medios artificiales, almacenamiento por periodos prolongados de tiempo.

**Desventajas:** Perdida de persistencia, velocidad de acción

# Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos a diferencia de los virus y bacterias no requieren ser ingeridos para causar infección, ya que su mecanismo de acción es la penetración directa a través de su integumento.

Modo nutricional fijo (patógenos obligados)

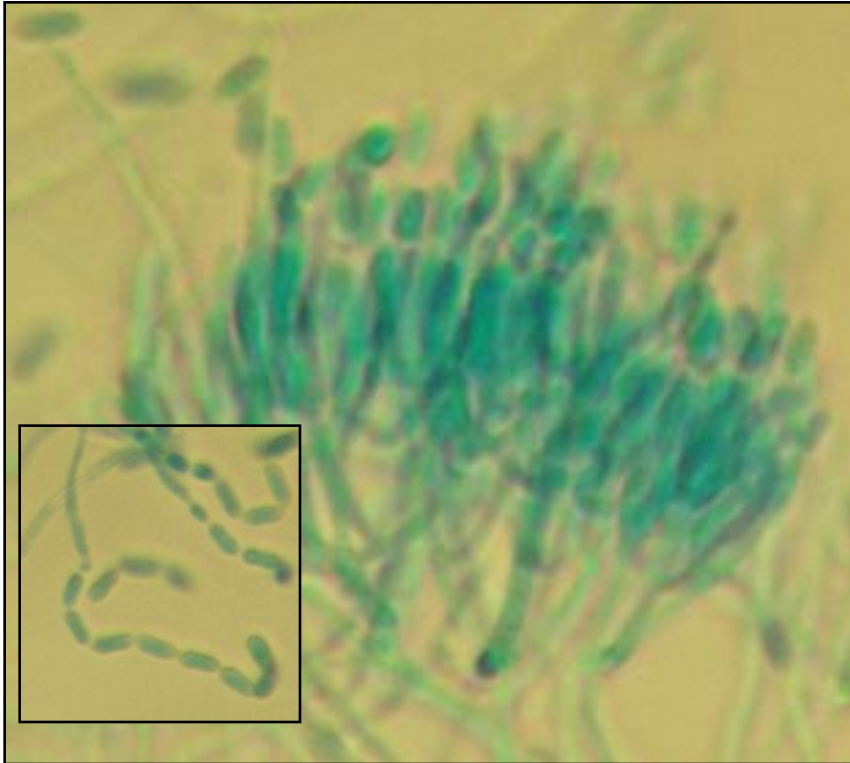
Modo nutricional flexible (patógenos facultativos)

Ocurrencia ubicua

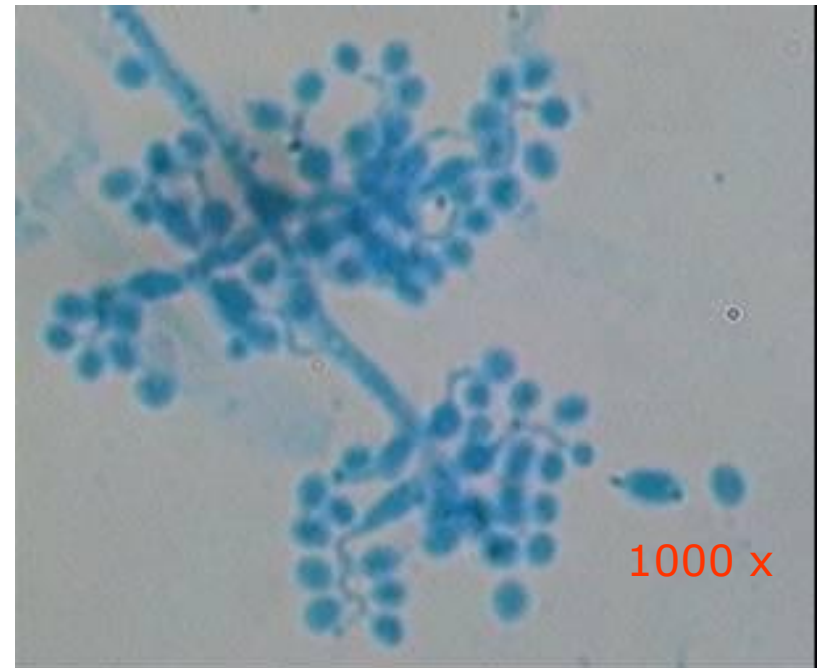
De las 700 especies de hongos entomopatógenos que se conocen, 10 son comúnmente utilizadas para el control biológico.

*Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* han sido eficientemente utilizados como agentes de control biológico de varios insectos, incluyendo las hormigas cortadoras.

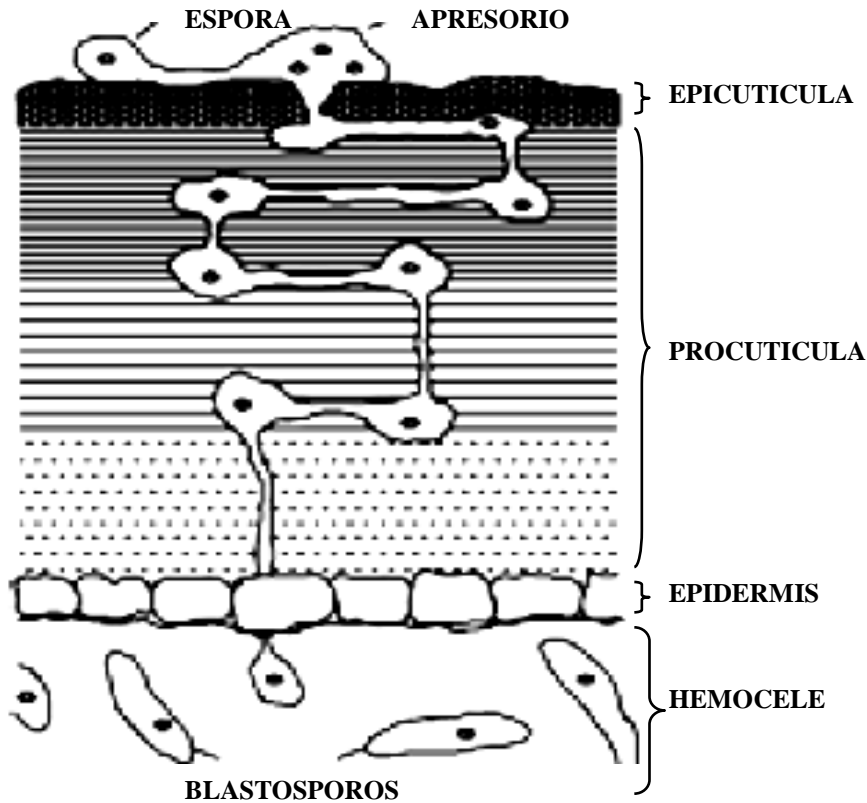
*Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokīn 1883



*Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.



