

## Detección de hongos entomopatógenos del género *Cordyceps* ((Fr.) Link), 1833 (Ascomycotina: Pyrenomycetes) sobre hormigas del género *Camponotus* Mayr, 1861 (Hymenoptera: Formicidae) en plantaciones de cacao de Barlovento, estado Miranda, Venezuela

Pedro Sánchez<sup>1</sup>, Franklin Morillo<sup>1</sup>, Flavio Caetano<sup>2</sup>, Teresa Iturriaga<sup>3</sup>, Jerónimo Guerra<sup>1</sup>, Wilfredo Muñóz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Estación Experimental del Edo. Miranda, Caucagua Edo. Miranda. E-mail: fonaipmiranda@cantv.net

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Departamento de Biología, Av. 24<sup>a</sup>, 1515, Río Claro-SP, E-mail: fcaetano@rc.unesp.br

<sup>3</sup>Universidad Simón Bolívar, Departamento de Biología, Valle de Sartenejas, Caracas.

### Resumen

SÁNCHEZ P, MORILLO F, CAETANO F, ITURRIAGA T, GUERRA J, MUÑOZ W. 2002. Detección de hongos entomopatógenos del género *Cordyceps* ((Fr.) Link), 1833 (Ascomycotina: Pyrenomycetes) sobre hormigas del género *Camponotus* Mayr, 1861 (Hymenoptera: Formicidae) en plantaciones de cacao de Barlovento, estado Miranda, Venezuela. *Entomotropica* 17(2):191-195.

A objeto de detectar la presencia de hongos entomopatógenos e identificar las especies del género *Cordyceps* ((Fr.) Link), 1833, que atacan hormigas del género *Camponotus* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) presentes en plantas de cacao, ubicadas en el valle de Barlovento, se realizaron muestreos y colectas directas, en áreas cacaoteras del bosque húmedo y seco tropical, durante los años 1999 y 2000. Las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Entomología del INIA-Miranda y al Departamento de Biología de la Universidad Simón Bolívar, para su evaluación e identificación. Además, se trasladaron al Departamento de Biología de la Universidade Estadual Paulista (UNESP-Brasil), donde fueron observadas y fotografiadas en microscopía de barrido. En total se colectaron 175 hormigas parasitadas, y en todos los casos se encontraron dos cuerpos de fructificación ubicados dorsalmente, que emergían, uno a través del foramen mágnum y el otro por el pedicelo. Las especies de *Cordyceps* identificadas fueron *C. lloydii* y *C. unilateralis*. La frecuencia y abundancia de individuos atacados, en condiciones naturales, indican un importante efecto de especies del género *Cordyceps* sobre hormigas del género *Camponotus*, y a la vez representan una interesante alternativa de estudio, bajo la óptica futura de usar a este hongo como regulador biológico de hormigas *Camponotus* plaga.

**Palabras clave adicionales:** Control biológico, microscopía de barrido, *Theobroma cacao*.

### Abstract

SÁNCHEZ P, MORILLO F, CAETANO F, ITURRIAGA T, GUERRA J, MUÑOZ W. 2002. Detection of pathogenic fungi of the genus *Cordyceps* ((Fr.) Link), 1833 (Ascomycotina: Pyrenomycetes) on ants of the genus *Camponotus* Mayr, 1861 (Hymenoptera: Formicidae) in cacao plantations in Barlovento, Miranda State, Venezuela. *Entomotropica* 17(2):191-195.

Samplings and direct collections on cacao plants yielded ants of the genus *Camponotus* Mayr attacked by pathogenic fungi of the genus *Cordyceps* ((Fr.) Link), 1833. These were obtained from cacao plantations in tropical wet forest areas in Barlovento valley, during 1999 and 2000. The samples were transferred to the Laboratory of Entomology (INIA-Miranda) and to the Department of Biology of the Universidad Simón Bolívar, for their evaluation and identification. Samples were also sent to the Department of Biology (UNESP-Brazil), where they were observed and photographed using SEM. 175 ants infected by fungi were collected. In all cases, two stromata located dorsally were found. These emerged from the foramen magnum and the pedicel, respectively. *Cordyceps lloydii* and *C. unilateralis* were identified. The frequency and abundance of infected ant specimens under natural conditions indicate an important effect of *Cordyceps* on *Camponotus* ants. These fungi may represent an interesting alternative for possible future use as biological control agent of ant pests.

