



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

CENTRO DE AGROECOLOGÍA

MAESTRÍA EN MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

TESIS

EFFECTOS DE LA APLICACIÓN DE *Penicillium* sp y *Aspergillus flavus* SOBRE LA DENSIDAD POBLACIONAL ACTIVA DE *Atta mexicana* (Smith) EN EL VALLE DE TEHUACÁN, PUEBLA.

PRESENTA:

CARLOS SERRATOS TEJEDA.

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. AGUSTÍN ARAGÓN GARCÍA.

COMITÉ TUTORAL:

Dr. JESÚS F. LÓPEZ OLGUÍN

Dr. OMAR ROMERO ARENAS

Dra. BETZABETH CECILIA PÉREZ TORRES

PUEBLA, NOVIEMBRE 2015.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. ANTECEDENTES.....	8
3. MARCO TEÓRICO	11
3.1 Atta mexicana (Smith, 1858)	11
3.1.1 Distribución	11
3.1.2 Taxonomía.....	11
3.1.3 Etología de la hormiga arriera.....	12
3.1.3.1 Organización social.....	12
3.1.3.2 Ciclo de vida	13
3.1.3.3 Alimentación	14
3.1.4 Aspectos de coevolución hormiga-hongo.....	16
3.1.5 Importancia económica de la hormiga arriera	17
3.1.6 Control	18
3.1.6.1 Control químico.....	18
3.1.6.2 Control cultural.....	19
3.1.6.3 Control físico	20
3.1.6.4 El manejo agroecológico de plagas.....	20
3.7 Hongos antagonistas.....	21
3.7.1 Género <i>Penicillium</i>	21
3.7.1.1 Taxonomía.....	22
3.7.1.2 Características generales del género <i>Penicillium</i>	22
3.7.2 Género <i>Aspergillus</i>	23
3.7.2.1 Taxonomía.....	23
3.7.2.2 Características generales del género <i>Aspergillus</i>	24
4. JUSTIFICACIÓN.....	26
5. OBJETIVOS.....	29
5.1 OBJETIVO GENERAL.....	29
5.2 OBJETIVOS PARTICULARES	29
6. HIPÓTESIS.....	29
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
7.1 Localización del sitio de estudio.	30
7.1.1 Sitios de estudio.....	30
7.1.1.1 San Gabriel Chilac	31
7.1.1.2 Atecoxco	32

7.1.1.3 Santiago Acatepec.....	32
7.2 Tratamientos y Diseño experimental	32
7.3 Producción del complejo de hongos de la tortilla	33
7.3.1 Identificación y caracterización del complejo de hongos presentes en la tortilla de maíz	34
7.4 Producción del hongo <i>Aspergillus flavus</i> y <i>Penicillium</i> sp.	34
7.5 Spinosad	35
7.6 Aplicación de tratamientos	35
7.7 Variables evaluadas	36
7.7.1 Efecto de los tratamientos sobre la población de <i>A. mexicana</i> en cada hormiguero	36
7.8 Análisis estadístico.....	36
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
8.1 Respuesta de la población de <i>A. mexicana</i> a los diferentes tratamientos aplicados.....	37
8.1.1 San Gabriel Chilac	37
8.1.2 Santiago Acatepec	38
8.1.3 Atecoxco	40
8.2 Efectividad de los tratamientos aplicados	42
10. CONCLUSIÓN.....	48
11. RECOMENDACIONES	49
LITERATURA CITADA.	50

ÍNDICE DE TABLAS

Número de tabla	Título	Pág.
1	Tratamientos que se probaron para el control alternativo de la hormiga arriera en tres localidades del Valle de Tehuacán, Puebla.	33
2	Promedio de individuos entrantes a lo largo del periodo de aplicación de los tratamientos y porcentaje de disminución de la actividad en San Gabriel Chilac.	38
3	Promedio de individuos entrantes a lo largo del periodo de aplicación de los diferentes tratamientos y porcentaje de disminución de la actividad en Santiago Acatepec	40
4	Promedio de individuos entrantes a lo largo del periodo de la aplicación de los diferentes tratamientos y porcentaje de disminución de la actividad en Atecoxco	42
5	Efecto de los tratamientos para el número de individuos entrantes y salientes de las tres localidades estudiadas	42
6	Medianas para el número de individuos entrantes y salientes de <i>A. mexicana</i> en las tres localidades	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Número de Figura	Título	Pág.
1	Ciclo de vida de las hormigas arrieras	14
2	Aspecto morfológico de penicilios	22
3	Conidióforos del <i>Aspergillus</i>	25
4	Localización del sitio de estudio	31
5	Porcentaje de individuos salientes a lo largo del periodo de aplicación de los diferentes tratamientos en San Gabriel Chilac.	37
6	Porcentaje de individuos salientes a lo largo del periodo de aplicación de los diferentes tratamientos en Santiago Acatepec	39
7	Porcentaje de individuos salientes a lo largo del periodo de aplicación de los diferentes tratamientos en Atecoxico	41

RESUMEN

El presente estudio se llevó a cabo en tres localidades del Valle de Tehuacán, Puebla, con el objetivo de comprender los efectos de aplicaciones a base del complejo de hongos presentes en la tortilla, *Penicillium* sp., *Aspergillus flavus*, Spinosad y sus respectivas combinaciones, sobre la densidad poblacional activa de *Atta mexicana* (Smith). Así, como evaluar el tiempo en el que son reducidas las poblaciones de hormiga arriera luego de aplicar los tratamientos y determinar cuál de estos constituye el método más efectivo para llevar a cabo su control.

Se localizaron nueve hormigueros en cada una de las tres localidades, se realizaron de manera previa a las aplicaciones conteos de los individuos que entraban y salían durante un minuto con tres repeticiones para cada hormiguero, las aplicaciones de los tratamientos se efectuaron cada tres días cuando los hormigueros presentaban mayor actividad, las aplicaciones se hicieron directamente sobre el alimento que se les puso como cebo, hacia el camino formado por la hormiga, así como, al material vegetal que era consumido. El diseño experimental fue de bloques al azar, incluyó nueve tratamientos a) los hongos *A. flavus*, *Penicillium* sp., y el de la tortilla, b) Spinosad, c) Testigo, d) la combinación Spinosad mas cada uno de los hongos previamente mencionados y e) la combinación de *A. flavus*, más *Penicillium* sp.

Los resultados obtenidos muestran que los hormigueros tratados a base de aplicaciones del complejo de hongos de la tortilla lograron disminuir significativamente ($p \leq 0.05$) la actividad de los individuos entrantes y salientes en las tres localidades estudiadas en comparación con los demás tratamientos, un efecto moderado en la reducción de esta actividad se hace presente tras la aplicación de los tratamientos a base de Spinosad + complejo de hongos de la tortilla y *A. flavus* + *Penicillium* sp., el menor efecto para la disminución de la actividad de *A. mexicana* para los nidos tratados con aplicaciones de Spinosad. Se concluyó que el complejo de hongos de la tortilla a una concentración de 1.6 g/L de agua, es el tratamiento más eficaz para reducir la población activa de *A. mexicana*, luego de cinco aplicaciones.

1. INTRODUCCIÓN

Las hormigas son un grupo de himenópteros sociales de gran diversidad, se han descrito alrededor de 11,500 especies en todo el mundo; la región con la mayor diversidad de estos organismos es el neotrópico con un total de 3,100 especies (Fernández y Sendoya, 2004). De acuerdo con Longino y Hanson (1995), las hormigas pueden clasificarse en función de sus preferencias alimenticias en omnívoras, micófagas, granívoras y depredadoras.

Todas las hormigas micófagas o cultivadoras de hongo pertenecen a la tribu Attini, cuya distribución se encuentra restringida al continente Americano (Escobar y García, 2002a). Mayhé-Nunes y Jaffé (1998), mencionan que estas hormigas se agrupan en 12 géneros y 210 especies el 95% se encuentran presentes en la región Neotropical y el 5% en el Neártico. Se diferencia *Atta* y *Acromyrmex* de otros géneros porque estas cortan y colectan material vegetal para emplearlo como sustrato para el cultivo del hongo *Leucoagaricus gongylophora* del cual se alimentan (Fortanelli y Servín, 2002).

Las hormigas arrieras (*Atta* spp) tienen la capacidad de defoliar plantaciones completas de sistemas agrícolas, forestales y ornamentales de América Tropical y Subtropical y por ende suelen causar importantes pérdidas económicas (Ricci *et al.*, 2005). En los bosques tropicales las hormigas arrieras o forrajeras consumen entre el 12 y el 17% de las hojas (Sánchez y Urcuqui, 2006). Es debido a su potencial defoliador que han sido catalogadas como una de las cinco plagas de mayor importancia en América Latina (Escobar y García, 2002b; Ricci *et al.*, 2005; Kondo, 2010).

En México *Atta mexicana*, comúnmente conocida como hormiga arriera, representa una de las plagas de mayor importancia debido a los daños que ocasiona en plantaciones agrícolas y a la dificultad que representa llevar a cabo su control, puesto que poseen complejas características biológicas y de comportamiento como: la arquitectura, el tamaño y la localización de los nidos, la producción de sustancias antimicrobianas, y el aseo de los nidos. Las arrieras tienen la capacidad de detectar la presencia de sustancias extrañas en las hojas que cortan, lo cual les permite abandonar o rehusar llevarlas a las

cámaras de cría para la producción del hongo. (Posada, 1997; Fernández-Larrea, 2001; Marinho *et al.*, 2006).

Los métodos de control químico y mecánico, son los empleados con mayor frecuencia para mantener las poblaciones de hormiga arriera por debajo de umbrales de riesgo económico para los cultivos agrícolas (Herrera, 2009). Sin embargo a pesar del uso de estos métodos no se ha logrado obtener resultados efectivos a largo plazo. Gran parte de los productos químicos aplicados son poco específicos, tóxicos y residuales en el ambiente, además de generar poblaciones de insectos resistentes, presentan un precio poco accesible para los pequeños agricultores (Diehl-Fleig *et al.*, 1993). Por lo que se considera que en la actualidad, no se cuenta con una estrategia de manejo de esta plaga que permita un control eficiente, de bajo costo e impacto ambiental y de mínimo riesgo para la persona que lo aplica. Es debido a esto que se considera urgente desarrollar nuevas alternativas de control amigables ecológicamente. Los hongos antagonistas, debido a su acción específica relativa, pueden ser considerados buenos candidatos para el control de plagas agrícolas importantes incluyendo malezas e insectos (López *et al.*, 1999).

El presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de la aplicación de hongos que presentan un efecto antagonista contra el hongo simbiótico alimento principal de la hormiga arriera (*A. mexicana*), y su posible efecto en la disminución de la población y por ende en la reducción de la actividad forrajera de esta especie.

2. ANTECEDENTES

El estudio y desarrollo de métodos y técnicas generados con el propósito de reducir el daño ocasionado por la hormiga arriera en cultivos agrícolas y de plantaciones de interés económico se remonta mucho tiempo atrás, Pérez (1947) recopiló las estrategias y prácticas de manejo más empleadas en ese momento, en ellas incluyó el abandono de los cultivos, debido a la incapacidad de controlar la invasión por hormiga arriera. Actualmente algunas de estas medidas de control tales como la excavación total del nido hasta la localización de la reina para su destrucción, la inundación de los nidos, y el uso de barreras vivas para evitar la defoliación de las plantas no han caído en desuso y son ampliamente utilizadas (Escobar y García 2002a; Vergara, 2005; Montoya *et al.*, 2007).

El control químico de la arriera dio inicio en 1900 con el uso de sustancias químicas sintéticas aplicadas por medio de equipos especialmente diseñados o adaptados (Pérez, 1947). Desde entonces innumerables productos químicos han sido producidos y aplicados para mantener las poblaciones de hormiga arriera por debajo de los umbrales de riesgo económico algunos de ellos, como el dodecacloro a pesar de su eficiencia y uso han sido retirados del mercado debido a su persistencia en el suelo, y su capacidad de acumulación en la cadena alimenticia (ATSDR, 1995).

Investigaciones recientes se han enfocado en encontrar técnicas y métodos alternativos de manejo de la hormiga arriera, algunos de ellos han evaluado extractos y productos vegetales como neem (*Azadirachta indica*), ayote (*Cucurbita maxima*), higuera (*Ricinus communis*), paraíso (*Melia azedarach*) trichillia (*Trichillia glauca*), entre otros (Gruber y Valdix, 2003; Palacios y Gladstone, 2003; Caffarini *et al.*, 2008). Se han usado también controladores biológicos como cepas de hongos entre ellas *Trichoderma viride* y hongos entomopatógenos como *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Cordyceps* sp. (Evans, 1989; Humber, 1992; Escobar y García 2002a; Pérez, 2002; López y Orduz, 2003) enfocados principalmente en la búsqueda de una actividad insecticida. No obstante ninguno de los hongos mencionados anteriormente ha sido registrado atacando hormiga arriera dentro de la colonia,

aunque viven en espacios reducidos en un gran hacinamiento lo que las predispone al ataque de enfermedades contagiosas (Posada, 1997).

Otras investigaciones han sido dirigidas al manejo de hormiga forrajera mediante la elaboración y formulación de cebos que son aplicados inmediatamente después de prepararse (Naccarata y Jaffé, 1989; Caffarini *et al.*, 2006; Varón, 2006).

Actualmente se ha desarrollado un nuevo método, que consiste en la aplicación de hongos antagonistas de los géneros *Trichoderma* y *Metarhizium* (López y Orduz, 2003; Banderas, 2004; Varón, 2006) y *Penicillium* (Vergara, 2005; Mora y Tirado, 2008) los cuales tienen el potencial de afectar de forma indirecta a las colonias de hormiga arriera, puesto que al ingresar a los hormigueros se instalan en los jardines del hongo simbiote de las Attini y compiten con este por los nutrientes del sustrato. El resultado de esta competencia se ve reflejado en la reducción de los jardines y en consecuencia la reducción de alimento que conlleva a la disminución de la población forrajera activa de las arrieras.

Se sabe que con frecuencia los enemigos naturales de las hormigas causan daños considerables sobre el hongo simbiote de las Attini. (Varón, 2006). Diehl-Fleig y Da Silva (1994), mencionan que tras la aplicación de *Beauveria* sp., producto de la mortalidad de las obreras se producen reacciones negativas en el cultivo del hongo simbiote, tornándose este de color pardo, declina su crecimiento hasta la muerte.

López y Orduz (2003) reportan la mortalidad de los hormigueros del 100%, luego de aplicar una mezcla de hongos *Metarhizium anisopliae* (entomopatógeno) y *Trichoderma viride*. Banderas (2004), comparó la eficiencia de *Trichoderma harzianum* y *Beauveria bassiana* con las aplicaciones del producto químico malation al 4%. Sus resultados muestran que no existe diferencia significativa entre la mortalidad causada por *B. bassiana* y el Malation ya que alcanzaron un 100% de mortalidad después de siete días mientras que *T. harzianum*, logró el mismo porcentaje de efectividad en 15 días.

