

Attamyces sp. había perdido turgencia y en algunas zonas se observó desintegración y lisis de la pared celular (figura 28).

Durante la evaluación de *T. lignorum* (T-26) y *Attamyces* sp. se observó un engrosamiento de la pared celular en forma redondeada, en las hifas de *Attamyces* sp. semejantes a clamidosporas (figuras 27 y 29), estructuras que no fueron registradas durante las interacciones con *Gliocladium* sp.

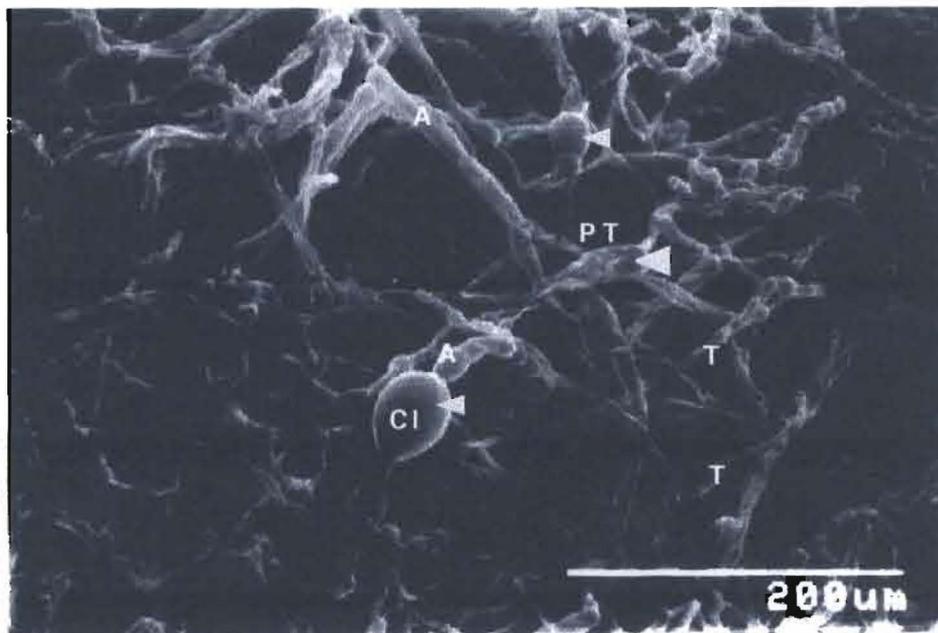


Figura 27. Cultivo mixto de *Trichoderma lignorum* (T-26) y *Attamyces* sp. A las 48 horas de sembrados los microcultivos, se observa un enrollamiento flojo y masivo de las hifas de *T. lignorum* (T-26) (T) sobre las hifas de *Attamyces* sp. (A), las cuales presentan pérdida de turgencia (PT), en algunas de sus hifas, también se observan estructuras semejantes a clamidosporas (CI), (400 X).

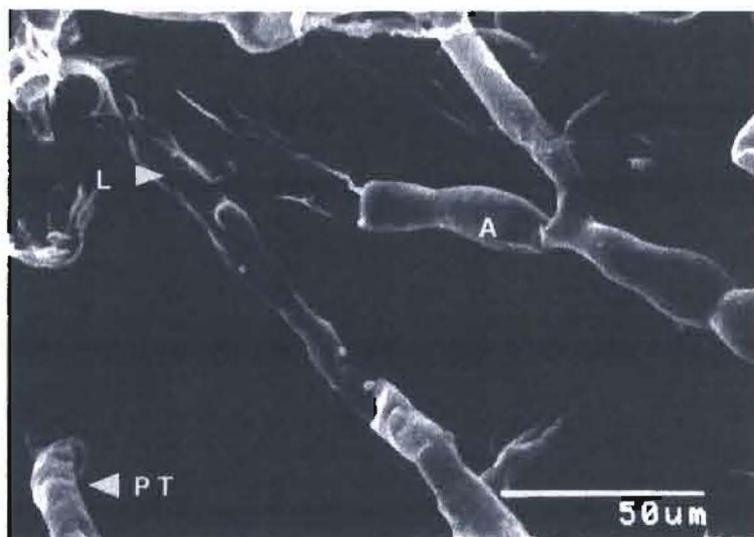


Figura 28. Cultivo mixto de *Trichoderma lignorum* (T-26) y *Attamyces* sp. A las 48 horas de sembrados los microcultivos, se observan las hifas de *Attamyces* sp. (A), dañadas por efecto de la lisis de la pared celular (L), también se observan hifas con pérdida de turgencia (PT), (1500 X).

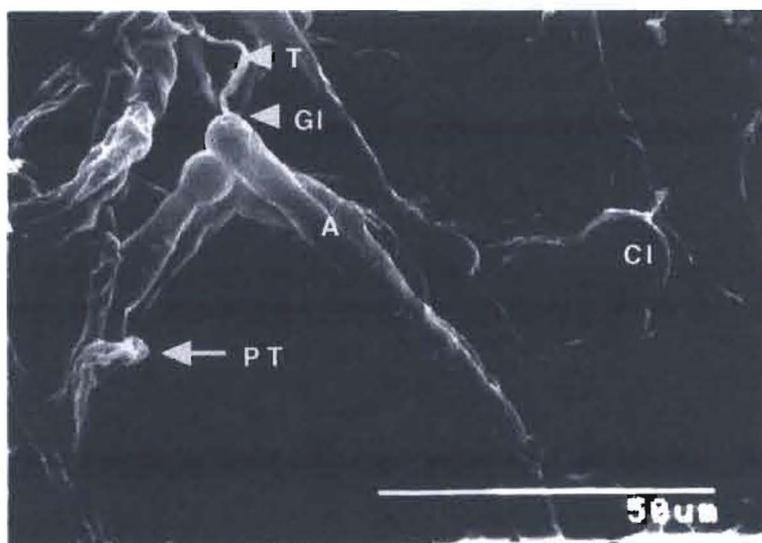


Figura 29. Cultivo mixto de *Trichoderma lignorum* (T-26) y *Attamyces* sp. A las 48 horas de sembrados los microcultivos, se observa un enrollamiento flojo y masivo de las hifas de *T. lignorum* (T-26) (T) sobre las hifas de *Attamyces* sp. (A), las cuales presentan pérdida de turgencia (PT), en algunas de sus hifas, también se observan estructuras semejantes a clamidosporas (Cl). Como característica importante del hongo *Attamyces* sp. se observan las gongylidias (Gl), (1000 X).

3.6 EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE LAS HORMIGAS *A. cephalotes* FRENTE A LA CONTAMINACIÓN DEL JARDÍN DEL HONGO.

3.6.1 Mantenimiento del jardín en una colonia de *A. cephalotes* en condiciones de laboratorio. Las observaciones realizadas durante la primera fase del etograma inicial, fueron aquellas relacionadas con las actividades de siembra y cuidado del jardín de acuerdo con lo reportado por Hölldobler y Wilson (1990) y Weber (1972). Inicialmente, las hormigas de tamaño mediano cortan las hojas y las llevan hasta la cámara del jardín, en algunas ocasiones se observa que dejan las hojas por varias horas antes de comenzar a procesarlas, este trabajo es realizado por las obreras de tamaño mediano (entre 1.21 y 1.46 mm de ancho céfalico (A.C.)), mientras los pedazos de hojas cortadas son subidos al jardín, obreras mínimas (0.54 - 0.89 mm, A.C.) van limpiado la superficie de la hoja.