**Additional key words:** Biocontrol, scanning electron microscopy, *Theobroma cacao*.

## Introducción

Un aspecto importante dentro del agroecosistema cacao lo constituye la abundancia de microorganismos benéficos, entre los cuales se destacan los hongos entomopatógenos. Estos hongos pertenecen en su mayoría al orden Entomophthorales (clase Zygomycetes), y a las subdivisiones Ascomycotina y Deuteromycotina (Steinhaus 1975; FAO 1985).

Se destaca que los primeros hongos entomopatógenos conocidos fueron especies del género *Cordyceps* ((Fr.) Link), 1833 (Steinhaus 1975). Se han señalado aproximadamente 280 especies del mencionado género, las cuales han sido estudiadas principalmente desde un punto de vista taxonómico (Kobayasi 1982). Sin embargo, los esfuerzos realizados para cría masiva y utilización han sido pocos. El género está registrado como entomopatógeno en especies de varios órdenes de insectos, principalmente en Hymenoptera, Hemiptera, Diptera, Lepidoptera y Coleoptera (Mains 1958; Brady 1979). En Ghana y otros países africanos ha sido descrito como hongo patógeno de hormigas (Evans 1974). Adicionalmente ha sido registrado sobre especies de hormigas del complejo *Camponotus* y *Cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae) de ejemplares colectados en Brasil y Ecuador (Evans, Samson 1982, 1984). En Norteamérica (Carolina del Norte, Michigan, Tennessee) y Panamá, también han sido señaladas especies de *Cordyceps* (Mains 1958). El conocimiento que se tiene en el país relacionado a hongos entomopatógenos, y en particular este género, es escaso.

Se resalta que algunas hormigas pertenecientes al género *Camponotus* dañan las cortezas de los árboles en su proceso de búsqueda de alimento y forrajeo; otras cultivan áfidos u otros Hemiptera-Homoptera, que debilitan las plantas al succionar la savia para alimentarse (Jaffé 1993), y otras representan un serio problema para el cacaocultor al momento de la cosecha. Las especies *C. abdominalis*, *C. crassus* y *C. rufipes*, se han registrado en los bosques cacaoteros del estado Miranda (Jaffé et al. 1986; Goitia 1992).

El presente trabajo tiene como objetivo detectar la presencia de hongos entomopatógenos e identificar las especies del género *Cordyceps* que atacan hormigas *Camponotus* presentes en plantaciones de cacao, ubicadas en el valle de Barlovento, estado Miranda, Venezuela.

## Materiales y Métodos

Se realizaron colectas directas, en el Sector Tapipa, Municipio Acevedo, estado Miranda, Venezuela, área cacaotera de bosque húmedo tropical según las zonas

de vida de Holdridge, con coordenadas geográficas: lat 10° 13' 36" N, long 66° 18' 30" W y una altitud de 20 m. Se efectuaron dos muestreos, uno durante el período seco (1999) y otro en la época lluviosa (2000). Se examinaron ambos lados de las hojas del estrato inferior y medio de las plantas de cacao a una altura comprendida entre 0,50 y 2 m. Cuando se encontraban insectos momificados sobre las hojas, se recortaba el área de la misma y se colocaban en envases plásticos de 350 cm<sup>3</sup>, hasta un máximo de cinco insectos por envase, fijados e individualizados con cinta plástica adhesiva. Los envases con los insectos se ubicaron en cavas térmicas para su transporte y protección. Seguidamente las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) en la Estación Experimental del Estado Miranda, Municipio Acevedo, para la separación, conteo e identificación de los insectos, así como la separación según los diferentes morfotipos de hongos colectados. Las hormigas fueron identificadas con claves dicotómicas (Jaffé 1993) a través de una lupa binocular estereoscópica (Nikon, modelo SMZ 2T) con aumento de zoom hasta 60X. Posteriormente, se trasladaron al Departamento de Biología de la Universidad Simón Bolívar, ubicada en Sartenejas, Caracas, para el aislamiento e identificación de las especies de *Cordyceps*, según la metodología descrita en Mains (1958), Evans y Samson (1982, 1984), Kobayasi (1982). Además, un grupo de las hormigas infectadas con *Cordyceps* se trasladaron al Departamento de Biología de la UNESP-Brasil, donde fueron observadas y fotografiadas en microscopía de barrido en los microscopios Philips, SE-53031 y Joel, P-15, según la metodología empleada por Sánchez et al. (2000). Los insectos atacados por otras especies de hongos entomopatógenos fueron registrados y conservados en el laboratorio de Entomología del INIA-Miranda, en cápsulas de Petri, a 25 °C y humedad relativa de 75%.