# Proceso de infección de los entomopatógenos



**Adhesión de la espora a la cutícula**



**Germinación**



**Formación del apresorio**



**Penetración de la cutícula**



**Invasión de tejidos por hifas**



**Proliferación en hemolinfa de blastosporos**



**Muerte del insecto**



**Emergencia y esporulación**

***Acromyrmex* sp.  
*A. crassispinus***



***Acromyrmex heyeri***



***Acromyrmex lundii***



***Metarhizium anisopliae*  
*Beauveria bassiana***

### Determinación de la dosis letal media

Cada insecto fue inoculado con 5ul de una suspensión

0,  $10^4$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$  conidios/mL

6 individuos por placa con agua azucarada

10 réplicas

Testigos

Mortalidad acumulada

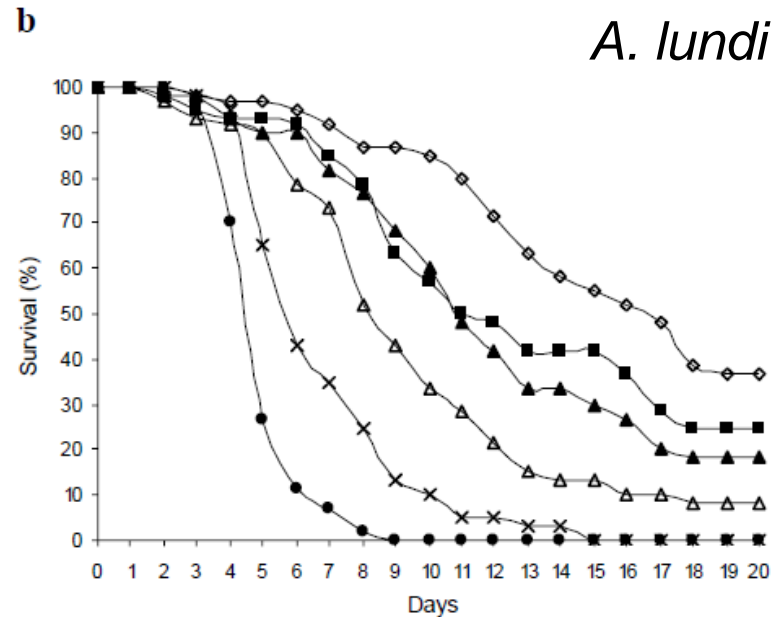
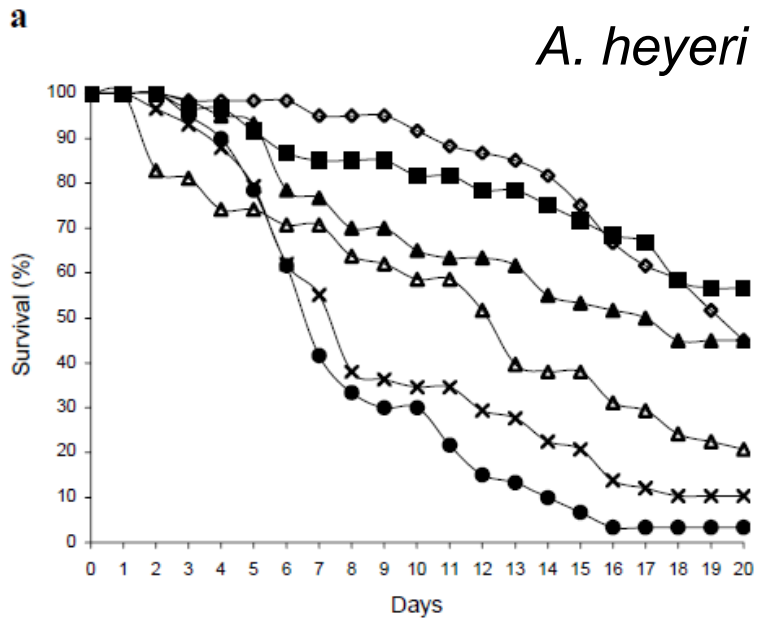
Dosis letal media a los 10 días Probit