Posteriormente, las obreras medianas comienzan a cortar los trozos en fragmentos más pequeños, por lo menos dos cortes se realizan, y junto con obreras mínimas toman pedazos pequeños de las hojas y los comienzan a morder a lo largo del borde, con el fin de que se forme una especie de pulpa, después obreras mínimas toman la pieza de la hoja procesada y con pequeños movimientos de las patas delanteras y las mandíbulas colocan el fragmento de la hoja dentro del sustrato. Finalmente, estas mismas obreras arrancan pedazos pequeños del hongo (grupos de hifas) del jardín y lo siembran en las hojas colocadas en el sustrato; en la tabla 10 se muestran las medidas correspondientes a el ancho céfalico y

longitud del cuerpo de las hormigas que se encuentran presentes en el jardín. Durante la mayor parte del tiempo, las hormigas, especialmente las mínimas, están limpiando el jardín, actividad que recibe el nombre de poda del jardín, en la figura 30 se observan todas las actividades realizadas durante los 15 días del ensayo.

Tabla 10. Medidas correspondientes al tamaño de las hormigas presentes en el jardín, longitud del cuerpo (L. C.) y ancho céfalico (A. C.).

Tamaño	Medias promedio (L. C.) (mm)	Desviación estándar (L. C.)	Medias promedio (A. C.) (mm)	Desviación estándar (A. C.)
Tamaño 1	1.702	0.086	0.540	0.035
Tamaño 2	2.882	0.165	0.895	0.106
Tamaño 3	3.978	0.218	1.214	0.054
Tamaño 4	4.908	0.281	1.463	0.041

* Número de observaciones 20

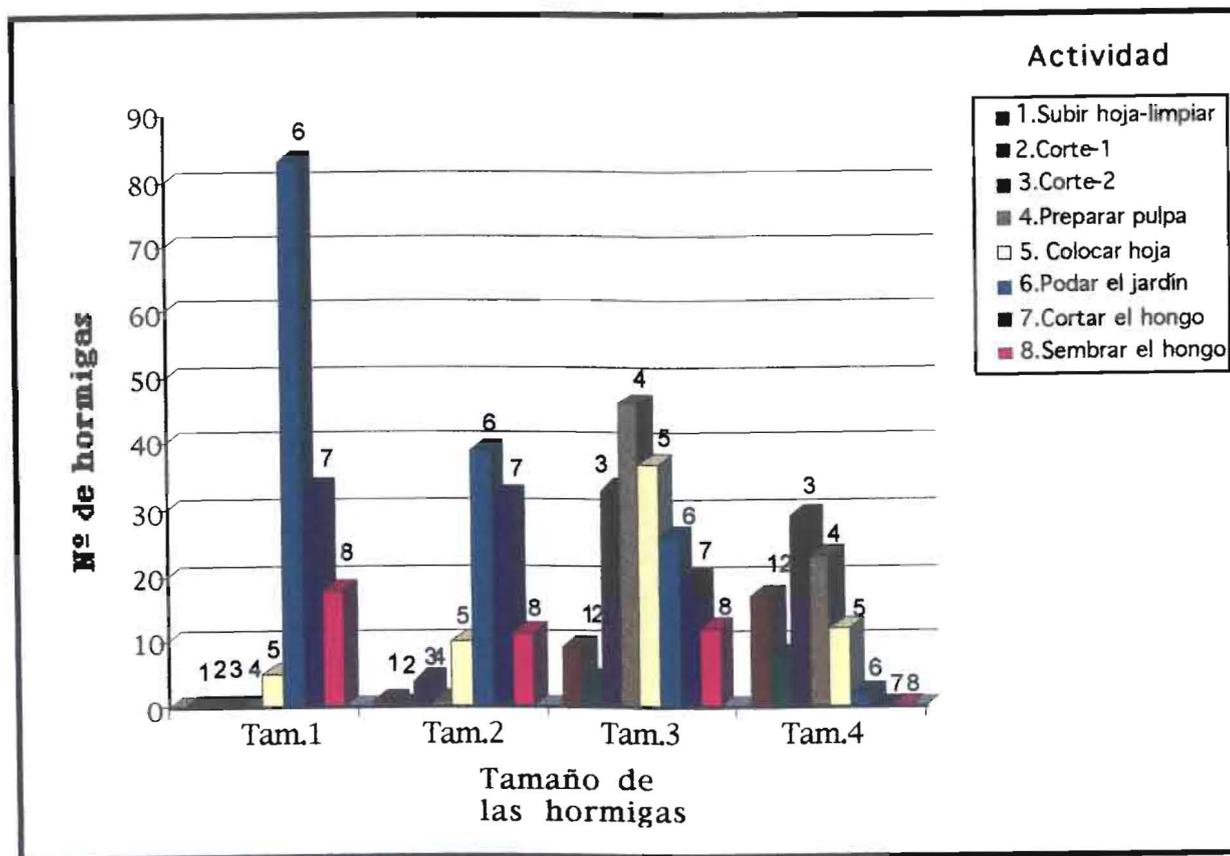


Figura 30. Actividades realizadas por *A. cephalotes* durante el mantenimiento del jardín, en un hormiguero de laboratorio

La observación de la figura 30, permite deducir que las hormigas de tamaño 1 (0.54 mm A.C.), realizan actividades que están más relacionadas con el manejo del micelio como son, la poda, colocación del fragmento de la hoja en el sustrato, recolección del micelio del hongo y siembra del hongo en los fragmentos de las hojas.

Las hormigas de tamaño 2 (0.89 mm A.C.), ejecutan las mismas actividades que las hormigas de tamaño 1, las que están muy relacionadas con el manejo del micelio; no obstante, se observaron algunas hormigas en las actividades de limpieza de la hoja y corte de la hoja en pedazos mas pequeños (corte 2).

Las hormigas de tamaño 3 (1.21 mm A.C.), están presentes en todas las actividades, especialmente en el corte de hojas (1 y 2), en la preparación de la pulpa, y posteriormente incorporación del fragmento de la hoja en el sustrato.

Las hormigas de tamaño 4 (1.46 mm A.C.), realizan principalmente las labores que están mas relacionadas con la preparación de la hoja, como son subir la hoja al jardín, cortar la hoja en pedazos más pequeños, colocar el fragmento de hoja en el sustrato y esporádicamente se observaron realizando actividades como poda del jardín. Las actividades de corte y siembra del hongo no fueron realizadas, por hormigas de este tamaño.

De acuerdo con el análisis de las correlaciones entre los diferentes tamaños de las hormigas, se pudo observar que existe una correlación de 0.92 con ($P < 0.0002$) entre las actividades efectuadas por las hormigas de tamaño 1

y 2 y una correlación entre las actividades llevadas a cabo por el tamaño 3 y 4 de 0.78 ($P < 0.008$). Sin embargo, no existe correlación entre las actividades realizadas por las hormigas de tamaño 1 y 2 con las de tamaño 3 y 4.

