

Anamorfos y cepas del hongo entomopatógeno *Cordyceps* en hormigas del bosque húmedo tropical del piedemonte putumayense¹

Anamorphs and strains from entomogenous fungi *Cordyceps* on ant's tropical rain forest from putumayense piedemonte

TATIANA SANJUAN², GERMÁN AMAT³, LUIS GUILLERMO HENAO⁴

Revista Colombiana de Entomología 27(1-2): 79-86 (2001)

Resumen. Los hongos entomopatógenos en Colombia han sido estudiados casi siempre desde la perspectiva del control biológico; hay poca información de su papel en ecosistemas conservados. Este trabajo estudió las especies de *Cordyceps*, sus anamorfos y cepas relacionadas que parasitan hormigas en la selva tropical. En los muestreos realizados en el piedemonte Amazónico colombiano (a 450 y 600 m, en enero y mayo de 1998) se recolectaron hormigas parasitadas en 100 m² (50 en cada período) en bosques con distintos regímenes de disturbio. Se revisó hojarasca, arbustos y troncos hasta 2 m de altura. Los inóculos se obtuvieron en campo a partir del celoma de hormigas parasitadas y estromas de *Cordyceps*; se sembraron en agar papa-dextrosa (PDA) y agua. Posteriormente, en el laboratorio se repicaron en diferentes medios hasta lograr su determinación. Las especies de *Cordyceps* halladas fueron *C. kniphofioides* var. *ponerinum*, con su anamorfo *Hirsutella stilbelliformis*, y *C. australis* en hormigas de la subfamilia Ponerinae; *C. lloydii* var. *binata* y *C. unilateralis* en hormigas *Camponotus* sp. (Formicidae: Formicinae). Esta última especie se halló relacionada además con tres anamorfos: *Hirsutella formicarum*, *Polycephalomycetes* sp. y *Tilachlidium liberianum*, dos especies del género *Torrubiella* y tres cepas. En el laboratorio se obtuvieron las cepas *Verticillium lecanii* y *Paecilomyces* sp. a partir de hormigas enfermas del mismo foco epizootico de *C. unilateralis*. La riqueza en especies, anamorfos y cepas de *Cordyceps* en hormigas del piedemonte putumayense demuestran la diversidad de germoplasma que poseen las selvas tropicales y su potencialidad para el control biológico.

Palabras clave: Hongos entomopatógenos. *Cordyceps*. Bosque húmedo tropical. Control biológico. Hormigas. Formicidae. *Camponotus*. *Pachycondyla*. *Paraponera*.

Summary. Entomopathogenic fungi in Colombia have been covered from the biologic control perspective, and few data come from preserved ecosystems. This research studied *Cordyceps*, its anamorphs and related strains, which parasitize ants in the tropical forest. In samplings carried out in the Colombian Amazonian foothill (450 – 600 m, during January and May of 1998) parasitized ants were collected in 100 sq. m (50 sq. m per period) in forest with different perturbation regimes. Litter, scrubs and logs were sampled up to 2 m. The inoculates were obtained from the celoma of parasitized ants or stromata of *Cordyceps*, and cultured in different potato-dextrosa agar (PDA) and water media, and repeated to different media until sprouting of structures that allowed determination. The *Cordyceps* species found are *C. kniphofioides* var. *ponerinum* with its anamorph *Hirsutella stilbelliformis*, and *C. australis* in subfamily Ponerinae ants; *C. lloydii* var. *binata* and *C. unilateralis* in *Camponotus* sp. (Formicidae: Formicinae) ants; the last species was found related with three anamorphs: *Hirsutella formicarum*, *Polycephalomycetes* sp. and *Tilachlidium liberianum*, two *Torrubiella* species and three strains. In laboratory we obtained the strains *Verticillium lecanii* and *Paecilomyces* sp. from sick ants into the same epizootic focus of *C. unilateralis*. The species, anamorphs and strains of *Cordyceps* richness in the Putumayo foothill show the germoplasm diversity of the tropical forests and its potential for biological control.

Key words: Entomopathogenic fungi. *Cordyceps*. Tropical rain forest. Biological control. Ants. Formicidae. *Camponotus*. *Pachycondyla*. *Paraponera*.

Introducción

Cordyceps es el teleomorfo (forma sexual) de un hongo perteneciente a la división Ascomycotina y considerado como el entomopatógeno más diverso del trópico; sus especies son parásitos obligados que pueden causar epizootias en las poblaciones de arácnidos e insectos. Junto a este hongo se han encontrado géneros relacionados como anamorfos (forma asexual)

en los que se destacan *Acremonium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces*, *Polycephalomycetes*, *Sporothrix* y *Verticillium* entre otros, los cuales presentan una gran plasticidad en sus formas y funcionalidad; este pleomorfismo les ha conferido una gran ventaja para dispersar esporas bajo una variedad de condiciones ambientales, lo que ha permitido su experimentación en control biológico (Evans et al. 1988).

