

Control de la hormiga defoliadora *Atta laevigata* en cultivo de Pino (*Pinus spp.*) con la aplicación de hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en el municipio de Villanueva Casanare 1

Jeniffer Alejandra Toro Osorio

Jorge Venencia Saldarriaga

Universidad Nacional Abierta y a Distancia

Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente

ECAPMA

Agronomía

Cead, Acacias

2020

Control de la hormiga defoliadora *Atta laevigata* en cultivo de Pino (*Pinus spp.*) con la aplicación de hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en el municipio de Villanueva Casanare 2

Jeniffer Alejandra Toro Osorio

Jorge Venencia Saldarriaga

Directora

I.A. Esp. Adriana Lucia Díaz Bobadilla

Co orientador I.A Msc.

Jorge Luis Triana Riveros

Universidad Nacional Abierta y a Distancia

Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente

ECAPMA

Agronomía

Cead, Acacias

2020

Hoy cuando alcanzamos un nuevo logro en nuestra vida y podemos decir después de varios años de dedicación que cumplimos un sueño, debemos recordar a todas personas que han participado durante nuestro camino de formación.

A nuestros padres y familia que son el pilar que nos ha mantenido en el camino.

A los docentes que pusieron su conocimiento y tiempo a nuestra disposición para alcanzar nuestro grado de profesional.

A la ingeniera Adriana Lucia Díaz Bobadilla directora del proyecto y al ingeniero, MsC Jorge Triana codirector del proyecto que nos apoyaron en todo el proceso y brindaron su conocimiento y tiempo para el desarrollo del proyecto de investigación. Y a cada uno de los profesionales amigos que aportaron su grano de arena para el resultado final.

A la Universidad Nacional Abierta y a Distancia y muy especialmente a la zona de la Amazonia por ser nuestra casa del conocimiento en todo nuestro crecimiento intelectual y personal.

Un especial agradecimiento a la empresa Reforestadora de la Costa SAS que permitió desarrollar el proyecto dentro de su unidad.

La hormiga cortadora de hoja (*Atta laevigata*), es una plaga importante en la agricultura, y en el sector forestal, defolia plantaciones de *Pinus spp*, impactando la productividad. Actualmente su control se fundamenta en la aplicación de cebos hormiguicidas a base de moléculas de insecticidas químicos. Con el objetivo de evaluar la efectividad de cebos biológicos, se realizó el montaje de pruebas sobre hormigueros de hasta 1 m² en predios de la empresa Reforestadora de la Costa SAS en la unidad de Villanueva Casanare, usando cepas comerciales de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* y como testigo el cebo de uso comercial por la empresa a base de Fipronil. Se evaluaron 7 tratamiento incluido el testigo con dosis por m² de 40 – 60 – 80 gramos, con 10 repeticiones para cada tratamiento y un total de 70 hormigueros intervenidos. Se evaluó la actividad de los hormigueros a los 15, 30, 45, 60 y 90 días de aplicación de los cebos. Los resultados de la investigación mostraron avances significativos para el control de las hormigas en el sector forestal, con porcentajes de control que llegaron a un 50% y adicionalmente un análisis de costo de cada uno de los tratamientos.

Palabras clave: Hormiga, biológico, entomopatógeno

The leaf-cutting ant (*Atta laevigata*), is an economically important pest in agriculture, already in the forestry sector, defoliating *Pinus* spp. Plantations, impacting the productivity of the species. Currently, its control is based on the application of antifungal baits based on chemical insecticide molecules. In order to evaluate the effectiveness of biological product baits, the assembly of tests with ant hills > 1 m² was carried out on the premises of the company Reforestadora de la Costa SAS in Villanueva Casanare, using entomopathogenic fungi such as *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* and as a control the commercial use bait by the company based on Fipronil. We worked, with 7 treatment including the control with doses per m² of 40 - 60 - 80 grams, with 10 repetitions for each treatment and a total of 70 anthill. The activity of the anthill was evaluated at 15, 30, 45, 60 and 90 days, after application of the baits. The research results showed great significance for the control of this important pest in the forestry sector, with control percentages from 50% and additionally a cost analysis of each of the treatments.

Keyword: Ant, biologic, entomopathogenic

Tabla de Contenidos 6

| | |
|--|----|
| Introducción | 10 |
| Antecedentes | 11 |
| Justificación | 14 |
| Objetivos | 16 |
| General | 16 |
| Específicos | 16 |
| Marco Teórico | 17 |
| Generalidades de las Hormigas | 17 |
| Hongos <i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Beauveria bassiana</i> | 20 |
| Métodos | 22 |
| Área de estudio | 22 |
| Materiales | 23 |
| Identificación de hormigueros | 24 |
| Preparación del cebo | 25 |
| Dosis | 27 |
| Tratamientos | 27 |
| Aplicación | 27 |
| Tiempo de evaluación | 28 |
| Análisis de costos | 28 |
| Análisis de resultados | 30 |
| Resultados y Discusión | 31 |
| Conclusiones | 38 |
| Recomendaciones | 40 |
| Anexos | 41 |
| Lista de referencias | 43 |

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Ingredientes para preparación del cebo | 26 |
| Tabla 2. Listado y características de tratamientos | 27 |
| Tabla 3. Costos de ingredientes para preparación de 1 kg de cebo agroecológico..... | 29 |
| Tabla 4. Costos de producto testigo | 29 |
| Tabla 5. Resumen de datos | 31 |
| Tabla 6. Análisis de varianza Control de hormigueros..... | 32 |
| Tabla 7. Análisis de varianza área de hormigueros | 34 |
| Tabla 8. Costo de 1 gramo de los tipos de cebos usados | 36 |
| Tabla 9. Costos por tratamiento | 36 |

Lista de figuras

8

| | |
|--|----|
| Figura 1. Localización del área de estudio. Fuente: Autores | 22 |
| Figura 2. Ubicación espacial de los hormigueros. Fuente: Autores | 23 |
| Figura 3. Identificación y delimitación de hormigueros Fuente: Autores | 25 |
| Figura 4. Fotografías en secuencia de la preparación del cebo. Fuente: Autores | 26 |
| Figura 5. Aplicación de cebo en campo. Fuente: Autores | 28 |

Lista de anexos

9

Anexo A. Listado de coordenadas de los hormigueros.....42

Los daños económicos y las bajas productividades son las dos problemáticas más relevantes en un sistema agrícola; estas pueden ser generadas por diversos motivos dentro de los que se encuentran las plagas y enfermedades. Una de las principales limitantes es la hormiga cortadora, que, debido a su potencial defoliador en gran cantidad de especies, causa reducción en la productividad y en casos severos, la muerte de los individuos de un cultivo. Esta situación representa una problemática para los diferentes cultivadores, debido a que, al depender estas de las hojas de las plantas, provocan severos daños sanitarios y económicos a los cultivos agrícolas y forestales que se establecen en diferentes regiones. De acuerdo a Vargas, (2018), las hormigas cortadoras de hojas de los géneros (*Atta* y *Acromyrmex*) causan considerables pérdidas económicas en una gran variedad de cultivos. Su control se realiza principalmente mediante el uso de productos químicos sintéticos que elevan el costo de producción de los cultivos agrícolas.

Teniendo en cuenta estos antecedentes y las investigaciones que se han realizado sobre este tema, encontró la necesidad de contribuir al control de estas Hymenopteras, desarrollando una alternativa más económica y adicionalmente contribuir con la protección del medio ambiente, reduciendo los impactos ecológicos de los químicos que actualmente contienen los cebos utilizados para el control de estos insectos. El objetivo de este proyecto investigativo fue evaluar el control de la hormiga cortadora del género *Atta* spp utilizando bioproductos desarrollados con base en hongos entomopatógenos.

Las hormigas cortadoras o defoliadoras son insectos del orden Hymenopteras, familia Formicidae, específicamente del género *Atta* es exclusivo de regiones tropicales y subtropicales que abarcan desde Estados Unidos hasta la parte norte de Argentina. Weber, (1972) (como se citó en Motta y Luxnich, (2014)), afirma que la capacidad de producir su propio alimento a partir de un sustrato tan abundante, aparentemente les da la libertad a las hormigas de ciertas selectividades alimenticias y así permitir la formación de colonias enormes con millones de obreras. El mutualismo obligado entre hormigas y hongos comenzó hace aproximadamente 50 millones de años, y se considera que los géneros *Atta* y *Acromyrmex*, presentan el más complejo y eficiente de los sistemas de monocultivo de hongos conocido.