3.6.2 Contaminación del jardín con la cepa (T-26) de *T. lignorum*. Posteriormente, se ejecutó el mismo experimento pero con el diseño propuesto por Bass y Cherrett (1994). Inicialmente, se realizó un ensayo con el fin de conocer si las labores antes realizadas en el jardín durante el etograma inicial continuaban siendo las mismas o si sufrían alguna modificación cuando se trasladaban a cajas de petri para realizar las evaluaciones con los tratamientos. Básicamente, las actividades de siembra y cosecha del jardín no se registraron aunque si se observó corte de hojas pero estas no fueron posteriormente cortadas en pedazos **mas** pequeños ni procesadas para elaborar el sustrato, las tareas se concentraron en aquellas relacionadas con la descontaminación del jardín como son la poda y el corte del hongo del jardín, adicionalmente se registraron dos actividades a las cuales se les dió el nombre de sacar el hongo del jardín y tomar líquido (figura 31).

Actividades registradas:

1. Tomar líquido.
2. Podar el jardín.
3. Cortar el hongo del jardín.
4. Sacar el hongo del jardín.

La actividad de poda del jardín fue ejecutada por hormigas de los cuatro tamaños, como se ve en la figura 31, observándose un incremento de esta actividad con los tamaños 1 y 2. La actividad 3 también fue ejecutada por

hormigas de todos los tamaños, pero en menor proporción. Finalmente se pudo observar que actividades que usualmente no son realizadas por hormigas del tamaño 4, como es podar el jardín, fueron efectuadas cuando las condiciones del jardín fueron alteradas. En general, la principal actividad que se llevó a cabo fue la poda del jardín.

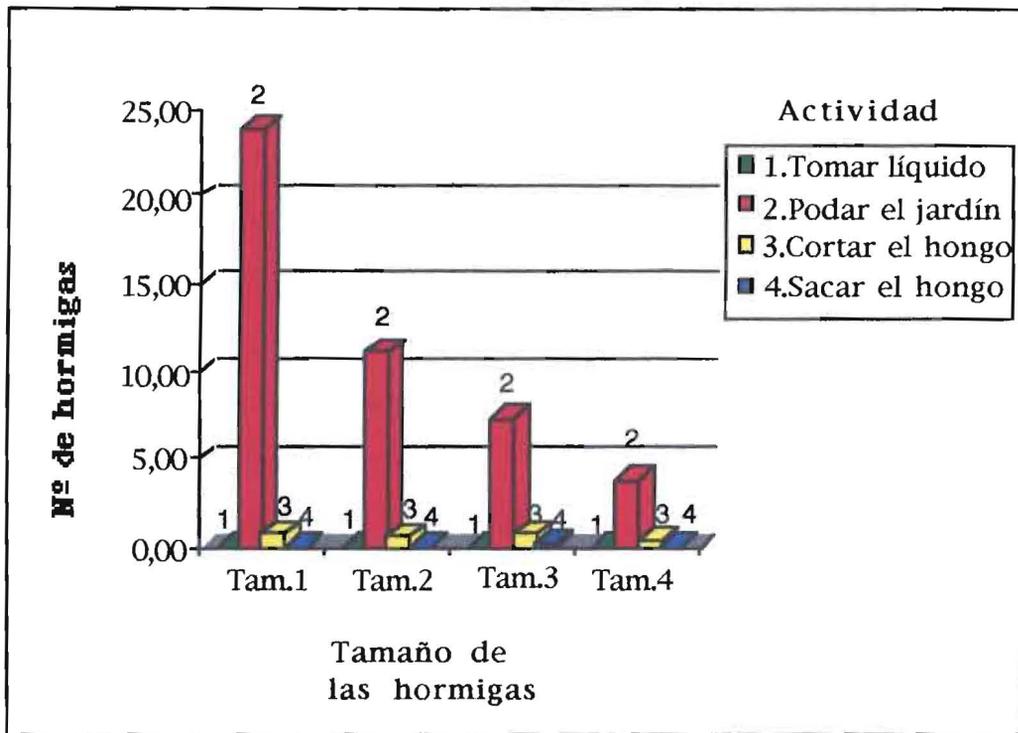


Figura 31. Actividades realizadas por *A.cephalotes* en condiciones diferentes a las del hormiguero en el laboratorio, sin la presencia de la reina y sin adicionar ningún contaminante.

Durante la segunda fase del ensayo, se evaluó el comportamiento de las hormigas cuando el jardín fue contaminado con los diferentes tratamientos, *T. lignorum* en la concentración de 10^3 , 10^6 , 10^8 conidias/ml, y un tratamiento control los cuales fueron comparados mediante un análisis de varianza para conocer si había diferencia en la respuesta de comportamiento de las hormigas con diferente tamaño, y posteriormente

se estudió si había diferencias entre las actividades realizadas por las hormigas de un tamaño determinado en cada tratamiento y los datos fueron analizados por medio de la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) (Statsoft, 1992).

El comportamiento de las hormigas fue variando durante los diferentes tratamientos, algunas actividades fueron ejecutadas por un mayor número de hormigas, e incluso se observó cómo hormigas de tamaños medianos realizaban actividades que usualmente no son ejecutadas por ellas como se observa en las figuras (32, 33, 34, 35). El tratamiento control, al igual que el ensayo previo presentó un mayor número de hormigas de los 4 tamaños realizando las tareas de descontaminación del jardín, principalmente las actividades de poda del jardín y corte de el hongo. Las hormigas de tamaño 2 y 3 son las que ejecutan la actividad de la poda en mayor proporción (figura 32).