El ciclo de vida de *Cordyceps* en hormigas se prolonga entre 6 y 20 días, iniciándose con la adherencia de la espora a la cutícula; posteriormente, la espora germina y penetra el celoma de la hormiga obligándola a una reducción considerable de su actividad con desplazamientos asincrónicos y erráticos. En las siguientes 24 a 48 horas la hormiga muere y el hongo forma una estructura de resistencia, el esclerocio, en el celoma del insecto. Hacia la etapa

1 Apartes del trabajo de grado del primer autor. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de Biología

2 Bióloga. Universidad Nacional de Colombia. E-mail: tsanjuan@ciencias.ciencias.unal.edu.co

3 Profesor Asistente. Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales. A. A. 7495 Bogotá D.C. E-mail: gamat@ciencias.ciencias.unal.edu.co

4 Ingeniero Agrónomo. Fundación Inguedé. Bogotá. E-mail: inguede@andinet.com

final de la patogénesis, dependiendo de las condiciones ambientales, emerge el sinema del anamorfo o el estroma maduro de *Cordyceps* a través de las uniones del tórax con las extremidades y el pronoto (Evans 1982).

El primer ejemplar de *Cordyceps* fue registrado por Link en 1833 quien lo halló sobre un adulto de *Melolontha melolonthae* (Coleoptera) y el cual denominó *C. militaris* (Fries.) (Mains 1958). En 1941, Kobayasi realizó el tratamiento sistemático completo sobre el género *Cordyceps*, dando a conocer una diversidad global de 137 especies (Mains 1958) y actualmente se estima que existen 400 especies (Hodge et al. 1998). Entre 1948 y 1950, Mains realizó estudios sobre las especies de *Cordyceps* de Norteamérica e identificando algunos de los géneros anamorfos de *Cordyceps*: *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Stilbella*, *Akanatomyces* y *Tilachlidium*. Evans (1974) y Evans y Samson (1982, 1984) fueron los primeros en estudiar la infectividad de *Cordyceps* en artrópodos y específicamente hormigas en cultivos agroforestales de Ghana y en bosques húmedos tropicales de Ecuador y Brasil, encontrando en hormigas seis especies de *Cordyceps* y sus distintas variedades (Tabla 1).

La patología de insectos en el país se ha desarrollado a partir de insectos enfermos o muertos encontrados en los cultivos, e insectos de cría que son inoculados con las cepas comerciales. Sin embargo, Patiño en 1959 realizó una investigación sobre el control natural ejercido por hongos y bacterias que atacan al insecto *Erynnis ello* (Esphingidae: Lepidoptera) plaga en cultivos de yuca en condiciones naturales en un bosque pluvial intertropical. También el ICA, entre 1970 y 1990, investigó sobre los hongos entomopatógenos que habitan naturalmente alrededor de los cultivos encontrando a *Cordyceps militaris* en larvas de Coleoptera (Rodríguez 1984).

Teniendo en cuenta que hasta el momento en Colombia no se había hecho ningún tipo de muestreo de hongos entomopatógenos de hormigas en ecosistemas naturales conservados, esta investigación

se propuso determinar las especies de *Cordyceps* y sus anamorfos más frecuentes en tres bosques con diferentes grados de disturbio y las cepas de hongos entomopatógenos que a partir de estas especies de *Cordyceps* y anamorfos se pudieran aislar de la selva tropical del piedemonte Amazónico colombiano (Putumayo).

Materiales y Métodos

Area de estudio. La zona de muestreo esta bajo la jurisdicción del municipio de Villagarzón, vereda Alto Chaluayaco en el Piedemonte Putumayense (Amazonia colombiana), ubicado entre las estribaciones de la cordillera oriental y el "lomerío amazónico"; a 0°50'54" latitud norte y 76°47'29.5" longitud oeste, en el piso térmico templado con altitudes entre 450 y 600 m y precipitaciones entre 3800 y 4800 mm, de origen orográfico. El promedio de temperatura anual es 24°C y la humedad relativa posee valores hasta del 90%. Corresponde, según las Zonas de Vida de Holdridge, a "bosque muy húmedo tropical" (Bmh-T). Se estima que el Piedemonte Amazónico posee una de las mayores concentraciones de diversidad biótica en el norte de Suramérica (Halfiter 1992) y aun conserva un 80% de su cobertura vegetal natural.

Selección y descripción de los bosques. Los muestreos se cumplieron en 3 tipos de bosque, diferenciados principalmente por el grado de disturbio, condiciones microclimáticas, edáficas, fisiográficas, especies dominantes, estado de la hojarasca, grado de epifitismo y uso actual (Tabla 2).

Muestreo y colecta de hongos para colección. En cada uno de los bosques se ubicaron 50 parcelas de 1 x 1 m al azar para cada época de muestreo. Se colectaron hormigas parasitadas de hongos hasta 2 metros de altura y 10 cm por debajo del suelo. Se revisaron ramas, arbustos, troncos, hojarasca y el envés de las hojas.

En campo, las muestras colectadas se describieron macroscópicamente, se secaron

y se conservaron con gel de sílice en cajas pequeñas de cartón. En el laboratorio, se describieron los ejemplares colectados para la identificación taxonómica de las especies de *Cordyceps* y sus respectivos hospederos. Los cuerpos fructíferos se rehidrataron con KOH al 1% y se realizaron cortes para láminas con tinción de azul de algodón. El material colectado está depositado en seco en la colección entomológica del Instituto de Ciencias Naturales (ICN-MHN), de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

Obtención de los inóculos. Se tomaron las muestras de los mejores especímenes de hormigas parasitadas por hongos. El estroma se sembró en agar agua o PDA y se expuso a luz solar para la expulsión de las ascósporas y su posterior germinación. De otro lado, se hicieron cortes transversales del abdomen de la hormiga muerta (Fig. 1) y de allí se obtuvo el inóculo del hongo para sembrar por duplicado en los diferentes medios. Todo este material se conservó en una nevera portátil.