# Sobrevivencia de hormigas infectadas con *Metarhizium*

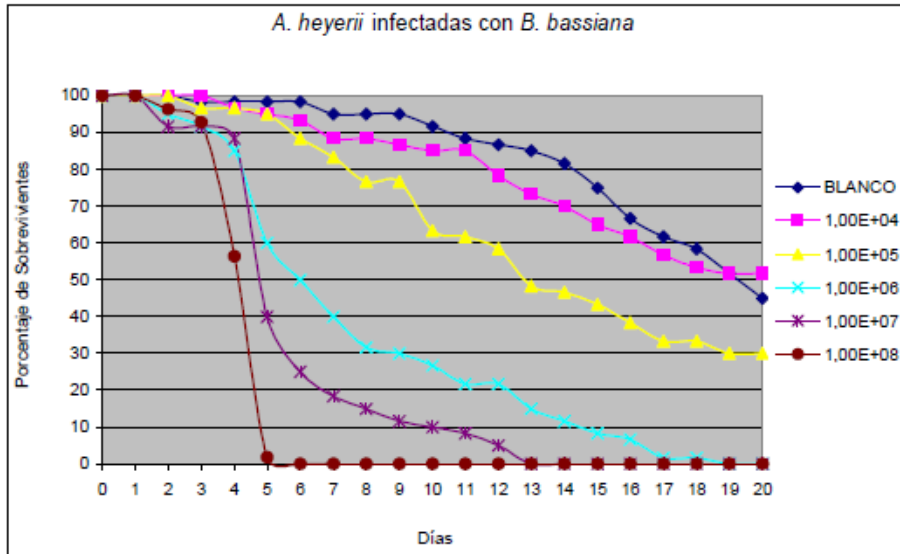


58

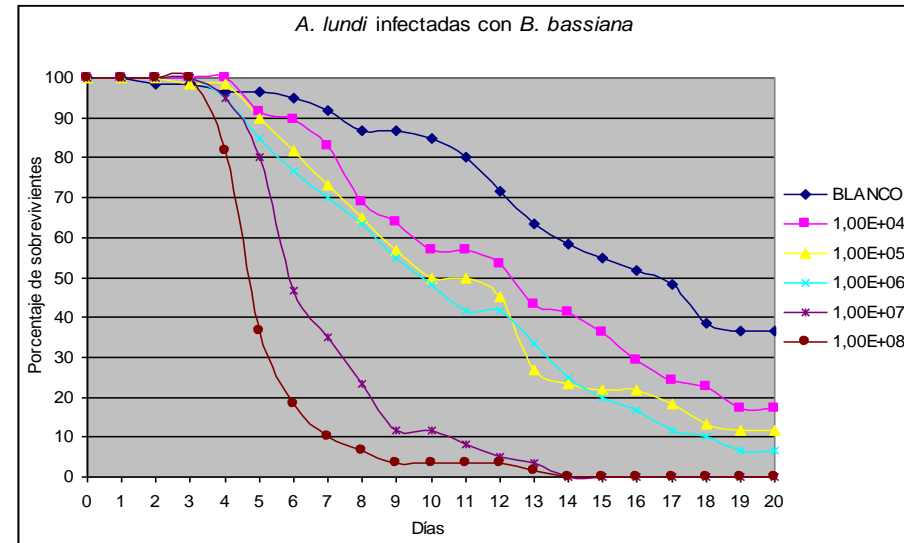


**Figure 1 (a-b).** Survival of infected ants with different doses of conidia. **a.** *A. heyeri* and **b.** *A. lundii*. Symbols indicate, ◇ : Control; ■ : 10<sup>4</sup>; ▲ : 10<sup>5</sup>; △ : 10<sup>6</sup>; x : 10<sup>7</sup>; ● : 10<sup>8</sup>.

## Sobrevivencia con *B. bassiana*



*A. heyeri*



*A. lundi*

*Acromyrmex* sp. no pudo ser evaluada en laboratorio

# Evaluaciones a campo





## TRATAMIENTOS *Metarhizium*



Table 1. Treatments of ant nests with *M. anisopliae* conidia formulations.

Ant species	Nº T	Nº C	Formulation	Doses	Nº A	Cultures	Sites	Date
<i>A. heyeri</i> /G	5	5	W+T 0.05%	10 <sup>7</sup> con/ml; 1L (T1)	3	sorghum	San José	D
<i>A. heyeri</i> /G	5	5	W+T 0.05%	10 <sup>7</sup> con/ml; 1L (T2)	3	sorghum	San José	D
<i>A. heyeri</i> /G	5	5	W+T 0.05%	10 <sup>8</sup> con/ml; 1L (T3)	3	grassland	Canelones	N
<i>A. heyeri</i> /G	5	5	W+T 0.05%	10 <sup>10</sup> con/ml; 2L (T4)	3	grassland	Canelones	N
<i>A. heyeri</i> /G	5	5	W+T 0.05%	10 <sup>7</sup> con/ml; 2L (T5)	3	<i>Eucalyptus</i>	Soriano	M
<i>A. heyeri</i> /G	5	5	W+T 0.05%	10 <sup>7</sup> con/ml; 2L (T6)	3	<i>Eucalyptus</i>	Soriano	M
<i>A. lundii</i> /S	5	5	rice flour	10 <sup>10</sup> con/g; 30g (T7)	3	grassland	Lavalleja	F
<i>A. lundii</i> /S	5	5	rice flour	10 <sup>10</sup> con/g; 30g (T8)	3	grassland	Lavalleja	F
<i>A. lundii</i> /S	5	5	rice flour	10 <sup>8</sup> con/g; 10g (T9)	3	<i>Eucalyptus</i>	Soriano	J
<i>A. lundii</i> /S	5	5	rice flour	10 <sup>8</sup> con/g; 10g (T10)	3	<i>Eucalyptus</i>	Soriano	J

Nº T : number of Treated nests; Nº C : number of Control nests; Nº A: number of applications; G : over-ground nests; S: under-ground nest. Mean temperature at the hours of applications was 25-30 °C.