## Resultados y Discusión

El Cuadro 1, muestra el número de insectos atacados por hongos entomopatógenos en cada período de colecta. Un total de 175 hormigas identificadas como *Camponotus* Mayr, se encontraban infectadas por *Cordyceps*. Adicionalmente, 58 insectos (pertenecientes a los órdenes Diptera, Lepidoptera y otros Hymenoptera) fueron registrados en los muestreos con hongos entomopatógenos sobre su cuerpo (Cuadro 1). En todos los ejemplares de *Camponotus* atacados por *Cordyceps*, se observaron a simple vista los estromas (Figura 1a), como dos proyecciones ubicadas dorsalmente, que emergían a través del foramen

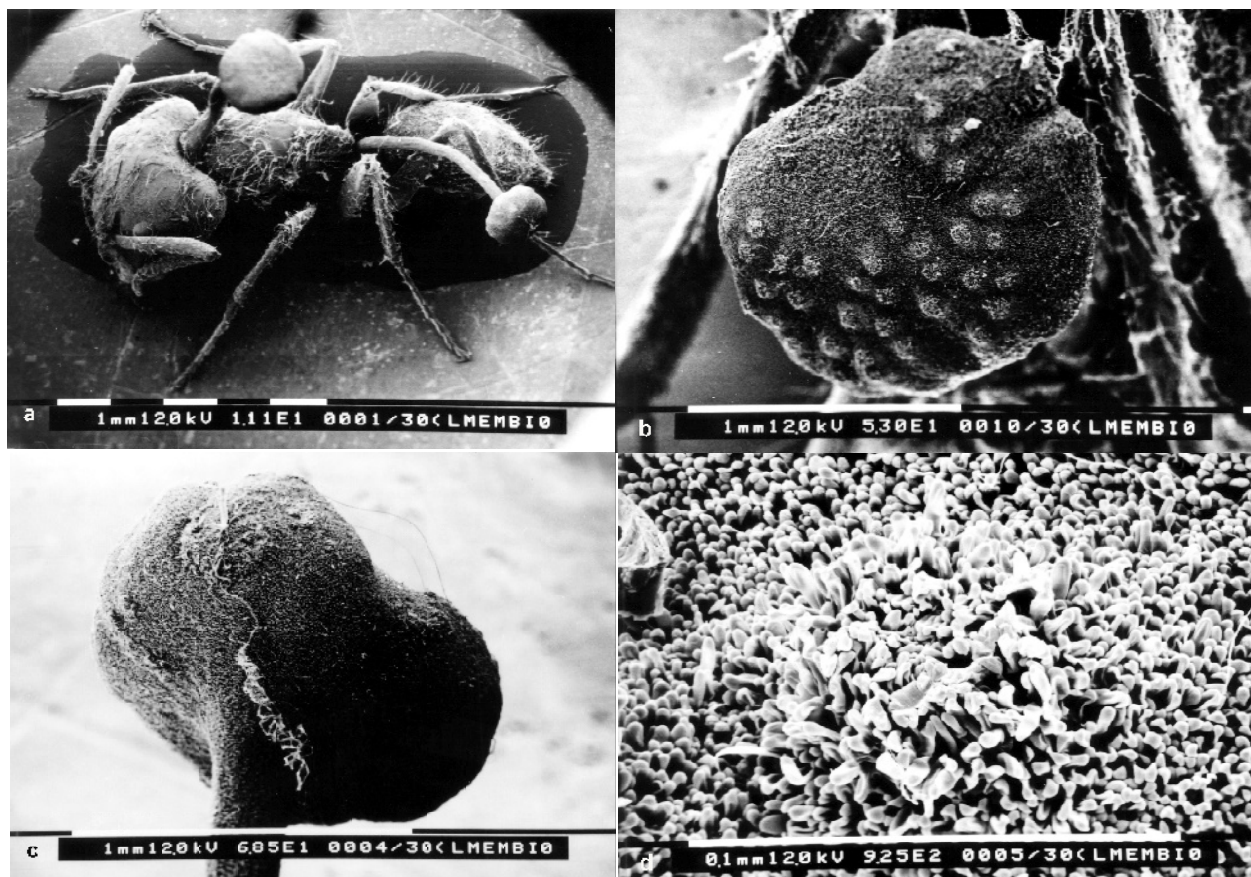


FIGURA 1. *Camponotus* sp. parasitado por *Cordyceps lloydii*. a. Vista general de los estromas del hongo, que emergen a través del foramen mágnum y del pedicelo del insecto (11,1X). b. Cabeza del estroma, nótese las protuberancias originadas por la madurez de los peritecios (53X). c. Región basal de la cabeza, sin presencia de estructuras de fructificación (68,5X). d. Detalle de la región dorsal de la cabeza del estroma (925X).

