

ESTUDIO Y AISLAMIENTO DEL HONGO QUE CULTIVAN LAS HORMIGAS ARRIERAS
DEL GENERO ATTA EN MEXICO * **

por Daniel Romero, ***
Santiago Chacón *** y
Gastón Guzmán ***

STUDY AND ISOLATION OF THE FUNGUS CULTIVATED BY THE ANTS OF THE GENUS ATTA
IN MEXICO

SUMMARY

Phialocladus zsoltoi Kreisel (Fungi Imperfecti) was studied from the mycelial mass cultivated by ants of the genus Atta in their anthills from Cordoba and Xalapa regions in the State of Veracruz. The fungus was developed and cultivated in the laboratory on its natural medium and artificial media, in which the conidial stage was obtained. This is the first record of the species in Mexico, only known so far from Cuba. Probably, this is the imperfect stage of Leucocoprinus gongylophorus (Möhl.) Heim from Brazil.

RESUMEN

Se presenta el estudio del hongo Phialocladus zsoltoi Kreisel (Fungi Imperfecti), aislado de las masas miceliales que cultivan las hormigas del género Atta en sus hormigueros, en las regiones de Córdoba y Xalapa, Veracruz. El hongo se desarrolló y cultivó en el laboratorio en su medio natural y en medios artificiales, obteniéndose en estos últimos la fase conidial. Este es el primer registro de la especie en México, la cual solamente se conocía de Cuba. Probablemente sea esta la fase imperfecta de Leucocoprinus gongylophorus (Möhl.) Heim de Brasil.

INTRODUCCION

Los hongos que cultivan las hormigas arrieras, han llamado la atención de los investigadores desde hace tiempo, sin embargo, poca o confusa es la información que hay sobre ellos, a pesar de su gran importancia en la alimentación de tales hormigas, las que a su vez son una plaga agrícola en las regiones tropicales de América por sus hábitos defoliadores (Weber, 1966). Uno de los autores del presente trabajo (Guzmán), tuvo la oportunidad de observar la magnitud del problema en Brasil, al colaborar en los trabajos de campo de la Dra. V. Bononi en la región de Sao Paulo.

- * Modificación del trabajo de tesis que presentó el primer autor en la Universidad Veracruzana de Xalapa, para obtener el título de Biólogo en 1987.
** Trabajo financiado por el CONACYT (Proyecto PCECNA-023324) y presentado en el XVIII Congreso Nacional de Microbiología en Acapulco, Gro., en abril de 1987 y en el X Congreso Mexicano de Botánica en Guadalajara, Jal., en octubre de 1987.
*** INIREB, Apartado Postal 63, Xalapa, Veracruz 91000.

Los primeros trabajos sobre hongos cultivados por hormigas, fueron realizados por Möller en Brasil en 1883 (Heim, 1957; Weber, 1966, 1972, 1979; Hervey et al., 1977) quien estudió el hongo de un hormiguero de *Acromyrmex disciger* que identificó como *Rozites gongylophora* Möller. El trabajo de este investigador * puede considerarse como pionero en los estudios sobre los hongos de las hormigas. Dicho autor además, describió dos formas conidiales en hormigueros abandonados y en cultivos artificiales. Stahel (1938) también en Brasil, cultivó el hongo de un hormiguero de *Atta cephalotes* sin obtener estructuras reproductoras. Posteriormente Autori, también en Brasil en 1940, estudió un hongo de un hormiguero de *Acromyrmex hispidus* (Weber, 1966; 1979; Bononi et al., 1981). En esa misma época, Stahel y Geijskes (Weber, 1966, 1972, 1979), encontraron esporóforos sobre un hormiguero de *Atta cephalotes*, parecidos a los de *Rozites* descritos por Möller. Dicho hongo fue cultivado y desarrolló estructuras conidiales similares a las del micelio de los hormigueros de Möller. Stahel y Geijskes cultivaron además, el micelio traído directamente del hormiguero, obteniendo conidióforos semejantes a la forma conidial de Möller.

Weber (1957) en Panamá, obtuvo en cultivo un hongo identificado como una *Lepiota* sp. a partir de micelio de un hormiguero de *Cyphomyrmex costatus*. Heim (1957) revisando los ejemplares de Möller y Weber, concluyó que ambos pertenecen a *Leucocoprinus gongylophorus* (Möll.) Heim. Kreisel (1972) en Cuba, describió *Attamyces bromatificus* Kreisel y *Phialocladus zsoitii* Kreisel (ambos Deuteromycetes), como los hongos cultivados por *Atta insularia*. Sin embargo, Lehmann en 1975 (Weber, 1979), sugirió que los hongos de las hormigas Attini y en especial los de *Atta sexdens* son Ascomycetes y que la forma conidial concuerda con *Aspergillus*. Singer (1986) consideró a *Attamyces bromatificus* como la forma estéril de *Leucoagaricus gongylophorus* (Möll.) Sing., pero que probablemente exista alguna otra forma perfecta no conocida todavía.

Hervey et al. (1977) en E.U.A. cultivaron en medios artificiales y naturales los micelios de 36 hormigueros procedentes de América del Sur, América Central, Caribe y del este de E.U.A., de los cuales sólo 4 produjeron basidiocarpos identificables como *Lepiota* sp., 18 presentaron micelio-estéril definido como *Attamyces bromatificus*, uno produjo micelio estéril con fíbulas y 13 dieron origen a micelio estéril sin fíbulas. Dichos autores citaron además *Leucoagaricus excoriatus* (Schaeff. ex Fr.) Sing., *L. naucinus* (Fr.) Sing., *Leucocoprinus birnbaumii* (Corda) Sing., *Chlorophyllum molybdites* (Meyer ex Fr.) Mass., *Macrolepiota procera* (Scop. ex Fr.) Sing., *Lepiota nigrocinnerea* Clel., *Cystoderma* sp. y *Pluteus nanus* (Pers. ex Fr.) Kumm., en relación con las hormigas arrieras. Weber (1979) en su revisión sobre los hongos cultivados por las hormigas, hizo ver que algunas especies de estos insectos cultivan *Leucocoprinus gongylophorus*, mientras que otras cultivan especies de *Lepiota*, en tre otras. Bononi et al. (1981) aislaron basidiocarpos de *Leucocoprinus gongylophorus* en un hormiguero de *Atta sexdens rubropilosa*.