En el laboratorio, a partir de los ejemplares sembrados en agar agua y PDA, se aislaron las cepas a 28°C durante 15 días. Una vez aisladas se repicaron en agar avena (OA) para su esporulación y determinación. Las cepas que no esporularon se repicaron en agar CEZAPEK DOX, medio líquido de extracto de levadura y malta (SYMC), agar zanahoria - avena y agar CZPDOX-OA hasta conseguir estructuras que permitieran su determinación.

Resultados y Discusión

Especies de *Cordyceps* anamorfos y cepas parásitas de hormigas

En la época seca se coleccionaron 207 ejemplares de hormigas parasitadas por hongos y en la época lluviosa 661 ejemplares. En ambos períodos los ejemplares colectados de *Cordyceps* y anamorfos se encontraron en los bosques que presentaban algún régimen de disturbio; por ejemplo el bosque con disturbios naturales (B2) presentó 834 casos de hormigas parasitadas por *Cordyceps* en 100 m², mientras el bosque con disturbios antrópicos (B3) tuvo 34 casos de parasitismo en la misma área y el menos perturbado (B1) no presentó hormigas parasitadas por algún hongo entomopatógeno (Tabla 3).

Se encontraron cuatro especies de *Cordyceps* identificadas, nueve anamorfos y dos ejemplares correspondientes a *Gibellula formicarum* e *Hymenostilbe* sp. que no se hallaron junto con alguna especie de *Cordyceps* (Tabla 4). *Cordyceps unilateralis* es la especie más abundante en las dos épocas del año; mientras *Cordyceps lloydii* (Faw.) var. *binata* Evans y Samson, *Cordyceps kniphofioides* var. *ponerinum* (Evans y Samson) y *Cordyceps australis* (Speg) Sacc. se mantienen constantes (Tabla 4). Se puede afirmar que la riqueza de *Cordyceps* es alta si se tiene en cuenta que se hallaron cuatro especies de

Tabla 1. Especies de *Cordyceps* encontradas en hormigas de selvas húmedas de Ghana, Brasil y Ecuador (EVANS 1974, EVANS y SAMSON 1982, 1984)

Especies de <i>Cordyceps</i>	Variedades de <i>Cordyceps</i>	Especies de hormigas
<i>C. australis</i>		<i>Bothroponera pachyderma</i> <i>Palthotyreus tarsatus</i> <i>Cephalotes atratus</i>
<i>C. cucumispora</i>	var. <i>cucumispora</i> var. <i>dolichoderi</i>	<i>Dolichoderus attelaboides</i>
<i>C. kniphofioides</i>	var. <i>kniphofioides</i> var. <i>dolichoderi</i> var. <i>monacidis</i> var. <i>ponerinum</i>	<i>Cephalotes atratus</i> <i>Dolichoderus attelaboidi</i> <i>Dolichoderus bispinosus</i> <i>Paraponera clavata</i>
<i>C. unilateralis</i>		<i>Camponotus</i> sp. <i>Phasmomyrmex</i> sp. <i>Polyrhachis</i> sp.
<i>C. lloydii</i>	var. <i>lloydii</i> var. <i>binata</i>	<i>Camponotus</i> sp. <i>Camponotus</i> sp.

Tabla 2. Caracterización de los tipos de bosques de acuerdo a los parámetros bióticos y abióticos

PARÁMETRO	Bosque con disturbios antrópicos	Bosque con disturbios naturales	Bosque poco disturbado
Grado de intervención	Alto. Causado por la tala de árboles y siembra de especies vegetales domesticadas.	Medio. Causado por la caída de árboles, flujo y reflujo del río y trocha humana.	Bajo. Causado por la caída de árboles y deslizamientos.
Topografía	Meseta ondulada, pendientes entre el 15-20 %	Meseta ondulada, pendientes menores del 10 %.	Meseta disectada, pendientes mayores de 40 %.
Nivel freático	Medio	Alto	Bajo
Humedad relativa	Oscilación diurna en 10 horas: 84-94 %.	Oscilación diurna en 10 horas: 90-98%	Oscilación diurna en 10 horas: 80-94 %.
Temperatura	Oscilación diurna en 10 horas: 22-27 °C.	Oscilación diurna en 10 horas: 23-25 °C.	Oscilación diurna en 10 horas: 24-26 °C.
Condiciones edáficas	Franco areno arcilloso. Niveles de materia orgánica bajos, con procesos de humificación y mineralización proporcionales.	Arcilloso. Niveles de materia orgánica altos, con procesos de humificación más que de mineralización.	Franco areno arcilloso. Niveles de materia orgánica bajos, con procesos de mineralización más que de humificación.
Especies dominantes	<i>Cecropia ficifolia</i> (Yarumo) <i>Bactris gassipaes</i> (Chontaduro) <i>Heliconia</i> sp. (Platanillos)	<i>Cecropia sciadophylla</i> (Yarumo de monte) <i>Socratea exorrhiza</i> (Chonta) <i>Heteropsis spruceana</i> (Yare)	<i>Socratea exorrhiza</i> (Chonta) <i>Attalea regia</i> (Bombona) "Bamba"
Grado de epifitismo	Medio. Está distribuido en su mayoría alrededor de las bases de los yarumos y árboles de mayor porte. Bejucos ausentes.	Alto. Se presentan en todos los estratos. Presencia de bejucos de bajo porte.	Bajo. Se presentan en árboles cercanos al nacimiento de la quebrada. Presencia de bejucos de porte grueso.
Característica de la hojarasca	Escasa. Capa de 0 - 3 cm de espesor.	Abundante. Capa de 0 - 20 cm de espesor.	Escasa. Capa de 0 - 3 cm de espesor.

las cinco registradas para hormigas en el Neotrópico (Evans y Samson 1982). A continuación se hace una reseña breve de las diferentes especies de *Cordyceps*, sus anamorfos y cepas.

