

## EFFECTO DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS) VUILL. SOBRE *ATTAMYCES BROMATIFICUS* KREISEL

Rubén Pérez Álvarez, Zoila Trujillo González y Carmen Nieves Zamora

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F,  
Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

### RESUMEN

Se hicieron ensayos de laboratorio para determinar el efecto que ejerce *B. bassiana* (Bals) Vuill. sobre el hongo *Attamyces bromatificus* Kreisel, del cual se alimenta *Atta insularis* (Güerin). Los ensayos de laboratorio se ejecutaron en el Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. En placas de Petri con medio agarizado sabouraud-dextrosa-agar (SDA) se enfrentaron y se pusieron en contacto cultivos de *B. bassiana* cepa MB-1 y el hongo *A. bromatificus*. Se evaluó el crecimiento de las colonias. Se realizaron filtrados de *B. bassiana* y se pusieron en contacto con el hongo *A. bromatificus* de diferentes días de sembrado para conocer la posible existencia de alguna sustancia producida por este microorganismo que pudiera inhibir el crecimiento de *A. bromatificus*. Los resultados indicaron que no existe hiperparasitismo ni antagonismo entre estos hongos, y tampoco se encontró ninguna sustancia producida por *B. bassiana* que inhibiera el crecimiento de *A. bromatificus*, provocándole la muerte por una acción competitiva por el medio donde se desarrolla. Todo lo que ocurre es debido a la cinética de crecimiento que presentan estos hongos. *B. bassiana* crece rápidamente y cubre al hongo *A. bromatificus*, provocándole la muerte debido a una acción competitiva.

Palabras claves: *Atta insularis*, *Attamyces bromatificus*, hongo entomopatógeno, competencia

### ABSTRACT

Laboratory rehearsals were carried out to determine the effect of *B. bassiana* (Bals) Vuill. on the entomopathogenic fungi *Attamyces bromatificus* Kreisel, from which *Atta insularis* (Güerin) feed. The laboratory rehearsal was executed in the Plant Health Research Institute. Cultures of *B. bassiana* strains MB-1 and the fungi *A. bromatificus* were faced and putted on contact in badges of Petri with Sabouraud-dextrose-agar (SDA) medium. Colonies' growth was evaluated. Filtrates of *B. bassiana* were carried out and contacted with the fungi *A. bromatificus* different days of field to know the possible existence of some substance taken place by this microorganism that could inhibit *A. bromatificus*'s growth. The results indicated that it doesn't exist hyperparasitism neither antagonism among these fungi and neither there was any substance produced by *B. bassiana* that inhibited *A. bromatificus* growth provoking them the death for a competitive action for the means where it is developed. Every thing happens due the kinetics of growth that presents the fungi. *B. bassiana* grows quickly and it covers the fungi *A. bromatificus* provoking him the death due to a competitive action.

Key word: *Atta insularis*, *Attamyces bromatificus*, entomopathogenic fungi, competition

### INTRODUCCIÓN

La bibijagua u hormiga cortadora de hojas de Cuba fue identificada por Guerin en 1845 como *Atta insularis*, perteneciente a la familia Formicidae, orden Hymenoptera [Bruner y Valdés, 1949].

La especie *A. insularis* es autóctona de Cuba y se encuentra distribuida en el territorio nacional. Representa un grave peligro para diversos cultivos de importancia económica, ya que es capaz de desfoliar plantas completas en poco tiempo y afectar los rendimientos y la calidad de las cosechas. Estas fracciones de hojas las llevan a sus nidos para cultivar el hongo *Attamyces bromatificus* Kreisel, el cual le sirve de alimento a la colonia [Bruner y Valdés, 1949; Kreisel, 1971].

Por las afectaciones que provoca esta plaga se han utilizado diferentes medidas de lucha, entre las que se pueden citar el uso de eliminación de la colonia por

métodos físicos, la aplicación de soluciones de insecticidas y cebos de naturaleza química, siendo el más generalizado el cebo nombrado Mirex, compuesto de reconocida efectividad, pero que presenta desventajas por su alta toxicidad sobre el medio ambiente [Cherrett, 1986].

Por estas razones, en la actualidad se realizan investigaciones sobre el uso de los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *Metarrhizium anisopliae* (Sor.) para el control de diferentes especies del género *Atta* y *Acromyrmex* [Da Silva y Dielh-Fleig, 1988; Trujillo et al., 1996].