T1-T10 : Treatments. D : December, N : November, J : January, F : February, M : March.

## Hormigueros inactivos tratados con *M. anisopliae*

Table 2. Inactive nests after treatment with *M. anisopliae*.

Ant species	Treatment	% of T Inactive nests	% of C Inactive nests	Cultures
<i>A. heyeri</i> /G	T1	60	20	sorghum
<i>A. heyeri</i> /G	T2	60	0	sorghum
<i>A. heyeri</i> /G	T3	60	0	grassland
<i>A. heyeri</i> /G	T4	100	20	grassland
<i>A. heyeri</i> /G	T5	100	20	<i>Eucalyptus</i>
<i>A. heyeri</i> /G	T6	100	0	<i>Eucalyptus</i>
<i>A. hundi</i> /S	T7	100	0	grassland
<i>A. hundi</i> /S	T8	100	0	grassland
<i>A. hundi</i> /S	T9	60	0	<i>Eucalyptus</i>
<i>A. hundi</i> /S	T10	40	20	<i>Eucalyptus</i>

2L, 10<sup>7</sup>, 10<sup>10</sup>

30g, 10<sup>10</sup>

Table 3. Fisher test for multiple comparisons among different treatments and control.

<i>Acromyrmex heyeri</i>							
Treatment	Control	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Control	-	0.083	0.083	0.083	0.004	0.004	0.004
T1	-	-	0.476	0.476	0.222	0.222	0.222
T2	-	-	-	0.476	0.222	0.222	0.222
T3	-	-	-	-	0.222	0.222	0.222
T4	-	-	-	-	-	1	1
T5	-	-	-	-	-	-	1
T6	-	-	-	-	-	-	-

<i>Acromyrmex hundi</i>					
Treatment	Control	T7	T8	T9	T10
Control	-	0.004	0.004	0.083	0.222
T7	-	-	1	0.222	0.083
T8	-	-	-	0.222	0.083
T9	-	-	-	-	0.5
T10	-	-	-	-	-

Number of conidia, T1 : 1 x 10<sup>10</sup>, T2 : 1 x 10<sup>10</sup>, T3 : 1 x 10<sup>11</sup>, T4 : 2 x 10<sup>13</sup>, T5 : 2 x 10<sup>10</sup>, T6 : 2 x 10<sup>10</sup>, T7 : 3 x 10<sup>11</sup>, T8 : 3 x 10<sup>11</sup>, T9 : 1 x 10<sup>9</sup>, T10 : 1 x 10<sup>9</sup>. The numerical characters in bold indicate significant differences (p < 0.05) among control and the treatments.

# RESULTADOS

Reducción de la actividad (%) de hormigueros de *Acromyrmex* sp. con *Metarhizium* (4 L,  $10^{10}$  esporas/ml)

1 ap.	2 ap.	3 ap.	4ap.
0	25	50	60

Testigos 10% mortalidad



Se cambió la cepas de *Metarhizium* poco eficiente en *Acromyrmex* sp.

Porcentaje de actividad de los hormigueros *Acromyrmex* sp. con los distintos tratamientos luego de 3 aplicaciones

Tratamiento 2x10 <sup>7</sup> ml	% Actividad					
	0	1	2	3	4	5
<i>M. anisopliae</i> 2L	<b>71</b>	29	-	-	-	-
<i>M. anisopliae</i> 1L	29	-	-	-	14	57
<i>B. bassiana</i> 2L	<b>57</b>	-	-	-	-	43
<i>B. bassiana</i> 1L	29	-	14,3	-	14	43
Testigo (T)	-	-	-	-	-	100

0: 0% de actividad, 1: 20%, 2: 40%, 3: 60%, 4: 80% y 5: 100%.

# **USO COMBINADO INSECTICIDAS Y HONGOS ENTOMOPATÓGENOS**



## FIPRONIL

Fipronil comercial (Fiproon en suspensión 20%)

- incorporado al medio de cultivo  
50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 1000 ppm.
- esporas resuspendidas en 300 mL de agua con Fipronil a las distintas concentraciones a 50, 100, 200 y 300 ppm durante varios tiempos.  
Tiempo: 1, 7, 15 y 30 días.