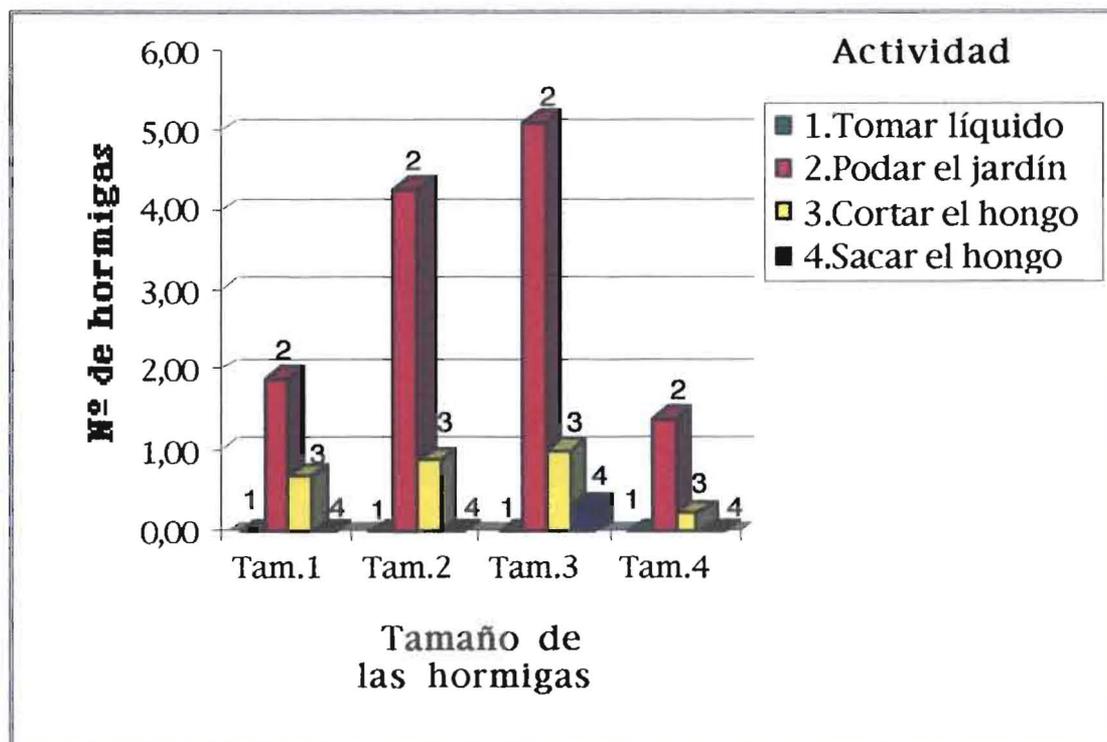


Figura 32. Actividades realizadas por *A. cephalotes* sin adicionar ningún contaminante, tratamiento control.

Durante el tratamiento con la cepa T-26 de *T. lignorum*, 10^3 conidias/ml, la actividad de podar el jardín fue realizada por las hormigas de todos los tamaños, especialmente por las hormigas de los tamaños 3 y 4 y se observó un incremento significativo en la realización de esta actividad por las hormigas del tamaño 4. Posterior a la inoculación con T-26, se observó una actividad no registrada anteriormente como fue ingerir líquido para luego expulsarlo fuera de la caja, esta actividad fue realizada por las hormigas de todos los tamaños especialmente por las hormigas de los tamaños 3 y 4 (figura 33).

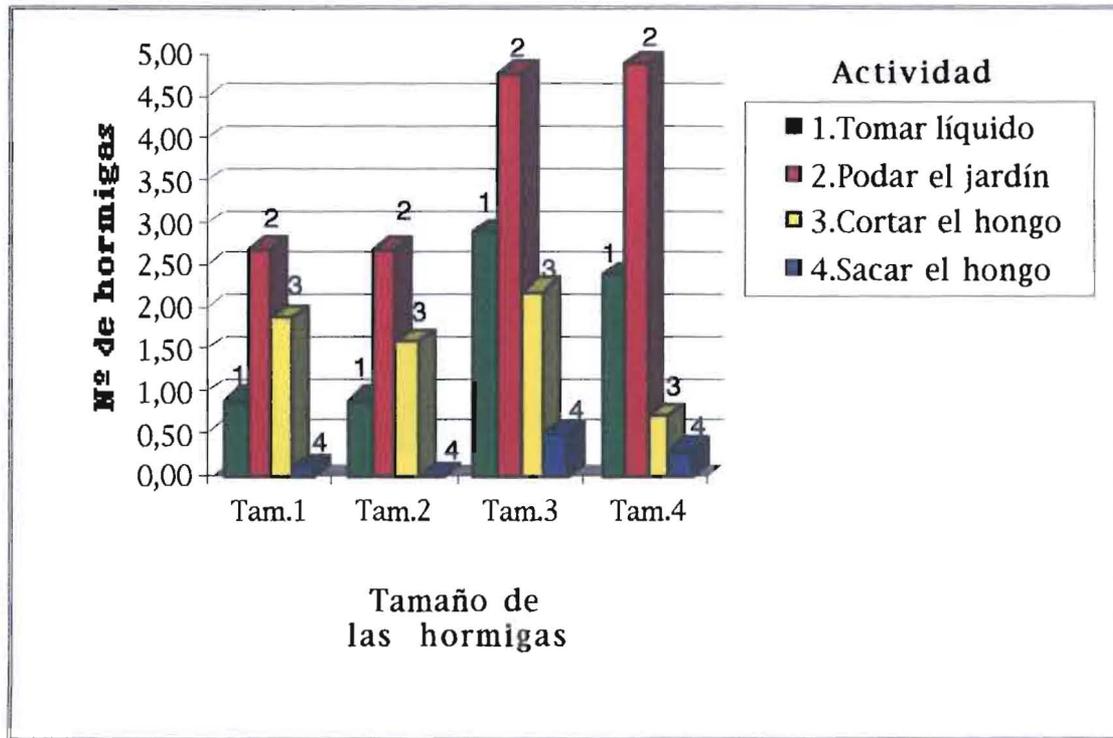


Figura 33. Actividades realizadas por *A. cephalotes* bajo tratamiento de *T. lignorum* (T-26) en una concentración de 10^3 conidias/ml.

En el tratamiento con la cepa T-26 de *T. lignorum*, 10^6 conidias/ml, la actividad de poda siguió siendo la más representativa; igualmente se observó como el consumo del líquido por parte de las hormigas de los diferentes tamaños fue otra de las actividades importantes, las hormigas de tamaño 3 y tamaño 4 fueron las que más colaboraron en estas actividades; cortar el hongo y sacarlo del nido fueron las actividades que realizaron en menor proporción (figura 34).

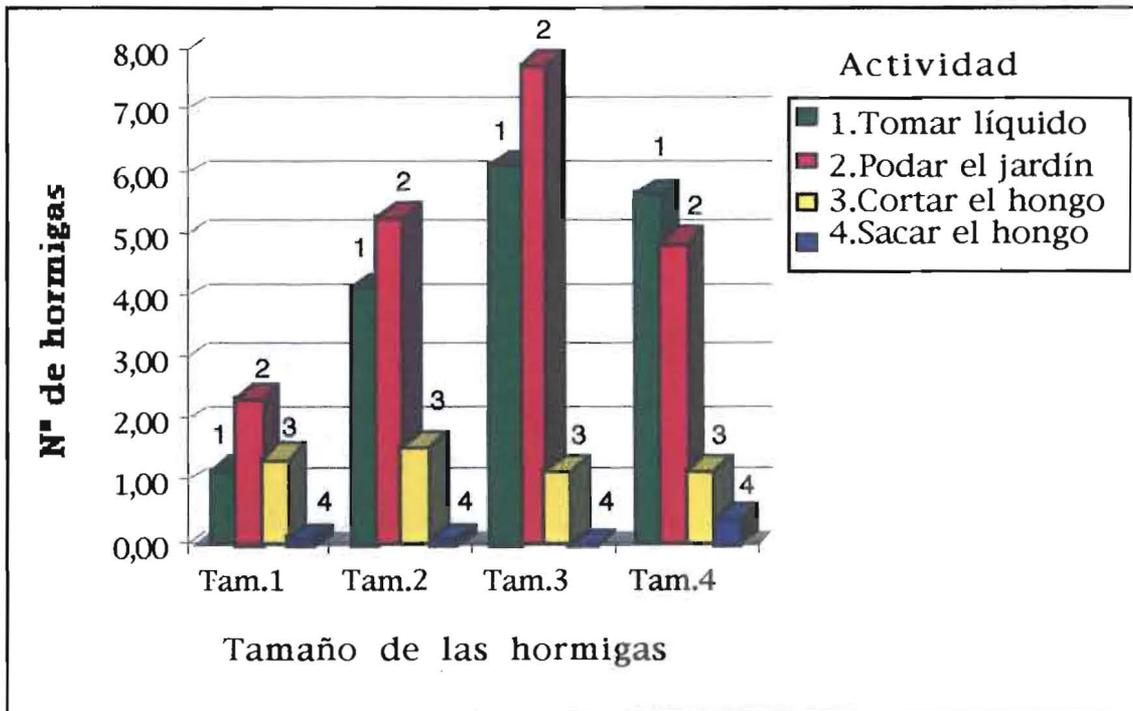


Figura 34. Actividades realizadas por *A. cephalotes* bajo tratamiento de *T. lignorum* (T-26) en una concentración de 10^6 conidias/ml.