Entre los factores que pueden inhibir el efecto de los hongos entomopatógenos para el combate sobre los insectos, se pueden citar la humedad relativa, los rayos ultravioletas y esporas de hongos saprofitos [Sticmac et al., 1989; Alves et al., 1990; Valim-Labres, 1992].

Cardoso (1978) estudió los efectos inhibitorios de un microorganismo sobre otro por la producción de sustancias tóxicas como la glitoxina, producida por *Trichoderma viride*, que afecta a determinados hongos, bacterias y actinomicetos.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto que ejerce el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. sobre el hongo *Attamyces bromatificus* Kreisel en condiciones de laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios para conocer el efecto que ejerce *B. bassiana* sobre *A. bromatificus* se realizaron en condiciones de

laboratorio. Se utilizó la cepa MB-1 del hongo *B. bassiana* perteneciente a la micoteca del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal con una concentración de  $1,2 \times 10^8$  esporas/mL, y viabilidad de 98%. El hongo *A. bromatificus* fue aislado de un bibijagüero en condiciones de campo según la metodología de Kreisel (1971). El ensayo se realizó según la técnica descrita por López (1995). En placas de Petri con medio agarizado (SDA) se enfrentaron y pusieron en contacto filtrados de *B. bassiana* sobre el hongo *A. bromatificus*. Motivado por la diferencia de crecimiento, *A. bromatificus* se sembró con cinco días de antelación en relación con el hongo *B. bassiana*. Los estudios se iniciaron después de los 15 días de desarrollo de ambos hongos. Las variantes se describen a continuación.

Variantes	Descripción
1	En 1 mL de la suspensión del hongo <i>A. bromatificus</i> y sobre este 10 mL del medio de cultivo SDA, a temperatura de 25°C, y a las cuatro o cinco horas se le añadió encima del medio 1 mL de la suspensión de <i>B. bassiana</i>
2	En 1 mL de la suspensión del hongo <i>B. bassiana</i> y sobre este 10 mL del medio de cultivo SDA, a temperatura de 25°C a las cuatro o cinco horas se le añadió encima del medio 1 mL de la suspensión de <i>A. bromatificus</i>
3	En 1 mL de la suspensión del hongo <i>A. bromatificus</i> y sobre este 10 mL del medio de cultivo SDA, a temperatura de 25°C a las cuatro o cinco horas se le colocaron encima del medio cuatro ponchetes de 5 mm de diámetro x 2 mm de altura de <i>B. bassiana</i>
4	En 1 mL de la suspensión del hongo <i>B. bassiana</i> y sobre este 10 mL del medio de cultivo SDA, a temperatura de 25°C a las cuatro o cinco horas se le colocaron encima del medio cuatro ponchetes de 5 mm de diámetro x 2 mm de altura de <i>A. bromatificus</i>
5	A 10 mL del medio de cultivo SDA se le colocó encima un ponchete de 5 mm de diámetro x 2 mm de altura de <i>A. bromatificus</i> frente a uno de iguales dimensiones de <i>B. bassiana</i>
6 Testigo	A 10 mL de medio de cultivo SDA se les sembraron los hongos <i>A. bromatificus</i> y <i>B. bassiana</i> de forma independiente

Para conocer el posible efecto de las sustancias producidas por *B. bassiana* sobre *A. bromatificus*, se utilizó la técnica descrita por López (1995). Para ello se tomaron cuatro erlenmeyers que contenían 100 mL del medio papa-dextrosa-agar, los que se sembraron con *B. bassiana*. Se colocaron en una zaranda rotativa a 140 golpes por minuto a temperatura de 26°C. Se realizaron siembras en placas Petri para observar su crecimiento. Estas se pusieron a incubar a  $26^\circ\text{C} \pm 1$ .

Se filtró el material crecido de *B. bassiana* para separar el líquido de la masa de conidios, micelios y blastosporas mediante un filtro miliporo de 0,2  $\mu\text{m}$ . A partir del filtrado se procedió a su aplicación sobre *A. bromatificus*. Para este estudio se utilizaron placas de Petri con medio de cultivo (SDA). Las variantes ensayadas se relacionan a continuación.