***Cordyceps unilateralis* y sus sinanamorfos** (Fig. 2). Esta especie produce comúnmente epizootias en la casta de las obreras de *Camponotus* sp. Andrade (1980) registró un sitio epizoótico en Manaus (Amazonas, Brasil) con 3.500 casos de infección de *C. unilateralis* sobre *Camponotus* sp., mientras esta investigación encontró 793 casos en 100 m² de muestreo en el piedemonte Putumayense. Los registros dados en este trabajo de *C. unilateralis* para Colombia no son los primeros, Kobayasi (1981) reportó la presencia de esta especie en la quebrada Huitoto, río Caguán en el departamento del Caquetá sobre *Camponotus* sp.. Evans y Samson (1984) han propuesto la asociación

Camponotus - *C. unilateralis* como la interacción dominante entre hongos y hormigas en el trópico. A pesar de la variabilidad en las tallas de las estructuras sexuales de *C. unilateralis*, esto no representa un problema taxonómico muy profundo como sí lo son los distintos anamorfos que se encontraron relacionados al estroma o en cercanía de los sitios epizoóticos, esta lista larga de especies asociadas, podrían ser sinanamorfos potenciales de *C. unilateralis*.

En esta investigación *Hirsutella formicarum* (Fig. 3) fue el anamorfo con mayor número de hormigas parasitadas, 161 individuos en total. Es muy particular la preferencia de *Camponotus* asociado a *H. formicarum* de sujetarse a raicillas epífitas de los troncos, como si probablemente no quisieran ser vistas por sus compañeras o por algún otro depredador. En algunos casos se observaron hasta cinco hormigas

entrelazadas por mandíbulas y extremidades, unidas entre ellas por los sinemas del hongo. Este comportamiento se ha explicado como una estrategia altruista de las hormigas las cuales se desvían de las rutas de forrajeo de sus congéneres para no contagiarlas, o en otros casos se trata de hormigas que intentan devorar a sus compañeras como mecanismos de limpieza (Evans y Samson 1984). *H. formicarum* ya se había registrado como el anamorfo más frecuente de *C. unilateralis* (Mains 1951; Kobayasi 1981; Evans y Samson 1984). Éste puede crecer directamente sobre los peritecios del teleomorfo y presentar A filíides y B filíides (Evans y Samson 1984).

El sinema de *Polycephalomycetes* sp. se halló emergiendo directamente del estroma de *C. unilateralis* o en el abdomen de hormigas infectadas con el mismo hongo. Hasta el momento no se le cono-

Tabla 3. Matriz de presencia y ausencia de las especies de *Cordyceps* y sus anamorfos en los distintos bosques en los dos períodos climáticos (B1, poco disturbado; B2, disturbios naturales y B3, disturbios antrópicos)

Especies de <i>Cordyceps</i> y anamorfos	Época lluviosa			Época seca		
	B1	B2	B3	B1	B2	B3
<i>Cordyceps unilateralis</i>	-	+/153	+/17	-	+/606	+/17
<i>Hirsutella formicarum</i>	-	+	+	-	+	+
<i>Sporotrix insectorum</i>	-	+	-	-	+	-
<i>Tilachlidium liberianum</i>	-	+	-	-	+	+
<i>Polycephalomyces</i> sp.	-	+	-	-	+	-
<i>Torrubiella</i> sp.1	-	+	-	-	+	-
<i>Torrubiella</i> sp.2	-	+	-	-	+	+
<i>Cordyceps kniphofioides</i> var. <i>ponerinum</i>	-	+/2	-	-	+/2	-
<i>Hirsutella stilbelliformis</i> var. <i>ponerinum</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Cordyceps lloydii</i> var. <i>binata</i>	-	+/34	-	-	+/35	-
<i>Cordyceps australis</i>	-	+/1	-	-	+/1	-
TOTAL	0	11/190	17	0	10/644	17

cia el teleomorfo a *Polycephalomyces* y se había considerado como un hiperparásito de *Cordyceps* sp. Los cuatro ejemplares encontrados en el Putumayo señalan a *C. unilateralis* como una posible fase sexual de *Polycephalomyces*; hasta ahora se le conocían cuatro especies en dípteros, coleópteros y lepidópteros y se había encontrado estrechamente relacionado con el género entomopatógeno *Stilbella* (Hodge et al. 1998). Este registro puede considerarse como el primero sobre formicidos.

Tilachlidium liberianum es muy similar al nivel de forma, tamaño y disposición de las fiálides a las B fiálides de *H. formicarum*, pero su particular sinema blanquecino e hifas hialinas lo diferencian muy bien de *H. formicarum*. Esta especie crece directamente del estroma de *C. unilateralis* o de las uniones de las extremidades de la hormiga. Evans et al. (1988) habían considerado a *T. liberianum* como anamorfo del género *Torrubiella*, pero su relación como anamorfo de *C. unilateralis* no se puede descartar. Los especímenes hallados en el Putumayo proponen a esta especie como anamorfo de *C. unilateralis*.