## SULFURAMIDA

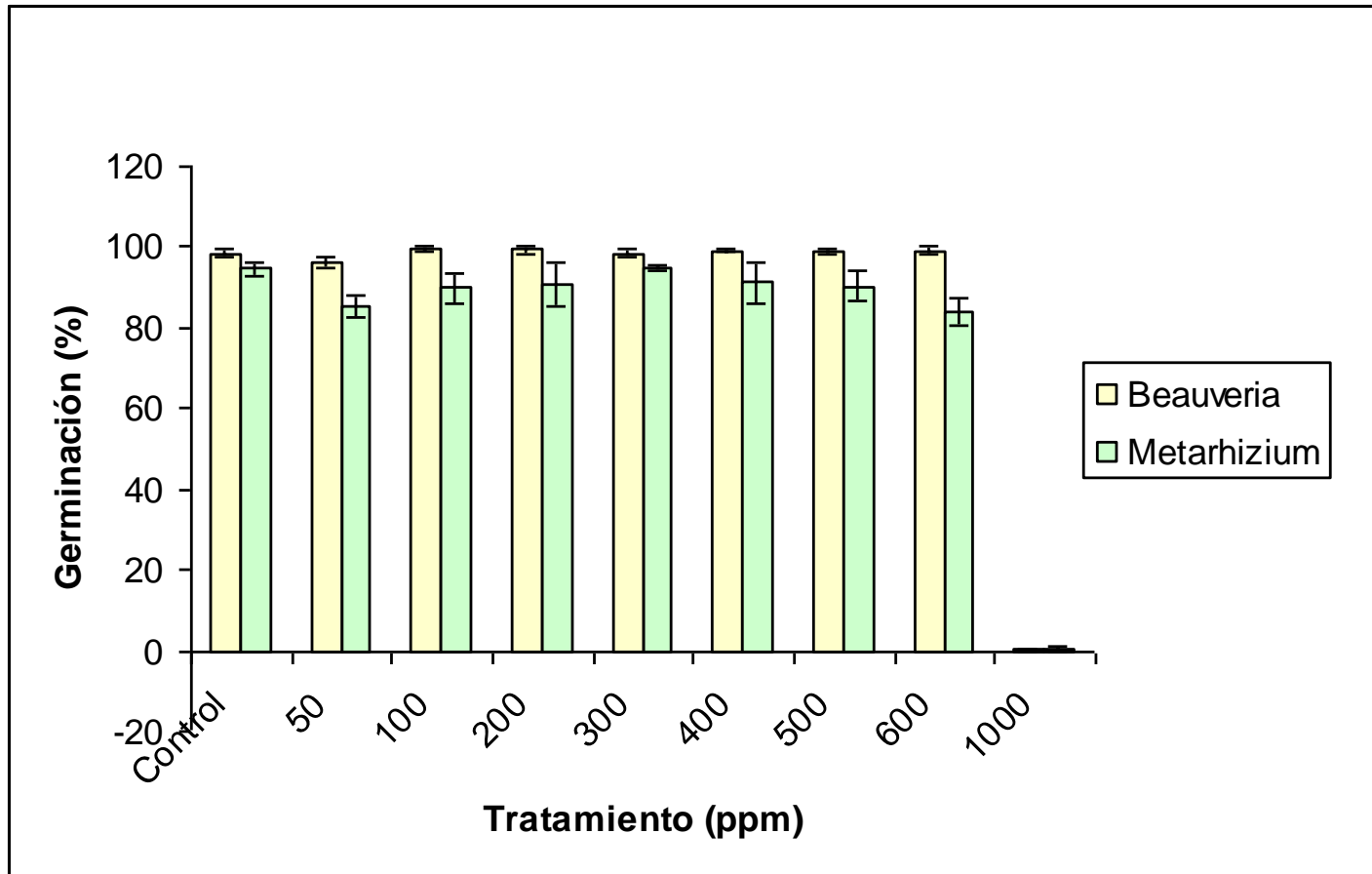
Sulfloramida sobre la germinación se evaluó con el principio activo incorporado al medio de cultivo: 90, 180, 360, 720 y 1500 ppm.

La viabilidad se evaluó a las 24 hs.



