

EFFECTIVIDAD DE CEBOS FORMULADOS CON ESPORAS DE *Beauveria bassiana* (Bals.) PARA EL CONTROL DE *Solenopsis invicta* Buren

Tomás G. Zoebisch*
Jerry L. Stimac**

ABSTRACT

Baits and traps formulated with spores of *Beauveria bassiana* (Bals.) were tested under laboratory conditions to control red fireants (*Solenopsis invicta* Buren). Before adding spores to bait particles, preference tests were done to select the most attractive baits. Baits made out of corn or wheat particles with 15% or 30% soybean oil were the most attractive and were used in experiments with spores of *B. bassiana*. Regardless of the formulation, baits formulated with *B. bassiana* spores performed poorly since they were not attractive to fireants (highest proportion of infected ants (33.9%) after 168 h observed using a corn grit bait adding spores before soybean oil). In contrast, using *B. bassiana* spores as traps and corn grit particles with soybean oil as baits were more effective (up to 72.1% infection after 168 h).

RESUMEN

Se desarrollaron cebos y trampas formuladas con partículas de maíz y trigo y esporas de *B. bassiana* (Bals.) bajo condiciones de laboratorio para controlar la hormiga *Solenopsis invicta* Buren. Antes de añadir las esporas a los cebos, se hicieron experimentos de preferencia. Los cebos más atractivos fueron aquellos formulados con aceite de soya al 15% o 30%. Independientemente de la formulación, los cebos con esporas de *B. bassiana* fueron poco efectivos (el porcentaje acumulativo más alto (33.9%) fue observado después de 168 h usando partículas de maíz a las cuales se le añadieron las esporas antes del aceite de soya). En cambio, utilizando las esporas de *B. bassiana* como trampa y las partículas de maíz como cebo, se obtuvieron infecciones de hasta el 72.1% después de 168 h.

INTRODUCCION

La hormiga roja, *Solenopsis invicta* Buren, fue introducida accidentalmente a los Estados Unidos de América por Mobile, Alabama, hace aproximadamente 45 años. Se dispersó con rapidez y ocupa actualmente un área de 100 millones de hectáreas en nueve estados del sur y Puerto Rico (Banks et al. 1985).

Programas de control a gran escala de *S. invicta* Buren se iniciaron a principio de los sesentas con cebos formulados con el insecticida mirex (Banks et al. 1973). El 30 de junio de 1978 se canceló el registro de mirex por la EPA (Environmental Protection Agency) debido a:

- Descubrimiento de residuos de mirex en el ambiente (Ludke et al. 1971).
- Registro de toxicidad a organismos estuarinos (Lowe et al. 1970).
- Propiedades carcinogénicas (Innes et al. 1969).

Banks et al. (1985) demostraron que los cebos formulados con Amdro^R (American Cyanamid) eran muy efectivos para el control de *S. invicta*. La formulación de estos cebos consistió básicamente en partículas de maíz, aceite de soya y Amdro^R.

Stimac et al. (1989) demostraron que esporas de *B. bassiana* mezcladas con arroz a una concentración de 1.4×10^{15} UFC (unidades formadoras de colonias) tenían una eficacia promedio de 80% de mortalidad de los hormigueros.

Debido a que los cebos para controlar *S. invicta* han sido formulados con sustancias químicas, se hicieron pruebas de laboratorio para evaluar la eficacia de cebos formu-

* Especialista en Entomología. CATIE. Programa de Mejoramiento de Cultivos Tropicales, 7170 Turrialba, Costa Rica.

**Profesor. Departamento de Entomología y Nematología. Universidad de Florida, Gainesville, Florida, U.S.A.

lados con esporas de B. bassiana. Los cebos fueron obtenidos de la Compañía Evans BioControl, Sidwell Enterprises, localizada en Colorado, Estados Unidos. La información acerca de las formulaciones fue limitada ya que fueron desarrolladas por esta compañía privada.