Estos insectos son considerados una de las plagas más limitantes en algunos países suramericanos debido a la defoliación que causan en los cultivos atacados. En términos económicos se habla de que el control de hormiga cortadora puede representar el 75% del costo y tiempo total gastado en el control de plagas y adicionalmente estas pueden llegar a causar una disminución en la productividad y rentabilidad hasta de un 35 %, esto según investigaciones científicas en los países latinoamericanos, en aproximadamente 47 cultivos Agrícolas y Hortícolas, 13 especies forrajeras (pastos) y alrededor de 50 especies forestales (árboles), tanto nativas como introducidas. En plantaciones de *Pinus caribaea*, al sur de los estados Anzoátegui y Monagas, encontró que, en pinares menores a 10 años de edad, el volumen de madera producida se puede reducir hasta un 50%, en áreas con poblaciones mayores a 20 nidos/ha y en Eucalipto se incrementa en un 13% los costos por medio del daño acumulado y, además, se reduce el diámetro en 11cm y la altura en 0.7m, calculando una pérdida de 13 a 39 m³/ha.

El control de las hormigas cortadoras de hoja se han realizado tradicionalmente con 12 productos químicos comerciales clorados ya prohibidos como los organosforados, carbamatos, piretroides o a base de ingredientes activos como la sulfluramida y el Fipronil; sin embargo, como menciona Fernández et al (2015) los efectos adversos en el ambiente, la generación de poblaciones de insectos resistentes y la búsqueda de productos y métodos más económicos, exigen el estudio de nuevas alternativas para su control y que afecten en menor medida los ecosistemas y al ser humano.

Los hongos entomopatógenos, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, han mostrado un potencial alto en el control del insecto; Lopéz y Orduz, (2002) observaron en sus investigaciones con los cebos a base de hongos biológicos que pueden llegar a igualar la eficiencia de los cebos tóxicos, obteniendo en sus resultados, registro de nidos controlados en un 80%.

Por la importancia de la plaga y los altos costos para su control, se hace necesario desarrollar un método de control alternativo que sea amigable con el ambiente y que reduzca los costos de los agricultores.

En investigación realizada en los laboratorios de la Universidad de San Buenaventura, en Cali, se evaluó la efectividad del hongo *Metarhizium anisopliae* en el control de las hormigas del género *Atta*; como resultado del estudio se demostró que el hongo entomopatógeno ataca las hormigas y desarrollo hifas, las cuales la rodean. Así mismo la prueba de patogenicidad, dio un porcentaje de mortalidad del 100%, en un periodo de 7 días (Lemus, et al, 2008).

Estudios en campo, desarrollados en Cuba y Colombia, tiene experiencias exitosas reportadas, en Cuba, Pérez (2002) manifiesta que se han obtenido afectaciones biológicas en *Atta insulares* superiores al 90% al utilizar la cepa MB-1 de *Beauveria bassiana* a una concentración

de 2.5×10^9 conidios por gramo. La mayor efectividad se reporta 72 horas después de la aplicación de 15 a 30 gramos del biopesticida directamente a cada entrada activa del nido. Por otro lado, López y Orduz (2003) formularon en Colombia, un cebo de aplicación inmediata que contenía como ingrediente activo una mezcla de *Metarhizium anisopliae* y *Trichoderma viride* y produjo una mortalidad del 100% sobre nido de *Atta cephalotes* Linnaeus, después de realizar tres aplicaciones de 20 gramos por metro cuadrado del nido.

En Brasil, se han realizado estudios en condiciones de laboratorio con *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, donde se constató patogenicidad y un rápido crecimiento y esporulación de estos hongos sobre los insectos muertos (Da silva y Diehl, 1998).

Tal como dijo López y Orduz, (2002), “Los programas de control microbiológico están basados en la búsqueda de cepas de microorganismos capaces de infectar y causar mortalidad en corto tiempo a un grupo específico de insectos”.

El manejo integrado de hormigas cortadoras de hojas incluye una serie de actividades de tipo cultural, mecánico, microbiano, biológico, químico y varietal. Todas ellas, combinadas en un programa de monitoreo para detección temprana (Control etológico) y aplicación de actividades de control en el momento oportuno. Los efectos en el medio ambiente causados por el uso de insecticidas tradicionales como Clorados como el Aldrin (Prohibido por EPA), se puede mencionar el bromuro de metilo que causa daño al Ozono, el empleo de Carbaril u organofosforados como Clorpirifos siendo un insecticida de amplio espectro usado con insufladoras o termoinсуfladoras para introducirlo al nido puede contaminar aguas circundantes o intoxicar al operario que lo manipula.

Las hormigas cortadoras de hoja, principalmente del género *Atta*, representan un problema para los cultivos debido a las constantes y severas defoliaciones que sufren los cultivos forestales. Las pérdidas de productividad, sumado a los costos de control de las hormigas, pueden llegar a superar hasta el 75% de los costos totales del control de plaga de un cultivo según investigaciones científicas en los países latinoamericanos, lo que lo hace insostenible para muchos agricultores. Esta necesidad sumada a que la mayoría de los ingredientes activos de los productos de control químico de las hormigas están prohibidos por certificadoras internacionales, por el daño que causa al ambiente, se hace necesario generar alternativas para su control manteniendo su efectividad. Su importancia radica en que las hormigas cortadoras no solo tienen una amplia distribución geográfica, sino que son una de las plagas más limitantes para el desarrollo de los cultivos.

Los hongos entomopatógenos ocupan un lugar importante en el control de insectos plaga, ya que virtualmente todos los órdenes de insectos son susceptibles a enfermedades fungosas, tomando una particular importancia el caso de insectos con aparato bucal picador chupador que no son afectados por patógenos que infectan por vía intestinal. Los hongos entomopatógenos comprenden un grupo heterogéneo de más de 85 géneros, sin embargo, solamente un 5% de éstos son considerados por su potencial como agentes de control microbiano. FAO (2003), (como se citó en Delgado y Ordoñez, (2011)), indica que los géneros de importancia son *Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Rhizopus* y *Fusarium*.

Con el proyecto de investigación se pretende diseñar una estrategia alternativa de control de esta plaga conociendo la eficiencia de los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, mezclados con avena (*Avena sativa*) y cebos de cartón con atrayentes naturales como; extractos de naranja (*Citrus x sinensis*) y mandarina (*Citrus reticulata*), pomelo rosado (*Citrus x paradisi*), harina de mandioca (*Manihot esculenta*), soja, bagazo, melaza de caña de azúcar, a su vez se evaluará el impacto económico en la disminución de costos para el control de plaga y se busca fortalecer los procesos productivos en cultivos y aportar conocimiento a los productores en nuevas prácticas de control de insectos en equilibrio con los ecosistemas.

General

Evaluar la eficiencia de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en el control de la hormiga cortadora *Atta laevigata* en plantaciones de pino en Villanueva – Casanare.

Específicos

Establecer la eficiencia de una cepa de *Metarhizium anisopliae* para el control la hormiga cortadora *Atta laevigata*

Establecer la eficiencia de una cepa de *Beauveria bassiana* para el control la hormiga cortadora *Atta laevigata*

Estimar los costos de manejo de *Atta laevigata* con la aplicación de una cepa de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*.

Generalidades de las Hormigas

Las hormigas cortadoras geográficamente se sitúan en latitudes 30° al sur o norte de América desde Estados Unidos hasta Argentina, donde ocasionan defoliaciones a bosques naturales en un orden de 15% o en pastizales con consumos superiores por hectárea cercanos a los 6.000 Kg/año, siendo esto similar al consumo del ganado bovino en dicha superficie. Las hormigas cortadoras de hojas (orden Hymenoptera: familia Formicidae: subfamilia Myrmicinae) pertenecen a la tribu *Attini* poseen 12 géneros conocidos, (Brandão et al., 2011), separados en 3 taxones, aunque los más importantes de la región Neotropical a nivel agronómico son las *Attini*, que incluye los géneros *Atta* y *Acromyrmex* (Hölldobler y Wilson, 2011), Este grupo de hormigas arrieras tiene un complejo sistema organizacional donde cada una cumple una función dentro de la unidad social del hormiguero, (Baer, 2015; Wilson y Nowak, 2014), de estos géneros son 11 especies conocidas en Colombia. Mackay (1986), en Colombia existen cuatro especies dentro del género *Atta*: *Atta. Laevigata*, *Atta. cephalotes*, *Atta. Sexdens* y *Atta. colombica*; en tanto Cherret et al. (1989) y Fernandez (2003), reportan cuatro especies para el género *Acromyrmex*: *Ac. aspersus*, *Ac. landolti*, *Ac. octospinosus* y *Ac. rugosus*.