En general se sabe que en los hormigueros abandonados o en los alrededores de éstos, crecen varios hongos, quizá aprovechando los detritus que las hormigas depositan constantemente y por otra parte, en un hormiguero abandonado, al no tener el hongo que cultivan las hormigas la influencia podadora constante de éstas, el micelio crece hasta producir la fase perfecta que normalmente no se desarrolla en las condiciones naturales del hormiguero (Bononi, 1983).

* Möller, A., 1893. Die Pilzgarten einiger sudamerikanischen Ameisten. *Bot. Mitt. Tropen* 6: I-VII & 1-127.

Weber (1979) y Hervey et al. (1977) presentaron una lista de los hongos encontrados en relación con las hormigas de la tribu Attini, según diversas fuentes bibliográficas. En la tabla 1, se resume toda esta información sobre las especies de hongos en relación con las hormigas, las cuales pertenecen a los Ascomycetes (*Xylaria*, *Discoxylaria* y probablemente *Daldinia*), Basidiomycetes (*Lepiota*, *Leucocoprinus*, *Leucoagaricus*, *Locellina*, *Lentinus*) y a los Deuteromycetes (*Bargellinia*, *Rhizomorpha*, *Tyridiomyces*, *Phialocladus*, *Attamyces* y *Aspergillus*).

Tabla 1. Hongos relacionados con las hormigas de la tribu Attini según diversas fuentes bibliográficas discutidas en el texto

Hormigas	Hongos
Möller, 1893 <i>Acromyrmex disciger</i>	<i>Leucocoprinus gongylophorus</i> (Möll.) Heim [= <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> (Möll.) Sing.] (como <i>Rozites</i>) y dos formas conidiales no identificadas
Spegazzini, 1899 <i>Acromyrmex lundii</i>	<i>Bargellinia</i> <i>Rhizomorpha formicarum</i> (forma estéril de <i>Armillariella mellea</i>) <i>Xylaria micrura</i> Speg.
Wheeler, 1907 <i>Cyphomyrmex rimosus</i>	<i>Tyridiomyces formicarum</i> Wheeler
Bruch, 1921 <i>Acromyrmex lundii</i>	<i>Xylaria micrura</i> Speg.
Spegazzini, 1921 <i>Acromyrmex heyeri</i> <i>Atta wollenweideri</i>	<i>Discoxylaria mirmecophila</i> (como <i>Poroniopsis bruchi</i> Speg.) <i>Locellina mazzuchii</i> Speg.
Weber, 1938 <i>Atta cephalotes</i>	<i>Lentinus atticulus</i> Weber
Autori, 1940 <i>Acromyrmex hispidus</i>	<i>Leucocoprinus gongylophorus</i> (Möll.) Heim (como <i>Rozites</i>)
Stahel y Geiskses, 1941 <i>Atta cephalotes</i>	<i>Leucocoprinus gongylophorus</i> (Möll.) Heim (como <i>Rozites</i>) y masa conidial no identificada
Heim, 1957 varias especies de <i>Atta</i>	<i>Leucocoprinus gongylophorus</i> (Möll.) Heim
Weber, 1957, 1966 <i>Acromyrmex formicarum</i> <i>A. landolti</i> <i>A. landolti pampanus</i> <i>A. octospinosus</i> <i>Apterostigma calverti</i>	<i>Auricularia</i> sp., probablemente <i>A. polytricha</i> (Mont.) Sacc. <i>Locellina mazzuchii</i> Speg. (= <i>Agaricus</i> sp.) <i>Lepiota</i> sp. <i>Leucocoprinus gongylophorus</i> (Möll.) Heim

Cont. tabla 1

<u>A. mayri</u>	<u>Tyridomyces formicarum</u> Wheeler (posiblemen
<u>A. angulatum</u>	te la fase imperfecta de <u>Daldinia</u> o <u>Xy-</u>
<u>A. robustum</u>	<u>laria</u>)
<u>Atta cephalotes</u>	<u>Xylaria micrura</u> Speg.
<u>A. cephalotes opaca</u>	
<u>A. laevigata</u>	
<u>A. colombica</u>	
<u>A. sexdens</u>	
<u>A. vollenweideri</u>	
<u>A. rubropilosa</u>	
<u>A. colombica tonsipes</u>	
<u>Cyphomyrmex rimosus</u>	
<u>C. bigibbosus</u>	
<u>C. costatus</u>	
<u>Mycetophylax conformis</u>	
<u>Mycocephalus manni</u>	
<u>Myrmicocrypta buenzlii</u>	
<u>M. ednaella</u>	
<u>Sericomyrmex urichi</u>	
<u>S. ambalis</u>	
<u>Trachymyrmex cornetzi</u>	
<u>T. jamaicensis</u>	
<u>T. urichi</u>	
<u>T. arizonensis</u>	
<u>T. zeteki</u>	
<u>T. morgani</u>	
Lindquist y Wright, 1959; 1964	
<u>Atta sp.</u>	<u>Discoxylaria mirmecophila</u> Lindq. & Wright
	(= <u>Hypocreodendrum sanguineum</u> Henn.)
Kreisel, 1972	
<u>Atta insularis</u>	<u>Attamyces bromatificus</u> Kreisel.
	<u>Phialocladus zsoltii</u> Kreisel.
Pérez-Silva, 1974	
<u>Atta sp.</u>	<u>Discoxylaria mirmecophila</u> Lindq. & Wright
Lehmann, 1975	
<u>Acromyrmex subterraneus</u>	<u>Aspergillus sp.</u> (dos especies)
<u>Atta sexdens</u>	
Guzmán, 1977	
<u>Atta sp.</u>	<u>Discoxylaria mirmecophila</u> Lindq. & Wright
Hervey et al., 1977	
<u>Acromyrmex octospinosus</u>	<u>Attamyces bromatificus</u> Kreisel
<u>A. striatus</u>	<u>Chlorophyllum molybdites</u> (Mayer ex Fr.)
<u>A. lobicornis</u> subsp. <u>balzani</u>	Mass.
<u>A. landolti</u>	<u>Cystoderma sp.</u>
<u>A. aspersus</u>	<u>Lepiota sp.</u>
<u>A. heyeri</u>	<u>L. nigrocinerea</u> Clel.
<u>Apterostigma auriculatum</u>	<u>Leucogaricus excoriatus</u> (Schaeff. ex Fr.)
<u>A. mayri</u>	Sing.