De acuerdo con Roselló (2003), las interacciones existentes entre hongos pueden tener un importante efecto en la habilidad de las cepas para producir micotoxinas e inhibir el crecimiento de otra cepa.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 *Atta mexicana* (Smith, 1858)

La hormiga arriera realiza actividad forrajera y tiene la capacidad de destruir completamente cultivos de importancia económica para el hombre en América Tropical y Subtropical, ya que cortan el tejido de las plantas y los transportan a sus nidos subterráneos, donde lo emplean para la producción de un hongo basidiomiceto, el cual representa uno de sus alimentos principales (Herrera, 2009).

3.1.1 Distribución

Atta mexicana se encuentra restringida al continente americano, se distribuyen a través de América tropical desde Arizona, Estados Unidos hasta el norte de Nicaragua (Argüello y Gladstone, 2001; Della-Lucia, 2003).

De acuerdo con Rojas (2001), *A. mexicana* presenta una amplia distribución encontrándose en 19 estados de la República Mexicana: Aguascalientes, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas y Veracruz.

3.1.2 Taxonomía

Atta mexicana conocida como hormiga arriera, se encuentra dentro de la siguiente clasificación taxonómica de acuerdo con Vergara (2005).

Phyllum: Arthropoda
Subphyllum: Hexapoda
Clase: Insecta
Subclase: Pterygota
Superorden: Endopterygota
Orden: Hymenoptera
Suborden: Apocrita
Superfamilia: Vespoidea
Familia: Formicidae
Subfamilia: Myrmicinae
Tribu: Attini
Género: *Atta*
Especie: *Atta mexicana* (Smith)

3.1.3 Etología de la hormiga arriera

3.1.3.1 Organización social

La hormiga presenta una de las sociedades más complejas en el reino animal, debido al polimorfismo de sus colonias, se hacen presentes una variedad de castas especializadas las cuales en base a sus diferencias morfológicas ejecutan diferentes funciones con el único propósito de colaborar en la funcionalidad de la colonia (Jaffé, 2004). De acuerdo con Ricci *et al.* (2005); Escobar y García (2002a), las castas de la hormiga arriera son:

Exploradoras: éstas se encargan de reconocer el terreno y seleccionar el material vegetal que será cortado y transportado al hormiguero, además guían a las hormigas encargadas del corte y transporte de material vegetal a través de feromonas que son percibidas por medio de sus antenas.

Cortadoras: presentan mandíbulas grandes, cuya función es fragmentar el material vegetal y en algunos casos lo transportan.

Cargadoras: transportan el material vegetal y extraen el suelo de las distintas cámaras del hormiguero.

Escoteras: limpian el material vegetal cuando es transportado hacia el nido con el fin de evitar la entrada de cuerpos extraños.

Jardineras: son pequeñas hormigas que cortan en fragmentos pequeños el material vegetal llevado al hormiguero, se encargan de cultivar el hongo, de cuidar y alimentar a la reina y larvas, así como el traslado de huevos y pupas dentro y fuera del nido.

Soldados: de mayor tamaño relativo, tienen mandíbulas y cabezas desarrolladas, cuya función es la defensa del nido, se localizan en las entradas del nido y los jardines del hongo.

Machos alados y hembras aladas: son las responsables de la procreación y perpetuación de la especie al formar nuevas colonias.

3.1.3.2 Ciclo de vida

El ciclo de vida de la hormiga arriera se divide en tres etapas:

Fundación: inicia cuando una reina recién apareada haya un sitio de nidificación. De manera posterior al vuelo nupcial, la reina tiene la capacidad de desplazarse hasta 10 Km para establecer una nueva colonia. Al llegar al suelo la reina se desprende de las alas a través de movimientos bruscos contra el suelo o por medio de las mandíbulas, y cava un orificio en el que se entierra y comienza a formar una cámara de aproximadamente 30 cm. Es ahí donde la hormiga reina arroja el inoculo del hongo simbiote que almacenaba en la cavidad infrabucal desde el hormiguero madre e inicia con el cultivo y oviposición de distintas clases de huevos, algunos de ellos son empleados para la alimentación de la colonia, mientras las obreras realizan actividad forrajera (Fernández, 2003; Vergara, 2005; Varón *et al.*, 2008).

Vergara (2005) y Fernández (2003), mencionan que la colonia entra en etapa de crecimiento cuando la primera generación de obreros ha madurado. Es en esta etapa cuando las forrajeras inician su actividad en el exterior mientras que otras obreras comienzan a ampliar el hormiguero y a desarrollar actividades acordes a su casta. La función de la reina es reducida a la puesta de huevos y al control de la colonia a través de feromonas. En esta etapa, hay un crecimiento exponencial de la colonia debido a que todos los recursos son dirigidos a la búsqueda de alimento y a la crianza de nuevas obreras.

El crecimiento de la colonia disminuye o se detiene una vez que tiene la densidad poblacional de las diferentes castas para poder realizar todas sus actividades, es entonces que comienza la etapa reproductiva. Durante ésta la hormiga reina produce huevos fertilizados y no fertilizados, los primeros serán destinados a ser machos alados y los segundos, mediante nutrición extra se destinan a convertirse en hembras aladas. La temporada de lluvias marca la emergencia de los alados de todos los hormigueros vecinos, a este acto se denomina comúnmente el vuelo nupcial. De cada hormiguero salen alrededor de 3000 hembras y 15000 machos. Cada hembra puede ser fecundada hasta por ocho machos, estas acumulan suficiente esperma en la espermateca, para garantizar su reproducción hasta por 20 años. Los machos mueren después de

copular, mientras que las hembras localizan un sitio para la nidificación iniciando el ciclo de vida de la colonia (Fernández, 2003; Vergara, 2005; Vaccaro y Mousques, 1997).

La hormiga arriera presenta metamorfosis holometábola con un periodo inmaduro que dura entre 64 y 91 días: el estado de huevo dura 25 días; la larva de 25 a 52 días; y la pupa 14. Las obreras viven entre cuatro y siete meses en el caso de la mayoría de las castas (Figura 1), exceptuando los soldados que pueden vivir dos años y la reina que sobrevive entre 10 y 25 años (Escobar y García, 2002a; Varón *et al.*, 2004; Vergara, 2005).

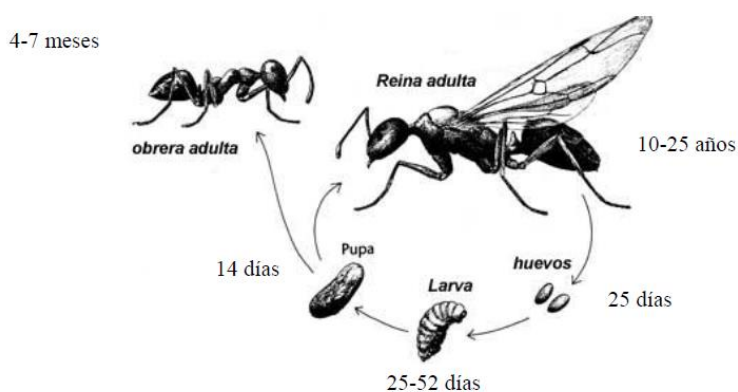


Figura 1. Ciclo de vida de *A. mexicana* tomado de Herrera, (2009)

3.1.3.3 Alimentación

Al inicio del establecimiento de un hormiguero, la alimentación de la reina y primeras obreras es mediante huevos tróficos, los cuales son de mayor tamaño en comparación con los huevos del tipo reproductivo (Fernández, 2003; Vergara, 2005; Varón *et al.*, 2008).

Atta mexicana cultiva un hongo basidiomiceto (*L. gongylophora*) como su fuente principal de alimento. Para llevar a cabo su producción, la hormiga arriera corta y colecta material vegetal alrededor de la colonia y lo transporta a cámaras subterráneas donde es empleado como sustrato para el cultivo del hongo. En esta simbiosis la hormiga suministra el sustrato para el crecimiento vegetativo del hongo y este último aporta su excedente de nutrientes en forma de gongilidios, cuerpos esféricos que se desarrollan en los extremos de las

hifas de coloración anaranjada o grisácea (Escobar y García 2002a; Vergara, 2005; Kumar *et al.*, 2006; Valderrama *et al.*, 2006).

Los requerimientos energéticos que provee el hongo a la hormiga adultas es del 5% aproximadamente, el 95% restante de los nutrientes son obtenidos de la savia, azúcares y néctares o frutos recolectados. Las larvas son alimentadas únicamente con gongilidios, la hormiga reina por su parte es alimentada mediante trofalaxis con fragmentos de gongilidios menores a 10 mm (Weber, 1972, 1979; Quinlan y Cherret, 1979).

Aún se desconocen los criterios mediante los cuales la arriera selecciona las plantas de las cuales se alimenta. Algunos autores han formulado diferentes hipótesis tratando de explicar cómo es que ocurre este proceso. De acuerdo con Lewis *et al.* (1974 a y b), las forrajeras tienen la capacidad de reconocer los nutrientes en las plantas en función de los requerimientos nutricionales para los diferentes estadios larvales de la colonia; Littledyke y Cherret (1975), postulan que la selectividad gira en torno al estado y requerimiento nutricional del sustrato en los jardines. Cherret (1968, 1972, 1980), Stradling (1978), Rockwood (1976) y Waller (1982) atribuyen la preferencia o exclusión a las defensas presentes en las plantas, pues es la presencia o no de estas características la que las hace vulnerables o resistentes a los ataques forrajeros de la hormiga. Bowers y Porter (1981), mencionan que la preferencia se debe al contenido de agua en las plantas, esta hipótesis puede explicar la preferencia de la arriera por los brotes tiernos, las hojas jóvenes y flores, puesto que estas partes contienen una menor cantidad de tóxicos y a su vez, una mayor cantidad de agua, nutrientes y proteínas, necesarios para la sobrevivencia del hongo y la hormiga.

Según Farji-Brenner y Protomastro (1992), los patrones de forrajeo en la selectividad de las plantas, son determinados por los siguientes puntos:

Primero: El forrajeo no se ve determinado por la abundancia, puesto que a menudo una pequeña proporción de las especies existentes en el bosque es consumida independientemente de su abundancia.

Segundo: No es la cercanía de los recursos la que determina la intensidad del forrajeo.

Tercero: La arriera es selectiva, puesto que presentan una preferencia por las partes jóvenes de las plantas y las flores, es debido a esta preferencia que los ataques de la arriera son más intensos en las primeras etapas de los cultivos. Del mismo modo, existe una preferencia por los cultivos homogéneos y no por los parches de vegetación diversos, hecho que se ha visto favorecido por el cambio de uso de suelo en los bosques nativos para el establecimiento de sistemas agrícolas convencionales.

3.1.4 Aspectos de coevolución hormiga-hongo

El primer informe del hongo simbiótico data de 1874 cuando Thomas Belt descubrió la razón de la actividad forrajera de la hormiga (Escobar y García 2002a). Posteriormente Möller en 1893 estudió el hongo cultivado por las hormigas del género *Acromyrmex* y lo clasificó como *Rozites gongylophora*. En 1939 Sthael y Geijskes, mencionan que el hongo cultivado por varias especies de *Atta* podría ser *R. gongylophora*; sin embargo, no había acuerdo entre otros investigadores (Pérez, 1947). Actualmente, se conoce que la mayoría de hongos simbióticos cultivados por las hormigas micófagas pertenecen a la familia lepiotaceae (Chapela *et al.*, 1994; Hinkle *et al.*, 1994; Kumar *et al.*, 2006).

Desde hace cuarenta millones de años aproximadamente las hormigas y el hongo del cual obtienen su alimento han desarrollado una simbiosis del tipo mutualista a niveles fisiológico-morfológicos con el objetivo de evadir cualquier defensa físico-química de las plantas y de obtener una mayor eficiencia en la transformación del material vegetal en un alimento altamente nutricional tanto para las hormigas como para el hongo (Cherret *et al.*, 1989; Vergara, 2005;).

De acuerdo a Currie (2001) y Hinkle *et al.*, (1994), la hormiga arriera cultiva un clon ancestral del hongo de reproducción asexual, el cual coevolucionó con ella y que muy probablemente tiene su origen en el hongo *Leucocoprineous* que es cultivado por *Attini* menores; se sabe que este hongo puede desarrollar esporóforos (estructuras reproductivas) en cultivos de agar,

sin embargo en la naturaleza su reproducción depende completamente de la hormiga, posiblemente debido a que los genes encargados de la reproducción sexual se expresan en funciones como la formación de los gongilidios.

Los jardines fúngicos representan un refugio de organismos especializados presentes únicamente en jardines de *Attini*. Existen bacterias presentes en el exoesqueleto de las hormigas, que promueven desarrollo de los jardines fúngicos y al mismo tiempo producen metabolitos de tipo secundario, algunos de ellos antibióticos con propiedades inhibitoras del crecimiento de microorganismos que pudieran contaminar el jardín, y que son empleados por las hormigas jardineras para mantener los cultivos del hongo simbiótico libre de contaminantes (Currie *et al.*, 1999).

Las condiciones de humedad y temperatura presentes en los sitios donde el hongo simbiote es cultivado, son adecuadas para la proliferación de otros hongos y microorganismos. Generalmente cuando la arriera abandona su hormiguero, ocurre rápido deterioro del mismo, lo que sugiere se trata de un hongo altamente susceptible a los cambios en su entorno (Quinlan y Cherret, 1977).

3.1.5 Importancia económica de la hormiga arriera

Debido a la elevada incidencia de la hormiga arriera tanto en pastizales inducidos, agroecosistemas y plantaciones forestales, a los que están relacionados estrechamente, son consideradas como una de las plagas agrícolas de mayor importancia en la región Neotropical (Bertorelli *et al.*, 2006). Su importancia económica reside en el daño potencial que pueden ocasionar a las plantas cultivadas y su productividad cuando estas no son controladas, los daños se registran generalmente en temporada de sequía, durante las cuales pueden llegar a causar una defoliación total o parcial, el desperfecto ocasionado en las plantas se caracteriza por cortes circulares en las hojas, flores y tallos (Escobar y García, 2002a; Pérez *et al.*, 2009), de acuerdo con Lima (1992), las pérdidas causadas pueden exceder los 1.000 millones de dólares anuales para *Norte* y *Sur* América, lo que da una idea de la presión que ejerce este insecto sobre la producción agrícola en las zonas que afecta.

En un ecosistema de la sabana en Brasil, se reportó que *Atta capiguara* colecta entre 256 y 639 Kg de gramíneas por colonia al año (Amante 1976 a y b), Mientras que en Paraguay una colonia de *Atta vollenweideri* puede coleccionar hasta 90 kg al año (Jonkman, 1979).

En Brasil y otros países donde es cultivado el cacao los daños provocados por la arriera son severos, puesto que defolia las plantas jóvenes provocando su muerte, esto implica la replantación y derivado de ella los incrementos en los costos de producción (Abreu y Delabie, 1986).

En México, Pérez *et al.*, (2009) señala que *A. mexicana* ocasiona daños en el follaje de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), y que la infestación es mayor durante las primeras etapas de desarrollo de esta planta, la arriera pueden llegar a defoliar una superficie de 10 m² en una noche.

En Tehuacán, Puebla, *A. mexicana* representa una de las plagas de mayor importancia y una limitante para el establecimiento y desarrollo de sistemas agrícolas (Aragón *et al.* 1997). Cultivos como el amaranto de amplia presencia en la región se ven seriamente afectados, producto de la defoliación a causa de *A. mexicana* (Aragón y Tapia, 2009).