Las hormigas poseen metamorfosis completa con unos periodos de vida de 4 a 7 meses, con excepción de los zánganos que es más corta o la reina que puede superar los 15 años. El inicio del nido se da con la entrada del invierno y el veranillo de segundo semestre cercano a octubre donde ocurren los vuelos nupciales, Vargas, (2018), menciona que “la emergencia de los reproductores coincide con las épocas de lluvias”; momento en el cual una reina es copulada por varios machos garantizando la replicación genética, esta reina a su vez selecciona el lugar donde excava la cámara madre donde expelle de su cavidad bucal (Cibario) el propágulo del hongo

mutualista con el cual tienen relación hace miles de años, estableciendo una obligatoriedad en su cuidado. 18

Este hongo basidiomiceto de la familia Lepiotoceae se subdivide en dos géneros principales: *Leucoagaricus* y *Leucocoprinus* (Hölldobler y Wilson, 2011). Para establecer el jardín fungoso de donde se alimentan las larvas, la reina supe cerca del 5% de los requerimientos de las jardineras pues estas consumen los azúcares de las propias plantas que cosechas de manera ordenada yendo al mismo sitio entre todas comunicándose mediante feromonas que dejan rastros químicos. La actividad en estas cámaras clasificadas en gran cantidad y mayor profundidad para el género *Atta*, los cuales poseen poblaciones de hasta 8 millones de individuos y profundidades de hasta 8 metros comparado con *Acromymex* de menor tamaño (Max 200.000 ind) sin polimorfismo que diferencie los soldados y con cámaras superficiales, se gestan interrelaciones con otros microorganismos como Levadura negra, Klebsiela siendo esta fijadora de nitrógeno libre y bacterias filamentosas actinomicetas de los géneros, *Streptomices*, *Pseudonocardia* y *Amycolatopsis*, (Hölldobler y Wilson, 2011).

En el momento que empieza la construcción de la primera cámara para el jardín fúngico servirá de alimento para la colonia, el género *Atta* lo hace directamente en el suelo pero *Acromymex* requiere sustrato ya picado para expeler el trozo del hongo *Leucocoprinus spp*, en cámara sin abierta, caso contrario de *Atta* que lo hace en claustro, además en ocasiones fuera de alimentar el hongo con trozos de hojas, flores, tallos y demás, transfieren el alimento entre ellas para transportarlo (trofalaxia), actividad que puede servir de contagio entre ellas.

La hormiga de la especie *Atta laevigata* según Motta (2014), se caracteriza morfológicamente por tener una cabeza brillante y libre de pelos, con una pequeña reentrada en el ápice; es conocida por “cabeza de vidrio”, debido a que la cabeza parece barnizada, es bien visible en los soldados. Su nido presenta grandes cantidades de tierra suelta, siendo los orificios de alimentación, distribuidos próximos o sobre la tierra.

Las hormigas cortadoras pueden ser consideradas plagas agrícolas o forestales, de acuerdo a la amenaza que ocasionen a los rendimientos del cultivo y utilidades del negocio pues atacan sembrados de Yuca, flores, forestales, maíz, cítricos, palma entre otros, por ejemplo, para una explotación de Eucalipto en un ciclo normal después de ocasionar daño acumulado genera pérdida de un 13% del volumen de madera (DELLA et al. 2014), situación que se ve agravada cuando se establecen pasturas en sabanas con poblaciones superiores a 2000 nidos/ha.

Para evitar este tipo de afectación a las diferentes unidades de negocio, suelen emplearse diversas técnicas: cultural, perturbar el ambiente propicio de creación de nido nuevos con excavación empleando sus propios hábitos de conservación, que consiste en permitir mayor actividad del hongo donde en verano ascendiendo a poca profundidad las camas buscando humedad y temperatura adecuada, mecánica, por medio de búsqueda de la reina similar como se practica a termiteros, químicos con aplicación de carbamatos, organofosforados, piretroides u otros en presentación polvo, pellets o suspensión acuosa con compuestos como Fipronil o Sulfluramida en busca de intoxicar el hongo que será suministrado a la reina esperando terminar con la colonia, sin embargo, en estado natural existen hongos antagonistas como *Trichoderma spp*, el hongo parasito Escovopsis que afectan el jardín fúngico, la Mosca de la familia Phoridae de parasita jardineras, la hormiga *Nomamymex esenbeki*, el cucarrón *Canthon virens* (Coleoptera: Scarabeidae), el Chinche *Vesica agrensis* (Hemíptera: Reduvidae). Mamíferos

como el armadillo (*Dasyus novemcincta*), el oso hormiguero del género *Tamandua*, aves como garrapatero (*Crotophaga ani*), Cirirí (*Tyrannus melancholicus*) entre otros, sumado a los microorganismos como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en diversas concentraciones bajo presentaciones comerciales que no generan trazas de agroquímicos en el ambiente.

Hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*

Con enfoques principalmente económicos y ambientales, se han empezado a emplear como se mencionó anteriormente, el uso de microorganismo entomopatógenos; Kaya, (2012), define el término “entomopatógeno” o “agente bioinfeccioso” como todo organismo capaz de producir una enfermedad sobre un insecto, después de invadir, reproducir y propagarse sobre su cuerpo. (Khachatourians, 1991; Cañedo y Ames, 2004; St Leger, 2007). La patogenicidad y el desarrollo de la infección de un HEP en su insecto huésped son el resultado de la interacción entre el patógeno y el hospedero, dicha interacción está determinada por la velocidad de germinación, y de reproducción del patógeno, así como la tasa y velocidad de esporulación, el tiempo de exposición del insecto al patógeno, la producción de toxinas por parte del HEP y el estado de desarrollo y ciclo de vida del insecto hospedero.

Amarilla et al., (2011) con dosis por nido de 20 grs de *B. bassiana*, 20 grs de *M. anisopliae* o mezcla de ambos en concentración de $6 \times 10^9/1000$ ml, se obtuvieron controles luego de 30 días por encima del 80% para *B. bassiana* y 70% para *M. anisopliae* o mezcla de ambos, el cual fue aplicada directamente al nido con bomba de espalda dirigido por las bocas de la colonia, la espora al entrar en contacto con la cutícula de la hormiga, se fija, emite el apresorio

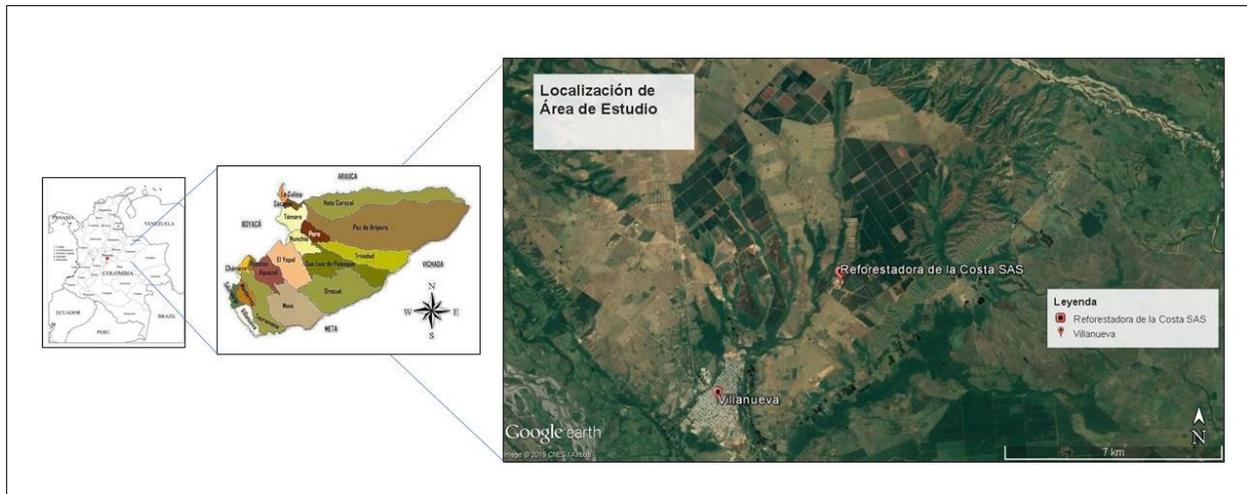
que lo penetra llegando al hemocele para causar la muerte del individuo. Para este fin pueden 21 emplearse trigo, avena, citropulpa, aceites esenciales de naranja, soya, maicena, talco u otros como atrayentes que permitan la receptividad del cebo impregnado de estos hongos para contaminar el jardín fungoso.