MATERIALES Y METODOS

Se obtuvieron esporas de Beauveria bassiana de la colonia establecida en el laboratorio por el Dr. J.L. Stimac y por Roberto Pereira. La cepa cultivada fue la 447, aislada en 1988 por el Dr. J.L. Stimac y el Dr. S. Alves en S. invicta en Brasil.

Se ejecutaron seis experimentos bajo condiciones de laboratorio en el Departamento de Entomología y Nematología de la Universidad de Gainesville, Florida. El objetivo fue evaluar la preferencia de cebos con y sin esporas y para determinar la mortalidad acumulativa de cebos con esporas. Las hormigas utilizadas fueron obtenidas de colonias establecidas en el laboratorio con especímenes colectados en el área de Gainesville, Florida.

Experimentos con cebos

1^a) Se evaluó la preferencia de cebos formulados con partículas de maíz, trigo, y vermiculita con concentraciones del 5, 15, y 30% (por peso) de aceite de soya. Como control se utilizaron las mismas partículas sin aceite de soya.

Las unidades experimentales consistieron en 100 hormigas obreras colocadas en cajas de Petri de 14 cm de diámetro. En estas cajas se colocaron dos cajas de Petri de 2.5 cm de diámetro. Ambas tenían cuatro perforaciones laterales para permitir salida y entrada libre a las hormigas. Una de estas cajas, que servía como refugio/nido para las hormigas, tenía un fondo de yeso húmedo para proveer condiciones favorables a las hormigas. La otra contenía 0.25 g de cebo. Se llevaron a cabo en total tres repeticiones.

Las colonias de 100 hormigas se establecieron 24 horas antes de añadir el cebo con el fin de que se adaptaran a las nuevas condiciones. Para evaluar la aceptación de cebos, se añadió la caja de Petri con cebo a las 10:30 am. Se hicieron observaciones a los 20, 40 y 150 minutos. La aceptación se evaluó contando el número de hormigas que se localizaban en las cajas de Petri con cebo alimentándose del aceite de soya.

2^a) Se determinó la preferencia utilizando los cebos de trigo y maíz con 15% y 30%,

seleccionados en base a los resultados del experimento No.1. Se hicieron comparaciones en pares para determinar cuál de los cebos era el de mayor preferencia. Se realizaron dos repeticiones en total. Para determinar la preferencia, se observó el número de hormigas que se alimentaban del cebo.

Se colocaron 500 hormigas obreras en cajas de Petri de 8.75 cm de diámetro con yeso y cuatro perforaciones laterales. Estas colonias se colocaron (24 antes de exponerlas a los cebos) en bandejas de plástico de 70 cm (largo) por 30 cm (ancho) por 5.5 cm (alto) y las paredes internas cubiertas con una capa delgada de fluon para evitar la salida de las hormigas. Se utilizaron 0.5 g de cebo colocados en cajas de Petri, similares a las utilizadas en el experimento anterior.

3^a) Se evaluó la aceptación de cebos formulados con B. bassiana cultivada en partículas de soya y trigo con concentraciones de aceite de soya del 15% (cebos A1 y A2, respectivamente). Además se probó el cebo R15% añadiendo esporas de B. bassiana (cebo B1). El método de evaluación de aceptación fue similar al utilizado en el experimento No.2 aunque no se llevaron a cabo comparaciones en pares. Se contaron las hormigas cada 15 minutos por un período de 510 minutos. Se hicieron cuatro repeticiones en total utilizando el cebo R15% (sin esporas) como referencia.

En los cebos de A1 y A2 la concentración de unidades formadoras de colonias fueron de 2.9×10^8 UFC/g y en el cebo B1, 3.5×10^7 UFC/g. Además se determinó el porcentaje de hormigas infectadas después de dos semanas aislando las hormigas muertas y 20 hormigas vivas. Estas hormigas se depositaron en placas para cultivos de tejidos con 96 compartimientos. En cada uno se colocó una hormiga para evitar contaminación cruzada entre las hormigas infectadas. Estas placas se depositaron en cajas de plástico con papel humedecido para garantizar condiciones favorables para el hongo en una cámara con una temperatura promedio de 24°C. Para determinar el porcentaje de infección se hicieron las lecturas después de 7 días de incubación.