Cont. tabla 1

<u>Atta cephalotes</u>	<u>L. naucinus</u> (Fr.) Sing.
<u>Atta colombica tonsipes</u>	<u>Leucocoprinus birnbauumii</u> (Corda) Sing.
<u>A. cephalotes isthmicola</u>	(como <u>Lepiota lutea</u>)
<u>A. laevigata</u>	<u>Macrolepiota procera</u> (Scop. ex Fr.) Sing.
<u>A. sexdens</u>	<u>Pluteus nanus</u> (Pers. ex Fr.) Kumm.
<u>Cyphomyrmex costatus</u>	
<u>C. rimosus</u>	
<u>Mycetophylax conformis</u>	
<u>Myrmicocrypta ednaella</u>	
<u>M. buenzlii</u>	
<u>Sericomyrmex urichi</u>	
<u>Trachymyrmex cornetzi</u>	
<u>T. septentrionalis</u>	
<u>T. relictus</u>	
<u>T. urichi</u>	
<u>T. sp.</u>	
Batra & Batra, 1979	
<u>Atta sp.</u> (?)	<u>Xylaria micrura</u> Speg.
	<u>X. brasiliensis</u> (Theiss.) Lloyd
Weber, 1979	
<u>Acromyrmex disciger</u>	<u>Arspergillus</u> (contaminante ?)
<u>A. lundii</u>	<u>Attamyces bromatificus</u> Kreisel.
<u>A. heyeri</u>	<u>Bargellinia</u> ?
<u>Atta vollenweideri</u>	<u>Lentinus sp.</u>
<u>A. insularis</u>	<u>Lepiota sp.</u>
<u>A. cephalotes</u>	<u>Leucocoprinus gongylophorus</u>
<u>A. sp.</u>	(Möhl.) Heim (como <u>Rozites</u>)
<u>Cyphomyrmex rimosus</u>	<u>Locellina mazzuchii</u> Speg.
<u>C. costatus</u>	<u>Phialocladus zsoltii</u> Kreisel.
<u>Myrmicocrypta buenzlii</u>	<u>Poroniopsis bruchi</u> Speg.
	<u>Rhizomorpha formicarum</u>
	<u>Tyridomyces formicarum</u> Wheeler
	<u>Xylaria micrura</u> Speg.
Bononi et al., 1981	
<u>Atta sexdens rubropilosa</u>	<u>Leucocoprinus gongylophorus</u> (Möhl.) Heim
García, 1985	
<u>Atta sp.</u>	<u>Discoxylaria mirmecophila</u> Lindq. & Wright
Singer, 1986	
<u>Atta</u>	<u>Attamyces bromatificus</u> Kreisel.
<u>Acromyrmex</u>	<u>Leucogaricus sp.</u>
	<u>L. gongylophorus</u> (Möhl.) Sing. (= <u>Agaricus</u>
	<u>sp.</u>)

ANTECEDENTES EN MEXICO

Se sabe que existen cuando menos tres especies de hormigas arrieras (tribu *Attini*) en México (Coronado, 1970), pero no se han estudiado en cuanto a sus hábitos alimenticios. Las especies conocidas en el país son: *Atta mexicana* Smith, *A. texana* Buckley y *A. cephalotes* L., las cuales en el Estado de Veracruz se les conoce como "chicatanas", según Coronado (1970) y Landeros (1985). Dichos autores y Hendrich y Reyes (1963) investigaron las hormigas arrieras en México (Landeros en el Estado de Veracruz), pero en ningún trabajo se estudió el hongo cultivado por las hormigas. Hendrichs y Reyes señalaron que una consecuencia de la acumulación de *de- tritus* en los basureros de los hormigueros, es la existencia de gran cantidad de nutrientes en los alrededores de éstos, lo que mantiene a muchos Artropodos. Quizá también a esto se deba la proliferación de algunos hongos saprófitos ajenos al hormiguero, como son especies de los géneros *Discoxyllaria* y *Xylaria* y probablemente las de *Lepiota*, señaladas en la tabla 1.

Referente a los estudios sobre los hongos de las hormigas en México, solo están los de Pérez-Silva (1974) quien describió el Ascomycete *Discoxyllaria mirmecophila* Lindq. & Wright de hormigueros de Morelos y Nuevo León; Guzmán (1977) quien re-describió dicho hongo sobre hormigueros y García (1985) quien lo citó de Veracruz, en todos los casos ligado a hormigueros abandonados del género *Atta*. Este hongo solamente se conocía de Argentina y Uruguay, de donde Spegazzini lo había descrito como *Poronopsis bruchi* Speg. y Hennen como *Hypocreodendron sanguineum* Henn. (Lindquist & Wright, 1959; 1964).