Área de estudio

La investigación se desarrolló en la empresa forestal, Reforestadora de la Costa SAS, localizada en el municipio de Villanueva, en el departamento del Casanare, sobre la parte baja del pie de monte llanero, a $4^{\circ} 57''$ de latitud norte y $73^{\circ} 94''$ de longitud oeste. Pertenece a una zona de vida de bosque humedo tropical (bh-T); se encuentra a una altura 358 msnm, con una temperatura promedio de 25.7°C y una precipitación anual de 2500 mm, que inicia en abril y termina en octubre (IDEAM, 2005; Alcaldía municipal de Villanueva, 2000). En la Figura 1 se presenta la localización del área de estudio.

Figura 1

Localización del área de estudio.

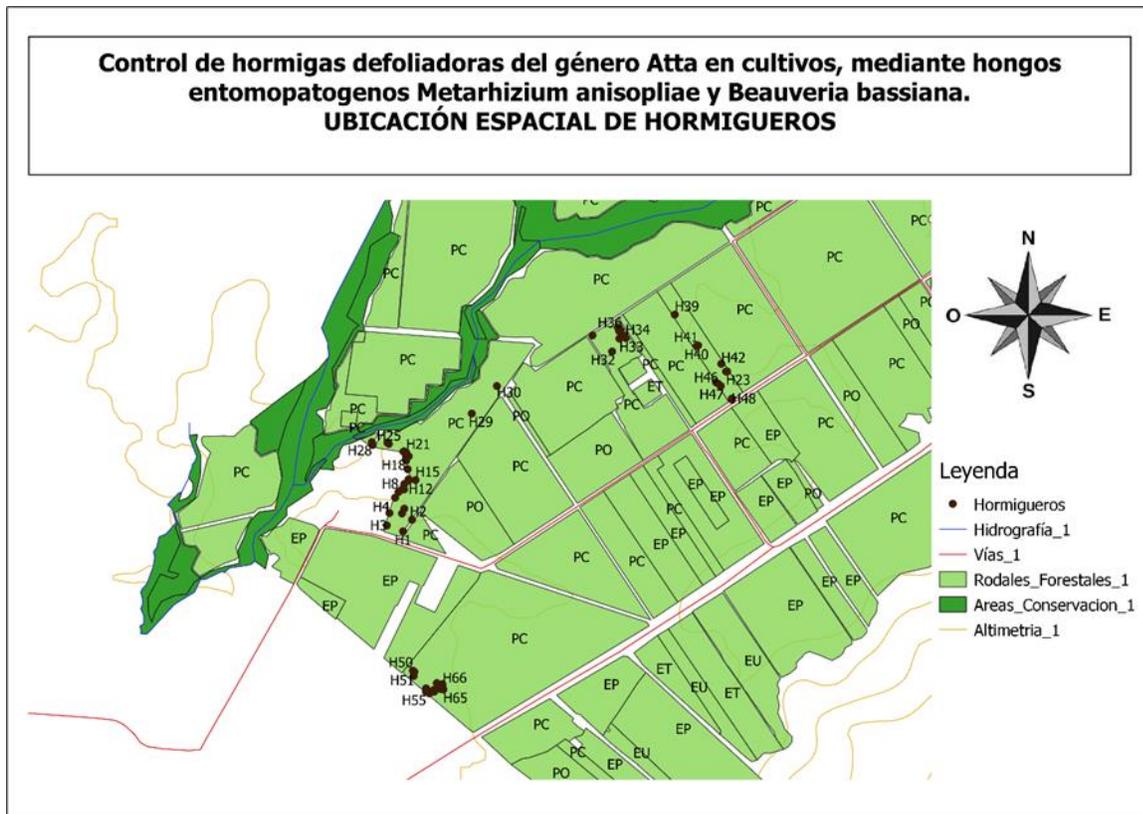


Fuente: Autores

La empresa cuenta en la actualidad con bosques plantados de *Pinus caribaea* y *Eucalyptus pellita*, donde se realizó la identificación de hormigueros.

La ubicación de los 11,14 m² de hormigueros evaluados se distribuyeron en 4 lotes de la especie forestal *Pinus caribaea*, como se observa en la Figura 2:

Ubicación espacial de los hormigueros.



Fuente: Autores

Materiales

Para la preparación de los cebos utilizados se emplearon los ingredientes relacionados a continuación.

- Hongo comercial de *Metarhizium anisopliae* de $2 * 10^9$ esporas/gramo
- Hongo comercial de *Beauveria bassiana* de $2 * 10^9$ esporas/gramo
- Naranjas (*Citrus x sinensis*)
- Avena en hojuelas cruda
- Melaza

- Sal
- Balanza de precisión 0.001 gr
- Guantes
- Tapa bocas

Los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* poseen un proceso de infección-adhesión y germinación de la espóra en la cutícula del insecto, penetración en el hemocele y desarrollo del hongo para finalmente causar la muerte del insecto, emergiendo y esporulándose. (Tellez., Cruz., Mercado., Torres y Cuenca, 2009).

Los hongos fueron adquiridos en una empresa local de agroinsumos biológicos, fueron principalmente aislamientos realizados a insectos plagas del cultivo de Palma de Aceite tales como *Antonomus sp.*, *Strategus aloeus*, *Hispoleptis sp.*, *Leptopharsa sp.*, *Aenolamia varia*, *Premnotrypes vorax*, *Sagassa valida*, *Brassolis sophorae*, *Stenoma cecropia*, *Loxotoma elegans*, brocas del café, chisas y picudos; estos pertenecientes al orden de los Lepidópteros, Coleópteros y Hemípteros. Los dos hongos son ampliamente conocidos por poseer una lista de hospederos que integra a más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes.

Identificación de hormigueros

Se dio un código único a cada hormiguero, identificando el lote y la especie, y la ubicación con coordenadas de los hormigueros, permitiendo dimensionar de manera espacial la distribución.

Se determinó el área de los hormigueros midiendo en forma de cruz el área removida, donde se encuentra la boca o las bocas del hormiguero. Estudios desarrollados por Lopez et. al

(1999), han encontrado una correlación directa entre área removida de hormiguero y número de agujeros, con datos de 91%, 64% y 91%. 25

Figura 3

Identificación y delimitación de hormigueros



Fuente: Autores

Preparación del cebo

La elaboración de los cebos granulados generalmente se incluyen tres tipos de sustancias: ingrediente activo, atrayente y excipientes, coadyuvantes o portadores inertes, (Caffarini et al. 2006; Varón, 2006; Naccarata y Jaffe 1989). Los cebos granulados, Según, Porras, (2015), representan una alternativa práctica de control porque el cebo se formula con un solvente, una sustancia atrayente como el jugo y rayadura de naranja y el ingrediente activo, que es ocultado por el atrayente y que al mismo tiempo atrae al insecto. Para el caso de la investigación es el jugo naranja, que es considerada por Boaretto et al. (2003) el atrayente más manejado en los cebos para el control de hormigas arrieras y el rayado de la cascara de la naranja.

Usando los elementos de protección para evitar contaminar el cebo, se realizó la mezcla de los ingredientes y la añadidura del hongo en la misma. 26

Figura 4

Fotografías en secuencia de la preparación del cebo.



Fuente: Autores

Usando un recipiente plástico nuevo o limpio, se mezcla el jugo de naranja con la avena, luego se agrega el hongo después la melaza y finalmente la sal, con las dosis mostradas en la Tabla 1 que corresponde a una preparación para 2 kg de producto:

Tabla 1

Ingredientes para preparación del cebo

| Ingrediente | Dosis | Unidad |
|--|--------------|---------------|
| Hongo comercial de <i>Metarhizium anisopliae</i> 2 * 10⁹ esporas/gramo | 500 | gr |
| Hongo comercial de <i>Beauveria bassiana</i> de 2 * 10⁹ esporas/gramo | 500 | gr |
| Jugo de Naranja | 2000 | cc |
| Ralladura de cascara de naranja | 10 | gr |
| Avena en hojuelas cruda | 2000 | gr |
| Melaza | 10 | gr |
| Sal | 10 | gr |

Nota. Fuente: Autores

La dosis de cada hormiguero se determinó según el área en m² de cada uno de ellos. Para cada uno de los tratamientos se trabajó con dosis de 40 gr, 60 gr y 80 gr por m² de hormiguero medido en cruz para calcular su área.