4^a) Con base en los resultados de este experimento la Compañía Evans desarrolló una formulación en la cual las esporas de B. bassiana (a una dosis de 10^{10} UFC/g) fueron añadidas después de agregar el aceite de soya a partículas de maíz (15% por peso). Los métodos fueron similares a los del experimento anterior, llevando a cabo 2 repeticiones. Se evaluó el porcentaje de hormigas infectadas después de 24, 48 y 168 horas (dos semanas) aislando hormigas muertas y 20 hormigas vivas en cada fecha de muestreo.

Experimentos con trampas

1^b) Como una alternativa al desarrollo de cebos, se utilizaron partículas de maíz como cebo y esporas de *B. bassiana* como trampa. En cajas de petri de 3 cm de diámetro se depositó un gramo de partículas de maíz con 15% de aceite de soya en el centro, rodeadas por un gramo de tierra de diatomitas con esporas mezcladas (10%). Se trataron 0.5 g de hormigas obreras (equivalente aproximadamente a 500 hormigas) bajo condiciones similares establecidas en el experimento No.3a, llevando a cabo 2 repeticiones. Se evaluó el porcentaje de hormigas infectadas después de 96 y 168 horas aislando hormigas muertas y 20 hormigas vivas en cada fecha de muestreo.

2^b) Como las hormigas tenían la capacidad de llevarse las partículas del cebo a la caja de petri que funcionaba como nido, se colocó el cebo en una de 2.5 cm de diámetro con una malla fina en la tapa para evitar el acceso a las hormigas. La metodología y evaluación fue similar a la utilizada en el experimento 1b.

RESULTADOS Y DISCUSION

De los cebos formulados con 5,15 y 30% de aceite de soya los más aceptados fueron los de maíz y trigo con 15 y 30% de aceite de soya (Cuadro 1).

Los cebos R15%, R30%, W15% y W30% fueron preferidos de igual manera durante la investigación, presentándose sólo una excepción a los 40 minutos en donde se encontraron significativamente más hormigas en el cebo R15% que en el cebo W15% (Cuadro 2).

La aceptación de los cebos A1, A2, B1 y R15% fue similar, aunque el cebo A2 fue el más aceptado durante la exposición. El promedio de hormigas que se alimentaron con estos cebos durante 510 minutos se presenta en el cuadro 3.

Con los cebos de maíz, añadiendo las esporas antes (cebo E) y después (cebo D) de exponer las partículas a aceite de soya (al 15%) se evaluó directamente la mortalidad y el nivel de infección después de 24, 48 y 168 horas. La concentración de esporas en los cebos fue de 10^{10} UFC/g y el cebo de referencia fue el R15% sin esporas.

Después de 24, 48 y 168 horas, la infección acumulativa en cebos con esporas fue significativamente mayor a la de las hormigas expuestas al cebo R15%. Como consecuencia, la mortalidad acumulativa fue similar a través del estudio. Sólo a las 48 horas el porcentaje

CUADRO 1. Aceptación de cebos de maíz (R), trigo (W) y vermiculita (V) con aceite de soya al 5%, 15% y 30%.

CEBO	PROMEDIO DE HORMIGAS OBSERVADAS
R	0.0c*
R5%	1.1bc
R15%	4.5a
R30%	4.4a
W	0.1c
W5%	2.1b
W15%	3.4a
W30%	3.8a
V	0.0c
V5%	0.0c
V15%	0.0c
V30%	0.0c

*Promedios con la misma letra no difieren significativamente en base a la prueba de rangos múltiples de Duncan ($P < 0.05$). Datos transformados a \sqrt{x} para el análisis estadístico, pero presentados en escala original.

CUADRO 2. Preferencia de cebos en base a las combinaciones en pares a través de 220 minutos.