Sporotrix insectorum se halló siempre relacionado a *C. unilateralis*. Fue el segundo más predominante, con 124 individuos. Este hongo mononematoso se registró como anamorfo de *Cordyceps* por Evans et al. (1988), pero Hodge et al. (1998) cuestionan su carácter de anamorfo de *C. unilateralis* y lo relaciona con éste como un hiperparásito muy específico. En el Putumayo esta especie se halló frecuentemente asociada al género *Torrubiella*, el cual es un teleomorfo entomopatógeno de la misma familia de *Cordyceps* y asociado a éste muy estrechamente. En los 21 ejemplares de *Torrubiella* sp.1 analizados, los peritécios estaban cubiertos por las

células conidiogénicas de *S. insectorum* y crecían directamente del estroma de *C. unilateralis* o sobre el abdomen de hormigas infectadas con el mismo. Además, al hacer una correlación de Spearman entre los individuos con evidencias de *Sporotrix insectorum* y los demás anamorfos de *C. unilateralis*, se halló una correlación significativamente positiva. Se podría pensar entonces que la asociación *Sporotrix insectorum* - *Torrubiella* sp1 es un hiperparásito de *C. unilateralis* tal y como lo proponen Hodge et al. (1998).

Cepas obtenidas a partir de *C. unilateralis*. Se obtuvieron seis cepas a partir de especímenes parasitados con *Cordyceps unilateralis* o alguno de sus anamorfos. En el caso de *Paecilomyces fumosoroseus*, el inóculo provino de los cuerpos hifales que se encuentran en el interior del abdomen de las hormigas parasitadas con *C. unilateralis*, donde las posibilidades de contaminación fueron mínimas pues *Cordyceps* segrega metabolitos secundarios bactericidas como el Cordycepin que permiten la perfecta momificación de la hormiga (Steinkrauss 1994). Este hongo fue obtenido puro desde el mismo momento de su siembra y sus características macroscópicas y microscópicas permitieron una determinación muy definida. Es muy importante resaltar que las cepas obtenidas a partir de hormigas enfermas incubadas en cámaras húmedas, también correspondieron a *Paecilomyces* sp. y a *Verticillium lecanii*. Las posibilidades de que estas hormigas se hubieran contaminado en la cámara húmeda son bajas debido a que sólo los hongos entomopatógenos son capaces de degradar quitina y normalmente no son contaminantes ambientales. En otros estudios se han sembrado ascósporas de *Cordyceps* sp. y en la mayoría de los casos se han obtenido cepas de *Paecilo-*

myces, *Verticillium* y *Nomuraea* (Evans 1982).

La cepa aislada del sinema de *H. formicarum* en agar CZP-Dox - Avena corresponde a las características del género *Hirsutella*, pero en este caso forma fiálides sublageniformes con conidios de dos tipos, esféricos catenulados o mucilaginosos cilíndricos. Esta cepa en agar caseína tendió a formar un acumulado de fiálides en el centro de la caja y luego un halo de bajo crecimiento. Este desarrollo pudiera corresponder a la formación primitiva de un sinema de *Hirsutella* sp., que responde a las condiciones de laboratorio de esta manera. Los trabajos de Evans y Samson (1984) en la consecución de cultivos puros de los anamorfos de *C. unilateralis* han sido fallidos, y el resultado actual puede que corresponda a modificaciones hechas en los medios de cultivos con ingredientes naturales y/o al manejo de las condiciones de humedad y temperatura en el laboratorio.

La cepa identificada como *Acremonium* se obtuvo del estroma de *C. unilateralis* que poseía más de cuatro cabezas fértiles en su estroma. Este género no es un anamorfo obligado de insectos aunque ha sido hallado señalado como entomopatógeno por Evans et al. (1988) y asociado con *Cordyceps* sp. y *Torrubiella* sp. Se cree que la especie de *Acremonium* fue aislada de *C. unilateralis* por su capacidad de colonizar quitina saprobíamente. Existe una cepa aun sin determinar que se obtuvo de los cuerpos hifales del mismo ejemplar de *Acremonium* y presentó hifas con granulaciones que dieron paso a hifas lisas y a células conidiogénicas con conidios de tamaños del orden de 15 a 20 μm ; cuando la colonia ha esporulado lo suficiente se torna de color gris. Esta cepa no se logró identificar, pero se sabe que corres-

ponde a los Deuteromycetes del orden Moniliales.

Cordyceps lloydii* var. *binata (Fig. 4). Fue una de las especies que también se halló parasitando individuos de *Camponotus* en el Putumayo. Esta especie, que fue la segunda en frecuencia de individuos parasitados después de *C. unilateralis*, está dividida en dos variedades separadas de acuerdo con su rango geográfico. *C. lloydii* var. *lloydii* que se ha encontrado sobre la especie *Camponotus abdominalis* en las Guayanas, Trinidad y Panamá, se caracteriza por poseer un sólo estroma y tener como anamorfo a *Hymenostilbe formicarum* (Petch.). La otra variedad *C. lloydii* var. *binata* se ha encontrado en pequeñas obreras *Camponotus* de los bosques Amazónicos y en el piedemonte andino y no se le ha observado anamorfo alguno (Evans y Samson 1984). Esta variedad que se caracteriza por poseer un par de estromas que emergen del cuello fue la colectada en el piedemonte putumayense y está estrechamente relacionada con *Cordyceps dipterigena* (Berk y Br.) un patógeno común de moscas en los bosques tropicales.