Variantes	Descripción
1	<i>A. bromatificus</i> al momento de sembrado + 3 mL del filtrado de <i>B. bassiana</i>
2	<i>A. bromatificus</i> de 15 días de sembrado + 3 mL del filtrado de <i>B. bassiana</i>
3	<i>A. bromatificus</i> de 30 días de sembrado + 3 mL del filtrado de <i>B. bassiana</i>
4, 5 y 6 Testigo	<i>A. bromatificus</i> al momento de sembrado, 15 y 30 días + 3 mL de agua estéril

Para ambos experimentos las observaciones se iniciaron a partir de los tres días, y se mantuvieron semanalmente en el período de ensayo, donde se midió el crecimiento radial de cada hongo. Todas las variantes se incubaron de 26-28°C durante el ensayo.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, las variantes se replicaron cinco veces, los datos fueron transformados a  $\sqrt{x}$  y se le realizaron análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan con un 5% de probabilidad de error.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las variantes utilizadas para determinar el comportamiento de la cepa MB-1 frente al hongo *A. bromatificus*

no mostraron diferencias significativas. Sólo se observaron diferencias en las variantes 5a, 5b y en la variante testigo, donde los punchetes de *B. bassiana* obtuvieron un mayor crecimiento en relación con el hongo *A. bromatificus*, tanto cuando se sembró a profundidad, en la superficie, separados, o cuando se enfrentaron ambos hongos, lo que evidencia un efecto competitivo por el sustrato a favor de la cepa MB-1 de *B. bassiana*. A las 72 horas, *B. bassiana* cubrió totalmente la superficie del medio de cultivo, e inhibió el crecimiento de *A. bromatificus*. A los siete días no se observó crecimiento de este último hongo, sólo el hongo *B. bassiana* creciendo encima de la superficie del medio de cultivo y pasándole por encima a los punchetes de *A. bromatificus*.

Tabla 1. Efecto del hongo *B. bassiana* sobre *A. bromatificus* en condiciones de laboratorio

Variantes	Microorganismo	Crecimiento de las colonias (mm)			
		3 días	7 días	14 días	21 días
1	<i>A. bromatificus</i> + <i>B. bassiana</i>	8,2 a	16,4 a	21,0 a	28,0 a
2	<i>B. bassiana</i> + <i>A. bromatificus</i>	8,0 a	16,5a	21,2 <sup>a</sup>	28,2 a
3	<i>A. bromatificus</i> con punchetes de <i>B. bassiana</i>	8,2 a	16,6 a	21,3 a	28,0 a
4	<i>B. bassiana</i> con punchetes de <i>A. bromatificus</i>	8,21 a	16,7 a	21,4 a	28,4 a
5 Testigo	Punchete de <i>B. bassiana</i>	9,2 a	16,4 a	21,6 a	28,0 a
	Punchete <i>A. bromatificus</i>	6,6 a	7,2 b	7,4 b	7,6 b
6 Testigo	<i>B. bassiana</i>	8,3 a	16,6 a	22,0 a	28,5 a
	<i>A. bromatificus</i>	6,5 a	7,4 b	7,7 b	7,8 b
DE		0,87	1,04	0,98	2,04
CV		11,5	11,0	8,2	13,6

Los filtrados de *B. bassiana* no inhibieron el desarrollo de *A. bromatificus*; en todos los casos este hongo creció sin interferencia, y no mostraron diferencias significativas entre sí, lo que demostró que las sustancias que produce *B. bassiana* no ejercen ninguna acción sobre el crecimiento y desarrollo de *A. bromatificus*. No se observó en ninguno de los casos antibiosis debido a alguna sustancia producida por *B. bassiana* que inhibiera el desarrollo de dicho microorganismo, lo que corrobora los resultados obtenidos en los ensayos anteriores.

Estudios realizados por Feller y Marcia Eloísa (1996) sobre la compatibilidad del hongo *B. bassiana* con hongos saprofitos aislados de las hormigas cortadoras, mostraron que los hongos *Aspergillus*, *Penicillium*, a pesar de mostrar un crecimiento más rápido que *B. bassiana*, no inhibieron la esporulación de este entomopatógeno. El hongo *Trichoderma viride* provocó una disminución en la producción de conidios de *B. bassiana* probablemente por su crecimiento más rápido, que impidió el desarrollo normal por competencia de espa-

cio, aunque no se observó halos de inhibición en los diferentes tests realizados. En el desarrollo de esta experiencia se evidenció que *B. bassiana* mostró un crecimiento más rápido y compitió por el sustrato en relación con el hongo *A. bromatificus* y le provocó la muerte, pero no se observaron efectos inhibitorios por la producción de sustancias tóxicas, o sea, antibiosis, según lo planteado por Cardoso (1978), quien refirió la antibiosis de glitoxina producida por *Trichoderma viride* a determinados hongos, bacterias y actinomicetos.