TIEMPO (min.)	COMBINACION DE CEBO	PROMEDIO DE HORMIGAS
10	R30%/W30%	10.0a/ 5.0a*
	R30%/W15%	30.0a/31.5a
	R15%/R30%	20.1a/60.0a
	R15%/W30%	32.5a/31.0a
	R15%/W15%	31.5a/32.5a
	W15%/W30%	6.5a/ 5.5a
40	R30%/W30%	5.5a/ 7.5a
	R30%/W15%	49.5a/51.0a
	R15%/R30%	24.9a/60.0a
	R15%/W30%	60.0a/60.0a**
	R15%/W15%	60.0a/14.5b**
	W15%/W30%	9.0a/ 7.0a
70	R30%/W30%	10.5a/ 7.5a
	R30%/W15%	47.5a/50.0a
	R15%/R30%	60.0a/60.0a
	R15%/W30%	46.0a/57.0a
	R15%/W15%	49.0a/39.0a
	W15%/W30%	11.0a/ 7.5a
120	R30%/W30%	12.0a/ 4.5a
	R30%/W15%	49.0a/43.5a
	R15%/R30%	38.0a/40.0a
	R15%/W30%	39.5a/57.5a
	R15%/W15%	37.5a/38.0a
	W15%/W30%	8.0a/13.5a
220	R30%/W30%	7.5a/ 4.5a
	R30%/W15%	17.0a/18.0a
	R15%/R30%	11.0a/14.0a
	R15%/W30%	23.5a/39.0a
	R15%/W15%	21.5a/33.5a
	W15%/W30%	8.5a/ 6.0a

* Promedios con la misma letra horizontalmente no difieren significativamente en base a la prueba de student t ($P < 0.05$). Datos transformados a \sqrt{x} para el análisis estadístico, pero presentados en escala original.

**Observación única en la que se observó una diferencia significativa entre los cebos R15% y W15%.

de la mortalidad acumulativa con el cebo E, fue igual a la del cebo de referencia (R15%) (Cuadro 4).

Con los cebos formulados con (cebo L) y sin (cebo M) el lavado de los metabolitos de *B. bassiana* se obtuvieron resultados poco satisfactorios, ya que los niveles de infección acumulativa después de 168 horas fue muy bajo (Cuadro 5).

CUADRO 3. Promedio de hormigas observadas alimentándose de los cebos A1, A2 (partículas de soya y trigo, respectivamente, donde se cultivó *B. bassiana*) y B1 (partículas de maíz con esporas de *B. bassiana* añadidas), durante 510 minutos.

CEBO	PROMEDIO DE HORMIGAS OBSERVADAS
A1	14.2a*
A2	10.2ab
B1	6.2ab
R15%	4.7ab

*Promedios con la misma letra no difieren significativamente en base a la prueba de rangos múltiples de Duncan (P<0.05). Datos transformados a \sqrt{x} para el análisis estadístico, pero presentados en escala original.

CUADRO 4. Mortalidad e infección acumulativa de *S. invicta* después de 24, 48, y 168 h expuesta a los cebos formulados con esporas de *B. bassiana* añadidas antes y después del aceite de soya.

TIEMPO DE EXPOSICION (Horas)	MORTALIDAD ACUMULATIVA %	INFECCION ACUMULATIVA %
<u>Cebo D</u>		
24	14.8a	7.8a*
48	22.6a	10.6a
168	38.5a	20.7a
<u>Cebo E</u>		
24	20.3a	13.6a
48	29.7ab	19.1a
168	48.0a	33.9a
<u>Cebo R15</u>		
24	0.9b	0.0b
48	0.7b	0.0b
168	2.7b	0.0b

*Promedios con la misma letra verticalmente para el mismo período de tiempo no difieren significativamente en base a la prueba de rangos múltiples de Duncan (P<0.05). Datos transformados a $\sqrt{(x/100)}$ para el análisis estadístico (ANDEVA), pero presentados en escala original.

CUADRO 5. Mortalidad e infección acumulativa de *S. invicta* después de 24, 48, y 168 h expuesta a los cebos formulados con y sin el lavado de metabolitos de *B. bassiana*.