**Conidios germinados**

# Viabilidad de los conidios de *Beauveria* y *Metarhizium* con Fipronil en el medio de cultivo



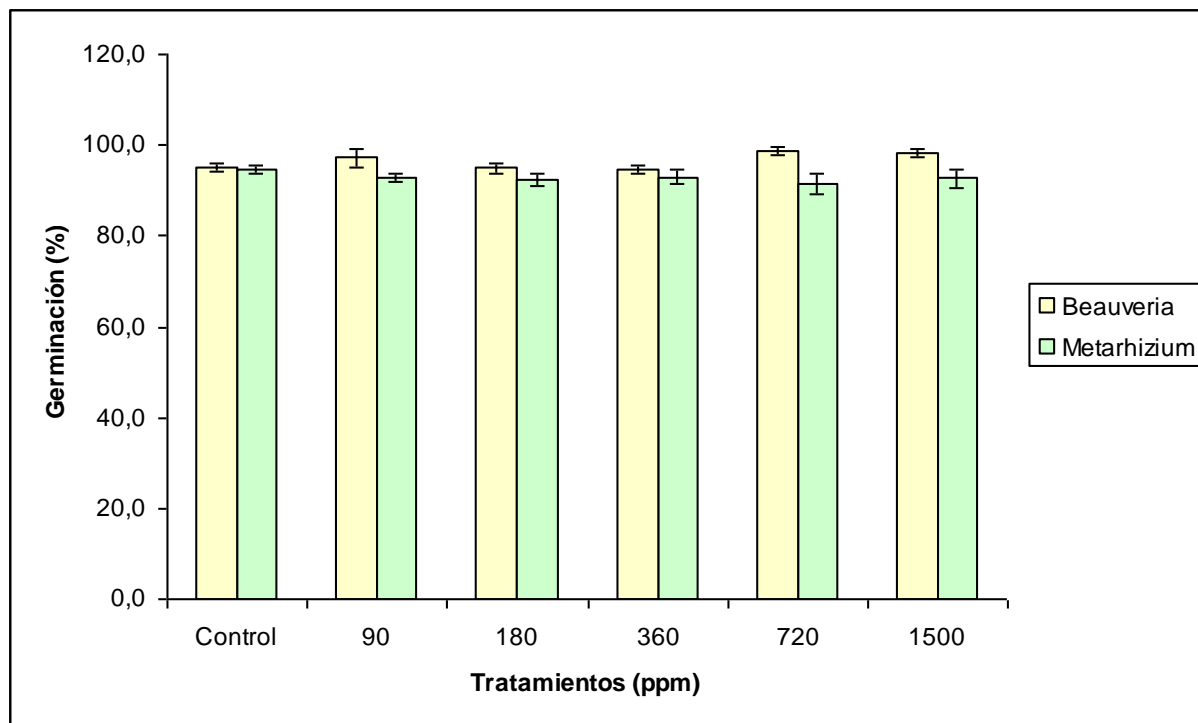
600ppm=0.6 g/L

0.003 %  
0.00003 gde fipronil en  
1 gramo de cebo

## Viabilidad de las conidios (%) en distintas concentraciones (ppm) de fipronil

<b>control</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>300</b>
<i>M. anisopliae</i>	84.4	78.8	71.5	83.8	84.4
<i>B. bassiana</i>	95.8	95.6	97.2	97.8	96.8
<b>Tiempo 1 día</b>					
<i>M. anisopliae</i>	82.7	88,2	81.8	82.7 5	80.8
<i>B. bassiana</i>	93.6	96	95.4	96.6	97.6
<b>Tiempo 7 días</b>					
<i>M. anisopliae</i>	81.6	81.4	79.2	75.8	82
<i>B. bassiana</i>	96.2	97.2	97.8	97.8	97
<b>Tiempo 15 días</b>					
<i>M. anisopliae</i>	72.4	73.6	73.4	76.6	70.4
<i>B. bassiana</i>	97	96.6	97.6	96.6	97.2
<b>Tiempo 30 días</b>					
<i>M. anisopliae</i>	87.8	76.2	74	75.7	72.7
<i>B. bassiana</i>	98.6	94.3	97.5	94.4	93.7