En el tratamiento con la cepa T-26 de *T. lignorum*, 10^8 conidias/ml, la actividad de tomar líquido se redujo, la principal actividad fue la de podar el jardín, especialmente por las hormigas de tamaño 3. Aunque el número de hormigas que participaron de las actividades fue menor, comparado con los otros tratamientos (figura 35).

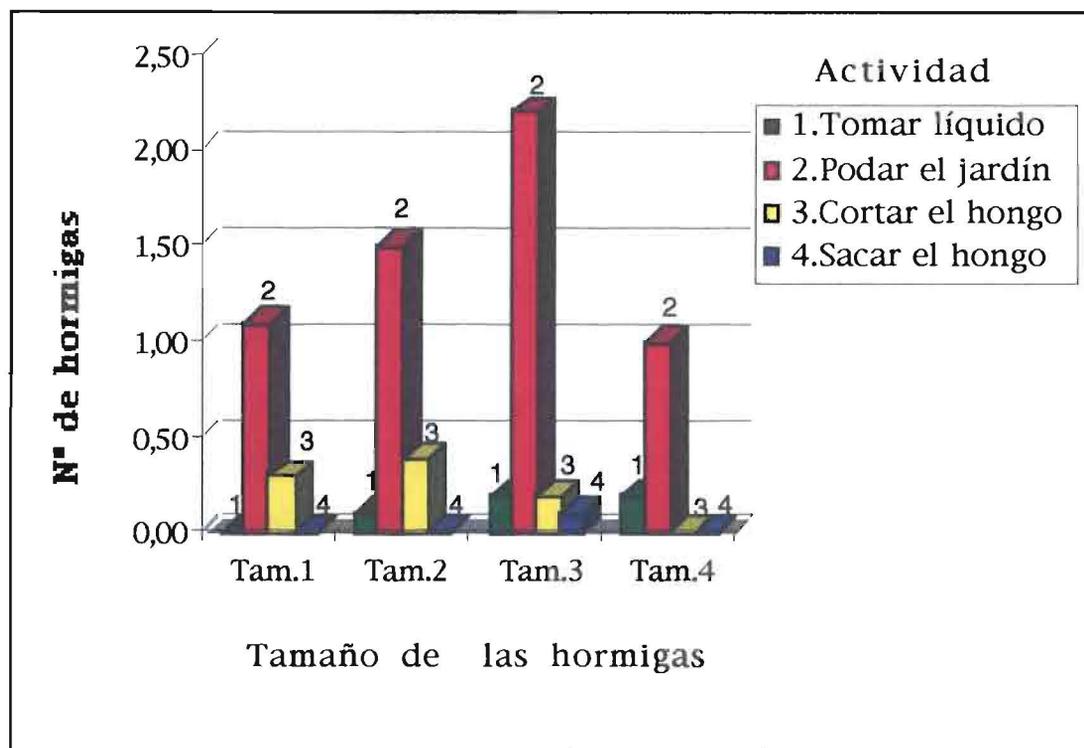


Figura 35. Actividades realizadas por *A. cephalotes* bajo tratamiento de *T. lignorum* (T-26) en una concentración de 10^8 conidias/ml.

Durante este trabajo se encontró que la mayoría de las hormigas se concentraron en las actividades de podar el jardín e ingerir el inóculo, en la tabla 11 se observa el porcentaje de hormigas presentes en cada una de las actividades durante su evaluación con el etograma inicial y los 4 tratamientos, el porcentaje de hormigas que se encontró realizando la actividad poda del jardín durante el etograma inicial fue del 29.12 %; sin embargo, cuando se cambiaron las condiciones y se adicionaron los tratamientos con el antagonista (T-26), el porcentaje de hormigas que participaron de esta actividad fue cambiando; en el tratamiento control la mayor parte de las hormigas se encontraban podando el jardín (80.37 %), pero cuando se adicionó el inóculo con el antagonista (T-26), un porcentaje alto de hormigas comenzaron a ejecutar esta actividad, como se observa en los tratamientos con la cepa (T-26) de *T. lignorum* con una concentración de 10^3 conidias /ml (24.06 %) y *T. lignorum* con una

concentración de 10^6 conidias /ml (39.58 %); igualmente un porcentaje alto de hormigas se encontraron podando el jardín en los tratamientos de *T. lignorum* con una concentración de 10^3 conidias /ml (51.18 %) y *T. lignorum* con una concentración de 10^6 conidias /ml (46.68 %). En el tratamiento T-26 con una concentración de 10^8 conidias/ml, el porcentaje de hormigas ingiriendo el inóculo fue menor (6.84 %), debido a que se presentó una alta mortalidad, no obstante, las hormigas que sobrevivieron se observaron podando el jardín (79.45 %). Las otras dos actividades, cortar el hongo del jardín y sacarlo para trasladarlo de lugar fueron realizadas por un menor porcentaje de hormigas, especialmente la última actividad (tabla 11).

Tabla 11. Porcentaje de obreras presentes durante la evaluación de su comportamiento frente a la contaminación del jardín.

Tratamiento	Tomar líquido (%)	Podar el jardín (%)	Cortar el hongo (%)	Sacar el hongo (%)
Etograma inicial	0	29.12	16.50	0
Control	0	80.37	17.72	1.89
T-26 10^3 conidias/ml	24.06	51.18	21.69	3.05
T-26 10^6 conidias/ml	39.58	46.68	12.35	1.14
T-26 10^8 conidias/ml	6.84	79.45	4.10	1.36

Los resultados obtenidos mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) se observan en la tabla 12, cada una de las actividades ejecutadas por las hormigas está acompañada de una letra (a,b,c,d) y las actividades que presentaron diferencias significativas están indicadas por letras que representan las actividades entre paréntesis al lado del número promedio de hormigas que se encuentran presentes durante la evaluación.

Se observa que las actividades 1-2, 2-3 y 2-4 presentaron diferencias significativas en casi todos los tratamientos y entre las hormigas de los diferentes tamaños, esto se debe a que la mayoría de las hormigas de los

diferentes tamaños se concentraron en mayor número a realizar la actividad de podar el jardín, no se observó diferencia en el tratamiento 10^6 conidias/ml entre las actividades 1-2 debido a que la actividad de ingerir el inóculo fue ejecutada por un alto número de hormigas durante este tratamiento. Las diferencias significativas entre las actividades 1-3 y 1-4 básicamente se presentan por el número de hormigas que participan en cada una de las actividades, siendo mayor el número de hormigas que participan de la actividad de tomar líquido, en las actividades que son ejecutadas en menor proporción por las hormigas de todos los tratamientos evaluados se observan diferencias significativas entre las actividades 3-4 siendo la actividad 3 la que un mayor número de hormigas realizaron (tabla 12).