TIEMPO DE EXPOSICION (Horas)	MORTALIDAD ACUMULATIVA %	INFECCION ACUMULATIVA %
<u>Cebo L</u>		
24	7.3a	0.7ab*
48	13.4a	2.6a
168	20.5a	5.4ab
<u>Cebo M</u>		
24	5.4a	1.7ab
48	9.5ab	2.3a
168	17.8a	5.3a
<u>Cebo R15</u>		
24	5.9a	0.4b
48	10.3a	1.4ab
168	15.6a	1.4a

*Promedios con la misma letra verticalmente para el mismo período de tiempo no difieren significativamente en base a la prueba de rangos múltiples de Duncan (P<0.05). Datos transformados a $\sqrt{(x/100)}$ para el análisis estadístico (ANDEVA), pero presentados en escala original.

CUADRO 6. Mortalidad e infección acumulativa de *S. invicta* después de 96, y 168 h expuesta a las trampas con esporas de *B. bassiana* mezcladas con tierra de diatomitas al 50%.

TIEMPO DE EXPOSICION (Horas)	MORTALIDAD ACUMULATIVA %	INFECCION ACUMULATIVA %
<u>Trampa TB</u>		
96	19.8a	19.0a*
168	44.5a	43.1a
<u>Trampa RB</u>		
96	22.5a	21.4a
168	42.2a	40.2a
<u>Trampa CB</u>		
96	12.4ab	8.9a
168	23.2b	19.6b
<u>Trampa control</u>		
96	4.8b	0.1b
168	9.7b	0.1c

*Promedios con la misma letra verticalmente para el mismo período de tiempo no difieren significativamente en base a la prueba de rangos múltiples de Duncan (P<0.05). Datos transformados a $\sqrt{(x/100)}$ para el análisis estadístico (ANDEVA), pero presentados en escala original.

Las trampas con cebos dieron mejores resultados que los cebos formulados con esporas de *B. bassiana*. En el experimento

1b el cebo de maíz con 50% de aceite de soya rodeado de esporas de *B. bassiana* mezcladas con arroz (trampa RB) el porcentaje de infección después de 96 h alcanzó un nivel promedio de 21.4% y después de 168 h, 40.2% (Cuadro 6).

Con base en los resultados presentados en el cuadro 6, los cebos rodeados de esporas fueron los más efectivos.

Se obtuvieron resultados similares cuando los cebos sin acceso estaban rodeados de esporas mezcladas al 50% con tierra de diatomitas (cebo NA; cuadro 7).

En general, los cebos formulados con esporas de *B. bassiana* no fueron efectivos debido a que las hormigas no los aceptaron. En aquellos que fueron aceptados, los niveles de infección fueron muy bajos. Sin embargo, utilizando las esporas como trampa, se alcanzaron niveles de infección mucho más altos, indicando que para controlar *S. invicta* con *B. bassiana* usando cebos, se deben de desarrollar trampas que permitan que las hormigas tengan una gran probabilidad de contacto directo con las esporas. Otra alternativa de control sería el desarrollo de un sistema de inyección de esporas para aplicarlas directamente en el interior de los nidos, ya que las esporas de *B. bassiana* son muy sensibles a la luz ultravioleta. Sin embargo, actualmente ya se está trabajando con protectores de luz ultravioleta como NuFilm para mejorar la formulación con *B. bassiana*. □

CUADRO 7. Mortalidad e infección acumulativa de *S. invicta* después de 168 h, y 336 h expuesta a los cebos con y sin acceso, rodeados de esporas de *B. bassiana* mezcladas con tierra de diatomitas al 50%.