En el laboratorio se obtuvieron tres cepas de *C. lloydii* var. *binata* que no se pudieron determinar. La primera se obtuvo de los cuerpos hifales del celoma de la hormiga y su reproducción es por clamidósporas; la segunda se obtuvo del estroma de *C. lloydii* var. *binata* y se caracteriza por propágulos; y la tercera cepa presentaba una morfología semejante al género *Acremonium*, pero carecía de los cordones hifales de donde salen las fiálides. No es seguro que las ascósporas de *C. lloydii* var. *binata* hayan germinado, pues en estudios anteriores no se ha obtenido crecimiento (Evans y Samson 1984).

Cordyceps kniphofioides var. *ponerinum* (Fig. 5). Se halló atacando hormigas de la

especie *Paraponera clavata* (Ponerinae). Este hongo, que fue descrito por Evans y Samson (1984) en su trabajo de *Cordyceps* sp. del Brasil y Ecuador, presenta gran afinidad a las especies *Cordyceps doiana* (Kobayasi.) en la hormiga *Dinoponera longipes* de Colombia (Kobayasi 1981) y *C. unilateralis* en *Camponotus* spp. y *Polyrachys* sp. (Formicinae). La apariencia similar de esta especie con las dos anteriores que parasitan formicidos comprueba la complejidad taxonómica de *Cordyceps* sp., aunque se trate de separar por variedades una misma especie de acuerdo con su hospedero, como en el caso de *C. kniphofioides* var. *poneriniae*, la variación en la disposición de los peritecios, la forma de los ascos y el tipo de fragmentación de las ascósporas deben entenderse como el intervalo admisible de variabilidad de la especie.

En la zona de muestreo fue encontrado el anamorfo de *C. kniphofioides*, *Hirsutella stilbelliformis* var. *ponerinum*, que comprende sinemas en forma de raíces que lo hacen similar al género *Stilbella*. De este hongo se sembró inóculo proveniente de los cuerpos hifales y se obtuvieron fiálides subuladas similares a las B registradas para *H. stilbelliformis* var. *ponerinum*, aunque la colonia macroscópicamente fue muy diferente a las indicadas por Evans y Samson (1982). Esto se podría explicar por la diferencia en la composición de los medios, mientras acá se usó un medio de microelementos como el CZP Dox. Evans y Samson (1982) usaron un medio natural basado en el gusano de la carne. La cepa provino separadamente de dos ejemplares parasitados con *C. kniphofioides* y uno con *H. stilbelliformis*; en ambos casos se produjo el mismo tipo de colonia y cepa.

Cordyceps australis (Fig. 6). Es una especie de gran afinidad por *Cordyceps*

mirmecophila (Ces.) en la forma y disposición de los peritecios, ascos y ascósporas, pero difiere de éste en que parasita hormigas de zonas templadas y subtropicales de los géneros *Camponotus* y *Formica* (Mains 1940), mientras *C. australis* parasita hormigas de la subfamilia Ponerinae. En Ghana se halló parasitando a *Palthotyreus tarsatus* y *Megaconera* sp. (Evans 1982), mientras en Brasil, Guyana y Ecuador se encontró en *Pachycondyla crassinoda* y *Paraponera clavata*, las mismas especies recolectadas en el Putumayo. De estos dos únicos ejemplares no se obtuvieron cultivos de ascósporas pues los especímenes estaban inmaduros. *Cordyceps australis* se ha asociado con el anamorfo *Stilbella buquetii* var. *formicarum* (Samson et al. 1982).

Conclusiones

- El género *Cordyceps* en hormigas del piedemonte Putumayense está representado por cuatro especies: *C. unilateralis* y *C. lloydii* var. *binata* que parasitan individuos del género *Camponotus* (Formicinae) y *C. kniphofioides* var. *ponerinum* y *C. australis* que parasitan individuos pertenecientes a la subfamilia Ponerinae.

- Se determinó que *C. unilateralis* es la especie dominante y se definió como un hongo pleomórfico con varios estados asexuales, sinanamorfos, como lo son *Hirsutella formicarum*, *Tilachlidium liberianum*, *Polycephalomyces* sp., *Paecilomyces fumosoroseus*, *Paecilomyces* sp. 1, *Verticillium lecanii* e *Hirsutella* sp. 1.

- Las cepas obtenidas en laboratorio a partir de *C. unilateralis*: *Paecilomyces fumosoroseus*, *Paecilomyces* sp. 1 *Verticillium lecanii* e *Hirsutella* sp. 1 son los organismos con mayor proyección dentro del control biológico de plagas.

Tabla 4. Especies de *Cordyceps* y sus anamorfos encontrados en el piedemonte Amazónico Colombiano

Especies de <i>Cordyceps</i>	Anamorfos	Cepas	Especies de hormigas
<i>C. unilateralis</i>	<i>Hirsutella formicarum</i>	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	<i>Camponotus</i> sp. 3
	<i>Sporotrix insectorum</i>	<i>Hirsutella</i> sp.1	<i>Camponotus</i> sp. 4
	<i>Tilachlidium liberianum</i>	<i>Paecilomyces</i> sp.1	<i>Crematogaster</i> sp.
	<i>Polycephalomyces</i> sp.	<i>Verticillium lecanii</i>	<i>Cephalotes atratus</i>
	<i>Torrubiella</i> sp.1	<i>Acremonium</i> sp.1	
	<i>Torrubiella</i> sp.2	Cepa indet 1	
<i>C. lloydii</i> var. <i>binata</i>		Cepas indet 2,3,4	<i>Camponotus</i> sp. 3.
<i>C. kniphofioides</i> var. <i>ponerinum</i>	<i>Hirsutella stilbelliformis</i> var. <i>ponerinum</i>	<i>Hirsutella</i> sp.2	<i>Paraponera clavata</i>
<i>C. australis</i>			<i>Paraponera clavata</i>
			<i>Pachycondyla crassinoda</i>
	<i>Gibellula formicarum</i>		<i>Crematogaster</i> sp.
	<i>Hymenostilbe</i> sp.		<i>Cephalotes atratus</i>