Tabla 12. Número promedio de hormigas presentes durante la evaluación de comportamiento frente a la contaminación del jardín con la cepa T-26 de *T. lignorum*.

Tamaño	Tratamiento	Actividades (número promedio de hormigas)			
		1 Tomar líquido (a)	2 Podar el jardín (b)	3 Cortar el hongo (c)	4 Sacar el hongo (d)
1	Control	0.00(ab)(ac)	1.90(ab)(bc)	0.70(ac)	0.00(bd)(cd)
2		0.00(ab)(ac)	4.30(ab)(ba)	0.90(ac)	0.00(bd)(cd)
3		0.00(ab)(ac)	5.10(ab)(bc)	1.00(ac)	0.30(bd)
4		0.00(ab)	1.40(ab)(bc)	0.20	0.00(bd)
	T-26 10 ³ conidias/ml				
1	T-26 10 ³ conidias/ml	0.90(ab)	2.70(ab)	1.90	0.10(bd)(cd)
2		0.90(ab)	2.70(ab)(bc)	1.60(bc)	0.00(bd)(cd)
3		2.90(ab)(ad)	4.80(ab)(bc)	2.20(bc)	0.50(ad)(bd)(cd)
4		2.40(ab)(ad)	4.90(ab)(bc)	0.70(bc)	0.30(ad)(bd)
	T-26 10 ⁶ conidias/ml				
1	T-26 10 ⁶ conidias/ml	1.20(ab)(ad)	2.40(ab)	1.40	0.10(ad)(bd)
2		4.20(ac)(ad)	5.30(bc)	1.60(ac)(bc)	0.10(ad)(bd)(cd)
3		6.20(ac)(ad)	7.80(bc)	1.20(ac)(bc)	0.00(ad)(bd)
4		5.70(ac)(ad)	4.90(bc)	1.20(ac)(bc)	0.40(ad)(bd)
	T-26 10 ⁸ conidias/ml				
1	T-26 10 ⁸ conidias/ml	0.00(ab)	1.10(ab)(bc)	0.30(bc)	0.00(bd)
2		0.10(ab)	1.50(ab)	0.40(cb)	0.00(bd)
3		0.20(ab)	2.20(ab)(bc)	0.20(bc)	0.10(bd)
4		0.20(ab)	1.00(ab)(bc)	0.00(bc)	0.00(bd)

*Los promedios acompañados con los pares de letras entre parentesis son los que presentan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), teniendo en cuenta las actividades realizadas y el tamaño de las hormigas.

3.6.3 Evaluación del peso de las cajas con *Attamyces* sp. durante la evaluación con la cepa T-26 de *T. lignorum*, con y sin la presencia de hormigas. Los resultados de las evaluaciones de los pesos de las cajas con la presencia de hormigas están indicados en la tabla 13, se encontró que existía diferencia significativa entre los pesos de los tratamientos control y el tratamiento T-26, 10³ conidias /ml, control y

el tratamiento T-26, 10^6 conidias /ml, control y el tratamiento T-26, 10^8 conidias /ml, y el tratamiento T-26, 10^3 conidias/ml y el tratamiento T-26, 10^6 conidias/ml.

Tabla 13. Evaluación del peso promedio de las cajas con una parte del jardín y con la presencia de hormigas durante las evaluaciones con *T. lignorum*.

Tratamientos +Peso promedio de las cajas (gr)	p-nivel
Control (7.16) Vs T. 10^3 conidias/ml (7.93)	0.0464080*
Control (7.16) Vs T. 10^6 conidias/ml (7.82)	0.0464080*
Control (7.16) Vs 10^8 conidias/ml (7.89)	0.0464080*
T. 10^3 conidias/ml (7.93) Vs T. 10^6 conidias/ml (7.82)	0.0277150*
T. 10^3 conidias/ml (7.93) Vs T. 10^8 conidias/ml (7.89)	0.6001831
T. 10^6 conidias/ml (7.82) Vs T. 10^8 conidias/ml (7.89)	0.1158614

* Significativo

+ El peso promedio de las cajas que corresponde al tratamiento se encuentra indicado entre parentesis al lado de cada tratamiento.

Número de repeticiones 5

Igualmente se analizaron los pesos de las cajas sin la presencia de hormigas, se encontró que existía diferencia significativa entre los pesos de los tratamientos: control y la cepa T-26 de *T. lignorum*, 10^3 conidias /ml, control y la cepa T-26 de *T. lignorum*, 10^6 conidias /ml, control y la cepa T-26 de *T. lignorum*, 10^8 conidias /ml, y la cepa T-26 de *T. lignorum*, 10^3 conidias /ml, y la cepa T-26 de *T. lignorum*, 10^8 conidias /ml, (tabla 14).

Tabla 14. Evaluación del peso promedio de las cajas con una parte del jardín y sin la presencia de hormigas durante las evaluaciones con *T. lignorum*.

Tratamientos +Peso promedio de las cajas (gr)	p-nivel
Control (7.04) Vs T10 ³ conidias/ml (7.89)	0.0277150 *
Control (7.04) Vs T10 ⁶ conidias/ml (7.93)	0.0464080 *
Control (7.04) Vs T10 ⁸ conidias/ml (7.94)	0.0277150 *
T10 ³ conidias/ml (7.89) Vs T10 ⁶ conidias/ml (7.93)	0.1729646
T10 ³ conidias/ml (7.89) Vs T10 ⁸ conidias/ml (7.94)	0.0747450 *
T10 ⁶ conidias/ml(7.93) Vs T10 ⁸ conidias/ml (7.94)	0.4630764

* Significativo

+ El peso promedio de las cajas que corresponde al tratamiento se encuentra indicado entre parentesis al lado de cada tratamiento.

Número de repeticiones 5

También se analizó si existía diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos con la cepa T-26 con y sin hormigas (figura 36). Se evaluaron mediante la prueba de rango con signo de Wilcoxon (Statsoft, 1992). Se encontró que entre los tratamientos control con y sin hormigas hay diferencia significativa, mientras que entre los otros tratamientos no se observaron diferencias (tabla 15).

Tabla 15. Evaluación del peso promedio de las cajas con una parte del jardín con presencia y sin presencia de hormigas durante las evaluaciones con *T. lignorum*.