Debe tomarse en consideración que la cantidad de material vegetal recolectado es directamente proporcional a la densidad poblacional de la colonia, y que generalmente una colonia de arrieras requiere de grandes cantidades de material vegetal para abastecer a la población (Ramírez *et al.*, 2003); otra cuestión a considerar es que a diferencia de otras plagas, la hormiga arriera está presente durante todo el año (Anjos *et al.*, 1998).

3.1.6 Control

3.1.6.1 Control químico

Los productos químicos han sido el método de control más empleado para combatir a la hormiga arriera.

De acuerdo con Boaretto y Forti (1997); Escobar y García (2002b) los productos químicos empleados en este tipo de control son aplicados a los hormigueros directamente en forma de:

Polvos secos: el principio activo de estos formicidas presenta acción de contacto y talco como producto inerte y vehículo de aplicación, para su aplicación es necesaria una bomba insufladora, su uso se encuentra restringido a pequeños hormigueros. Los productos que son empleados con mayor frecuencia son a base de: Clorpirifos (Attamix P.E, Ráfaga P.E), Pirimifos (Arrierafin), Fenithotrion (Sumithion), en casos de infestación severa, los polvos son aplicados directamente sobre los caminos de las arrieras. La desventaja de este método es que no se puede aplicar en suelos húmedos, y es insuficiente la aplicación mediante la bomba insufladora para exterminar un hormiguero debido a su compleja arquitectura.

Líquidos: debido a su baja eficiencia y a su pérdida por absorción del suelo, estas sustancias han tenido poca difusión.

Gases: se trata de un método altamente eficaz sin embargo el bromuro de metilo es altamente tóxico, además de que requiere de personal especializado, lo que eleva el costo del procedimiento.

Nebulizaciones: la atomización se realiza en frío y requiere equipo especializado para su aplicación, la fórmula empleada es Bistar, binefrina mezclada con butano o propano.

Cebos: es una forma práctica de combatir a la hormiga, puesto que no requieren equipo especializado pero si conocimiento y técnicas de aplicación. Estos están conformados por una sustancia atrayente y un principio activo tóxico en gránulos, los cuales son disueltos en aceite de soya a los que se incorpora la sustancia atrayente, se aplican al lado del camino previo al inicio de la actividad forrajera, las hormigas normalmente son atraídas por el cebo.

3.1.6.2 Control cultural

Consiste en prácticas como: rotación de cultivos, modificación de la temporada de siembra y cosecha, aunque de ellas las de mayor importancia para la eliminación de hormigueros de menor tamaño son aquellas realizadas durante la preparación del suelo: el surcado y el rastreo (Boaretto y Forti, 1997; Zanetti 2006).

De acuerdo con Escobar y García (2002b) este método reside en la aplicación de medidas necesarias para erradicar el hormiguero, o que eviten su acceso a la parcela agrícola. Esto se realiza por medio de aradas o excavaciones profundas con la ayuda de la maquinaria y herramientas agrícolas, hasta localizar y destruir la cámara del hongo y a la hormiga reina.

El mismo autor sugiere que aunado a esta práctica puede realizarse la programación de capturas manuales a partir de las fechas de ocurrencia de los vuelos nupciales.

Otro método consiste en colocar tiras de plástico cubiertas de grasa, conos de plástico, o tiras de papel aluminio alrededor del troco de árboles (Zannetti, 2006).

3.1.6.3 Control físico

Durante la limpia de las parcelas o cuando se establecen nuevas áreas de cultivo, la quema de vegetación puede eliminar a las hormigas arrieras o matarlas por inanición, debido a la escasez de alimento (Zanetti, 2006).

Otra práctica consiste en la aplicación de gasolina dentro del hormiguero a la que posteriormente se enciende fuego, este método resulta poco eficaz si se trata de hormigueros de gran tamaño, puesto que debido a la complejidad de los mismos, no se alcanza a destruir todas las cámaras (Escobar y García 2002b; Vergara, 2005).

3.1.6.4 El manejo agroecológico de plagas

De manera alternativa al uso de insecticidas químicos han surgido varios métodos de control promovidos por la Agroecología un nuevo paradigma que promueve la administración integral del cultivo, sin considerar a las plagas o enfermedades como el elemento central, de manera que se considera al cultivo como un todo con las interacciones que se dan entre plantas, árboles forestales, cercas vivas, cultivos anuales cultivos frutales y toda la cantidad de insectos benéficos que se encuentran en el cultivo cuando esta diversificado y que regulan las poblaciones de insectos en forma equilibrada (Gómez y Vásquez, 2011).

Algunas alternativas usadas en el manejo agroecológico de plagas y enfermedades consisten en el control cultural para el manejo de esta plaga. Entre los métodos más comunes se encuentran: la preparación de suelos, diversificación de cultivos, rotación de cultivos que no sean hospederos, el manejo de épocas de siembra, selección de variedades resistentes, establecimiento de barreras vivas, manejo de arvenses, cubiertas flotantes y acolchados, uso de aceites, jabones, insectistáticos e insecticidas vegetales (Ortega, 2001; Morales *et al.*, 2006; Ortega, 2008). Ejemplo de ello son los cafetales diversificados en Turrialba, Costa Rica, en donde como resultado de la introducción de árboles frutales (naranja, limón, carambola y yupión), árboles de sombra y maderables (poró, laurel y cedro) e incluso algunas malezas (chisquizacillo y cinquillo), el daño causado por arrieras se ve disminuido, puesto que al introducir estas especies se ofrecen más alternativas de alimento, las arrieras pueden tomar tanto las hojas del café como las de algunas de las otras especies disminuyendo así el impacto en los cafetales (Varón *et al.*, 2008).

Otros métodos como el control biológico consideran diversos organismos como componentes de plan de manejo, estos pueden clasificarse en parasitoides (Hymenoptera de las familias Aphelinidae, Eulophidae, Platygasteridae y Encyrtidae), depredadores (Ordenes Coleoptera, Diptera, Neuroptera, Hemiptera y Thysanoptera y algunos ácaros) y hongos entomopatógenos (géneros *Aschersonia*, *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Metarhizium* y *Paecilomyces*) que ejercen un control natural sobre los fitopatógenos (Madrigal *et al.*, 1997; López y Orduz, 2003).

3.7 Hongos antagonistas

3.7.1 Género *Penicillium*

Los penicilios son mohos comunes ampliamente distribuidos en la naturaleza, que se hallan en el suelo, la vegetación caída y el aire, se desarrollan a menudo sobre granos, paja, cueros, fruta, etc. (Carrillo, 2003). La importancia de estos mohos en la alimentación humana y animal se debe a que además de causar deterioro producen toxinas (Pitt y Leistner, 1991).

3.7.1.1 Taxonomía

De acuerdo con Herrera y Ulloa (1998) la taxonomía de *Penicillium* es la siguiente:

Reino: Fungi
División: Eumycota
Subdivisión: Ascomycotina
Clase: Euscomycetes
Subclase: Plectomycetidae
Orden: Eurotiales
Género: *Penicillium*

3.7.1.2 Características generales del género *Penicillium*

Se caracteriza este género por formar conidios en una estructura de tipo ramificada, similar a un pincel el cual finaliza en células conidiógenas llamadas fiálides, los conidióforos presentan ramificaciones mismas que se ubican formando verticilos (Fig. 2) (Carrillo, 2003).

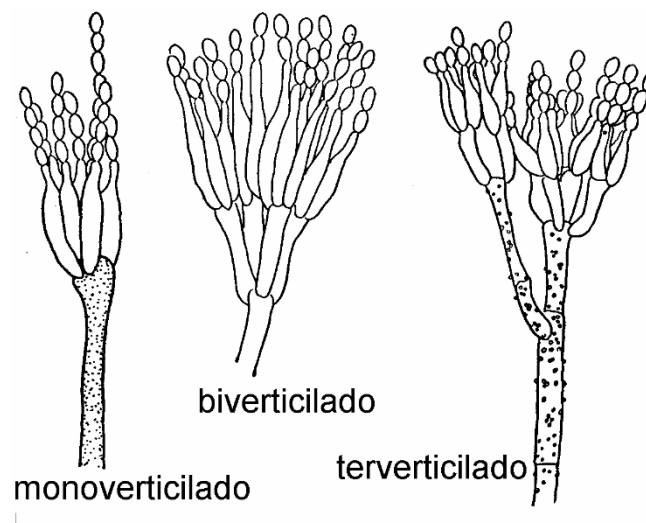


Figura 2. Aspecto morfológico de penicilios, tomado de Carrillo (2003).

Los filamentos o hifas alcanzan un diámetro que va de dos a tres asmicrómetros y tienen septos con un poro central que no es visible al microscopio óptico. Las paredes del estípote, ramas y médulas pueden tener aspecto liso, rugoso o equinuladas, sin embargo la pared de la fiálide siempre es lisa. El máximo tamaño de la fiálide es de 15 μm y la parte terminal no

supera los 3µm de largo. Los conidios son esféricos o de tipo elipsoidal, unicelulares y hialinos que en masa tienen aspecto de color verde, verde azulado, verde aceituna o gris (Webster, 1986).

Las colonias de *Penicillium* son circulares si no hay impedimento alguno para su crecimiento, con un borde neto muchas veces sin fructificación y mostrando el color del micelio. Éste es generalmente blanco, pero en algunas especies es amarillo, anaranjado, púrpura o pardo claro. La superficie de la colonia madura, o sea con sus conidios formados, puede ser: aterciopelada, ligeramente algodonosa o con pequeños haces (fascículos) de conidióforos. En unos pocos casos los haces miden varios milímetros (coremios) con el extremo constituido por las cadenas de esporas (Pitt, 1980).

Las especies de penicilios producen varios metabolitos secundarios, entre ellos ácido ciclopiazónico, ácido penicílico, cicloclorotina, citroviridina, citrinina, griseofulvina, ocratoxina A, patulina y penitrem A (Pitt y Hocking 1997). Todas estas sustancias son originadas por los hongos para afianzarse en su ambiente natural inhibiendo a otros organismos que compiten por el substrato.

3.7.2 Género *Aspergillus*

Los mohos del género *Aspergillus* causan el deterioro de una gran variedad de productos alimenticios, Los productos metabólicos de la invasión fúngica suelen ser muy tóxicos, tanto para el hombre como para otros animales. Pueden producir la inhibición de la germinación junto con cambios de color, calentamiento, amohosado y apelmazado provocando una podredumbre en las semillas. Algunas especies son empleadas en la fermentación de alimentos en ciertas regiones (Kozakiewics, 1989).

3.7.2.1 Taxonomía

De acuerdo con Abarca (2000) la taxonomía de *Aspergillus* es la siguiente:

Reino: Fungi
División: Eumycota
Subdivisión: Deuteromycotina
Clase: Hyphomycetes
Subclase: Eurotium

Orden: Eurotiales
Género: *Aspergillus*

3.7.2.2 Características generales del género *Aspergillus*

Aspergillus es un género mitospórico que se caracteriza por la producción de hifas especializadas, denominadas conidióforos, sobre los que se encuentran las células conidiógenas que originarán las esporas asexuales o conidios (Abarca, 2000).

El mismo autor comenta que el conidióforo es característico de *Aspergillus*, a pesar de ser una estructura unicelular posee tres partes bien diferenciadas: vesícula (extremo apical hinchado), estipe (sección cilíndrica situada debajo de la vesícula) y célula pie (sección final, a veces separada por un septo, que une el conidióforo con el micelio). Sobre la vesícula se instalan las células conidiógenas, denominadas habitualmente fiálides. En muchas especies, entre la vesícula y las fiálides se encuentran otras células denominadas métulas.

Su principal característica macroscópica es el color que generalmente es empleado para la identificación de los grupos de aspergilos. Poseen distintos tonos de verde, pardo, amarillo, blanco, gris y negro. Las cabezas conidiales presentan bajo el microscopio cuatro formas básicas: globosa, radiada, columnar o claviforme (Fig. 3) y a simple vista las más grandes suelen parecer diminutos alfileres sobre el sustrato (Kozakiewicz, 1989).

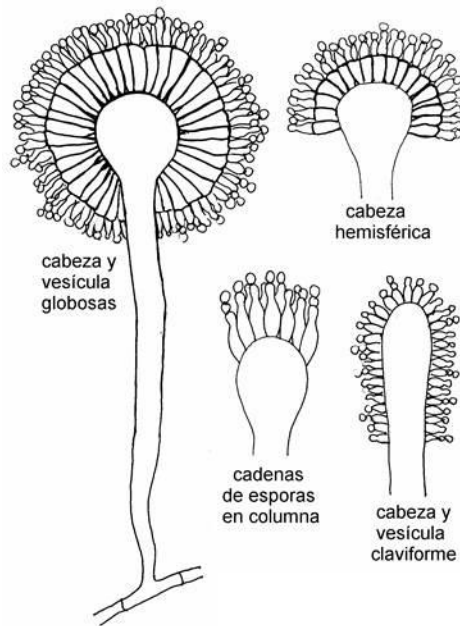


Figura 3. Conidióforos del *Aspergillus*, tomado de Carrillo (2003).

De acuerdo con Peterson (2000), Las características macro y micromorfológicas, tales como el color de los conidios, la forma de la cabeza, la superficie y dimensiones del conidióforo, la forma y textura de las esporas, han permitido agrupar los aspergilos en secciones o grupos. Del mismo modo la clasificación del género *Aspergillus* en subgéneros y secciones está basada fundamentalmente en cuatro características: presencia de teleomorfo, presencia o ausencia de métulas; disposición de las mismas o fiáldes sobre la vesícula y la coloración de las colonias (Abarca, 2000).

La ubicuidad de los aspergilos es debida a su capacidad para crecer a diferentes temperaturas sobre substratos con diverso contenido de humedad. La colonización de los granos durante el almacenamiento, por *Aspergillus* y otros mohos, se produce de forma explosiva cuando la humedad relativa ambiente intergranular se eleva por sobre el 70% (Eguiazú, 1984).

Son varios los metabolitos secundarios de los aspergilos que son considerados micotoxinas: aflatoxinas, esterigmatocistina y otros, algunos de los cuales también son producidos por especies de penicilios, por ejemplo ácido ciclopiazónico y ocratoxinas (Smith y Ross, 1991).

4. JUSTIFICACIÓN

Una gran variedad de insectos atacan a los cultivos de utilidad para el hombre, a través de la defoliación, consumo de frutos, daños a tallos, afectando raíces, dañando brotes, flores y semillas, éstos han sido consideradas por el hombre como plagas para los productos agrícolas tanto en el campo como en el almacenamiento (Mendoza *et al.*, 2003). A principios del siglo XIX la agricultura que hasta entonces había estado destinada a la subsistencia adquirió un carácter más técnico, al inicio de la Revolución Industrial y del desarrollo de la química como ciencia. El incremento de la población, el desarrollo de mercados para las crecientes áreas urbanas junto con la industrialización, dieron como resultado el monocultivo, y la subsiguiente necesidad de una mayor capacidad de almacenamiento, transporte y protección de los productos agrícolas en cada una de sus etapas (Arata, 1983).

Con el propósito de aumentar la productividad de los sistemas agrícolas y de evitar su disminución debido a prácticas de manejo inadecuadas, la agricultura moderna ha aumentado progresivamente el uso de productos químicos, esta tendencia condujo a la elaboración de paquetes tecnológicos, en los que el uso de insumos químicos es el principal componente del sistema productivo (Arata, 1983; Bruno, 2006).