# Viabilidad de las conidios de *Beauveria* y *Metarhizium* con Sulfuramida en el medio de cultivo.



1500 ppm= 1.5 gr/L

Cebo comercial 0.3%  
0.003 gr de sulfuramida  
en 1 gr de cebo

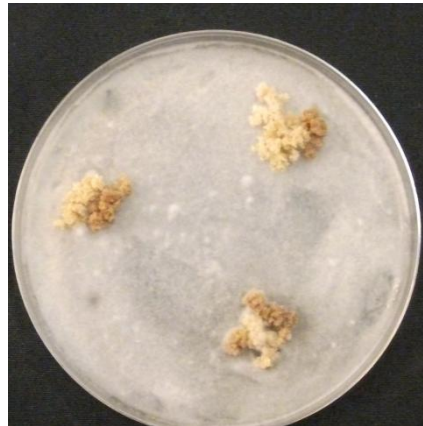
•El cebo con Fipronil o Sulfuramida no afectaron la germinación de *Beauveria* y *Metarhizium*, incluso los hongos crecieron sobre los cebos

**Firponil**

**Sulfluramida**



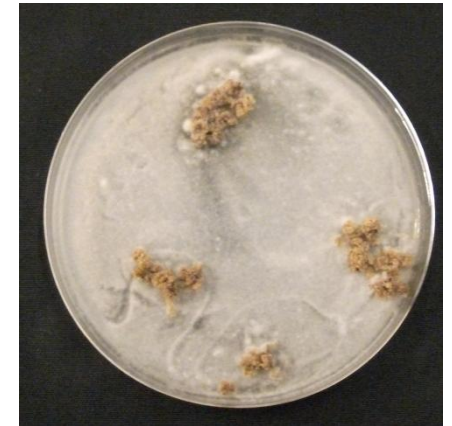
*Beauveria*



*Metarhizium*



*Beauveria*



*Metarhizium*

# Materiales y métodos

Efecto combinado del tratamiento con fipronil o sulfuramida y *Metarhizium* o *Beauveria* en hormigueros de *A. heyeri* y *Acromyrmex* sp.



El cebo se aplicó una semana antes que los hongos

2 L de una suspensión de esporas ( $10^7$ ) de cada uno de los hongos

F	F+M	F+B	S	S+M	S+B	M	B	C
---	-----	-----	---	-----	-----	---	---	---

Efecto del cebo Lampro (fipronil 0.003 % ) y hongos entomopatógenos en el control de los hormigueros: % de hormigueros inactivos

	n	7 d	14d	21d
F 2g	6	33	33	66
F+M	5	0	100	
F+B	5	0	60	100
F 4g	11	81	100	
F+M	4	100		
F+B	3	100		
Control	4	0	0	0



Hormiguero de *Acromyrmex heyeri* controlado con *Metarhizium*



Hormiguero de *Acromyrmex* sp. controlado con *Metarhizium*





Efecto de la sulfuramida + entomopatógenos  
*Acromyrmex heyeri*

	n	7 d	14d	21d
S 1g	9	0	10	50
S+M	9	0	100	
S+B	9	0	89	100
Control	9	0	0	20

Efecto de la sulfuramida + entomopatógenos  
*Acromyrmex sp.*

	n	7 d	14d	21d
S 1g	9	0	22	22
S+M	9	0	63	87
S+B	9	0	0	50
Control	9	0	0	20



## Hormigueros inactivos (%)

	<i>A. heyeri</i>	<i>Acromyrmex</i> sp.
M + S 1g	100	63/87
B + S 1g	89/100	0/50
S 1g	10/50	22/22
M + F 2g	100	nd
B + F 2g	60/100	nd
F 2g	33	nd
B	40	0
M	50	17

1 y 2 aplicaciones de ACB

# CONCLUSIONES

- *Metarhizium* y *Beauveria* pueden ser utilizados para controlar hormigas
- Es importante la forma de aplicación sólida/líquida
- Es importante la época del año
- Las distintas especies de hormigas tienen distinta sensibilidad
- Las distintas cepas de hongos tienen distinta virulencia en campo
- El control combinado parece una alternativa válida

## AGRADECIMIENTOS:

Anii

CSIC

SPF

Empresas Forestales

Profesionales y Técnicos de FAS, CAMBIUM, Montes del Plata