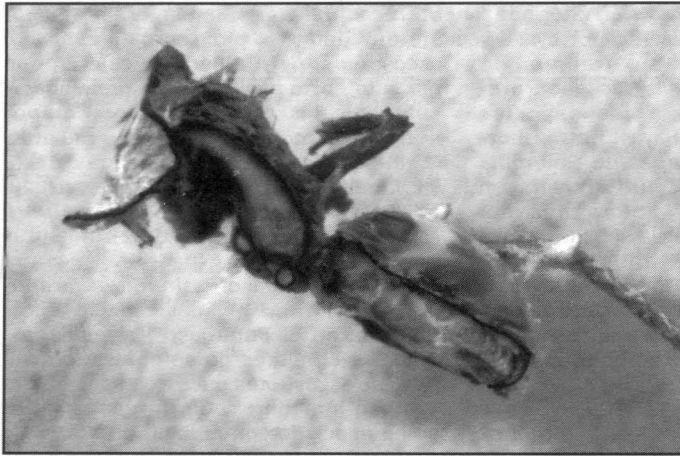


Figura 1. Masa de micelio (esclerocio) en el celoma de una hormiga *Camponotus* spp. de donde se obtuvo el inoculo del hongo.

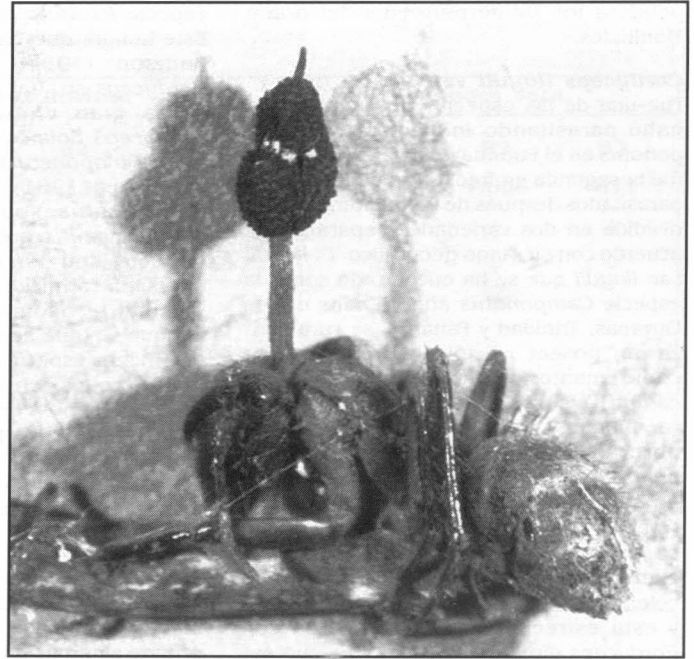


Figura 2. *Cordyceps unilateralis* sobre una obrera de *Camponotus* sp.

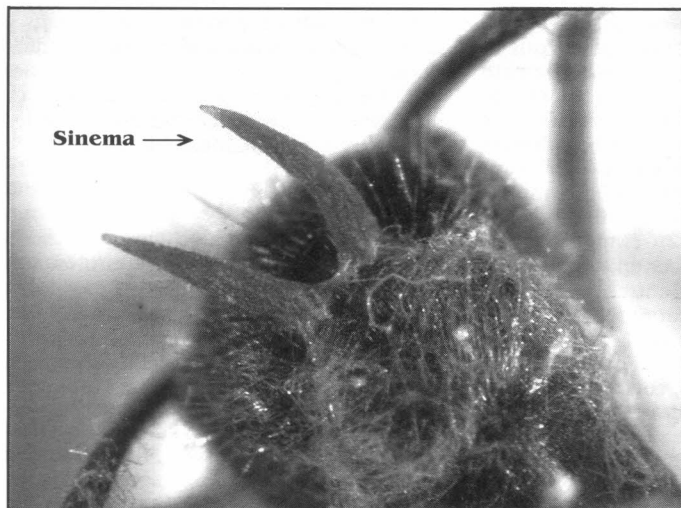


Figura 3. *Hirsutella formicarum* emergiendo del pronoto de una hormiga *Camponotus* sp.



Figura 4. Estromas de *Cordyceps lloydii* var. *binata*

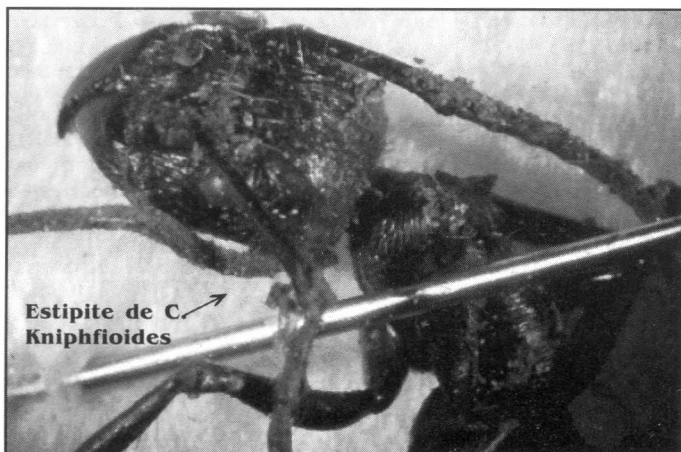


Figura 5. *Cordyceps kniphofioides* var. *ponerinum* emergiendo lateralmente del cuello de *Paraponera clavata*.