Tratamientos

Se trabajó con tres tratamientos por hongo y un testigo, que dan un total de siete tratamientos, cabe resaltar que cada tratamiento tiene 10 repeticiones, dando un total 70 repeticiones para esta investigación como se describe en la Tabla 2:

Tabla 2

Listado y características de tratamientos

| Tratamientos | Dosis (gr/m²) | Ingrediente Activo |
|---------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| Testigo | 10 | <i>Cebo (Fipronil)</i> |
| 1 – B | 40 | <i>Beauveria bassiana</i> |
| 2 - B | 60 | <i>Beauveria bassiana</i> |
| 3 - B | 80 | <i>Beauveria bassiana</i> |
| 4 – M | 40 | <i>Metarhizium anisopliae</i> |
| 5 – M | 60 | <i>Metarhizium anisopliae</i> |
| 6 - M | 80 | <i>Metarhizium anisopliae</i> |

Nota. Fuente: Autores

Aplicación

Se localizó la boca de los hormigueros, para aplicación de las dosis a evaluar. Como son hormigueros pequeños, en su mayoría solo cuentan con una sola boca, cerca de la cual se aplicó el producto. Las aplicaciones se efectuaron en la mañana o en la tarde, después de que caiga el sol, hora en la que hay mayor actividad de forrajero; (López y Orduz, 2002), lo mencionan en su

investigación donde realizo las aplicaciones después de las 5:00 pm cuando la actividad aumenta y la intensidad solar disminuye.

28

Figura 5

Aplicación de cebo en campo.



Fuente: Autores

Tiempo de evaluación

Se evaluaron los hormigueros a los 15, 30, 45, 60 y 90 días, observando rechazo del producto, que se manifiesta con rastros de hongo contaminado a las afueras del nido, hormigas muertas en la periferia y producto sin ingresar en las bocas, así mismos signos de actividad reciente.

Análisis de costos

Se determinó a partir de los costos unitarios de los ingredientes de preparación del cebo, el costo por kilo de este y a su vez de cada uno de los tratamientos. Con estos datos y el costo por

kilo del producto comercial usado por la empresa, se tendrían los datos para cada tratamiento. 29

A continuación, los costos de los ingredientes usados:

Tabla 3

Costos de ingredientes para preparación de 1 kg de cebo agroecológico

| Costo Materiales Para Producción de 1 kg de Cebo | | | | |
|---|---------------|---------------------------------|-------------------|--------------------|
| Cantidad | Unidad | Ingrediente | Precio COP | Precio USD* |
| 250 | gr | <i>Beauveria bassiana</i> | \$ 8.000 | \$ 2,04 |
| 250 | gr | <i>Metarhizium anisopliae</i> | \$ 8.000 | \$ 2,04 |
| 2.868 | gr | Naranjas | \$ 4.015 | \$ 1,03 |
| 10 | gr | Ralladura de cascara de naranja | \$ - | \$ - |
| 1.000 | gr | Avena en hojuelas cruda | \$ 4.000 | \$ 1,02 |
| 5 | gr | Melaza | \$ 5 | \$ 0,00 |
| 5 | gr | Sal | \$ 6 | \$ 0,00 |
| Total | | | \$ 24.026 | \$ 6,13 |

Nota. Fuente: Autores

*Fecha de dato de dólar 12 de marzo del 2020

Tabla 4

Costos de producto testigo

| Costo de Producto Testigo | | | | |
|----------------------------------|---------------|---------------------------|-------------------|-------------------|
| Cantidad | Unidad | Ingrediente activo | Precio COP | Precio USD |
| 1000 | gr | Cebo Fipronil | \$ 30.000 | \$ 7,67 |

Nota. Fuente: Autores

Los costos que se relacionan anteriormente presentan una diferencia del 20% entre el cebo y el testigo, sin embargo, al momento de la compra de los materiales en los supermercados del lugar, estaban por encima de lo normal, esto se puede sustentar debido a la oferta y demanda de los materiales usados para la preparación del cebo lo que a su vez hace variar el costo del cebo agroecológico preparado.

Dentro de los valores más elevados se encuentran las naranjas y la avena. Los hongos 30 utilizados *Metarhizium anisopliae*, y *Beauveria bassiana*, se adquirieron en un laboratorio local, con cepas aisladas de plagas de palma. Es importante aclarar que las aplicaciones de estos cebos se realizaron por los dos integrantes del proyecto, por lo que a pesar de que existe una mano de obra para tal labor, esta no se refleja en los costos. Cada uno de estos materiales se pudo adquirir de forma rápida y fácil en el municipio de Villanueva donde se realizaron las compras.

Análisis de resultados

Los datos se sometieron al análisis de varianza *ANOVA* del programa de Microsoft Excel con un alfa de 0.05. Las variables control de hormigueros y área de hormigueros, se pasaron por el análisis de varianza. El valor del porcentaje de control corresponde al valor encontrado a los 91 días de evaluación de los hormigueros, confirmando su inactividad con la excavación. Se determinó igualmente coeficiente de correlación para la variable área de hormiguero y control.

Durante los 91 días de evaluación del ensayo se pudo evidenciar que el 6% de los hormigueros no presentaban actividad en un tiempo, lo que se identificó por la ausencia de hormigas al momento de realizar la perturbación de la colonia, pero después se activaban por la baja eficacia del control. Este comportamiento es descrito por varios autores, indicando que el uso de productos con acción insecticida, lo más probable es que no se cause la muerte de la colonia sino únicamente disminuya su actividad por periodos de tiempo cortos mientras nuevas generaciones de hormigas sustituyan a la población que ha sido exterminada (Salazar, 2009). Sin embargo, se resalta que durante las evaluaciones no se observó rechazo por parte de las hormigas a los cebos aplicados y fue cargado al interior de los nidos, por lo que se puede hablar de una buena receptividad; el rechazo se manifiesta cuando las hormigas sacan el cebo del hormiguero.

Tabla 5

Resumen de datos

| Porcentaje de control promedio en el tiempo de evaluación | | | | | | | | Tiempo medio de control (días) |
|---|---|----|----|----|----|----|----|--------------------------------|
| Código | Tratamiento | 15 | 30 | 45 | 60 | 90 | | |
| T1B | 40 gr/m ² de <i>Beauveria bassiana</i> | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 15 | |
| T2B | 60 gr/m ² de <i>Beauveria bassiana</i> | 30 | 40 | 40 | 40 | 50 | 27 | |
| T3B | 80 gr/m ² de <i>Beauveria bassiana</i> | 30 | 30 | 30 | 30 | 40 | 38 | |
| T4M | 40 gr/m ² de <i>Metarhizium anisopliae</i> | 10 | 40 | 40 | 50 | 40 | 30 | |
| T5M | 60 gr/m ² de <i>Metarhizium anisopliae</i> | 20 | 30 | 20 | 30 | 20 | 23 | |
| T6M | 80 gr/m ² de <i>Metarhizium anisopliae</i> | 20 | 10 | 10 | 20 | 20 | 38 | |
| Testigo | 10 gr/m ² de Cebo Fipronil | 60 | 90 | 90 | 90 | 90 | 20 | |

Nota. Fuente: Autores

El porcentaje de control por tratamiento a los 91 días de evaluación, registra rangos que³² van desde el 20% al 90%; observando que la dosis de 60gr/m² del producto *Beauveria bassiana* ocasiono la muerte al 50% de los hormigueros tratados en un promedio de 27 días; los valores de control fueron similares en los tratamientos T2B, T3B y T4M, diferentes entre los tratamientos T1B, T5M Y T6M y el testigo.

Los resultados del análisis de varianza para las variables de cada tratamiento y estado de control, indican diferencias significativas entre las variables, la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** a continuación lo resume:

Tabla 6

Análisis de Varianza del Porcentaje de Control

RESUMEN

| Grupos | Cantidad | Diferencia | Promedio | Varianza |
|---------|----------|------------|----------|----------|
| T1B | 10,00 | 8,00 | 0,80 | 0,18 |
| T2B | 10,00 | 5,00 | 0,50 | 0,28 |
| T3B | 10,00 | 6,00 | 0,60 | 0,27 |
| T4M | 10,00 | 6,00 | 0,60 | 0,27 |
| T5M | 10,00 | 8,00 | 0,80 | 0,18 |
| T6M | 10,00 | 8,00 | 0,80 | 0,18 |
| TESTIGO | 10,00 | 1,00 | 0,10 | 0,10 |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 3,800 | 6,000 | 0,633 | 3,069 | 0,011 | 2,246 |
| Dentro de los grupos | 13,000 | 63,000 | 0,206 | | | |
| Total | 16,800 | 69,000 | | | | |

Nota. Fuente: Autores

Con un F mayor y una probabilidad menor a 0.05 se rechaza la hipótesis nula de que las medias de los tratamientos son iguales.