## CONCLUSIONES

- *B. bassiana* presentó un crecimiento más rápido que el hongo *A. bromatificus*.
- *B. bassiana* cubrió al hongo *A. bromatificus*, y le provocó la muerte por un efecto competitivo por el sustrato.
- Los filtrados del hongo *B. bassiana* no ejercieron efecto sobre el desarrollo de *A. bromatificus*.

Tabla 2. Efecto del filtrado de *Beauveria bassiana* sobre *A. bromatificus*

Variantes	Microorganismo	Crecimiento de las colonias (mm)				
		3 días	7 días	14 días	21 días	30 días
1	<i>A. bromatificus</i> al momento de sembrado + 3 mL de <i>B. bassiana</i>	6,5 a	7,1 a	7,5 a	7,62 a	7,8 a
2	<i>A. bromatificus</i> de 15 días de sembrado + 3 mL de <i>B. bassiana</i>	7,2 a	7,3 a	7,5 a	7,58 a	7,62a
3	<i>A. bromatificus</i> de 30 días de sembrado + 3 mL de <i>B. bassiana</i>	7,7a	7,7a	7,7a	7,7a	7,7a
4 Testigo	<i>A. bromatificus</i> al momento de sembrado + 3 mL de agua estéril	6,6a	7,0a	7,45a	7,59a	7,7a
5 Testigo	<i>A. bromatificus</i> de 15 días de sembrado + 3 mL de agua estéril	7,22a	7,3a	7,51a	7,61a	7,75a
6 Testigo	<i>A. bromatificus</i> de 30 días sembrado + 3 mL de agua estéril	7,71a	7,72a	7,73a	7,71a	7,7a
DE		0,12	0,37	0,52	0,41	0,34
CV		1,77	5,34	10,46	5,77	4,58

## REFERENCIAS

- Alves, S. B.; P. S. Botelho; R. Salomoo; J. L. Sticmac: «Influência de diferentes tipos de alimentos na susceptibilidade de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.», *An. Soc. Entomol. Brasil* 19 (2): 383-391, 1990.
- Bruner, S. C.; F. Valdés: *Observaciones sobre la biología de la bibijagua* (Hymenoptera: Formicidae), Estación Experimental Agronómica, Santiago de las Vegas, 1949, pp. 145-153.
- Cardoso, E. J. B. N.: «Relações ecológicas entre microorganismos», *Manual de fitopatologia*, Editora Agronômica Ceres, São Paulo, 1978, pp. 26-51.
- Da Silva, Marcia E.; Elena Diehl-Fleig: «Avaliação de diferentes linhagens de fungos entomopatogênicos para el controle da hormiga *Atta sexdens piriventris* (Santschi, 1919) (Hymenoptera: Formicidae)», *Ann. Soc. Ent. Brasil* 17 (2), 1988.
- Feller, S. R.; Marcia Eloisa da Silva: *Acta biológica leopoldensis*, ADO 18, 1996, pp. 51-61.
- Valim-Labres, M. E.: «Efeitos de secreções glandulares de *Atta sexdens piriventris* e de *Acromyrmex heyeri* (Hymenoptera-Formicidae) sobre *Beauveria bassiana*: enfase as glândulas metapleurales», Trabalho de conclusão em Biologia-Licenciatura Plena, Unisinos, São Leopoldo, 1992.
- Kreisel, H.: «Los hongos cultivados por *Atta insularis* (Güerin.) en Cuba», Informe. Universidad de La Habana, 1971.
- López, Miriam: «Metodología para determinar el efecto de *B. bassiana* sobre *A. bromatificus*», Informe final del proyecto. Medidas de Lucha sobre *Atta insularis*, 1995.
- Sticmac, J. L.; S. B. Alves; M. T. Camargo: «Controle de *Solenopsis* spp. (Hymenoptera: Formicidae) wit *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. em condições de laboratório e campo», *An. Soc. Entomol. Brasil* 18 (1): 95-103, 1989.
- Trujillo, G. Zolla; R. P. Pérez; Miriam López; Carmen Nieves: «Efecto de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. sobre *Atta insularis* (Güerin.)», Informe presentado en el IX Forum de Ciencia y Técnica INISAV, 1995.