Los plaguicidas son el principal agente químico utilizado por el hombre, para el control de plagas agrícolas y vectores potenciales de enfermedades, estos incluyen: insecticidas, nematicidas, herbicidas, fungicidas, rodenticidas y agentes reguladores del crecimiento. Se trata de sustancias químicas complejas, las cuales de manera posterior a su aplicación pueden cambiar a nivel físico, químico y biológico (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007; García-Gutiérrez y Rodríguez-Meza, 2012). Existe la posibilidad de que sean arrastrados por las corrientes de agua y aire y por consiguiente sean dispersados a grandes distancias; asimismo, los residuos volátiles pasan a la atmósfera y son llevados por las lluvias a otros sitios (López-Geta *et al.*, 1992). De manera directa o indirecta la población humana esta inevitablemente expuesta a los plaguicidas por medio de productos degradados en el aire, suelo, agua y alimentos (CICOPLAFEST 1998; Bolognesi 2003; Souza, 2009).

A principios de la década de los sesenta del siglo pasado se señalaba ya la amplia distribución ambiental de los plaguicidas (en suelo, aire, agua, biota.), así como los efectos de su manipulación y uso en la salud humana (Carson, 1962).

El uso intensivo y sin control de plaguicidas, la aplicación continua conduce a la generación de resistencia en los organismos que pretenden controlar. De manera que los productores, en ausencia de un plan estratégico, suelen incrementar tanto la cantidad como las dosis de aplicación para controlar a dichos organismos (Souza, 2009).

En México se calcula que existen cerca de 900 plaguicidas, los cultivos en los que se emplea el mayor volumen de estos son: aguacate, algodón, café, chile, frijol, maíz, papa, tabaco, tomate y trigo, en cantidades que van desde 395 hasta 13,163 toneladas al año (AMIPFAC, 1995), mientras que los estados con mayor uso de plaguicidas son: Baja California, Colima, Estado de México, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas y Veracruz con el 80% de los plaguicidas totales (Albert, 2005). En total se usan 260 diferentes marcas de productos químicos de los cuales 24 están prohibidas y 13 restringidas. (CICOPLAFEST, 2005).

De manera particular en Tehuacán municipio del estado de Puebla, *A. mexicana* representa una de las plagas de mayor importancia económica que limita el establecimiento y desarrollo de sistemas agrícolas, cuyo control ha sido tradicionalmente a través de la aplicación de productos químicos de origen sintético. Actualmente en la región se han establecido cultivos como *A. hypocondriacus* que cuentan con certificado de producción orgánica, por lo que existe interés por parte de los productores de emplear productos alternativos y ecológicos que permitan reducir los daños causados por *A. mexicana*.

Es por estas razones que existe la necesidad de desarrollar alternativas para llevar a cabo el control plagas de importancia económica, que conduzcan a reducir los costos que representa el uso de insumos químicos y que permitan reducir el riesgo al que se expone la salud del hombre y de su entorno. El control de la hormiga micófaga a través de hongos antagonistas representa una

alternativa al uso de plaguicidas químicos, ya que permiten realizar un control por medio del efecto antagónico en contra del hongo simbiote, debido a la producción de metabolitos secundarios y micotoxinas que son elaborados por estos hongos para lograr afianzarse en la naturaleza y que al mismo tiempo permiten inhibir a otros organismos que compiten por el sustrato.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto de la aplicación de los tratamientos a base de los hongos de la tortilla, *Penicillium* sp. y *Aspergillus flavus* y del bioinsecticida Spinosad y sus respectivas combinaciones, como métodos alternativos para el control de la hormiga arriera *Atta mexicana* (Hymenoptera: Formicidae) en el Valle de Tehuacán en el estado de Puebla.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el tiempo en el que son reducidas las poblaciones de hormiga arriera luego de la aplicación de los tratamientos a base del complejo de hongos de la tortilla, *Penicillium* sp., *Aspergillus flavus*, Spinosad y sus respectivas combinaciones.
- Establecer cuál de los tratamientos permite reducir con mayor eficiencia la población de la hormiga arriera en el Valle de Tehuacán, en el estado de Puebla.

6. HIPÓTESIS

Debido a las propiedades de los hongos *Penicillium* sp y *Aspergillus flavus*, y de la aplicación conjunta de Spinosad más *Penicillium* sp., se espera que su aplicación sobre la población activa de *Atta mexicana*, disminuya la actividad del hormiguero y como consecuencia la disminución de la población a una significancia de $\alpha=0.05$.

7. MATERIALES Y MÉTODOS.

7.1 Localización del sitio de estudio.

La investigación se realizó durante los meses de mayo, junio y julio del 2015 en el Valle de Tehuacán, en el estado de Puebla, ubicado en las coordenadas 18°22'06" y 18°36'12" de longitud norte; 97°15'24" y 97°37'24" de longitud oeste, donde se presentan una gran variedad de climas que van desde los templados en la Sierra de Zapotitlán, los cálidos del Valle de Tehuacán, el templado subhúmedo con lluvias en verano, en el extremo poniente de la Sierra de Zapotitlán. El clima predominante es el clima semiseco cálido con lluvias en verano y escasas a lo largo del año dentro del Valle de Tehuacán. Dicho Valle va paralelo a la dirección que tienen los pliegues de la Sierra Oriental. Comenzando por el oriente, el relieve alcanza alturas de 2950 msnm y muestra un declive constante hacia el sureste hasta estabilizarse a una altura promedio de 1640 msnm.

7.1.1 Sitios de estudio

En la zona de estudio, debido a que no había suficientes hormigueros en una sola localidad para llevar a cabo las repeticiones de los tratamientos aplicados, fueron seleccionadas tres localidades cercanas con manejo orgánico de sistemas agrícolas. Se consideró a cada localidad como una repetición, en cada una de ellas se localizaron nueve hormigueros que representaron las unidades experimentales. Las localidades seleccionadas fueron: San Gabriel Chilac, Atecoxco y Santiago Acatepec estas dos últimas corresponden al municipio de Caltepec (Figura 4).

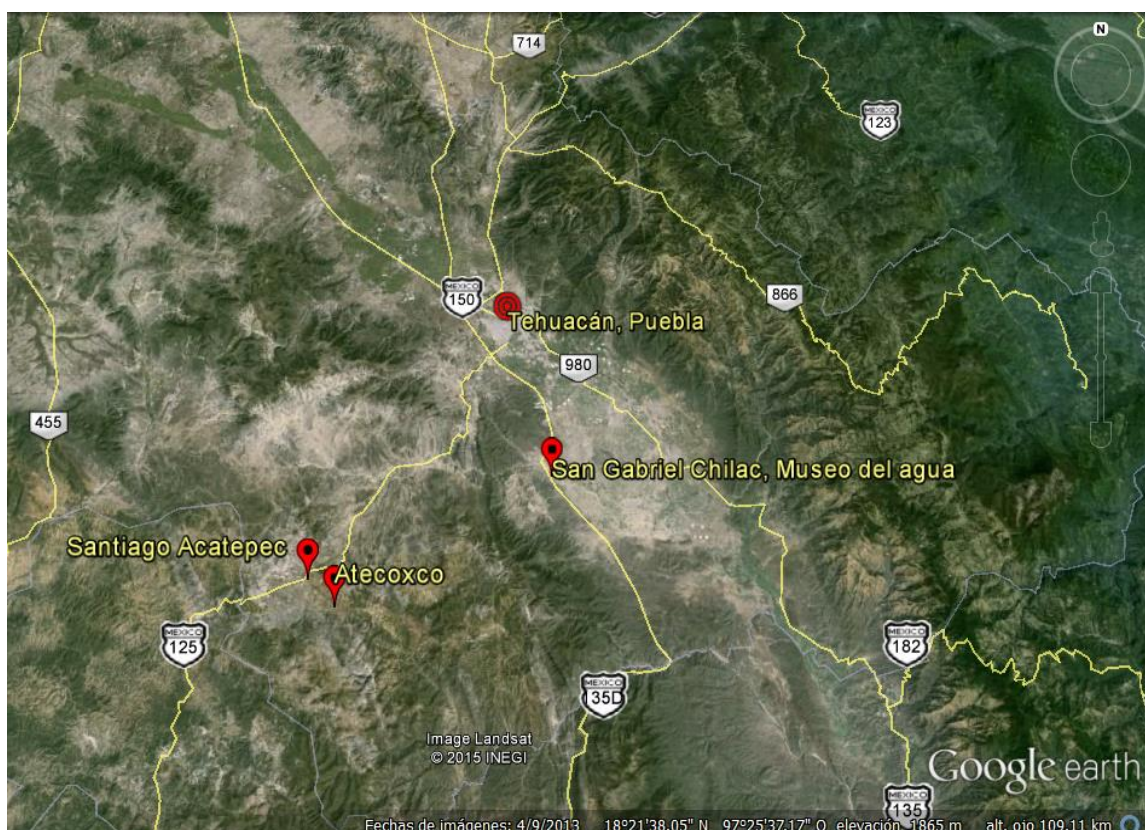


Figura 4. Localización geográfica donde se observan los sitios de estudio.

7.1.1.1 San Gabriel Chilac

Se localiza en la zona sureste del estado de Puebla con coordenadas $18^{\circ} 18' 56.0''$ latitud norte y $97^{\circ} 21' 38''$ de longitud oeste. Colinda al norte con Tehuacán, al sur con San José Miahuatlán, al este con Altepexi y al Oeste con Zapotitlán Salinas.

Presenta una altitud entre 1200 y 2400 msnm. El rango de temperatura va de los $14 - 24^{\circ}\text{C}$, y presenta una precipitación de 300 – 600 mm. El clima de la región es seco semicálido (53%), semiseco templado (25%) y seco muy cálido y cálido (22%). Los suelos dominantes de la región son: Leptosol (60%), Regosol (17%), Vertisol (14%), Solonchak (3%) (INEGI, 2009a).

Los hormigueros empleados para el presente estudio se ubican al interior del predio correspondiente al Museo del Agua.

7.1.1.2 Atecoxco

Los hormigueros del estudio se ubicaron en dos localidades pertenecientes a este municipio, la primera con coordenadas 18° 13' 41.45" latitud norte y 97° 34' 51.41" longitud oeste.

7.1.1.3 Santiago Acatepec

La segunda localidad corresponde a Santiago Acatepec con coordenadas 18° 12' 20.82" latitud norte y 97 ° 33' 13.46" longitud oeste.

Debido a la cercanía de ambas localidades las condiciones edafoclimáticas no varían entre ellas teniendo así una altitud que oscila entre 1700 y 2700 msnm. El rango de temperatura va de los 14 – 22°C y una precipitación de 400- 800 mm. El clima de la región es semiseco templado (61%), semiseco semicálido (28%), seco semicálido (9%) y semicálido subhúmedo con lluvias en verano (2%). Los suelos dominantes de la región son: leptosol (58%), phaeozem (21%) y regosol (20%) (INEGI, 2009b).

7.2 Tratamientos y Diseño experimental

Se evaluaron nueve tratamientos en los hormigueros de las tres localidades pertenecientes al Valle de Tehuacán (Tabla 1). Estos se establecieron bajo un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones, donde cada comunidad se consideró como una repetición y cada repetición estuvo conformada por nueve hormigueros.

Tabla 1. Tratamientos aplicados para el control alternativo de *A. mexicana* en tres localidades del Valle de Tehuacán, Puebla.

Número de Tratamiento	Tratamiento
1	<i>A. flavus</i>
2	<i>Penicillium</i> sp.
3	Complejo de hongos de la tortilla
4	Spinosad
5	Testigo solo se aplicó agua
6	Spinosad + <i>A. flavus</i> .
7	Spinosad + <i>Penicillium</i> sp.
8	Spinosad + Complejo de hongos de la tortilla
9	<i>A. flavus</i> + <i>Penicillium</i> sp.

7.3 Producción del complejo de hongos de la tortilla

La producción del complejo de hongos de la tortilla de maíz se llevó a cabo en el laboratorio de Entomología del Centro de Agroecología del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, bajo la siguiente metodología:

El complejo de hongos fue cultivado en bolsas de plástico (20 x 30 cm), colocando en su interior una tortilla de maíz (14.5 cm diámetro) cuidando que estas no se pegaran a la bolsa, para esto se le colocaron popotes en forma transversal a la tortilla. Se realizaron aspersiones con agua destilada para conservar una humedad relativa de $70\% \pm 10\%$, posteriormente fueron cerradas y se mantuvieron a temperatura ambiente en una cámara totalmente cerrada y designado para este fin, se realizaron observaciones a los tres y cinco días para verificar el crecimiento del micelio del hongo.

Después de seis días, las tortillas cubiertas de micelio fueron retiradas de las bolsas y se secaron sobre papel filtro a temperatura ambiente por 24 horas; una vez secas, con una brocha de dos pulgadas se removió el micelio y las esporas. El polvo obtenido fue tamizado en una criba del número 30, a continuación se pesó y se colocó en bolsas de plástico en presentaciones de 2 y 4 g, se etiquetaron y se guardaron en un lugar seco y a temperatura ambiente hasta su uso.

7.3.1 Identificación y caracterización del complejo de hongos presentes en la tortilla de maíz

Se procedió a identificar los géneros de los distintos hongos que conforman el denominado complejo de hongos de la tortilla de maíz. Se consideraron características macroscópicas como: color, aspecto, textura, consistencia y pigmentación; además de características microscópicas, para lo que fue necesario llevar a cabo la técnica de microcultivos con la finalidad de observar estructuras reproductivas. La técnica de microcultivo se realizó siguiendo la metodología de López *et al.* (2006), que consistió en colocar papel filtro al fondo de una caja Petri, y un portaobjeto sobre una varilla de vidrio doblada en triángulo. Esto se llevó a esterilización a 140 libras durante 15 minutos y bajo condiciones de asepsia se añadió 1 ml de glicerol al 0.05% sobre el papel filtro, con el fin de brindar humedad suficiente al cultivo. Se cortó agar papa dextrosa en cuadros de 1 cm² con ayuda de un bisturí estéril, el cuadro se colocó con ayuda de una espátula estéril sobre el portaobjetos y se inoculó en cada una de las esquinas, posteriormente se le colocó encima un cubreobjetos y se dejó incubar a 30 °C durante 24, 48 y 72 horas. Esto se realizó por triplicado para cada una de las cepas.

A la muestra fijada se le realizó tinción con colorante azul de algodón. Se añadió una gota del colorante y una gota de resina sobre un portaobjetos y se mezclaron perfectamente con una aguja de disección, se retiró cuidadosamente el cubreobjetos del microcultivo y se colocó en el portaobjetos con la preparación. Para la visualización microscópica de las muestras, se utilizó un microscopio de fluorescencia marca Olympus Bx5. Para la identificación se emplearon las claves de Humber (1998); Navi *et al.* (1999).

Los géneros identificados fueron: *Monilia* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus flavus*, *Mucor* sp., y *Rhizopus* sp.