FORMACION Y ESTRUCTURA DEL HORMIGUERO

Las hormigas arrieras cultivan hongos para su alimentación y para ello forman un sustrato adecuado en su hormiguero, en donde los inoculan. Este sustrato lo elaboran a base de pequeños cortes de hojas, que obtienen de los arbustos y arboles de la vegetación circundante, a los cuales llegan a defoliar totalmente, afectando drásticamente la floración y fructificación de tales plantas. Las hormigas construyen caminos hacia su hormiguero, por los cuales transportan los fragmentos de las hojas. Dichos caminos pueden tener hasta 30 cm de ancho y llegar a más de 200 m de longitud (Weber, 1979; Wheeler, 1973). Los medios químicos empleados para combatir a estas hormigas han fracasado, debido a que solamente controlan a las hormigas por períodos cortos.

El cultivo de los hongos por las hormigas constituye una asociación y adaptación de ambas partes, comparable con la que existe con las termitas del África (Batra y Batra, 1967). La colonia en las hormigas se inicia cuando la reina sale del nido para efectuar el vuelo nupcial y en donde es fecundada por el macho. La hembra lleva fragmentos de micelio del hormiguero original en la cámara infrabucal. Terminado el vuelo la hormiga reina construye un nido en el suelo y en el cual regurgita el micelio, lo lame y baña con gotas de líquido fecal y con estos cuidados, el micelio crece rápidamente. A continuación la hormiga reina pone los huevos sobre el micelio y las larvas resultantes y la reina se alimentan de éste; después de 2 meses aparecen las primeras obreras que son las encargadas del mantenimiento y reproducción del hongo a través de los cortes de hojas del medio externo que depositan en otras cámaras y en donde siembran el hongo que han mantenido en la primera cámara (Weber, 1979; Wheeler, 1973).

Los recortes de las hojas son inmediatamente masticados por las obreras hasta convertirlos en una pulpa, en la cual siembran el micelio, que crece, en promedio, 13 µm de diámetro/hora (Weber, 1979) y a partir de estos trozos de sustrato ya inoculado, forman una masa redondeada esponjosa, con perforaciones irregulares a casi hexagonales, la cual se llama *bromatia* (Fig. 1)*. El micelio prolifera rápidamente, pero está limitado en su crecimiento debido a que las hormigas cortan las puntas de las hifas para su alimentación y a su vez por trofolaxia (regurgitación de boca a boca), alimentan a los soldados, los cuales son incapaces de alimentarse por sí mismos. Martín (1970) encontró que la relación hormiga-hongo es una alianza bioquímica, en donde la materia fecal de las hormigas que contiene nitrógeno, facilita el cultivo del hongo y éste a su vez contribuye en el aparato bucal de la hormiga para degradar la celulosa, a través de sus enzimas. Este tipo de conducta coloca a las hormigas de la tribu *Attini* como los insectos más evolucionados en el cultivo de los hongos, ya que han substituído con el excremento de ellas el uso de otros restos de animales para complementar las deficiencias nitrogenadas del hongo.

Una vez agotado el sustrato por el hongo, éste es cortado en trozos por las hormigas y sacado de las cámaras. En el caso de *A. cephalotes* es conducido a través de túneles a una cámara de desechos, donde son también depositados los cadáveres de las hormigas; esta cámara está localizada a la mayor profundidad del hormiguero y es además la de mayor tamaño (Landeros, 1985). Por su parte las hormigas *A. mexicana*, llevan los desechos de sustrato y cadáveres hasta la superficie y los colocan en la periferia de las entradas del hormiguero, acumulándolos en gran cantidad que pueden llegar a más de 5 cm de espesor, los que señalaron Hendrichs y Reyes (1963), anteriormente.

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron seis hormigueros, tres con *Atta cephalotes* en la región de Córdoba, Ver. y tres con *Atta mexicana*, de éstos últimos, dos en la región de Xalapa, y otro en Córdoba. La identificación de las hormigas se hizo basándose en el trabajo de Smith (1963), siguiendo las características morfológicas cefálicas y bucales de las hormigas. Para coleccionar el hongo, se abrió el hormiguero hasta localizar las cámaras de cultivo (Fig. 2), las cuales se encontraron generalmente entre los 80-100 cm de profundidad, aunque a veces fué necesario escarbar hasta 160 cm debido a los problemas de la localización de las cámaras. Todos los hormigueros estudiados tenían alrededor de 5 m de diámetro, aunque en uno de *Atta cephalotes* llegó hasta 8 m. En algunos hormigueros se localizaron además cámaras de depósito de hojas (Fig. 2), todavía sin el cultivo del hongo y en otras cámaras depósito de detritos.

De las cámaras de cultivo del hongo se extrajo el micelio, el cual fué colocado dentro de frascos de boca ancha, tanto color ámbar como transparentes, previamente esterilizados y a los cuales se les colocó en el fondo papel absorbente humedecido como fuente de humedad, protegido con una malla de plástico. En dichas masas fungosas iban también las hormigas, las cuales se retiraron de algunos frascos más tarde en el laboratorio. A las tapaderas de los frascos se les practicaron pequeñas perforaciones para permitir la ventilación. Los frascos fueron puestos en el laboratorio a temperatura ambiental conteniendo hormigas y a 25 y 27°C (sin hormigas).