Investigaciones desarrolladas con el hongo *Metarhizium anisopliae* por (López y Orduz, 2002), arrojaron porcentajes de control del 100 % entre los 28 a 91 días de aplicado el cebo, en colonias de *Atta cephalotes*, así mismo Madrigal et al. (1997) en Colombia obtuvieron la muerte hasta del 60% de los nidos de *Atta cephalotes* en campo utilizando cepas de cualquiera de los hongos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Trichoderma harzianum*, aplicados en polvo con insufladora y alcanzando el control del 100% con las mismas cepas en aplicación con cebos. Los resultados encontrados en estos estudios no son comparables con los encontrados en la investigación, donde el porcentaje máximo controlado para el hongo *Metarhizium anisopliae* fue del 40% y el 50% con el hongo BB; esto podría explicarse por el origen de la cepa de los hongos que provienen de aislamientos de insectos plaga de palma africana del orden Lepidóptera, Coleoptera y Hemíptera. Sin embargo, se resalta que en la investigación se realizó una única aplicación de los cebos, caso contrario a un ensayo mencionado por (Gavilánez, 2004), dicho por (Pérez, 2002) donde encontró para la especie *A. insularis* en Cuba, basta realizar dos aplicaciones con el biopreparado a base de BB con intervalos de 15 días para lograr la disminución brusca de las poblaciones y en ocasiones desaparecer totalmente la actividad; así mismo, López y Orduz, (2002), menciona que una sola aplicación de los hongos no fue suficiente para matar los nidos, y por consiguiente, fue necesario incrementar el número de dosis, con el fin de que el inóculo fuera suficiente para vencer las defensas sanitarias de las hormigas y obtener la reducción total de la actividad de los nidos (Da Silva y Diehl-Fleig, 1988; Currie y Stuart, 2001).

Se resalta del tratamiento testigo con el ingrediente activo Fipronil que el tiempo medio de control fue más rápido que los tratamientos con hongos, esto es mencionado por (López y

Orduz, 2002), con el uso pirimifos metil. Con los hongos la actuación es más lenta debido a un³⁴ comportamiento explicado por (López y Orduz, 2002), donde menciona que el hongo produce una enfermedad que se disemina en la población de hormigas causando una epizootia, lo que se puede explicar como un efecto residual.

Los hormigueros evaluados estaban en un rango de área de 0.027 m² y 0.516 m², con un promedio general de 0.159 m². Por medio del análisis de varianza se comprobó que no hay efectos significativos entre los tratamientos por la variable área. En la investigación desarrollada por (López y Orduz, 2002), se emplearon nidos de un área entre 4 y 289 m², sin obtener diferencias en los resultados de los tratamientos por su tamaño; algunas otras investigaciones reportan diferencias en el control de los hormigueros grandes (289 m²) y medianos (54m²), encontrando que el cebo no es acarreado a todas las cámaras de los nidos y la muerte del hormiguero es limitada. Esta tendencia encontrada en investigaciones permite deducir que en hormigueros menores a 1 m² como los trabajados en la investigación, que tiene entre 1 y 2 cámaras es menos probable que la actuación del hongo se vea limitada y que el control se vea afectada por el área; estos estudios son comparables con la investigación debió a que en hormigueros menores a un metro cuadrado no hay efectos significativos en su porcentaje de control y en algunas investigaciones donde se reportan diferencias son hormigueros grande y medianos de más de 54 m². A continuación, la Tabla 7 lo presenta:

Tabla 7

Análisis de varianza área de hormigueros

RESUMEN

| Grupos | Cantidad | Diferencia | Promedio | Varianza |
|---------|----------|------------|----------|----------|
| T1B | 10 | 1,226 | 0,123 | 0,005 |
| T2B | 10 | 1,289 | 0,129 | 0,004 |
| T3B | 10 | 2,152 | 0,215 | 0,023 |
| T4M | 10 | 1,799 | 0,180 | 0,007 |
| T5M | 10 | 1,568 | 0,157 | 0,009 |
| T6M | 10 | 1,656 | 0,166 | 0,011 |
| TESTIGO | 10 | 1,453 | 0,145 | 0,011 |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 0,060575943 | 6 | 0,010 | 1,001 | 0,433 | 2,246 |
| Dentro de los grupos | 0,635541823 | 63 | 0,010 | | | |
| Total | 0,696117766 | 69 | | | | |

Nota. Fuente: Autores

Con el fin determinar si existe correlación entre la variable estado de control y área de hormiguero, se sometieron los datos al coeficiente de correlación, encontrando una correlación negativa perfecta con un dato inferior a 1. Un estudio desarrollado en Brasil por (Lopes, Zanuncio, Leite, Gasperazzo, y Couto, 1999), encontró que en hormigueros con tamaños $< 1 \text{ m}^2$ tienen mejor aceptación del cebo; al mismo tiempo obtuvieron resultados similares de control para distribución de tamaños de la clase 1 $< 1 \text{ m}^2$ y clase 4 $> 30 \text{ m}^2$, lo que refuerza la correlación negativa encontrada en el estudio para tamaño de hormiguero y estado de control.

El efecto de los cebos granulados a base de hongos entomopatógenos sobre las hormigas del género *Atta* fue eficiente con más del 50% de control en hormigueros, con rechazo mínimo, lo cual es coherente con estudios desarrollados donde los cebos granulados resultaron ser un vehículo adecuado para los hongos entomopatógenos (Cardoso, Nagamoto, Forti, y Souza, 2012).

Los costos tal como se ha mencionado en la investigación son un rubro de alto valor dentro del control de plagas; Estos implican no solo el valor de los productos a usarse sino también la mano de obra. La Tabla 8 permite ver los costos por gramo de los cebos a base de hongos y Fipronil:

Tabla 8

Costo de 1 gramo de los tipos de cebos usados

| Costo de 1 gr de Cebo | | |
|------------------------------|-------------------|-------------------|
| Cebo Tipo | Precio COP | Precio USD |
| Agroecológico (hongos) | \$ 24,026 | \$ 0,006 |
| Químico (Fipronil) | \$ 30,000 | \$ 0,008 |

Nota. Fuente: Autores

Con una diferencia de \$5.974 pesos, el gramo de cebo agroecológico sale más económico que el cebo químico. Las materias primas del cebo son de fácil adquisición en mercados locales y de costos variables tal como se mencionó en el análisis, pero que pueden ser conseguidos a precios bajos. Es de resaltar que, en producción masiva, los costos de la materia prima implicados en su elaboración tendrían una disminución.

La Tabla 9 contiene los costos de cada uno de los tratamientos de la investigación;

Tabla 9

Costos por tratamiento

| Costo por Tratamiento | | | | | |
|------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Códigos Tratamientos | Dosis en gr/m2 | Valor/gr en COP | Valor/gr en USD | Precio por Cebo en COP | Precio por Cebo en USD |
| T1B | 40 | \$ 24,03 | 0,006 | \$ 961,0 | \$ 0,251 |
| T4M | | | | | |
| T2B | 60 | \$ 24,03 | 0,006 | \$ 1.441,5 | \$ 0,376 |

| | | | | | | |
|---------|----|----------|-------|------------|----------|--|
| T5M | | | | | | |
| T3B | 80 | \$ 24,03 | 0,006 | \$ 1.922,1 | \$ 0,501 | |
| T6M | | | | | | |
| Testigo | 10 | \$ 30,00 | 0,008 | \$ 300,0 | \$ 0,078 | |

Nota. Fuente: Autores

El costo del tratamiento (T2B: \$1.441 pesos) más efectivo para el control de la hormiga, fue la dosis de 60 gr/m² de *Beauveria bassiana*, comparado con un costo de \$300 pesos del testigo con una dosis de 10gr/m²; aunque los costos del cebo agroecológico son mayores y las dosis requeridas son superiores, los cebos con hongos son una opción ecológica por ser amigables con los ecosistemas y adicionalmente son económicos para los agricultores.

Con base a los resultados se puede concluir que los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* ofrecen un porcentaje de control por encima del 50% en hormigueros de *Atta laevigata* con tamaños menores 1 m² a una dosis de 60gr/m² de área removida de hormiguero del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* a los 27 días de aplicación.

El tratamiento testigo con un porcentaje de control del 90%, obtuvo un 40% más de efectiva que el cebo agroecológico; cabe resaltar que el ingrediente activo del producto Fipronil es un insecticida de amplio espectro prohibido en varios países del mundo que causa altos efectos residuales para los seres vivos, fuentes hídricas y suelo.

Se descarta una correlación entre el área de los hormigueros y el porcentaje de control de los tratamientos, lo que significa que no hay influencia de su tamaño.