7.4 Producción del hongo *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp.

Los hongos *A. flavus*, y *Penicillium* sp., fueron aislados del complejo de hongos de la tortilla de maíz en el Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA) del Instituto Politécnico Nacional (IPN). Los hongos aislados se

cultivaron en PDA y se incubaron a 30 °C, durante tres semanas hasta observar la producción de esporas posteriormente se recuperaron las esporas y se realizaron diluciones 10^{-1} y 10^{-2} para contabilizarlas en la cámara de Neubauer, donde se colocaron 50 μ l de la muestra y se calculó el número de esporas totales. Con el número de esporas promedio en los cinco cuadrantes, multiplicado por el factor de dilución y dividido por la constante 4×10^{-6} , el conteo fue 1×10^9 esporas por mililitro del stock (Alves *et al.*, 2002).

7.5 Spinosad

Es un bioinsecticida producto de la fermentación aeróbica del actinomiceto *Saccharopolyspora spinosa* Mertz & Yao. El modo de acción de este insecticida es a través de la vía tópica e ingestión; debido a su rápida degradación, baja toxicidad en humanos y bajas dosis de uso, es considerado como un material de reducido riesgo ambiental y toxicológico por lo que cuenta con registro para ser utilizado en la agricultura orgánica (Pineda *et al.*, 2007; Porcuna, 2013).

Para el presente estudio fue empleado el producto comercial producido por Dow AgroScience, Spintor 12 SC suspensión en presentación de 150 ml.

7.6 Aplicación de tratamientos

Para la aplicación de los tratamientos las esporas y micelio del hongo obtenido de la tortilla de maíz, así como los hongos *A. flavus* y *Penicillium* sp., se utilizaron 1.6 gr de estos por cada 1.5 L de agua. Esta dosis se obtuvo en base a estudios realizados en laboratorio por Calderón (2014). Para el caso de los tratamientos a base de Spinosad se emplearon 3 ml por cada 1.5 L de agua, de acuerdo a la dosis recomendada en la etiqueta.

La aplicación de los tratamientos se realizó con tres mochilas de aspersión cada una con capacidad de 15 L, dos fueron empleadas para la aplicación de los tratamientos a base de hongos y para el tratamiento a base de Spinosad, la tercera fue empleada únicamente para aplicar el testigo (agua). Entre cada aplicación las mochilas de aspersión fueron lavadas con agua y jabón, el tratamiento testigo fue el primero en aplicarse.

Durante cuatro semanas cada tercer día se llevaron a cabo las aplicaciones, realizando ocho aplicaciones en total en cada uno de los hormigueros con una separación de un día para cada una de las localidades, las aplicaciones se hicieron directamente a) sobre cáscaras de naranja, toronja, melón o tortillas que fueron colocadas como cebo a un lado de la entrada y/o salida de los hormigueros, b) sobre los caminos activos de las arrieras y c) sobre el material vegetal que consumían. Las aplicaciones se realizaron cuando los hormigueros presentaban mayor actividad.

7.7 Variables evaluadas

7.7.1 Efecto de los tratamientos sobre la población de *A. mexicana* en cada hormiguero

Se evaluó el efecto de los tratamientos sobre la población activa de *A. mexicana*, por medio de tres conteos del número de individuos entrantes y salientes con una duración de un minuto para cada uno de los hormigueros. Los conteos se llevaron a cabo de manera previa a la aplicación de los tratamientos durante todo el periodo del experimento.

Para determinar el tratamiento con mayor efecto se realizarán gráficas de la población activa para cada localidad. Para la elaboración de estas gráficas, la actividad de forrajeo registrada previamente a la aplicación de los tratamientos fue considerada como la referencia de actividad inicial (100 %) para medir el porcentaje de incremento o decremento de la actividad, durante las observaciones realizadas posteriormente.

7.8 Análisis estadístico

El diseño experimental fue el de bloques completos al azar, donde se evaluaron nueve tratamientos, con tres repeticiones cada uno. Las variables evaluadas fueron analizadas estadísticamente para verificar el supuesto de homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Bartlett. Debido a que las variables no cumplieron con el supuesto de homogeneidad de varianzas a causa de la poca uniformidad de las poblaciones de los hormigueros observados, los datos recabados se analizaron con la prueba H de Kruskal-Wallis (Ramírez y López, 1993; Castillo, 2000).

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Respuesta de la población de *A. mexicana* a los diferentes tratamientos aplicados.

8.1.1 San Gabriel Chilac

De acuerdo a los datos obtenidos en los hormigueros de San Gabriel Chilac para el número de individuos salientes se observa en el testigo una actividad constante a lo largo de todo el periodo de observación. En el tratamiento a base del complejo de hongos de la tortilla la población disminuyó en un 71.9%, siendo este el mejor tratamiento para la reducción de la actividad de *A. mexicana* para esta localidad. Para el caso de los tratamientos: Spinosad + complejo de hongos de la tortilla (54.7%), *A. flavus* + *Penicillium* sp (41.2%), *Penicillium* sp (34.4%) y Spinosad + *Penicillium* (29.1%) se presentó una menor disminución en el número de individuos salientes en comparación con el tratamiento a base del complejo de hongos de la tortilla, pero una mayor disminución en comparación con los tratamientos Spinosad + *A. flavus* (17.7%), *A. flavus* (17.0%) y Spinosad (15.2%). La actividad porcentual de individuos salientes a lo largo del periodo de aplicación de los diferentes tratamientos se aprecia en la Figura 5.

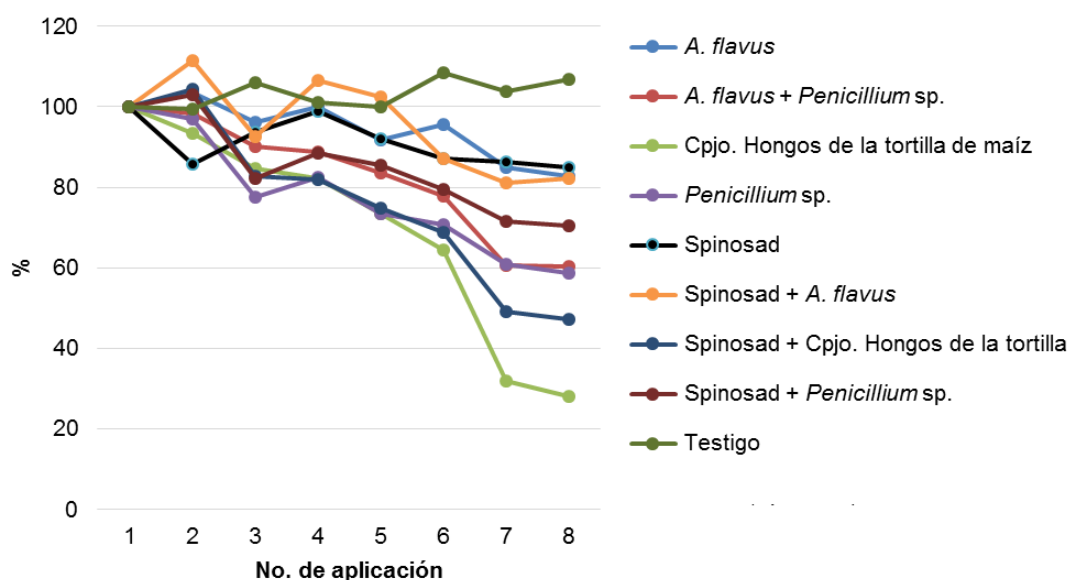


Figura 5. Porcentaje de individuos salientes a lo largo del periodo de aplicación de los diferentes tratamientos en San Gabriel Chilac.

Se observó un comportamiento similar para el número promedio de individuos entrantes (se registró nuevamente para el grupo testigo una constante en el número de individuos durante las observaciones realizadas tabla 2). La mayor reducción porcentual de la actividad de individuos entrantes se reporta para el tratamiento a base del complejo de hongos de la tortilla (71.0%), seguido de los tratamientos Spinosad + complejo de hongos de la tortilla (50.3%), *A. flavus* + *Penicillium* sp (43.5%), Spinosad + *Penicillium* sp (31.9%) y *Penicillium* sp (29.4 ± 0.8%); se ve reflejado una vez más un menor efecto para los tratamientos con base en Spinosad + *A. flavus* (18.6%), Spinosad (14.3%) y *A. flavus* (9.9%).

Tabla 2. Promedio de individuos entrantes por minuto a lo largo del periodo de aplicación de los tratamientos y porcentaje de disminución de la actividad en San Gabriel Chilac.

Tratamiento	Aplicación								% de reducción
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
<i>A. flavus</i>	46.3	48.0	43.0	44.7	39.0	43.7	42.0	41.7	9.9
<i>A. flavus</i> + <i>Penicillium</i> sp.	95.7	92.3	86.7	85.7	76.7	70.3	63.0	54.0	43.5
Cpjo. H. de la tortilla	82.7	76.7	71.0	68.3	62.3	55.0	28.0	24.7	71.0
<i>Penicillium</i> sp.	45.3	48.0	41.3	43.7	38.0	34.3	33.7	29.3	29.4
Spinosad	65.3	64.7	63.3	66.7	61.7	57.3	56.7	55.7	14.3
Spinosad + <i>A.</i> <i>flavus</i>	44.3	49.7	46.3	48.7	45.3	37.0	35.3	35.3	18.6
Spinosad + Cpjo. H. de la tortilla	74.0	77.3	66.0	61.0	59.7	54.7	37.7	36.3	50.3
Spinosad + <i>Penicillium</i> sp.	55.0	56.7	53.0	49.3	46.7	45.0	37.3	36.7	31.9
Testigo	60.7	62.0	67.3	65.0	67.0	68.0	66.0	65.3	-7.8

8.1.2 Santiago Acatepec

Los resultados obtenidos del número de individuos salientes para la localidad de Santiago Acatepec a lo largo del periodo de aplicación se muestran en la Figura 6, en donde podemos observar que los tratamientos complejo de hongos de la tortilla, Spinosad + complejo de hongos de la tortilla y *A. flavus* + *Penicillium* sp, obtuvieron una disminución del 100% del número de individuos

salientes después de la 4,5 y 6 aplicación respectivamente. Los tratamientos *Penicillium* sp (32.8%), Spinosad + *Penicillium* sp (30.1%) lograron disminuir parcialmente en el número de individuos, mientras que *A. flavus* (15%), Spinosad + *A. flavus* (6.5%) y Spinosad (1.6%) muestran un efecto menor o nulo en la disminución del número de individuos salientes.

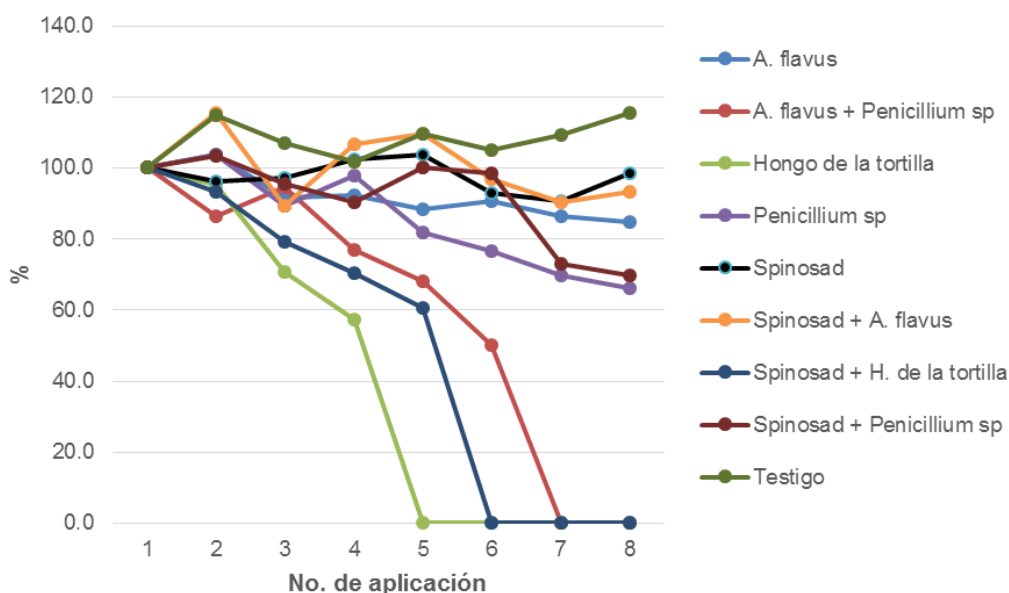


Figura 6. Porcentaje de individuos salientes a lo largo del periodo de aplicación de los diferentes tratamientos en Santiago Acatepec

El comportamiento del promedio de individuos entrantes en los hormigueros de Santiago Acatepec a lo largo del periodo de aplicación se presentan en la Tabla 3, donde se puede observar una constante para el número de individuos del grupo testigo con tendencia al incremento en la actividad. Para los tratamientos a base del complejo de hongos de la tortilla, Spinosad + complejo de hongos de la tortilla y *A. flavus* + *Penicillium* sp., se obtuvo una disminución del 100% del número de individuos después de 4, 5 y 6 aplicaciones respectivamente. *Penicillium* sp (35.3%) y Spinosad + *Penicillium* sp (21.1%) lograron disminuir moderadamente el número de individuos mientras que los tratamientos *A. flavus* (11.2%), Spinosad + *A. flavus* (4.5%) y Spinosad (2.7%) presentaron un efecto menor o nulo.

Tabla 3. Promedio de individuos entrantes a lo largo del periodo de aplicación de los diferentes tratamientos y porcentaje de disminución de la actividad en Santiago Acatepec.

Tratamiento	Aplicación								% de reducción
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
<i>A. flavus</i>	48.0	46.7	46.0	48.3	45.7	47.3	45.0	42.3	11.2
<i>A. flavus</i> + <i>Penicillium</i> sp.	61.7	52.7	53.0	42.3	38.0	27.3	0	0	100
Cpjo. H. de la tortilla	46.7	45.0	33.7	26.3	0	0	0	0	100
<i>Penicillium</i> sp.	51.0	48.3	43.7	44.3	33.7	35.0	34.3	33.0	35.3
Spinosad	59.0	62.7	64.3	67.0	65.7	57.0	56.3	57.3	2.7
Spinosad + <i>A. flavus</i>	43.3	46.7	41.0	44.7	43.7	38.7	38.0	41.3	4.5
Spinosad + Cpjo.H. de la tortilla	62.3	55.7	44.3	41.0	31.0	0	0	0	100
Spinosad + <i>Penicillium</i> sp.	44.0	45.7	42.7	40.7	43.3	44.0	36.3	34.7	21.1
Testigo	64.0	71.0	64.3	61.7	65.0	62.0	62.7	64.7	-1.1

8.1.3 Atecoxco

En relación al número de individuos salientes en la localidad de Atecoxco, los resultados obtenidos del porcentaje de reducción de la actividad a lo largo del periodo de aplicación de los diferentes tratamientos se presentan en la figura 7. Donde se puede observar que el grupo testigo muestra una constante con tendencia al incremento en la actividad. Los tratamientos a base del complejo de hongos de la tortilla, Spinosad + complejo de hongos de la tortilla y *A. flavus* + *Penicillium* sp., obtuvieron una disminución de la población del 100% luego de la quinta aplicación. Los tratamientos con un efecto moderado en la disminución de la población fueron: *Penicillium* sp (29.2%), Spinosad (24.0%) y Spinosad + *Penicillium* sp (21.4%). Los tratamientos *A. flavus* ($9.8 \pm 5.5\%$), Spinosad + *A. flavus* (7.0%) presentan un menor efecto en la disminución del número de individuos salientes.