* *bromatia* (del griego *broma*, igual a comida)

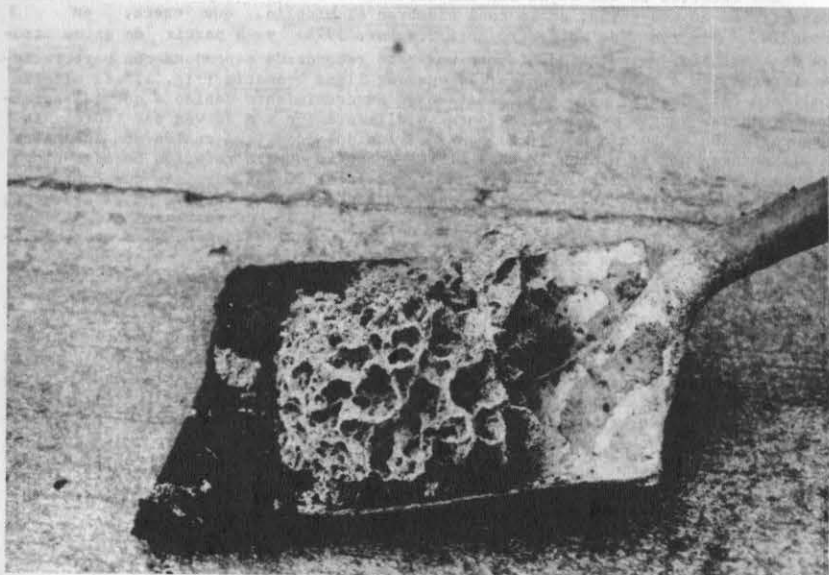


Fig. 1. Masa fungosa llamada bromatia, la cual cultivan las hormigas arriaras. Corresponde al hongo Phialocladus zsoltyi.

La vegetación circundante de los hormigueros estudiados, fué cafetal con ranjos o limoneros o acahual con huizaches o potreros con diversos árboles, como manojos o huizaches, dentro de lo que era en otro tiempo bosque mesófilo de montaña. Los suelos en todos los casos fueron arcillas de color café rojizo. Las hojas de las cámaras de los hormigueros, usadas como sustrato del hongo, se identificaron con naranjo, limón, mango, durazno, huizache y pastos. Se midió la temperatura en varias de las cámaras de los hormigueros estudiados. Esta se tomó con un termómetro colocándolo en el centro de las cámaras de cultivo. En la tabla 2 se presentan las características de los seis hormigueros estudiados.

Después de extraer el hongo de varias de las cámaras de los hormigueros, se dejaron abiertas dos cámaras con hongos en cada hormiguero, para obtener conidióforos, ya que estos se desarrollan cuando las hormigas abandonan el hongo, sin embargo, en la mayor parte de las cámaras, el hongo empezó a secarse poco a poco debido a las altas temperaturas del medio circundante y a la baja humedad. Se obtuvieron los conidióforos poco desarrollados y en varios casos el hongo se contaminó con mohos. Las hormigas abandonaron los nidos sin intentar taparlos de nuevo o en otras ocasiones los cerraron con tierra o se llevaron el hongo a otras cámaras.

De esta manera sólo se lograron observar conidióforos en una cámara de A. cephalotes, seis días después de abierta, lo cual fué favorecido por la lluvia que humedeció el sustrato dentro de la cámara y por el abandono de las hormigas. En esta cámara el micelio creció hasta llenar el espacio que normalmente queda entre el hongo y las paredes de la cámara.

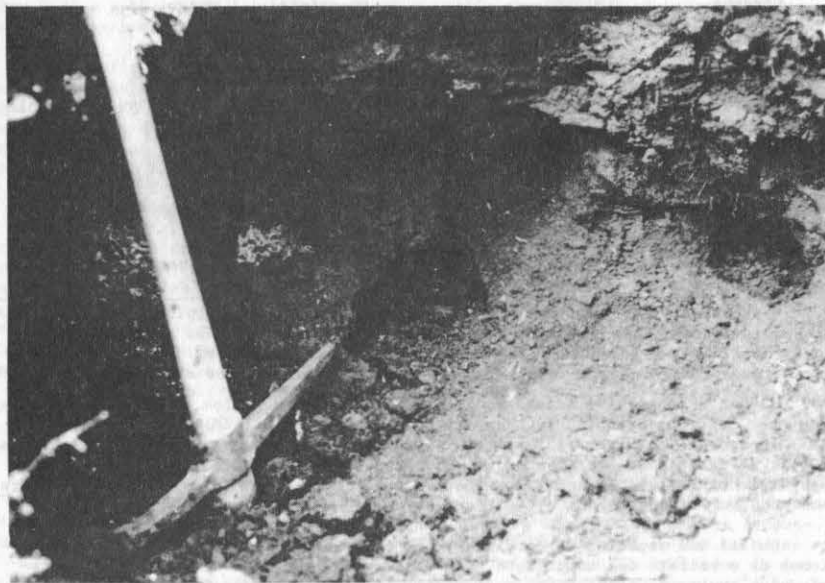


Fig. 2. Detalle del hormiguero 3 de Córdoba de Atta cephalotes mostrando dos cámaras con bromatia (a la izquierda), dos vacías (en medio) y una de depósito de hojas (extremo derecho). Nótese la profundidad de la excavación, en relación con la longitud del pico.

Tabla 2. Características de los hormigueros estudiados

Especie de hormiga y área de estudio	Profundidad	T°C	Vegetación circundante	Substrato hojas de.	Suelo
<u>Atta cephalotes</u>					
Hormiguero 1 Córdoba	0.85	26-27	Cafetal con naranjos	mango y naranjo	arcilla
Hormiguero 2 Córdoba	0.70	26-27.5	Potrero con árboles de mango	mango y huizache	arcilla
Hormiguero 3 Córdoba	0.80	25.5-27	Orillas de un cafetal	naranja, mango, limón y durazno	arcilla
<u>Atta mexicana</u>					
Hormiguero 4 Córdoba	1.0	25-27	Cafetal con naranjos y limoneros	naranja y limón	arcilla
Hormiguero 5 Xalapa	1.60	26-27	Potrero cercano a un acahual	pasto y huizache	arcilla
Hormiguero 6 Xalapa	0.85	26-27	Acahual con huizache	huizache	arcilla

Las masas miceliales colectadas se estudiaron al microscopio para observar la presencia de conidióforos; para ello se realizaron preparaciones con KOH al 5%, lactofenol, azul-algodón en lactofenol y con solución de Melzer. No se encontraron variaciones en las estructuras del hongo cultivado por las dos especies de hormigas.