El costo por gramo del cebo con hongos entomopatógenos es más económico que el gramo del producto testigo en un 19%, sin embargo, al llevarlo a las dosis por metro cuadrado de tratamiento resulta más económico el testigo que trabaja con una dosis de 10 gr/m² contra la dosis del mejor tratamiento agroecológico de 60gr/m²; representado en una diferencia porcentual a favor del producto testigo de 20,8%, no obstante al cuantificar la pérdida de la degradación de los ecosistemas y ponerla en una matriz junto a las pérdidas económicas, los hongos agroecológicos representan ganancias para sellos y certificaciones verdes.

Los hongos utilizados *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, fueron desarrollados para el control de Hemípteras, Lepidópteras y Coleópteras, que fueron aislados y preparados con un enfoque directo hacia las plagas que atacan las palmas de aceite en la región del Casanare, lo que podría ser otra de las causas por las cuales su efectividad fue menor en el

control dentro del ensayo de investigación, ya que las hormigas pertenecen al orden de las Hymenopteras. 39

El biopreparado fue preparado y aplicado inmediatamente después, de manera que solo el estudio considero la actividad biológica del formulado y no su estabilidad biológica en el tiempo. Se recomienda para próximos estudios, desarrollar pruebas de estabilidad de biopreparado en el tiempo, que permitirá conocer la estabilidad de las esporas en el tiempo, la calidad del cebo, viabilidad y virulencia de este.

En futuras investigaciones se recomienda realizar la evaluación del control con diferentes cepas de control del orden Hymenoptera debido a que es un aspecto relevante en la reducción de la población de hormigas y el aumento del porcentaje de control.

Realizar una evaluación de dosis menores por metro cuadrado de hormiguero con cepas aisladas del orden Hymenopteras.

Debido a los hallazgos encontrados en otras investigaciones y al comportamiento mostrado por los hormigueros en el ensayo, se recomienda evaluar la aplicación de una segunda dosis del cebo a los hormigueros tratados con intervalos aproximados de 15 días y mezclas de los hongos entomopatógenos trabajados con hongos antagonistas como *Trichoderma harzianum*.

Anexo A. Listado de coordenadas de los hormigueros:

| NUMERO DE HORMIGUERO | COORDENADA | | ÁREA (M2) |
|----------------------|--------------|---------------|-----------|
| | X | Y | |
| 1 | 04°64'55.0'' | 072°89'56.8'' | 0,296 |
| 2 | 04°64'53.0'' | 072°89'51.1'' | 0,027 |
| 3 | 04°64'58.8'' | 072°89'56.3'' | 0,180 |
| 4 | 04°64'59.8'' | 072°89'51.4'' | 0,093 |
| 5 | 04°64'64.6'' | 072°89'54.2'' | 0,516 |
| 6 | 04°64'66.5'' | 072°89'53.0'' | 0,420 |
| 7 | 04°64'67.1'' | 072°89'51.2'' | 0,368 |
| 8 | 04°64'67.1'' | 072°89'52.0'' | 0,189 |
| 9 | 04°64'68.7'' | 072°89'51.2'' | 0,130 |
| 10 | 04°64'70.4'' | 072°89'50.2'' | 0,084 |
| 11 | 04°64'71.1'' | 072°89'49.6'' | 0,180 |
| 12 | 04°64'71.6'' | 072°89'49.1'' | 0,245 |
| 13 | 04°64'70.6'' | 072°89'47.1'' | 0,133 |
| 14 | 04°64'74.0'' | 072°89'49.8'' | 0,101 |
| 15 | 04°64'77.1'' | 072°89'50.3'' | 0,212 |
| 16 | 04°64'78.0'' | 072°89'50.3'' | 0,211 |
| 17 | 04°64'78.4'' | 072°89'50.4'' | 0,374 |
| 18 | 04°64'78.7'' | 072°89'49.2'' | 0,109 |
| 19 | 04°64'79.5'' | 072°89'50.7'' | 0,295 |
| 20 | 04°64'79.6'' | 072°89'51.0'' | 0,096 |
| 21 | 04°64'80.1'' | 072°89'51.0'' | 0,068 |
| 22 | 04°64'79.8'' | 072°89'51.5'' | 0,053 |
| 23 | 04°64'83.0'' | 072°89'62.0'' | 0,081 |
| 24 | 04°64'81.7'' | 072°89'61.9'' | 0,307 |
| 25 | 04°64'83.1'' | 072°89'56.3'' | 0,075 |
| 26 | 04°64'83.6'' | 072°89'57.4'' | 0,068 |
| 27 | 04°64'93.7'' | 072°89'27.0'' | 0,087 |
| 28 | 04°65'02.5'' | 072°89'19.6'' | 0,051 |
| 29 | 04°65'18.9'' | 072°88'86.8'' | 0,113 |
| 30 | 04°65'13.9'' | 072°88'80.5'' | 0,360 |
| 31 | 04°65'15.9'' | 072°88'82.0'' | 0,218 |
| 32 | 04°65'18.5'' | 072°88'75.7'' | 0,280 |
| 33 | 04°65'20.0'' | 072°88'76.6'' | 0,408 |
| 34 | 04°65'18.3'' | 072°88'77.9'' | 0,194 |
| 35 | 04°65'21.2'' | 072°88'78.2'' | 0,122 |

| | | | |
|----|--------------|---------------|-------|
| 36 | 04°65'21.6'' | 072°88'77.4'' | 0,252 |
| 37 | 04°65'22.4'' | 072°88'78.6'' | 0,175 |
| 38 | 04°65'26.6'' | 072°88'58.3'' | 0,097 |
| 39 | 04°65'15.3'' | 072°88'51.8'' | 0,152 |
| 40 | 04°65'16.1'' | 072°88'51.1'' | 0,158 |
| 41 | 04°65'09.2'' | 072°88'44.1'' | 0,072 |
| 42 | 04°65'06.6'' | 072°88'41.9'' | 0,090 |
| 43 | 04°65'06.9'' | 072°88'41.2'' | 0,215 |
| 44 | 04°65'03.8'' | 072°88'44.8'' | 0,188 |
| 45 | 04°65'02.6'' | 072°88'44.1'' | 0,125 |
| 46 | 04°65'01.8'' | 072°88'43.8'' | 0,120 |
| 47 | 04°64'98.1'' | 072°88'40.0'' | 0,117 |
| 48 | 04°64'97.5'' | 072°88'39.9'' | 0,060 |
| 49 | 04°64'05.9'' | 072°89'48.1'' | 0,060 |
| 50 | 04°64'05.1'' | 072°89'47.4'' | 0,112 |
| 51 | 04°64'03.2'' | 072°89'47.9'' | 0,133 |
| 52 | 04°63'99.3'' | 072°89'43.4'' | 0,104 |
| 53 | 04°63'97.9'' | 072°89'43.6'' | 0,086 |
| 54 | 04°63'97.7'' | 072°89'42.3'' | 0,140 |
| 55 | 04°63'98.3'' | 072°89'41.3'' | 0,200 |
| 56 | 04°63'98.3'' | 072°89'42.3'' | 0,130 |
| 57 | 04°63'98.8'' | 072°89'40.6'' | 0,093 |
| 58 | 04°63'99.2'' | 072°89'40.6'' | 0,132 |
| 59 | 04°63'99.4'' | 072°89'40.1'' | 0,150 |
| 60 | 04°63'99.9'' | 072°89'39.0'' | 0,141 |
| 61 | 04°63'99.6'' | 072°89'38.4'' | 0,116 |
| 62 | 04°63'99.3'' | 072°89'37.3'' | 0,081 |
| 63 | 04°64'00.7'' | 072°89'37.7'' | 0,170 |
| 64 | 04°64'01.4'' | 072°89'37.9'' | 0,195 |
| 65 | 04°64'02.0'' | 072°89'39.8'' | 0,106 |
| 66 | 04°63'99.8'' | 072°89'39.2'' | 0,078 |
| 67 | 04°63'96.9'' | 072°89'38.2'' | 0,120 |
| 68 | 04°64'02.2'' | 072°89'43.4'' | 0,110 |
| 69 | 04°63'97.1'' | 072°89'36.8'' | 0,065 |
| 70 | 04°63'97.4'' | 072°89'36.6'' | 0,057 |