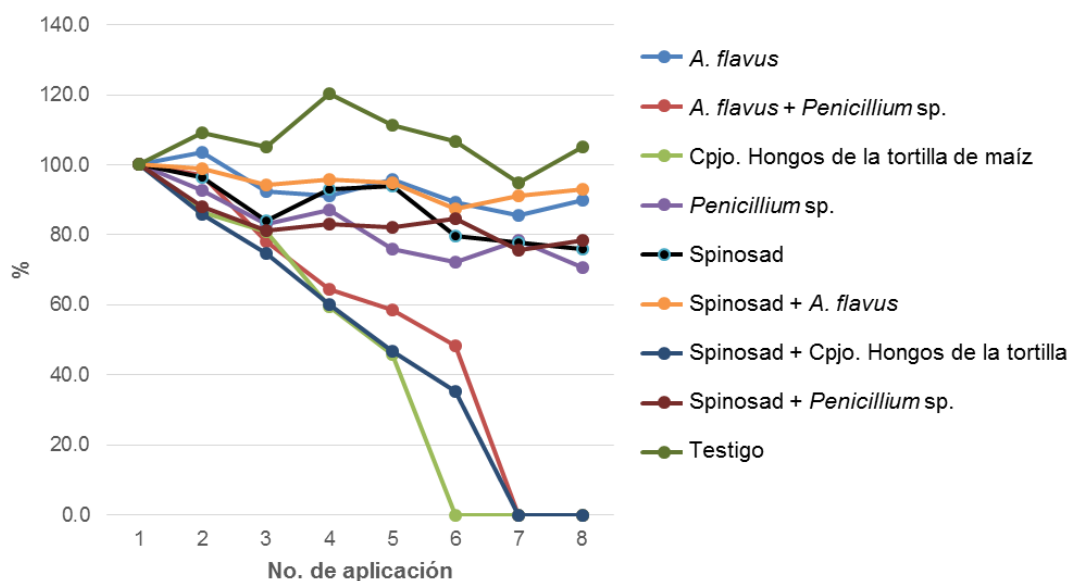


Figura 7. Porcentaje de individuos salientes a lo largo del periodo de aplicación de los diferentes tratamientos en Atecoxco.

Para el caso del número de individuos entrantes en los hormigueros de la localidad de Atecoxco luego de la aplicación de los diferentes tratamientos se presentan las medias en la tabla 4. Donde los tratamientos a base del complejo de hongos de la tortilla, Spinosad + complejo de hongos de la tortilla y *A. flavus* + *Penicillium* sp, resultaron ser lo más efectivos en esta localidad al disminuir la población en un 100% luego de cinco aplicaciones para el caso del complejo de hongos de la tortilla y seis para Spinosad + complejo de hongos de la tortilla y *A. flavus* + *Penicillium* sp. Los tratamientos *Penicillium* sp (22.8%) y Spinosad + *Penicillium* sp (17.9%) nuevamente presentan un efecto moderado en la disminución del número de individuos entrantes. El menor efecto en la disminución del número de individuos se reportó en los tratamientos Spinosad (12.2%), *A. flavus* (8.4%) y Spinosad + *A. flavus* (3.4%).

Tabla 4. Promedio de individuos entrantes a lo largo del periodo de la aplicación de los diferentes tratamientos y porcentaje de disminución de la actividad en Atecoxco.

Tratamiento	Aplicación								% de reducción
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
<i>A. flavus</i>	48.0	46.3	45.7	42.0	44.3	41.7	39.7	43.7	8.4
<i>A. flavus</i> + <i>Penicillium</i> sp	59.0	57.7	47.0	40.3	35.3	27.7	0	0	100
Cpjo. h. de la tortilla	43.0	37.0	32.7	25.0	17.0	0	0	0	100
<i>Penicillium</i> sp	66.7	63.0	52.7	57.0	52.3	51.0	54.3	51.3	22.8
Spinosad	40.0	39.7	36.7	38.7	34.3	34.0	36.7	35.0	12.2
Spinosad + <i>A. flavus</i>	68.7	69.7	62.3	66.0	68.3	61.0	64.7	66.3	3.4
Spinosad + Cpjo. h. de la tortilla	61.0	54.3	46.7	38.3	31.0	25.3	0	0	100
Spinosad + <i>Penicillium</i> sp	64.0	62.0	53.0	57.3	58.3	56.7	51.3	54.7	17.9
Testigo	48.3	47.0	49.3	51.7	48.3	46.7	44.0	49.0	-1.4

8.2 Efectividad de los tratamientos aplicados

La prueba H de Kruskal Wallis mostro diferencias significativas para las medianas del número de individuos entrantes y salientes de *A. mexicana* de los diferentes tratamientos aplicados a un nivel de confianza del 95% (Tabla 5)

Tabla 5. Efecto de los tratamientos para el número de individuos entrantes y salientes de las tres localidades estudiadas.

Factor	No. de hormigas salientes	No. de hormigas entrantes
	P	P
Tratamientos	0.001	0.001

* Efecto significativo con $\alpha = 0.05$

En la tabla 6 se presentan los resultados de las medianas obtenidos para el número de hormigas entrantes y salientes de las tres localidades, en donde se observa una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre ellas, presentándose en las hormigas salientes cinco grupos de medias, mientras que en las entrantes se tienen cuatro grupos, siendo en ambos casos el mejor tratamiento a base del complejo de hongos de la tortilla, mientras que el testigo fue el que presento mayor número de actividad de individuos entrantes y salientes, siendo estadísticamente similar al Spinosad.

Tabla 6 Medianas para el número de individuos entrantes y salientes de *A. mexicana* en las tres localidades.

Tratamiento	Medianas [RI] del número de hormigas			
	Salientes		Entrantes	
<i>A. flavus</i>	49.0 [44.0, 53.0]	bc	46.0 [43.0, 55.0]	Bc
<i>A. flavus</i> + <i>Penicillium</i> sp.	51.5 [36.5, 67.0]	bc	51.0 [32.0, 64.0]	bc
Cpjo. h. de la tortilla	32.5 [0.0, 34.5]	A	29.0 [0.0, 30.5]	A
<i>Penicillium</i> sp.	45.0 [37.0, 50.0]	B	44.5 [35.0, 54.0]	Bc
Spinosad	60.0 [52.0, 66.0]	c	57.0 [38.5, 63.0]	Bc
Spinosad + <i>A. flavus</i> .	48.0 [40.0, 65.0]	bc	45.0 [41.0, 64.0]	Bc
Spinosad + Cpjo. h. de la tortilla	43.5 [26.0, 51.0]	Ab	39.5 [20.0, 50.5]	Ab
Spinosad + <i>Penicillium</i> sp.	52.0 [44.5, 56.5]	Bc	47.5 [41.0, 54.5]	bc
Testigo	61.5 [52.0, 67.5]	C	62.5 [53.0, 65.0]	c

R.I: Rango intercuartílico
 * Medianas con la misma letra no son significativamente diferentes

Acorde a la evaluación de las aplicaciones de los nueve tratamientos en los hormigueros de las tres localidades, los resultados indican que los tratamientos con base en aplicaciones de *A. flavus*, Spinosad, Spinosad + *A. flavus*, Spinosad + *Penicillium* sp., y *Penicillium* sp., no tuvieron efectos significativos en la disminución de la población activa de *A. mexicana*.

Aun cuando los tratamientos con aplicaciones a base de Spinosad + complejo de hongos de la tortilla y *A. flavus* + *Penicillium* sp., no presentan diferencias significativas en relación a los tratamientos a base de *A. flavus*, *Penicillium* sp., Spinosad, Spinosad + *A. flavus* y Spinosad + *Penicillium* sp., en las tres localidades las medianas del número individuos activos fue menor para estos dos tratamientos. Es evidente que los tratamientos *A. flavus* y *Penicillium* sp., tienen un menor efecto en la disminución de la actividad forrajera de *A. mexicana* cuando son aplicados de manera individual, no obstante dicho efecto se ve favorecido cuando se aplican en conjunto, lo cual sugiere que existe algún tipo de sinergia entre estos dos tratamientos. Se observó que los hormigueros tratados a base de aplicaciones del complejo de hongos de la tortilla disminuyeron significativamente su actividad en las tres localidades estudiadas.

En relación a lo observado en San Gabriel Chilac el máximo porcentaje de disminución de la actividad se registró en los hormigueros tratados a base de aplicaciones del complejo de hongos de la tortilla (71.0%), seguido de los tratamientos a base de Spinosad + complejo de hongos de la tortilla (50.3%) y *A. flavus* + *Penicillium* sp (43.5%). Contrariamente a lo observado en los hormigueros de este sitio, para el caso las localidades Santiago Acatepec y Atecoxco se registró un 100% de efectividad en la disminución de la actividad de *A. mexicana* para los tratamientos a base de aplicaciones del complejo de hongos de la tortilla, Spinosad + complejo de hongos de la tortilla y *A. flavus* + *Penicillium* sp. Estos datos corroboran la posible efectividad de estos tres tratamientos y un menor efecto en la reducción poblacional para los tratamientos con base en aplicaciones de *A. flavus*, *Penicillium* sp., Spinosad, Spinosad + *A. flavus* y Spinosad + *Penicillium* sp.

En este mismo sentido cabe señalar que fue San Gabriel Chilac la localidad donde se registró un menor efecto en la disminución porcentual de la actividad de *A. mexicana*. Este resultado podría atribuirse entre otros factores a la presencia de hormigueros de mayor antigüedad, los cuales poseen una mayor población y una estructura y distribución más compleja de las cámaras en donde es cultivado el hongo simbionte (*L. gongylophora*), factores que dificultan el acceso de los tratamientos aplicados a todas y cada una de las cámaras de cultivo y que facilitan una rápida recuperación de la población de *A. mexicana* (Cortés, 1986; Buhl *et al.*, 2006; Farji-Brener, 2013). Aunado a estos factores los hormigueros de dicha localidad se ven favorecidos por la presencia continua de material vegetal que provee el amaranto (*Amaranthus hypocondriacus*) que es ampliamente cultivado a lo largo del año en este sitio, no siendo así para las localidades de Santiago Acatepec y Atecoxco en donde la presencia del material vegetal específicamente de los cultivos agrícolas se ve restringido a la temporada de lluvias. Estos hechos concuerdan con lo descrito por Jaffé y Viela (1989) y Ortega (1999) quienes mencionan que existe una relación directa entre el desarrollo, densidad y crecimiento de colonias de arrieras y actividades antropogénicas como el establecimiento de zonas agrícolas.

Los resultados indican que la actividad de individuos entrantes y salientes en los hormigueros tratados a base de aplicaciones del complejo de hongos de la tortilla de maíz, disminuyó de forma significativa ($p \leq 0.05$) para las tres localidades en estudio. Estos resultados coinciden con lo reportado por Mora y Tirado (2008), Tirado (2010), Mora (2011), quienes encontraron que tras la aplicación de este tratamiento la actividad forrajera de *A. mexicana* disminuyó significativamente.

No obstante, Mora (2011), reportó la disminución de la actividad forrajera de *A. mexicana* tras 21 aplicaciones del complejo de hongos de la tortilla de maíz a una concentración de 4 g con un intervalo de cuatro días entre cada aplicación. Por su parte Tirado (2010), determinó necesario llevar a cabo una aplicación de este tratamiento a una concentración de 5 g cada ocho días hasta llegar a un total de 12 aplicaciones. Los resultados de este trabajo muestran que es posible la disminución de la actividad forrajera de la hormiga arriera con un menor número de aplicaciones (ocho en promedio) y a una menor concentración (1.6 gr/L) esto probablemente se deba a que se diluyó el hongo en agua, mientras que Tirado (2010) y Mora (2011), lo aplicaron en seco.

Una explicación para el fenómeno observado en los hormigueros tratados con aplicaciones a base del complejo de hongos de la tortilla podría derivarse de la consideración de que las aplicaciones de este tratamiento debilitaron la colonia, con lo cual la población de hormigas redujo los cuidados del nido y al mismo tiempo estas no fueron capaces de atender todas las actividades de limpieza que demanda mantener libre de organismos extraños la colonia, por tanto, la respuesta tardía de *A. mexicana* facilitó la colonización del sustrato empleado por *L. gongylophora* por parte del complejo de hongos de la tortilla.

Autores como: Aragua (1984), Ortiz (1998), Currie y Stuart (2001), Hart y Ratnicks (2001), Bot *et al.* (2002), Poulsen *et al.* (2002), Jaffé (2004); Little *et al.* (2006), mencionan que existen ciertos mecanismos implicados en la seguridad sanitaria de los jardines del hongo simbiote, como el aseo y deshierbe, actividades enfocadas al manejo de residuos para evitar la propagación del material potencialmente dañino. Además, la hormiga arriera

evita la contaminación por parte de bacterias y otros hongos por medio de la secreción de ácidos hidroxidecanoico y fenil acético a través de la glándula metapleural cuya actividad antibiótica tiene un efecto inhibitor de la germinación de esporas de otros hongos.

En este mismo sentido, aunado a la secreción de ácidos a través de la glándula metapleural, la arriera posee un saco infrabucal, el cual es una estructura de filtrado en la que son almacenados detritos y residuos durante la limpieza de los jardines y que son posteriormente expulsados en forma de pellets. Esta actividad tiene como fin el evitar el re-establecimiento del material que pudiese causar infecciones en el jardín del hongo de la hormiga arriera (Bailey 1920; Quinlan y Cherret 1978; Febvay y Kermarrec 1984). Es posible que un menor efecto en la disminución de la población activa para los tratamientos con base en *A. flavus* y *Penicillium* sp., pueda ser el resultado de esta serie de adaptaciones fisiológicas y de comportamientos previamente descritos, así como a la eficaz remoción de material con potencial dañino de los jardines del hongo simbiote por parte de la arriera, en la cual el saco infrabucal y la secreciones metapleurales juegan un papel clave.

Méndez *et al* (2002), menciona que a través de las aplicaciones a base de Spinosad se ha logrado llevar a cabo un efectivo control de otros insectos plaga como lepidópteros y dípteros. En este caso los tratamientos a base de este producto y en combinación con los hongos *A. flavus* y *Penicillium* sp., no presentaron una diferencia significativa en relación al grupo control, por lo que se considera que la aplicación de este producto y en conjunto con *A. flavus* y *Penicillium* sp., no representa un método efectivo para disminuir la actividad forrajera de *A. mexicana*. Un efecto menor o nulo para los hormigueros tratados con base en aplicaciones de Spinosad y en conjunto con los hongos *A. flavus* y *Penicillium* sp., podría explicarse considerando dos cuestiones:

- Continuamente las arrieras forrajeras son sometidas a minuciosos exámenes de verificación y compatibilidad con la colonia los cuales evitan la propagación de enfermedades entre los miembros de la colonia, la identificación de algún patógeno potencial o de una baja compatibilidad se ve reflejada en mutilación, agresión y expulsión del hormiguero.

- Las Atta encargadas del corte y la colecta del material vegetal parecen no tener acceso a las cámaras donde es cultivado *L. gongylophora* (Herrera y Valenciaga, 2011).

Dicho en otras palabras un menor efecto en la disminución de la actividad para aquellos hormigueros tratados a base de aplicaciones con de Spinosad y en conjunto con *A. flavus* y *Penicillium* sp., es el resultado de la afectación a una casta particularmente, la casta forrajera de *A. mexicana*, la cual seguramente fue excluida de la colonia al ser identificada como un peligro potencial al presentar un esencia extraña, producto de su exposición al Spinosad.