Tratamientos +Peso promedio de las cajas (gr)	p-nivel
Control (c) (7.16) Vs Control (7.04)	0.0277150 *
T10 ³ (c) conidias/ml (7.93) Vs T10 ³ conidias/ml (7.89)	0.4630764
T10 ⁶ (c) conidias/ml (7.82) Vs T10 ⁶ conidias/ml (7.93)	0.1158614
T10 ⁸ (c) conidias/ml (7.94) Vs T10 ⁸ conidias/ml (7.89)	0.0464080

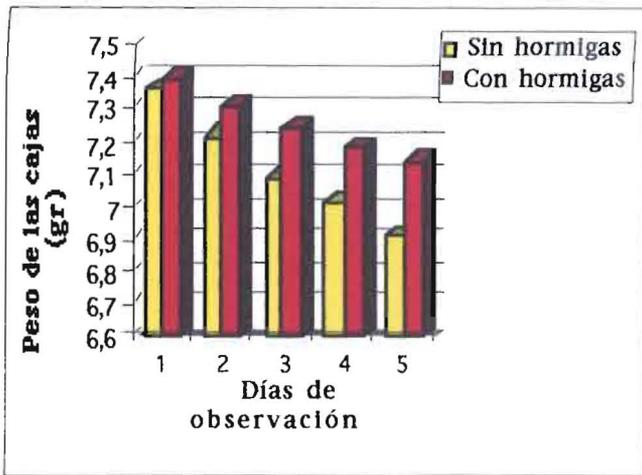
* Significativo

(c) Tratamientos con la presencia de hormigas

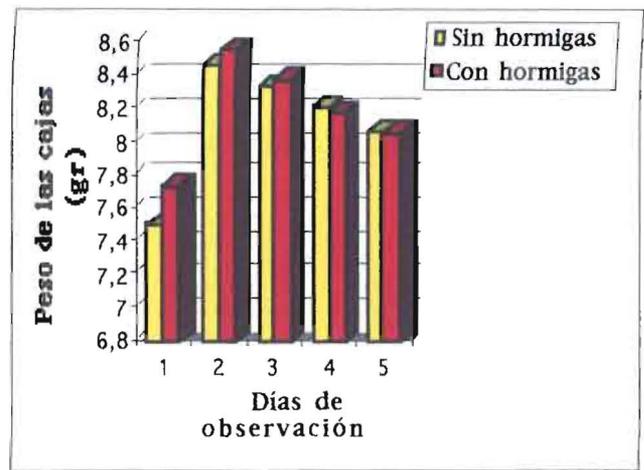
+ El peso promedio de las cajas que corresponde al tratamiento se encuentra indicado entre parentesis al lado de cada tratamiento.

Número de repeticiones 5

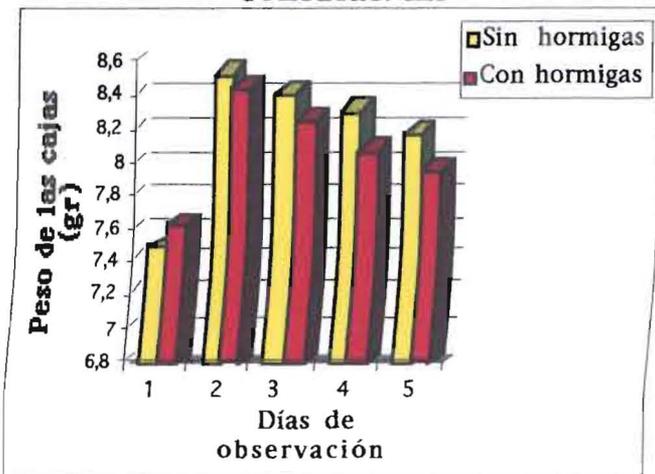
A. Tratamiento Control



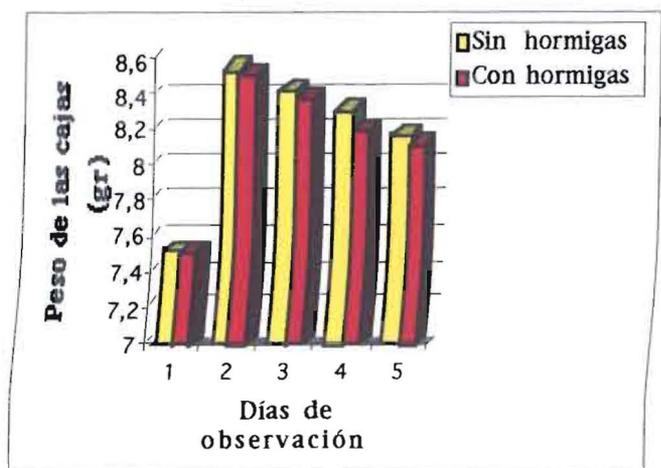
Correlación 0.94 control
 $P < 0.005$
 Diferencia significativa

B. Tratamiento T-26 10^3 conidias/ml

Correlación 0.98
 $P < 0.0002510$

C. Tratamiento T-26 10^6 conidias/ml

Correlación 0.98
 $P < 0.00044$

D. Tratamiento T-26 10^8 conidias/ml

Correlación 0.99
 $P < 0.000001$

Figura, 36 Peso promedio de las cajas con una parte del jardín con presencia y sin presencia de hormigas durante las evaluaciones con *T. lignorum* en las concentraciones ($10^3, 10^6, 10^8$ conidias/ml) y un tratamiento control.

Durante la evaluación del experimento se realizaron observaciones macroscópicas y microscópicas, sobre cada una de las cajas con los diferentes tratamientos con *T. lignorum* y el tratamiento control, con presencia y sin presencia de hormigas al 5º día del ensayo, en la tabla 16 se presenta un resumen de los resultados de las observaciones realizadas.

Tabla 16. Observaciones macroscópicas y microscópicas de las cajas con un fragmento de jardín de *A. cephalotes* durante las evaluaciones con *T. lignorum*.

Tratamiento	Con hormigas evaluación macroscópica		Sin hormigas evaluación macroscópica		Con hormigas evaluación microscópica		Sin hormigas evaluación microscópica	
	*	**	*	**	*	**	*	**
Control	+	0	-	c	<i>Attamyces</i> sp.	0	-	N. I
	0	0	-	-	0	0	-	-
	0	+	-	c	0	<i>Attamyces</i> sp.	-	<i>Escovopsis weberi</i>
	0	0	-	+	0	0	-	N. I
	0	0	c	c	0	0	<i>Aspergillus</i> sp.	0
T. 10³	c	c	c	c	<i>Rhizopus</i> sp.	Bacterias	T. 26	T. 26
	+	c	c	c	<i>Rhizopus</i> sp.	Bacterias	T. 26	T. 26
	+	c	c	c	<i>Attamyces</i> sp.	Bacterias	T. 26	<i>Fusarium</i> sp.
	+	c	c	c	<i>Rhizopus</i> sp.	Bacterias	T. 26	<i>E. weberi</i>
	+	+	c	c	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Attamyces</i> sp.	T. 26	T. 26
T. 10⁶	+	+	c	c	<i>Rhizopus</i> sp.	Bacterias	T. 26 y <i>Fusarium</i> sp.	N. I
	+	c	c	c	<i>Rhizopus</i> sp.	Bacterias	T. 26 y <i>Fusarium</i> sp.	T. 26, <i>E. weberi</i>
	+	0	c	c	<i>Rhizopus</i> sp.	0	T. 26 y <i>E. weberi</i>	T. 26
	+	c	c	c	<i>Rhizopus</i> sp.	Bacterias	T. 26	T. 26
	+	c	c	c	<i>Rhizopus</i> sp.	Bacterias	T. 26	T. 26
T. 10⁸	c	c	c	c	T. 26 y <i>E. weberi</i>	Bacterias	T. 26	T. 26
	c	c	c	c	T. 26 y N. I	Bacterias	T. 26	T. 26
	c	c	c	c	T. 26 y <i>E. weberi</i>	Bacterias	T. 26	T. 26
	c	c	c	c	T. 26 y <i>E. weberi</i>	Bacterias	T. 26	T. 26
	c	c	c	c	T. 26 y <i>E. weberi</i>	Bacterias	T. 26 y <i>Fusarium</i> sp.	T. 26