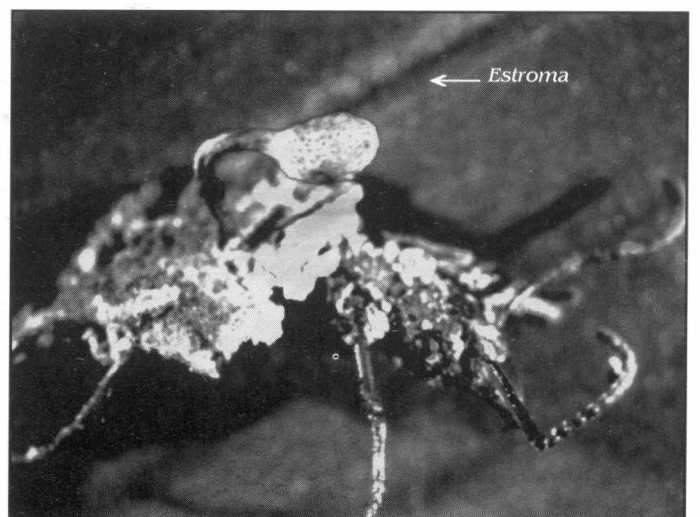


Figura 6. *Cordyceps australis* sobre hormiga *Pachycondyla crassinoda*.

• La riqueza en especies, anamorfos y cepas de *Cordyceps* en hormigas del piedemonte putumayense demuestran la diversidad de germoplasma que posee las selvas tropicales y su potencialidad para el control biológico y hace evidente el desarrollo de inventarios de hongos entomopatógenos en los diferentes ecosistemas estratégicos de Colombia, ya sean selvas tropicales bajas o bosques andinos.

Agradecimientos

Este trabajo fue llevado a cabo gracias a la financiación del Fondo para la protección del Medio Ambiente FEN - COLOMBIA y al apoyo del Instituto de Ciencias Naturales y el Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia. Se agradece a la comunidad indígena Inga residente en la vereda "Alto Chalhuayaco" y a la Corporación Autónoma para el Desarrollo Sostenible Sur de la Amazonia (CORPOAMAZONIA) por su apoyo logístico. Finalmente, un reconocimiento a Edgar Palacios y Fernando Fernández por su colaboración en la identificación de hormigas.

Literatura citada

- ANDRADE, C. de. 1980. Epizootia natural causada por *Cordyceps unilateralis* (Hypocreales, Euascomycetes) em adultos de *Camponotus* sp. (Hymenoptera, Formicidae) na região de Manaus, Amazonas, Brasil, Acta Amazonica 10: 671-677.
- EVANS, C.H. 1974. Natural control of arthropods, with special reference to ants (formicidae) by fungi in the tropical high forest of Ghana. Journal Applied Ecology 11: 37-49.
- EVANS, C.H. 1982. Entomogenous Fungi in tropical forest ecosystems. an appraisal. Ecological entomology 7: 47-60.
- EVANS, C.H.; SAMSON, R. 1982. *Cordyceps* species and their anamorphs pathogenic on ants in tropical forest ecosystems: I. The *Cephalotes* complex. TSMB. 79(3): 431-453.
- EVANS, C.H.; SAMSON, R.A. 1984. *Cordyceps* species and their anamorphs pathogenic of ants (Formicidae) in tropical forest ecosystems II. The *Camponotus* (Formicinae) complex. TBMS. 82(1): 127-150.
- EVANS, C.H., SAMSON, R.A.; LATGE, J.P. 1988. Atlas of entomopatogenic fungi. Springer Verlag, Berlin. 186 p.
- HALFFTER, G. 1992. La diversidad biológica de Iberoamérica. Instituto de Ecología, A. C. México. 388 p.
- HODGE, K.; HUMBER, R.; WOSNIAK, C. 1998. *Cordyceps variabilis* and the *Syngliocladium*. Mycol. 90(5): 743-753.
- KOBAYASI, Y. 1941. The genus *Cordyceps* and its allies. Sciencei report of the Tokio Burinka Daigaku Sect. B. 84: 53-260.
- KOBAYASI, Y. 1981. Revision of the genus *Cordyceps* and its allies 2. Bull. Nat. Mus. Tokyo Ser. B, 7(4): 123-129.
- MAINS, E.B. 1940. Species of *Cordyceps*. Mycol. 32: 310-320.
- MAINS, E.B. 1951. Entomogenous species of *Hirsutella*, *Tilachlidium* and *Synnematium*. Mycol. 43: 691-719.
- MAINS, E.B. 1958. North American Entomogenous species of *Cordyceps*. Mycol. 50: 169-222.
- RODRÍGUEZ, D. 1984. Hongos entomopatógenos registrados en Colombia. Revista Colombiana de Entomología 10: 57-64.
- SAMSON, R.A.; EVANS, H.C.; HOEKSTRA, S. 1982. Notes of entomopatogenous fungi from Ghana. VI. The genus *Cordyceps*. Proc. K. Nederl. Akad. wetensch., ser C 85 (4): 589-605.
- STEINKRAUSS, D. 1994. Chinese carterpillar fungus and world record runners. American entomologist 40: 234-239.