Es necesario desarrollar mayor investigación para explicar la menor susceptibilidad del complejo de hongos de la tortilla en relación a los hongos *A. flavus* y *Penicillium* sp frente a las adaptaciones fisiológicas y de comportamiento de *A. mexicana*. No obstante este hallazgo es muy importante porque representa un método de control alternativo, sencillo y económico para una de las plagas de mayor importancia económica en nuestro país, ya que estratégicamente, el ataque sobre el hongo simbiote (*L. gongylophora*) asegurará la disminución de la actividad forrajera de *A. mexicana*.

10. CONCLUSIÓN

Con respecto a la hipótesis planteada se concluye que los tratamientos a base de aplicaciones de *Penicillium* sp., *A. flavus* y la aplicación conjunta de Spinosad más *Penicillium* sp. no lograron disminuir la actividad forrajera de *A. mexicana* a una significancia de $\alpha=0.05$.

Acorde a los resultados obtenidos en la presente investigación, se concluye que el complejo de hongos de la tortilla fue el tratamiento más eficaz para reducir la población activa de *A. mexicana* a una concentración de 1.6 g/L de agua, de este modo el complejo de hongos de la tortilla puede ser empleado como una alternativa ecológica para el control de la hormiga arriera.

En relación a los tratamientos: *A. flavus*, *Penicillium*, Spinosad, Spinosad + *A. flavus* y Spinosad + *Penicillium* sp., la eficacia para disminuir la población activa de *A. mexicana* fue menor a la registrada para los hormigueros tratados con aplicaciones del complejo de hongos de la tortilla de maíz, y no presentaron diferencias significativas en relación al grupo testigo.

El tratamiento a base de Spinosad y en conjunto con *A. flavus* y *Penicillium* sp., no disminuyeron significativamente la actividad de *A. mexicana* por lo que se descarta su actividad insecticida y un efecto favorable en conjunto con otros productos.

Luego de realizar cinco aplicaciones a base del complejo de hongos de la tortilla sobre la población activa de *A. mexicana* se observa una disminución en la actividad en los hormigueros con tendencia a la inactividad total de los mismos.

11. RECOMENDACIONES

Una vez concluido el periodo de aplicación de los tratamientos, se recomienda realizar observaciones posteriores de la actividad de los hormigueros, pues cabe la posibilidad de que la reducción de la actividad de *A. mexicana* sea temporal, algunos autores sugieren que ante la presencia de agentes antifúngicos, entomopatógenos, parasitoides etc. las arrieras tienen a cerrar, abandonar las cámaras de cultivo contaminadas y a incrementar las actividades de limpieza al interior del hormiguero, disminuyendo su actividad externa, hasta que las hormigas forrajeras eventualmente desaparecen. Lo cual podría confundirse con el éxito de las medidas de control.

LITERATURA CITADA.

- Abreu, J. M y J. H. C. Delabie. 1986. Controle das formigas cortadeiras em patios de cacau. Rev. Theobroma, Brazil. 16(4): 199-211.
- Abarca, L. 2000. Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. Revista Iberoamericana de Micología 17: 79-84.
- Albert, L. 2005. Panorama de los plaguicidas en México. Rev. Toxicol. (En línea). Consultado 23 agosto 2014.
<http://www.sertox.com.ar./retel/n08/01.pdf>.
- Alves, R., R. Baterman., J. Gunn., C. Prior y S. Leather. 2002. Effects of different formulations on viability and médium-term storage of *Metarhizium anisopliae* conidia. Neotropical Entomology. 31 (1). 91-99.
- Amante, E. 1976 a. Sauva tira boi da pastagem. Coopertia. 23 (207): 38-40.
- Amante, E. 1976 b. A formiga Sauva *Atta capiguara*, praga das pastagens. O Biologico, 33(6): 113-120.
- AMIPFAC (Asociación Mexicana de la Industria de plaguicidas y fertilizantes. 1995. Curso de orientación para el buen uso y manejo de plaguicidas. Sidaner, J. (Ed.). (En línea). Consultado 8 julio 2014.
http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/estadisticas_2000/naturaleza/estadísticaam/informe/acrobat/capitulo3-3-5.pdf
- Anjos, M. S., T. M. C. Della Lucia y A. J. Mayhé-Nunes. 1998. Guía práctico sobre formigas cortadeiras em reflorestamentos. Ponte Nova. Graff Cor. pp. 100.
- Aragón, G. A., R. A. M. Tapia y S. I. M. T. Huerta. 1997. Insectos asociados con el cultivo de amaranto *Amaranthus hypocondriacus* L. (Amaranthaceae) en el Valle de Tehuacán Puebla, México. Folia Entomológica Mexicana. Xalapa, Veracruz, México. 100:33-43.
- Aragón, G. A. y R. A. M. Tapia, 2009. Amaranto orgánico. Métodos, alternativos para el control de plagas y enfermedades. Publ. Especial Benemérita

- Universidad Autónoma de Puebla. Alternativas de Procesos de Participación Social. A. C. 63 p.
- Arata. A. 1983. Perspectivas del uso de plaguicidas: Historia, situación real y necesidades futuras. Ponencia presentada en el III taller latinoamericano "Prevención de riesgos en el uso de plaguicidas". Instituto Nacional de Investigadores sobre Recursos Bióticos, Xalapa, Veracruz. 13 p.
- Aragua, C. L. 1984. Los bachacos: aspectos de su ecología. Acta Científica Venezolana. 73 p.
- Argüello, H. y M. Gladstone 2001 Guía ilustrada para identificación de especies de zompopos (*Atta* spp. y *Acromyrmex* spp.) presentes en El Salvador, Honduras y Nicaragua. PROMIPAC, Carrera Ciencia y Producción, Zamorano, Honduras 34p.
- ATSDR (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades IT). 1995. Reseña Toxicológica del Mirex y la Clordecona. Departamento de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos. Consultado 5 mayo 2014. http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts66.html
- Banderas, G. A. E. 2004. Control de *Atta colombica* con los hongos *Trichoderma harzianum*, *Beauveria bassiana* y el insecticida Malation. Tesis de Licenciatura. Proyecto especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras. 18 p.
- Bailey, I. W. 1920. Some relations between ants and fungi. Ecology. 1, 174-189.
- Bertorelli, M., J. V. Montilla y J. Hernández. 2006. Efecto de la defoliación por hormigas cortadoras de hojas (Formicidae; Attini) sobre el rendimiento de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Revista de la Facultad de Agronomía. 23 (3): 310-318.
- Boaretto M. A. C y L. C. Forti. 1997. Perspectivas no controle de formigas coartadeiras. Série Técnica. Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais. 11 (30): 31-46.

- Bolognesi C. (2003). Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research*. 543, 251-272 p.
- Bot, A. N., D. Ortius-Lechner., K. Finster., R. Maile y J. J. Boomsma. 2002. Variable sensitivity of fungi and bacteria to compounds produced by the metapleural glands of leaf-cutting ants. *Insec Society*. 49, 363-370.
- Bowers, M. A y S. D. Porter. 1981. Effect of foraging distance on water content of substrates harvested by *Atta colombica*. *Ecology*, 74: 273-275
- Bruno. A. 2006. Estimación de los efectos ambientales y socioeconómicos del uso de plaguicidas en sistemas de producción fruti-vitícola. Red de Acción en Plaguicidas y sus alternativas para América Latina. 106 p.
- Buhl, J., J. Gautrais., J. Deneubourg., P. Kuntz y G. Theraulaz. 2006. The growth and form of tunnelling networks in ants. *Journal of Theoretical Biology*. pp. 243-287.
- Caffarini, P., P. Carrizo y A. Pelicano. 2006. Extractos cítricos como atrayentes para cebos hormiguicidas con sustancias naturales. *Revista Facultad de Ciencias Agrícolas Universidad Nacional de Cuyo*. Argentina. 38(1):19-26.
- Caffarini, P., P. Carrizo, A. Pelicano, P. Roggero y P. Pacheco. 2008. Efectos de extractos acetónicos y acuosos de *Ricinus communis* (ricino), *Melia azedarach* (paraíso) y *Trichillia glauca* (trichillia), sobre la hormiga negra común (*Acromyrmex lundí*). *IDESIA*. 26(1):59-64
- Calderón, G. G. 2014. Evaluación de hongos para el manejo de *Atta mexicana* bajo condiciones controladas de temperatura y humedad. Tesis Biólogo. Facultad de Agrobiología. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, Méx. 64 p.
- Carson, R. 1962. Primavera silenciosa. Edit. Houghton Mifflin. Boston, Estados Unidos. 376 p.
- Carrillo, L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. Universidad Nacional de Salta – Universidad Nacional de Jujuy. 131 p.

- Castillo, M. L. E. 2000. Introducción a la estadística experimental. Universidad Autónoma Chapingo (UACH) Chapingo, estado de México. 85 p.
- Chapela, I. H., S. A. Rehner., T. R. Schultz and U. G. Mueller. 1994. Evolutionary history of the symbiosis between fungus-growing ants and their fungi. *Science* 266: 1691-1694.
- Cherret, J. M. 1968. The foraging behavior of *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae). I Foraging pattern and plant species attacked in tropical rain forest. *Journal of Animal Ecology*. 37: 387-403.
- Cherret, J. M. 1972. Some factors involved in the selections of vegetables of sustrated by *Atta cephalotes* (L.) (Formicidae, Attini) in tropical rain forest. *Journal of Animal Ecology*. 41: 647-660.
- Cherret, J. M. 1980. Possible reasons for the mutualism between leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) ant their fungus. *Revue de Biology et d'Ecology Mediterranee*, 8: 113-122.
- Cherrett, J. M., R. J. Powell and D. J. Stradling. 1989. The mutualism between leaf-cutting ants and their fungus. In: Wilding, N, N. M. Colling and J. F. Webber (Eds.), *Insect Fungus Interactions*, pp. 93-120.
- CICOPLAFEST. 1998. Catálogo oficial de plaguicidas. Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas. SEMARNAP, SECOFI, SAGAR y SSA, México D.F. 454 p.
- CICOPLAFEST. 2005. Catálogo oficial de plaguicidas. Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas. SEMARNAP, SECOFI, SAGAR y SSA, México D.F. 483 p.
- Cortés, M. M. 1986. Control de hormigas cortadoras. Seminario Universidad Nacional de Colombia. Seccional. Medellin. 34 p.

- Currie, C. R. 2001. A community of ants fungi, and bacteria: a multilateral approach to studying symbiosis. *Annual Review of Microbiology*. 55: 357-380.
- Currie, C. R and A. E. Stuart. 2001. Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants. *Proceedings, Real Society of London B*. 268, 1033-1039.
- Currie, C.R., J. A. Scott., R. A. Summerbell and D. Malloch. 1999. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. *Nature*: 398: 701-704.
- Della-Lucia, C. T. M. 2003. Hormigas de importancia económica de la región Neotropical. En: *Introducción a las hormigas de la región Neotropical*. Fernández F. (Ed.). Bogotá, Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Bióticos Alexander Von Humboldt. pp: 337-349.
- Diehl-Fleig, E. Da Silva, M. E. Specht, A and M. Valim-Labres. 1993. Efficiency of *Beauveria bassiana* for *Acromyrmex* spp. Control (Hymenoptera: Formicidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 22: 281-285.
- Diehl-Fleig, E y M. E. Da Silva 1994. *Beauveria bassiana* para controle das formigas cortadeiras do género *Acromyrmex*. En: *Anais do III Curso de Atualização no Controle de Formigas Cortadeiras*. Programa Cooperativo para el Manejo Integrado de Plagas Forestales/ Instituto de Pesquisas e Estudios Florestais. pp: 6-7.
- Eguiazú, G. M. 1984. Comportamiento de almacenaje del girasol III. Grasas y Aceites. 35: 325-329.
- Escobar, D. R y F. García. 2002a. Manejo y control de hormiga arriera (*Atta* spp y *Acromyrmex* spp) en sistemas de producción de importancia económica en el departamento de Chocó. Cartilla No.1: Hormiga arriera, biología, ecología y hábitos. Ministerio de Agricultura. Programa Nacional de Transferencia de Tecnología Agropecuaria en Colombia. Universidad Tecnológica de Chocó. Colombia. 28 p.

- Escobar, D. R y F. García. 2002b. Manejo y control de hormiga arriera (*Atta* spp y *Acromyrmex* spp) en sistemas de producción de importancia económica en el departamento de Chocó. Cartilla No.2: Hormiga arriera, biología, ecología y hábitos. Ministerio de Agricultura. Programa Nacional de Transferencia de Tecnología Agropecuaria en Colombia. Universidad Tecnológica de Chocó. Colombia. 21 p.
- Evans, H. C. 1989. Mycopathogens of insects of epigeal and aerial habits. In: Wilding, N. Xollins, N. M., Hammond, P. M. Webber, J. F. (Eds). Insect-Fungus Interactions. London, Academic Press. pp. 205-238.
- Farji-Brenner, A. 2013. Conflictos de tránsito en hormigas. Universidad Nacional del Comahue-Conicet. 12 p.
- Farji-Brenner, A. y J. Protomastro. 1992. Patrones forrajeros de dos especies simpátricas de hormigas cortadoras de hojas (*Attini*, *Acromyrmex*) en un bosque subtropical seco. *Ecotrópicos*. 5(1): 32-43.
- Febvay, G., M. Decharme y A. Kermarrec. 1984. Digestion of chitin by the labial glands of *Acromyrmex octospinosus* Reich (Hymenoptera: Formicidae). *Canadian Journal of Zoology*. 62, 229-234.
- Fernández, F. 2003. Introducción a las hormigas de la región neotropical. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, CO. XXVI, 398 p.
- Fernández, F. y S. Sendoya. 2004. Lista de las hormigas neotropicales (Hymenoptera: Formicidae). *Biota colombiana*. 5(1):1-93.
- Fernández-Larrea, V. O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado de Plagas*. 62: 96-100.
- Fortanelli, M. J. y Servín, M. M. E. 2002. Desechos de hormiga arriera (*Atta mexicana* Smith), un abono orgánico para la producción hortícola. *Terra Latinoamericana*. 20 (2): 153-160.