El hongo se cultivó además en el laboratorio sobre medios artificiales, tales como agar dextrosa papa (ADP), agar con extracto de malta (AEM) y medio especial (AME) [compuesto por agar (15 g), $MgSO_4$ (0.5g), KH_2PO_4 (1g), peptona (2g) y dextrosa (20g)]. El micelio de los frascos con el hongo de los hormigueros, se inoculó en cajas Petri con los medios anteriormente mencionados, incubándose de 25 y 27°C y se re sembraron hasta la obtención de cultivos puros.

De las dos especies de hormigas y por espacio de 30 días, se mantuvieron porciones de substrato del hormiguero con hongo y con hormigas en frascos, suministrando trozos de hojas frescas de rosal, limonero y naranja para que fueran procesadas por las hormigas en el cultivo del hongo. Estas porciones de la colonia se mantuvieron a temperatura ambiente y sin la reina hormiga para evitar la sobrepoblación. Dicho experimento se realizó con el propósito de hacer observaciones sobre el desarrollo del hongo con las hormigas, conocer la comestibilidad de estos insectos y tener micelio fresco para cultivos. Se efectuó además una prueba de comestibilidad, intercambiando el hongo entre las dos especies de hormigas, con el propósito de conocer si el hongo cultivado por A. cephalotes, era comestible para A. mexicana y viceversa.

Una vez identificados los hongos de los diferentes materiales, se procedió al secado, herborización e incorporación en el Herbario del INIREB y las cepas quedaron depositadas en el cepario del Laboratorio de Cultivo de Hongos de dicha institución.

RESULTADOS

Observaciones del desarrollo del hongo en substrato natural y en laboratorio

En los frascos color ámbar con el micelio del hormiguero y con las hormigas y puestos en el laboratorio a temperatura ambiente, el hongo empezó a crecer lentamente después de 3 días, a pesar del continuo corte por parte de las hormigas, las cuales no lograron contener el crecimiento del hongo y 5 días después, cuando el micelio tenía casi 3 cm de espesor, las hormigas que no quedaron atrapadas entre las hifas se retiraron a las paredes del frasco y allí permanecieron casi sin movimiento. A los 7 días aparecieron los macroconidios y un día después, los microconidios (ambas estructuras se describen más adelante) (tabla 3).

En los frascos transparentes con hormigas puestos en las mismas condiciones que los frascos de color ámbar, el crecimiento del micelio fue más rápido. Las hormigas dejaron de cortar el hongo 3 días después para retirarse a las paredes del frasco y evitar quedar atrapadas entre el micelio que tenía ya más de 2 cm de espesor. A los 4 días cuando el micelio alcanzó los 4 cm de espesor, aparecieron los macroconidios y un día después los microconidios.

En ambos casos el micelio que era blanco y algodonoso, tomó una coloración café en su superficie, debido a la formación de los microconidios. En los frascos ámbar y sin hormigas colocados a 25 y 27°C, el micelio se desarrolló en el mismo período de tiempo que en los frascos que contenían hormigas y lo mismo sucedió en los frascos transparentes, como se puede ver en la tabla 3. La única diferencia fue que al no haber corte por parte de las hormigas, el espesor del micelio fue mayor, llegando a más de 4 cm y el micelio finalmente se cubrió de una masa conidial de color café. Al parecer la presencia de hormigas y la temperatura (25 y 27°C) a la que se sometió el micelio no influyeron mucho en el desarrollo del hongo en los frascos, ya que aunque las hormigas lo cortaban constantemente durante los primeros días de desarrollo, no lograron contener el crecimiento del micelio, que aún al aumentar el número de hormigas en los frascos, éstas no pudieron detener el crecimiento y terminaron inertes en las paredes de los frascos.

Este desinterés de las hormigas hacia el hongo, puede deberse a que conforme se desarrollan las hifas, los gonglidios (del gr. gongylis) nabo. (Figs. 3 y 8), que son los que se comen, reducen su tamaño debido a que su material celular es aprovechado por el resto de las hifas para su crecimiento. El desinterés de las hormigas quizá pueda deberse también, a la ausencia de la hormiga reina. La humedad y la luz aceleran notablemente el crecimiento del hongo, aún en presencia de hormigas y se logró mantener el hongo sin que se desarrollaran conidióforos, como sucede en las cámaras de los hormigueros.

Observaciones del desarrollo del hongo en las cámaras del hormiguero

Dentro del hormiguero a profundidades que van de 50 cm a más de 4 m, se encontraron las cámaras (Fig. 2), en las que el hongo es cultivado. Estas son cavidades

subesféricas y están conectadas a la superficie y entre ellas mismas por túneles. Las cámaras de cultivo para *A. cephalotes* son generalmente de 15 a 30 cm de diámetro y para *A. mexicana* de 12 a 25 cm. En las cámaras, el hongo presenta un aspecto de esponja irregular, llamada según Wheeler (1973) *bromatia* (Fig. 1).