-, Hongo muerto; +, Normal; c, Contaminado

0, Vacío; N.I, No identificado

* Primera repetición (5 cajas)

** Segunda repetición (5 cajas)

3.7 BIOENSAYOS EN COLONIAS DE *Atta cephalotes* EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

Las seis colonias mantenidas en el laboratorio en las que se evaluó el área del jardín frente a la contaminación con *T. lignorum* (T-26) con una concentración de 10^8 conidias/ml, presentaron diferentes comportamientos, lo que generó una gran variación en los datos tomados, por lo que no fue posible realizar análisis estadístico; sin embargo, se tomaron datos cualitativos de cada una de las colonias durante los bioensayos.

La actividad normal dentro de los hormigueros, fue registrada como corte de hojas, presencia de hojas cortadas dentro del jardín, hongo de color gris en la superficie del jardín, hormigas activas.

La colonia 1: Con 2 años y medio de establecida, presentó 3 descensos en el área del jardín durante los días 2, 7 y 12; durante el 2° día la colonia disminuyó el corte de hojas, en el 3° día la colonia suspendió el corte de hojas. El hongo presentó un cambio de color el cual pasó de gris (característico de las partes nuevas) a crema y se observó un incremento en el número de hormigas muertas en el lugar destinado para la basura. El hormiguero continuó con una baja producción de hongo y la actividad siguió disminuída. Durante el 5° y 7° día se presentó un nuevo descenso en el área del jardín; es importante anotar que en el 5° día la mayoría de las crías (huevos, larvas y pupas) quedaron expuestas sobre la superficie del jardín, hasta el 7° día. Al día 8° se observó un cambio, y se comenzaron a cortar nuevamente hojas y las crías nuevamente fueron colocadas dentro de las cámaras. El último descenso se presentó en el día 12° y después la

colonia se fue recuperando nuevamente.

La colonia 10: Con 11 meses de establecida, el área del jardín y el corte de hojas comenzó a decrecer gradualmente, después de 24 horas de recibir el inóculo con el contaminante, la mayor actividad se concentró en la poda del jardín, durante el 3° y 4° día no se presentó corte de hojas por lo tanto el área del jardín disminuyó, presentándose un descenso en el área del jardín importante en el 6° día, después del 7° día la actividad regresó a la normalidad, posteriormente se presentaron dos descensos del área del jardín en los días 10° y 13°, sin embargo la actividad fue normal durante estos días.

La colonia 21: Con 4 meses de establecida, mostró 3 distintas disminuciones en el área del jardín en los días 2°, 8° y 13°. En el 2° día se observó que el corte de hojas se suspendió y continuo así hasta el 4° día, durante el 5° y 6° día se reactivo la actividad de corte. A partir del 7° día la actividad del hormiguero fue normal, no obstante, en el día 13° se presentó un descenso en el área del jardín.

La colonia 22: Con 4 meses de establecida, fue la colonia que presentó un mayor número de descensos en el área del jardín, (6), durante los días 2°, 4°, 6°, 9°, 11° y 12°. El corte de hojas por parte de las hormigas se suspendió a partir de 2° día hasta el 4°, posteriormente durante los días 5° y 6° la colonia comenzó nuevamente a cortar hojas pero en poca cantidad y se pudo observar en el jardín hongo nuevo. Después del 7° día el hormiguero presentó actividad normal, las otras disminuciones del área del jardín se presentaron en los días 9°, 11° y 12°.

La colonia 23: Con 4 meses de establecida, fue una de los hormigueros que se dejaron como control, el primer descenso del área del jardín se presentó al 2º día, sin embargo el área del jardín siguió aumentando hasta el día 5º, cuando se presentó nuevamente un descenso en el área del jardín durante los días 6º hasta 8º, posteriormente el área del jardín se incremento hasta el día 9º. En el 9º día nuevamente disminuyó hasta el día 12º, para luego comenzar a aumentar en forma gradual.

La colonia 5: Con 1 año y 10 meses de establecida, tuvo solamente dos descensos del área del jardín, el primero se presentó en el 2º día, pero esto se debió a que durante el primer día la cámara del jardín se pasó de recipiente debido a que presentó mucha humedad dentro de la cámara, la segunda disminución se observó al 6º día pero luego comenzó a incrementar el área del jardín gradualmente.

La variabilidad de los resultados, no nos permitió realizar un análisis estadístico de los datos obtenidos. Sin embargo, se observó que la respuesta del comportamiento al momento de adicionar el inóculo del hongo antagonista fue semejante al obtenido con el experimento anterior (contaminación del jardín con la cepa T-26 de *T. lignorum*), como fue suspender el corte de las hojas, producción de hongo nuevo y aumento en la mortalidad de las hormigas, también se observó a la mayor parte de las hormigas podando el jardín. Todos los hormigueros evaluados presentaron un patrón de comportamiento muy parecido, aunque el hormiguero 1 fue el único que dejó las crías expuestas sobre el jardín por 3 días, todos los hormigueros se fueron recuperando hasta que finalmente regresaron a su actividad normal. Es importante analizar que los dos hormigueros que fueron dejados como control, también presentaron fluctuaciones en el área

de los jardines. Sin embargo, en este caso la actividad continuaba siendo normal.

4. DISCUSIÓN

4.1 EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LOS ANTAGONISTAS *Trichoderma* sp. Y *Gliocladium* sp., CONTRA EL HONGO *Attamyces* sp.

La variación en el porcentaje de inhibición de los aislamientos de *Trichoderma* sp. y *Gliocladium* sp. sobre el hongo simbiote de la hormiga, *Attamyces* sp. muestra que existe diferencia estadística entre ellos. El 82.6 % de las evaluaciones de antagonismo registró actividad inhibitoria sobre el crecimiento de *Attamyces* sp., los mecanismos o factores asociados a la inhibición pueden ser múltiples, sin embargo, es importante tener en cuenta el rápido crecimiento de los antagonistas (3 a 4 días), comparado con el lento crecimiento de *Attamyces* sp. (12 semanas), esto pudo influir en la competencia por el sustrato el cual corresponde al mecanismo de acción más simple utilizado por estos dos géneros. De acuerdo con los resultados obtenidos, es difícil definir la secuencia de los mecanismos de acción de cada antagonista sobre el hospedero, debido a que en muchas ocasiones se presenta la combinación de varios mecanismos como es el caso de *G. virens*, el cual puede antagonizar e inhibir a *Fusarium* sp. por competencia de los dos hongos, por nutrientes o antibiosis ejercida por el micoparásito sobre el huésped o