- Amarilla Salina, Emiliano., Arias Ruiz Días, Osmar Rene. 2011. Control de la hormiga cortadora “Akeke” *Acromyrmex landolti* con hongos Entomopatógenos. *Investig. Agrar.* 2011; (13), 27-32.
- Baer, B. (2015). Female choice in social insects. En: A.V. Peretti y A. Aisenberg (Eds.). *Cryptip Female Choice in Arthropods: Patterns, Mechanisms and Prospects* (1era edición, p. 461-474). New York: Springer Cham Heidelberg. DOI 10.1007/978-3-319-17894-3.
- Boaretto, MAC; Forti, LC; Lopes, JFS; Nagamoto, NS; de Andrade, APP; Moreira, AA; Viana, AES; Ramos, VM. 2003. Response of the grass-cutting ant *Atta capiguara* gonçalves, 1944 (hymenoptera: formicidae) to sugars and artificial sweeteners. *Scientia Agricola*, 60(3):505- 509.
- Brandão, C.R.F.; Mayhé-Nunes, A.J. y Sanhudo, C.E.D. (2011). Taxonomia e filogenia das formigas-cortadeiras. En: Della-Lucia, T.M. (Ed.). *Formigas-cortadeiras da Bioecologia ao Manejo*. (1 era edición, p. 27-48). Minas Gerais, Brasil: Editora da Universidade Federal de Viçosa.
- Cardoso, S., Nagamoto, N., Forti, L., & Souza, E. (2012). *Carrying and effect of granulated baits formulated with entomopathogenic fungi among atta *Sexdens rubropilosa* colonies (Hymenoptera: Formicidae)* volmen 59, Issue 3.
- Casanare, A. m. (2000). Esquema de ordenamiento Territorial municipio de Villanueva 2000-2009. *Concejo Municipal de Villanueva.* , 228p.
- Caffarini, P; Carrizo, P; Pelicano, A. 2006. Extractos cítricos como atrayentes para cebos hormiguicidas con sustancias naturales. *Revista Facultad de Ciencias Agrícolas UNCuyo.* 38(1):19-26.

Entomopatógenos. Pub. Centro Internacional de la papa (CIP). Lima – Perú Pag. 62

Cordoba, S. V. (2010). Evaluación De Hongos Entomopatógenos Como Potencial

Biocontrolador De La Hromiga Arriera Atta Colombica (G.) Del Municipio Del Lloró -
Chocó. *Universidad Nacional De Colombia. Facultad De Agronomia*, 1-88.

Currie, C. R. and Stuart, A. E. 2001. Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants.

Proc. R. Soc. London. B. Biol. Sci. 268:1033-1039.

Da Silva, M. E. and Diehl-Fleig, E. 1988. Avaliação de diferentes linhagens de fungos

entomopatogenicos para control da formiga *Atta sexdens piriventris* (Santschi, 1919)
(Hymenoptera:Formicidae). *An. Soc. Entomol. Brasil.* 17:263-269.

Da Silva, M. and Diehl-Fleig, E. 1988. Avaliação de diferentes linhagens de fungos

entomopatogenicos para el control da formiga *Atta sexdens piriventris*
(Hymenoptera:Formicidae). *An. Soc. Entomol. Brasil.* 17:263-269.

Delgado, P. A., & Ordoñez, B. M. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el

control biológico de plagas *Ambiente & Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied
Science*, vol. 6, núm. 2, pp. 77-90.

Fernández, F., Castro-Huertas, V. & Serna, F. Hormigas cortadoras de hojas de Colombia:

Acromyrmex & Atta (Hymenoptera: Formicidae). *Fauna de Colombia, Monografía No.5,*
Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C.,
Colombia, 350p.

Gavilánez, A. E. (2004). Control de *Atta colombica* con los hongos *Trichoderma harzianum*,

Beauveria bassiana y el insecticida Malation. *Carrera de Ciencia y Producción
Agropecuaria.*

- Hölldobler, B. y Wilson, O. (2011). The ascent of the leafcutters. En: B. Hölldobler y O. 45
Wilson. *The leaf-cutting ants: civilization by instinct* (1era edición, p. 43-75). New York:
W. W. Norton & Company
- IDEAM. (2005). *Atlas Climatológico de Colombia*. Instituto de Hidrología, Meteorología y
Estudios Ambientales IDEAM. Republica de Colombia. *Ministeria de Ambiente,
Vivienda y Desarrollo Territorial*, 218p.
- Kaya, H.K. y Vega, F.E. (2012). Scope and basic principles of insect pathology. En: F.E. Vega y
H.K. Kaya (Eds.). *Insect Pathology* (2nda edición, p. 1-12). New York: Academic Press.
- Khachatourians, G.G. (1991). Physiology and genetics of entomopathogenic fungi. Marcel
Dekker inc. New York. Usa. *Handbook of applied mycology*. Edit. 2. Pag. 613-663
- Leger, St. R. J. (2007). *Metarhizium anisopliae* as a Model for Studying Bioinsecticidal Host
Pathogen Interactions. In: *Capitulo de libro: Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent
Enhancement and Management* Pag. 179.
- Lopes, Efigenio., Zanuncio, José., Leite, Hélio., Gasperazzo, Walter y Couto, Laércio. (1999).
Efeito do tamanho de formigueiros de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908
(Hymenoptera: Formicidae) na dosagem de iscas granuladas por olheiro ativo. *Arvoe*,
Vol. 23 (4), 473-478.
- Lemus, Y. A., Rodriguez, G. M., Cuervo, R. A., Vanegas, J. A., Zuluaga, C. L., & Rodriguez, G.
(2008). Determinación de la factibilidad del hongo *Metarhizium anisopliae* para ser usado
como control biológico de la hormiga arriera (*Atta cephalotes*). *Revista científica
Guillermo de Ockham*, vol 6, núm. 1. Universidad San Buenaventura, Cali, Colombia,
91-98.

López, E. A., y Orduz, S. P. (2002). *Metarhizium anisopliae* y *Trichoderma viride* controlan 46

colonias de *Atta cephalotes* en campo mejor que un insecticida químico. *Revista colombiana de biotecnología Vol. IV N°1*.

Mackay, W. & E. Mackay. (1986). Las Hormigas de Colombia: Arrieras del género *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). *Rev. Colombiana de Entomología Vol. 12*. Pag. 23-30.

Madrigal, C. A, Yepes, R. F and Acevedo, D. P. 1997. Evaluación de tres hongos y dos especies vegetales para el control de la hormiga arriera *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae). Universidad Nacional de Colombia, Seccional Medellín. Facultad de Ciencia y Ciencias Agropecuarias, 43 p.

Motta, R. L., & Luxnich, J. G. (2014). *Manual De Formigas Cortadeiras: Biologia, Identificacao Das Principais Espécies E Manejo*. Piracicaba, Sao Paulo, Brasil: 1 Ed. Piracicaba: Equilibrio Protecao Florestal.

Naccarata, V; Jaffe, K. 1989. Formulación y desarrollo de un cebo atractivo tóxico para control de bachacos, *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae) en Venezuela. *Boletín de Entomología de Venezuela*. 5(11): 81-88.

Pérez Álvarez, RP. 2002. Lucha biológica contra la bibijagua (*Atta insularis* Güerin). Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), Laboratorio de Manejo de Plagas. La Habana, CU. Disponible en <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/ATTA-BIO.htm>

Porras, E. 2015. Evaluación de la actividad entomopatógena de diversos aislamientos de hongos y cepas de *Bacillus thuringiensis* para el potencial desarrollo de un bioformulado contra las hormigas cortadoras de hojas de la especie *Atta cephalotes* (tesis de Pregrado).

Instituto Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Biología. Universidad de Costa Rica, 47
Cartago, Costa Rica.

Salazar, E. E. (2009). Desarrollo de una formulación granular base para el control biológico de las hormigas arrieras (*Atta spp.*). *Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica.*

TELLEZ-JURADO, Alejandro et al. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Rev. Mex. Mic* [online]. 2009, vol.30, pp.73-80. ISSN 0187-3180.

Vargas, E. D. (Junio de 2018). *Plan De Manejo Integrado De La Hormiga Arriera En El Municipio De Campohermoso Boyacá*. Programa de beneficiarios de subsidio educativo.

Recuperado de:

http://campohermosoboyaca.micolombiadigital.gov.co/sites/campohermosoboyaca/content/files/000072/3596_hormiga-arriera-en-campohermoso.pdf

Varón, EH. 2006. Distribution and foraging by the leaf-cutting ant, *Atta cephalotes* L., in coffee plantations with different types of management and landscape contexts, and alternatives to insecticides for its control. Tesis PhD. Idaho, US, University of Idaho. 145 p.

Wilson, E.O.; y Nowak, M.A. (2014). Natural selection drives the evolution of ant life cycles.

En: *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(35), 12585-12590. DOI:

10.1073/pnas.1405550111