La *bromatia* puede o no presentar coloraciones de acuerdo a sus diferentes estados y estos pueden encontrarse en una sola cámara, aunque algunas de ellas tienen sólo dos o uno. La *bromatia* verde oscuro es donde el substrato esta apenas inoculado por las hormigas; este color se presenta principalmente en los bordes de la misma. La *bromatia* blanca a gris es donde ya ha proliferado el micelio que cubre el substrato como un velo, formado por hifas entrelazadas; aquí se desarrollan unos gránulos blancos llamados *estafilas* (del gr. *staphyle*, racimo (Weber, 1957, 1979); estas estructuras están compuestas por un racimo de *gonglidios* (Fig. 3 y 8). Después de la aparición de las *estafilas* el resto del micelio se torna gris. Otra zona de la *bromatia* es de color café-amarillento, debido a que hay poco micelio y las *estafilas* están reducidas, secas y amarillentas, debido a que el substrato se ha agotado total o parcialmente.

Prueba de comestibilidad

Para comprobar si el hongo cultivado por *A. cephalotes* era comestible para *A. mexicana* y viceversa, fué sometido a pruebas de comestibilidad.

El hongo cultivado por *A. cephalotes* se separó de las hormigas y se depositó en cajas Petri para ofrecerlo a *A. mexicana* porquienes fué consumido sin observarse ningún rechazo. De igual manera el hongo de *A. mexicana* fué ofrecido a *A. cephalotes* que lo consumieron también sin rechazarlo. Pero cuando se les ofreció a cada especie de hormiga los dos hongos en una misma caja, tanto el suyo como el cultivado por la otra especie, éstas prefirieron el suyo rechazando el de la otra especie. Para estas pruebas se utilizó el micelio (*bromatia*) fresco, que presentaba gran cantidad de *estafilas*, estructuras preferidas por las hormigas, ya que contienen los *gonglidios*.

Tabla 3. Desarrollo de los conidióforos en los frascos sin hormigas

Hormigas	T°C	Conidios	No. de días	
			Fracos de color ámbar	Fracos transparentes
<i>A. cephalotes</i>	25	macroconidios	7	4
		microconidios	8	5
	27	macroconidios	6	4
		microconidios	7	5
<i>A. mexicana</i>	25	macroconidios	7	4
		microconidios	8	5
	27	macroconidios	7	4
		microconidios	8	5

Cultivos en el laboratorio

El micelio silvestre en los frascos traídos del hormiguero, se inóculo en medios de ADP, AEM y AME, antes señalados, todos en cajas Petri. Se sembró hasta obtener cultivos puros. En la tabla 4 se presenta el tiempo que tardaron los conidióforos (macroconidios y microconidios) en formarse a 25 y 27°C. En general los conidios aparecieron a los 6-8 días de la siembra, no observándose ninguna variante significativa entre los rangos de temperatura y los medios usados.

Tabla 4. Cultivo del micelio en el laboratorio. Tiempo de aparición (días) de conidióforos en los diferentes medios usados.

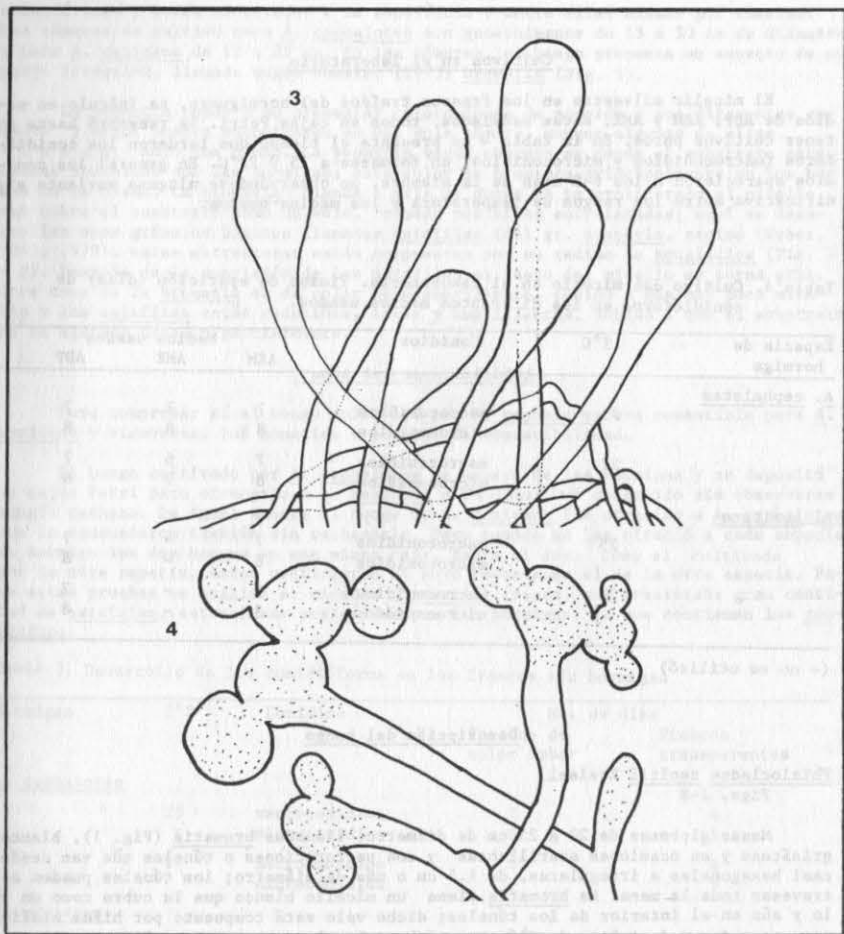
Especie de hormiga	T°C	Conidios	Medios usados		
			AEM	AME	ADP
<i>A. cephalotes</i>	25	macroconidios	7	7	7
		microconidios	8	8	8
	27	macroconidios	7	6	7
		microconidios	8	7	8
<i>A. mexicana</i>	25	macroconidios	7	-	7
		microconidios	8	-	8
	27	macroconidios	7	-	7
		microconidios	8	-	8

(- no se utilizó)