CUADRO 1. Número de hormigas *Camponotus* y otros insectos atacados por hongos entomopatógenos. Sector Tapipa, Municipio Acevedo, estado Miranda.

Año/Colecta	Nº hormigas atacadas por <i>Cordyceps</i>	Nº de insectos atacados por otros hongos entomopatógenos	Precipitación <sup>a</sup> (mm)	Humedad Relativa <sup>b</sup> (%)
1999/Período seco	73	26	951,3	86,0
2000/Período lluvioso	102	32	2073,7	81,0
	175	58		

<sup>a</sup> Total lluvias registradas en el período.

<sup>b</sup> Humedad promedio en el período.

mágnum y a través del pedicelo, en la región dorsal. Las especies del hongo identificadas fueron *Cordyceps lloydii* Fawcett y *Cordyceps unilateralis* (Tul.) Sacc. Ambas muestran estromas elongados, la primera con área fértil terminal en forma de cabeza globoide aplanada, color crema o beige (Figura 1b y c), con peritecios entre 600-950 x 210-300 µm. Externamente muestran una pared de estructura laminar (Figura 1d) con células sueltas. La segunda especie, raramente con cabeza globoide en la parte terminal, con la formación de peritecios más pequeños (entre 270-400 x 130-180

µm) que en *C. lloydii*, y desarrollados lateralmente en varios lugares a lo largo del estípote del estroma, presenta una coloración marrón oscura. Una descripción más detallada de estas especies se encuentra en Mains (1958), Kobayasi (1982), Evans y Samson, (1984). Las especies señaladas en este trabajo representan el primer registro de *Cordyceps* sobre *Camponotus* sp. en Venezuela. Muestras de esta relación parasítica serán depositadas en el Herbarium Micológico del Centro Nacional de Investigaciones

Agrícolas (CENIAP-INIA), ubicado en Maracay, estado Aragua.

Se presume que en el material de hongos aún no identificados (Cuadro 1) se encuentren otras especies de *Cordyceps* (diferenciadas, a grandes rasgos, por sus estructuras reproductivas externas) que atacan ejemplares de Díptera, las cuales podrían ser registradas y estudiadas en futuros trabajos.

La frecuencia y abundancia de individuos atacados, en condiciones naturales, indican un importante efecto de las especies del género *Cordyceps* sobre hormigas del género *Camponotus*. Posiblemente tienen un efecto regulatorio significativo sobre las poblaciones de hormigas, con las implicaciones recíprocas entre otros miembros de la fauna insectil del bosque húmedo tropical y del agroecosistema cacao.

Se destaca que, además del efecto parasítico sobre insectos, varias especies de *Cordyceps* son parásitos obligados de ciertos hongos hipogeos como *Elaphomyces* spp., de otros hongos pertenecientes a Clavicipitaceae (inclusive del mismo género y de *Claviceps* spp.), así como de otros artrópodos de la clase Arácnida (Mains 1958; Evans y Samson 1982, 1984; Hodge et al. 1998). Por otro lado, existen investigaciones en el área de medicina y biotecnología, que se han orientado hacia el conocimiento de los síntomas de producción de exo-polímeros de *C. militaris* y su efecto hipolipidémico sobre ratas de laboratorio (Keun et al. 2000), así como la producción de anhídridos en *C. pseudomilitaris* (Isaka et al. 2000), el uso potencial de la enzima cordycepin producida por cultivos de *C. militaris*, que inhibe el crecimiento de bacterias del género *Clostridium*, que causan enfermedades intestinales en el hombre (Ahn et al. 2000) y finalmente, el efecto inhibitorio de *C. sinensis* y *C. militaris* sobre la proliferación de células mesangiales glomerulares en cultivos humanos inducidas por bajas concentraciones de colesterol lipoprotéico de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés) (Long et al. 2000).