TIEMPO DE EXPOSICION (Horas)	MORTALIDAD ACUMULATIVA %	INFECCION ACUMULATIVA %
<u>Trampa C1*</u>		
168	27.5ab	0.0b**
336	39.7b	0.0b
<u>Trampa NA</u>		
168	55.9ab	45.7a
336	87.3a	68.0a
<u>Trampa A</u>		
168	64.3a	46.4a
336	92.6a	72.1a
<u>Trampa C2</u>		
168	4.5b	0.0b
336	12.6b	0.0b

* C1= cebo de maíz accesible rodeado de tierra de diatomitas; NA= cebo de maíz no accesible rodeado de tierra de diatomitas con esporas; A= cebo de maíz accesible rodeado de tierra de diatomitas con esporas; C2= cebo de maíz no accesible rodeado de tierra de diatomitas.

**Promedios con la misma letra verticalmente para el mismo periodo de tiempo no difieren significativamente en base a la prueba de rangos múltiples de Duncan (P<0.05). Datos transformados a $\arcseno \sqrt{X/100}$ para el análisis estadístico (ANDEVA), pero presentados en escala original.

LITERATURA CITADA

BANKS, W.A.; GLANCEY, B.M.; STRINGER, C.E.; JOUVENAZ, D.P.; LOFGREN, C.S. y WEIDHAAS, D.E. 1973. Imported fire ants: Eradication trials with mirex bait. J. Econ. Entomol. 66: 785-789.

BANKS, W.A.; LOFGREN, C.S. y WILLIAMS, D.F. 1985. Development of toxic baits for control of imported fire ants. Pesticide Formulations: Fourth Symposium. Special Technical Testing Publication 875. p. 133-143.

INNES, J.R.; ULLANDS, B.M.; VASSLERIO, M.G.; PETRUCELLI, L.; FISHBEIN, L.; HART, E.R.; PALLATTA, A.J.; BATES, R.R.; FALLS, H.L.; GART, J.J.; KLEIN, M.; MITCHELL, I.U. y PETERS, J. 1969. Bioassay of pesticides and industrial chemicals for tumorigenicity in mice: a preliminary note. J. Natl. Cancer Inst. 42: 1101-1104.

LOWE, J.I.; PARRISH, P.R.; WILSON, JR., A.J.; WILSON, P.D. y DULSE, T.W. 1971. Effects of mirex on selected estuarine organisms. Trans. North American Wildl. Nat. Res. Conf. 36: 171-186.

LUDKE, J.L.; FINLEY, M.T. y LUSK, L. 1971. Toxicity of mirex to crayfish, *Procambarus blandingi*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 6: 89-96.

STIMAC, J.L.; ALVES, S.B. and CAMARGO, M.T.V. 1989. Controle de *Solenopsis* spp. (Hymenoptera: Formicidae) com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em condicoes de laboratorio e campo. An. Soc. Entomol. Brasil. 18(1): 95-103.

PUBLICACIONES EN VENTA(*)

Están a su disposición los siguientes documentos en sus temas de interés:

	COSTO UNIDAD		
• Guía para el Manejo Integrado de Plagas en el Cultivo de: (CATIE/MIP)		• Directorio de instituciones, técnicos y especialistas en fitoprotección en Centroamérica. (CATIE/MIP)	\$ 2.50
Maíz	\$ 9.50		
Repollo	\$ 9.50	• Bibliografía sobre aplicaciones de la informática en áreas de manejo integrado de plagas. (CATIE/MIP)	\$ 2.50
Tomate	\$ 9.50		
• Fitonematología, Guía de Laboratorio (Suckerman, B.M. et al. Trad. N. Marbán)	\$ 9.00	• Bibliografía sobre manejo integrado de plagas (CATIE/MIP)	\$ 2.50
• Plagas Invertebradas de Cultivos Anuales Alimenticios en América Central en América Central en Costa Rica (King, A.B.S. y Saunders, J.L.)	\$17.50 (\$16.00)	• Revista "Manejo Integrado de Plagas (Trimestral). Suscripción Anual	\$20.00
• Enfermedades de Cultivos en el Trópico (Thurston, H.D. Trad. J.J. Galindo)	\$12.00	• Páginas de Contenido MIP (Trimestral) Suscripción Anual	\$15.00



(*) Incluye costo de envío