- García-Gutiérrez, C y G. Rodríguez-Meza. 2012. Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. Universidad Autónoma Indígena de México Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. 10p.
- Gómez, D. y M. Vásquez. 2011. Manejo de plagas. Serie: Producción orgánica de hortalizas de clima templado. PYMERURAL.33p. no en texto.
- Gruber, A. K y J. K. Valdix. 2003. Control de *Atta* spp. con prácticas agrícolas e insecticidas botánicos. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. 67: 87-90.
- Hart, A. G and F. L. W. Ratnieks. 2001. Task partitioning division of labor and nest compartmentalization collectively isolate hazardous waste in the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. Behavioral Ecology and Sociobiology. 49, 387-392.
- Herrera, M. y Valenciaga, N. 2011. Peculiaridades de las bibijaguas (Attini: *Acromyrmex* y *Atta*) que hacen difícil su control. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 45 (3): 217-225.
- Herrera, S. E. 2009. Desarrollo de una formulación granular base para el control biológico de las hormigas forrajeras (*Atta* spp.) M. Sc. Tesis. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 73p.
- Herrera, T. y M. Ulloa. 1998. El reino de los hongos. Fondo de Cultura Económica, México. 552 p.
- Hinkle, G., J. K. Wetterer., T. R. Schultz and M. L. Sogin. 1994. Phylogeny of the attine ant fungi based on analysis of small subunit ribosomal RNA gene sequences. Science 266: 1695-1697.
- Humber, R. A. 1992. Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures: Catalog of strains. Washington, Department of Agriculture. 117 p.
- Humber, R. A. 1998. Entomopathogenic fungal identification. APS/ESA Joint Annual Meeting. 26 p

- INEGI, 2009a. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. San Gabriel Chilac, Puebla. 9p.
- INEGI, 2009b. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Caltepec, Puebla, 9 p.
- Jaffé, C. K. 2004. El mundo de las hormigas. Equinoccio. Segunda edición. Caracas Venezuela. 148 p.
- Jaffé, C. K and E. Viela. 1989. On nest densities of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* in tropical primary forest. *Biotropica*, 21 (3): 234-236.
- Jonkman, J. C. M. 1979. Distribution and densities of nest of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri*. Forel. 1893 in Paraguay. *Zeitschrift Angewandte Entomologie*. 88: 27-43.
- Kondo, D. T. 2010. III. Insectos. 105-140 pp. En: Bernal, J.A., Díaz, C.A. Eds. Tecnología para el cultivo de mango con énfasis en mangos criollos. Manual Técnico. Produmedios, Bogotá, Colombia. p. 199.
- Kumar, H., M. S. Patole y and S. Shouche. 2006. Fungal farming: a story of four partner evolution. *Current Science*. 90(11):1463-1464.
- Kozakiewicz, Z. (1989). *Aspergillus* species on stored products. *Mycological Papers* 161: 1–188.
- Lewis, T., G. V. Pollard and G. C. Dibley. 1974 a. Rhythmic foraging in the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L. Formicidae, Attini). *Journal of Animal Ecology*. 43: 129-141.
- Lewis, T., G. V. Pollard and G. C. Dibley. 1974 b. Micro environmental factors affecting diet patterns of foraging the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L. Formicidae, Attini) *Journal of Animal Ecology*. 43:143-155.
- Lima, P. P. 1992. Palestra sobre Formigas cortadeiras. En: Memoria de Reuniao de Especialistas en Controle Alternativo de Cupins e Formigas. Ibama, Brasil. pp. 23-24.

- Little, A. E. F., T. Murakami., U. G. Mueller and R. C. Currie. 2006. Defending against parasites: fungus-growing ants combine specialized behaviours and microbial symbionts to protect their fungus gardens. *Biology letters*. 2: 12-16.
- Littledyke, M. and J. M. Cherret. 1975. Variability in the selection of substrate by leaf-cutting ants *Atta cephalotes* and *Acromyrmex octopinosus* (Reich) (Formicidae, Attini), *Bulletin of Entomological Research* (65): 37-67.
- Longino, J. T. and P. E. Hanson. 1995. The ants (Formicidae). In: Hanson, P.E, I. D. Gauld, (Eds.) *The hymenoptera of Costa Rica*. New York. US. p. 588-620.
- López, E and S. Orduz. 2003. *Metarhizium anisopliae* y *Trichoderma viride* for control of nests of the fungus-growing ant, *Atta cephalotes*. *Biological Control* 27:194–200.
- López, E., M. Romero., A. Ortiz y S. Orduz. 1999 Primer registro de *Metarhizium anisopliae* infectando reinas de *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae) en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*. 25: 49-56.
- López-Geta, J. A., C. Martínez-Navarrete, L. Moreno-Merino y P. Navarrete-Martínez. 1992. Las aguas subterráneas y los plaguicidas. Instituto Geológico y Minero de España. 149 p.
- López, M. R., T. L. J. Méndez., H. F. Hernández y O. R. Castañón. 2006. *Micología Médica, procedimientos para el diagnóstico de laboratorio*, 2ª ed., México, Trillas. pp. 99-107.
- Madrigal, C. A., R. F.C. Yepes y D. P. Acevedo. 1997. Evaluación de 3 hongos y dos especies vegetales para el control de la hormiga arriera *Atta cephalotes* (Hym: Formicidae). En: *Memorias Seminario Aconteceres Entomológicos*, Medellín. Editora Jurídica. pp. 9-19.
- Marinho, C. G. S., T. M. C. Della Lucia y M.C. Pinchaco. 2006. Factores que dificultan o controle das formigas cortadeiras. *Bahía Agrícola*, (7):18-21.

- Martínez-Valenzuela, C y S. Gómez-Arroyo. 2007. Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 23 (4): 185-200.
- Mayhé-Nunes, A. J. and K. Jaffé. 1998. On the biogeography of *Attini* (Hymenoptera: Formicidae). *Ecotropicos*. 11(1): 45-54.
- Méndez, W. A., J. Valle., J. E. Ibarra., J. Cisneros., D. I. Penagos y T. Williams. 2002. Spinosad and nucleopolyhedrovirus mixtures for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. *Biological control*. 25, 195-206.
- Mendoza, N. H., J. C. Carrillo-Rodríguez., S. C. Perales y V. J. Ruiz. 2003. Evaluación de fuentes de fertilización orgánica para tomate de invernadero en Oaxaca, México. *Manejo integrado de plagas y agroecología (CATIE)*. pp. 30-35.
- Mora, A. Y. 2011. Disminución de la actividad forrajera de *Atta mexicana* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae), mediante el efecto antagonista del hongo *Penicillium* sp. sobre el hongo simbionte de la hormiga arriera, en condiciones de campo. Tesis de licenciatura. Escuela de Biología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México. 84 p.
- Mora, A. Y y C. M. Tirado. 2008. Pruebas preliminares para regular el alimento de la hormiga arriera *Atta mexicana* (Hymenoptera: Formicidae) con el hongo *Penicillium* sp. En: *Memorias del I Simposio Internacional de Manejo Agroecológico de Sistemas*. Aragón, G. A., D. Jiménez, M. A. Damián H. y J. F. López. (Eds.). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla. pp. 121-130.
- Morales, F. C., C. Cardona., J. M. Bueno y I. Rodríguez. 2006. Manejo integrado de enfermedades de plantas causadas por virus transmitidos por mosca blanca. *Centro Internacional de Agricultura Tropical*. Colombia. pp. 1-24.
- Montoya, C. M., L. J. Montoya., I. Armbrrecht y R. M. C. Gallego. 2007. ¿Cómo responde la hormiga cortadora *Atta cephalotes* (Hymenoptera:

- Myrmicinae) a la remoción mecánica de sus nidos? Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle. 8(2): 1-8.
- Möller, A. 1983. Die Pilzgärten einiger südamerikanischer Ameisen. Botanische Mittheilungen aus den Tropen 6: 127 p.
- Naccarata, V y K. Jaffé. 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.
- Navi, S. S., R. Bandyopadhyay., A. J. Hall and P. J. Bramel-Cox. 1999. A pictorial guide for the identification of mold fungi on sorghum grain. Information Bulletin no.59, Patancheru 502324, Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 118 pp.
- Ortega, A. L. D. 2001. Control alternativo de mosca blanca. Colegio de Posgraduados. Montecillo, México. pp. 41-52.
- Ortega. A. L. D. 2008. Bioecología de las moscas blancas. En: Moscas blancas temas selectos sobre su manejo. S. Infante G. (Ed.) 1ª Edición. Colegio de Posgraduados. Mundi prensa. México. D.F. pp. 1-6.
- Ortega, E. 1999. Hormigas cortadoras de hojas y deforestación. Aconteceres entomológicos. Medellín, Colombia. pp. 253-270.
- Ortiz, A. 1998. Selección y evaluación de una cepa de *Trichoderma* o *Gliocladium* para el control de *Atta cephalotes* en condiciones de laboratorio. Tesis M. Sc. Entomología. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. 122 pp.
- Palacios, F. Y y S. Gladstone. 2003. Eficacia del farnesol y de un extracto de semilla de ayote como repelentes de *Atta mexicana*. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. 68: 89-91.
- Peterson S. W. 2000. Phylogenetic relationships in *Aspergillus* based on rDNA sequence analysis. In: Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification, Samson R. A and Pitt J. I, Eds. Amsterdam: Harwood Academic Publishers. pp. 323-356.

- Pérez A. R. 1947. El problema de las hormigas del genero *Atta* Fabr. en la América. Tesis de maestría. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Turrialba, CR. 74 p.
- Pérez A. R. 2002. Lucha biológica contra la bibijagua (*Atta insularis* Güerin). Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), Laboratorio de Manejo de Plagas. La Habana, Cuba. Consultado en Octubre 23 de 2014 <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/ATTA-BIO.htm>
- Pérez, T. B. C., A. Aragón G., N. Bautista M., A. M. Tapia M. y J. F. López-Olguin. 2009. Entomofauna asociada al cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en el municipio de Chiautla de Tapia, Puebla. Acta Zoológica Mexicana. 25 (2): 239-247.
- Pineda, S., M. I. Schneider y A. M. Martínez. 2007. El Spinosad, una alternativa para el control de insectos plaga. Ciencia Nicolaita. 46: 29-42.
- Pitt, J. I. 1980. The genus *Penicillium* and its teleomorphic states. *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, London, United Kingdom pp. 634.
- Pitt, J. I. y A.D. Hocking. 1997. Fungi and food Spoilage. 2ª. Ed. Blackie Academic and Professional. London. p. 593.
- Pitt, J. I y L. Leistner. 1991. Toxigenic *Penicillium* species. En: Smith J. E. y Henderson, R. S. (Eds). Mycotoxins and animal foods. Boca Raton CRC Press, Florida, pp. 81-99.
- Porcuna, C. J. L. 2013. Manejo de plagas y enfermedades en producción agrícola. Manuales técnicos Sociedad Española de Agricultura Ecológica. 50 p.
- Posada, F. F. J. 1997. Infección natural de *Metarhizium anisopliae* sobre la hormiga arriera. Cenicafé. 48. (3): 204-208.
- Poulsen, M., A. N. M. Bot., M. G. Nielsen and J. J. Boomsma. 2002. Experimental evidence for the cost and hygienic significance of the

- antibiotic metapleural gland secretion in leaf-cutting ants. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 52: 151-157.
- Quinlan, R. J and J. M. Cherret. 1977. The role of substrate preparation in the symbiosis between the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) and its food fungus. *Ecological Entomology*. 2: 161-170.
- Quinlan, R. J and J. M. Cherret. 1978, Studies on the role of the infrabuccal pocket of the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera: Formicidae). *Insec Society*. 25: 237-245.
- Quinlan, R. J and J. M. Cherret. 1979. The role of fungus in the diet leaf – cutting ant *Atta cephalotes* (L.) *Ecological Entomology*. 4: 151-160.
- Ramírez, G. M. E y T. Q. López. 1993. Métodos estadísticos no paramétricos. Universidad Autónoma Chapingo (UACH). Chapingo, Estado de México. 120 p.
- Ramírez, R. M., P. Chacon de Ulloa., I. Ambrecht y Z. Calle. 2003. Contribución al conocimiento entre plantas, hormigas y homópteros en bosques secos de Colombia. *Colombia, Caldasia*. 2: 523-536.
- Ricci, M., D. Benítez., S. Padin y A. Maceiras. 2005. Hormigas argentinas: comportamiento, distribución y control. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata. Argentina. 27 p.
- Rockwood, L. L. 1976. Plant selection and foraging patterns in two species leaf-cutting ant *Atta*. *Ecology*. 57: 48-61.
- Rojas, F. P. 2001. Las hormigas del suelo en México: diversidad, distribución e importancia (Hymenoptera: Formicidae). *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)* 1: 189-238.
- Roselló, C. J. L. 2003. Capacidad antagonista de *Penicillium oxalicum* Currie y Thom y *Trichoderma harzianum* Rifai frente a diferentes agentes fitopatógenos. Estudios ecofisiológicos. Tesis doctoral. Escuela Superior del medio rural y enología. Universidad Politécnica de Valencia. España. 242 p.

- Sánchez, G. J. A y A. M. Urcuqui B. 2006. Distancias de forrajeo de *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae) en el bosque seco tropical del jardín botánico de Cali. Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle. 7 (1): 1-9.
- Smith, J. E y K. Ross. 1991. The Toxigenic Aspergilli. pp. 101-108. En: Mycotoxins and Animal Foods. Smith, J. E. and R. S. Henderson (Eds.) CRC Press, Boca Ratón, Florida.
- Souza, C. J. 2009. La problemática del uso de plaguicidas en Argentina. Modelos productivos e impacto en el ambiente. XXXV Congreso Latinoamericano de Sociología Rural. BS. As. Argentina.
- Stradling, D. J. 1978. The influence of size of foraging in the ant *Atta cephalotes*, and the effect of some plant defense mechanisms. Journal of Animal Ecology. 47: 173-188.
- Tirado, M. C. 2010. Pruebas preliminares para el control de la hormiga arriera *Atta mexicana* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) con la aplicación del hongo *Penicillium* sp. Tesis de licenciatura. Puebla: Escuela de Biología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México. 58 p.
- Vaccaro, N. C y J. A. Mousques. 1997. Hormigas cortadoras (Géneros *Atta* y *Acromyrmex*) y tacurúes en Entre Ríos. XII jornadas forestales de Entre Ríos. Concordia, Argentina.
- Valderrama, E. I., C. Giraldo., L. J. Montoya., I. Armbrecht y Z. Calle. 2006. Guía para el establecimiento y manejo de colonias artificiales de hormiga arriera *Atta cephalotes* (Hymenoptera: myrmicinae). Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle. 7(2):7-16.
- Varón, E. H. 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.
- Varón, E. H., P. Hanson., O. Borbón., M. Carballo y L. Hilje. 2004. Potencial de hormigas como depredadoras de la broca del café (*Hypothenemus*

hampei) en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. 73: 42-50.

Varón, E. H., L. Hilje y S. D. Eigenbrode. 2008. Un enfoque agroecológico para el manejo de zompopas en cafetales. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 14 p.

Vergara, C. J. C. 2005. Biología, manejo y control de la hormiga arriera. Imprenta departamental del Valle de Cauca. Santiago de Cali. 20 p.

Waller, D. A. 1982. Fungus-culturing by ants. En: Insect-fungus symbiosis, nutrition, mutualism, and commensalism. Batra, L. R. (Ed.) Halsted Press Book. Wiley y Sons, Publisher. New York. p. 77-116.

Weber, N. A. 1972. Gardening ants: the attines, vol. 92. Philadelphia: The American Philosophical Society.

Weber, N. A. 1979, Fungus culturing by ants. En: Batra, L.R. (Ed) Insect-fungus symbiosis, mutualism and commensalism. New York. pp. 77-116.

Webster J. 1986. Introduction to Fungi. 2^o ed. Cambridge University Press. p. 669.

Zanetti, R. 2006. Manejo integrado de hormigas cortadeiras. Notas de aula de ENT. 115 – Manejo integrado de pragas forestais. Consultado 18 mayo de 2014.

http://www.den.ufla.br/Professores/Luis/Disciplinas/disciplinnaENT_109_arquivos/Aula6_MIP_FORMIGAS.pdf.