Para concluir, se señala que en los bosques cacaoteros de la Región de Barlovento, y probablemente en las otras zonas cacaoteras de Venezuela, existe una rica fuente de hongos entomopatógenos del género *Cordyceps*, con un efecto de alta mortalidad sobre hormigas *Camponotus* adultas y que a la vez representan una interesante alternativa de estudio, bajo la óptica futura de usar a este hongo como regulador biológico de ciertas hormigas plaga del mencionado género. En estas hormigas las estructuras de crecimiento y

fructificación de *Cordyceps* sólo emergen a través del foramen mágnium y por el pedicelo. Por ello se podría asumir que en esa área existen poros y/o estructuras quimiorreceptoras que facilitan este evento.

Adicionalmente, los hongos del género *Cordyceps* presentes en el país representan un potencial de estudio en patología de insectos y otros grupos de artrópodos, medicina farmacéutica y biotecnología, aspectos biológicos que permitirían modelar esos procesos y generar tecnologías útiles al hombre, pero de bajo impacto ambiental.

## Referencias

- AHN YJ, PARK SJ, LEE SG, SHIN SC, CHOI DH. 2000. Cordycepin: selective growth inhibitor derived from liquid culture of *Cordyceps militaris* against *Clostridium* spp. *J Agric Food Chem* 48(7):2744-2748.
- BRADY B. 1979. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria. N° 604 and 605. Commonwealth Agricultural Bureaux.
- EVANS H. 1974. Natural control of arthropods with special reference to ants (Formicidae), by fungi in the tropical high forest of Ghana. *J Appl Ecol* 11:37-49.
- EVANS H, SAMSON R. 1982. *Cordyceps* species and their anamorphs pathogenic on ants (Formicidae) in tropical forest ecosystems. I. The *Cephalotes* (Myrmicinae) complex. *Trans Br Mycol Soc* 79(3):431-453.
- EVANS H, SAMSON R. 1984. *Cordyceps* species and their anamorphs pathogenic on ants (Formicidae) in tropical forest ecosystems. II. The *Camponotus* (Formicinae) complex. *Trans Br Mycol Soc* 82(1):127-150.
- [FAO] Food and agricultural Organization (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación). 1985. Manual para patólogos vegetales. CAB Commonwealth Mycological Institute. Lima (Perú): FAO. 438 p.
- GOITÍA W, BOSQUE C, JAFFÉ K. 1992. Interacción hormiga-polinizador en Cacao. *Turrialba* 42(2):178-186.
- HODGE KT, HUMBER RA, WOSNIAK CA. 1998. *Cordyceps variabilis* and the genus *Syngliocladium*. *Mycologia* 90(5):743-753.
- ISAKA M, TANTICHAROEN M, THEBTARANONTH Y. 2000. Cordyanhydrides A and B. Two unique anhydrides from the insect pathogenic fungus *Cordyceps pseudomilitaris* BCC 1620. *Tetrahedron Letters* 41(10): 1657-1660.
- JAFFÉ K. 1993. El mundo de las hormigas. Caracas (Venezuela): Universidad Simón Bolívar. 183 p.

- JAFFÉ K, TABLANTE PA, SÁNCHEZ P. 1986. Ecología de Formicidae en plantaciones de cacao en Barlovento, Venezuela. *Revista Theobroma* 16(4):189-197.
- KEUN YB, YOUNG HJ, CHUL JS, SURAJIT D, WON YJ, SE LY, WON CJ, HYUN SC. 2000. Production of exo-polymers by submerged mycelial culture of *Cordyceps militaris* and its hypolipidemic effect. *J Microbiol Biotechnol* 10(6):784-788.
- KOBAYASI Y. 1982. Keys to the taxa of the genera *Cordyceps* and *Torrubiella*. *Trans Mycol Soc Japan* 23:329-364.
- LONG WZ, XI WX, YING CW. 2000. Inhibitory effect of *Cordyceps sinensis* and *Cordyceps militaris* on human glomerular mesangial cell proliferation induced by native LDL. *Cell Biochem Function* 18(2):93-97.
- MAINS E. 1958. North American entomogenous species of *Cordyceps*. *Mycologia* 50(2):169-222.
- SÁNCHEZ P, SÁNCHEZ F, CAETANO F. 2000. El tubo digestivo en adultos de *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): Morfología y ultraestructura. *Bol Entomol Venez* 15(2):195-216.
- STEINHAUS E. 1975. Enfermedades microbianas de los insectos. En: P. DeBach, editor. *Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas*. México: Compañía Editorial Continental. p 607-645.