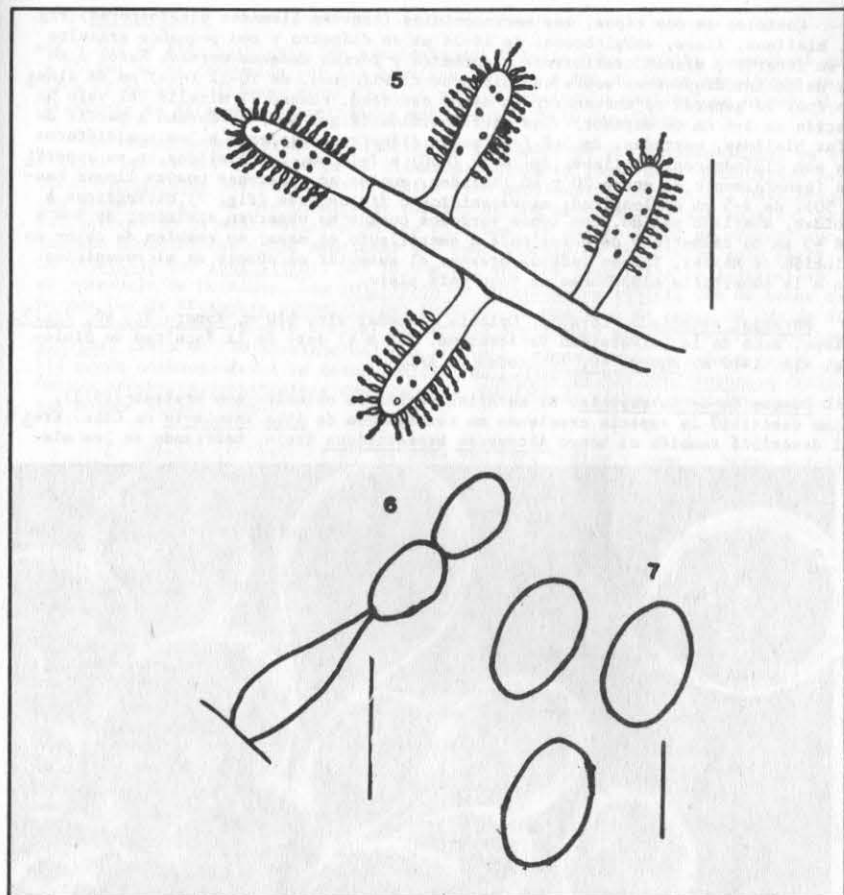
Descripción del hongo

Phialocladus zsolzii Kreisel Figs. 1-8

Masas globosas de 20 a 25 cm de diámetro, llamadas *bromatia* (Fig. 1), blanco-grisáceas y en ocasiones amarillentas y con perforaciones o túneles que van desde casi hexagonales a irregulares, de 1.5 cm o más de diámetro; los túneles pueden atravesar toda la masa. La *bromatia* tiene un micelio blanco que la cubre como un velo y aún en el interior de los túneles; dicho velo está compuesto por hifas hialinas, septadas y de 4-5 µm de diámetro. Sobre el velo se encuentran las *estafilas*, las cuales son granuleaciones blancas, de 0.5 a 1 mm de diámetro y donde están agrupados los *gonglidios* (Fig. 3 y 8), que son inflaciones en forma de pera de las puntas de las hifas, de 22-30 (-38) x 14-25 (-30) µm (estructuras ausentes en cultivos artificiales). Los *gonglidios* están sostenidos por hifas hialinas y septadas, de 5-8 (-9) µm de diámetro, las cuales van adelgazándose hasta unirse con las hifas del resto del micelio que rodea las *estafilas*.



Figs. 3-4. El hongo de las hormigas arrieras: *Phialocladus zsoltii*. 3: Gongli-dios (estructuras que se comen las hormigas). 4: Macroconidios (las escalas en las Fig. 3 y 4 indican 25 μ m).



Figs. 5-7. *Phialocladus zsoltii*. 5: Conidióforos; 6: Fialide con microconidios; 7: Microconidios (las escalas en las Figs. 5-7 indican 20, 5 y 3 μ m, respectivamente).

Conidios de dos tipos, los macroconidios (también llamados blastosporas) (Fig. 4), hialinos, lisos, subglobosos, de 16-24 μ m de diámetro y con pequeños gránulos en su interior; tienen crecimiento dicotómico y forman cadenas cortas; éstos a su vez se hallan dispuestos sobre conidióforos claviformes, de 10-12 (-14) μ m de diámetro (por lo general se encuentran en mayor cantidad, cuando el micelio del velo ha crecido de 3-4 cm de espesor). Los microconidios (Figs. 5-7) se forman a partir de hifas hialinas, septadas, de 5-8 (-9) μ m de diámetro; sostienen a los conidióforos que son cilíndricos, hialinos, de 18-32 (-50) x 7-10 μ m, con fialides en su superficie (generalmente de entre 20 y 40 fialides, aunque en ocasiones pueden llegar hasta 50), de 3-5 μ m de longitud; microconidios o fialosporas (Fig. 7) cilíndricos a ovoides, amarillo pálido, con tonos verdosos cuando se observan aislados, de 3-4 x 2.8-3 μ m de diámetro y de color café a amarillento en masa; no cambian de color en solución de Melzer, forman cadenas breves; al aumentar el número de microconidios dan a la superficie algodonosa un tono café claro.

Material estudiado. Córdoba, Colonia Alameda, alt. 810 m, Romero 32; 40; 72; 73. Xalapa, zona de la Universidad Veracruzana, 500 m al este de la Facultad de Biología, alt. 1420 m, Romero 40, 70 (todos en XAL).

Discusión de la especie. El material estudiado coincidió con Kreisel (1972), quien describió la especie creciendo en hormigueros de Atta insularis de Cuba. Kreisel describió también el hongo Attamyces bromatificus Kreisel, habitando en los mis-

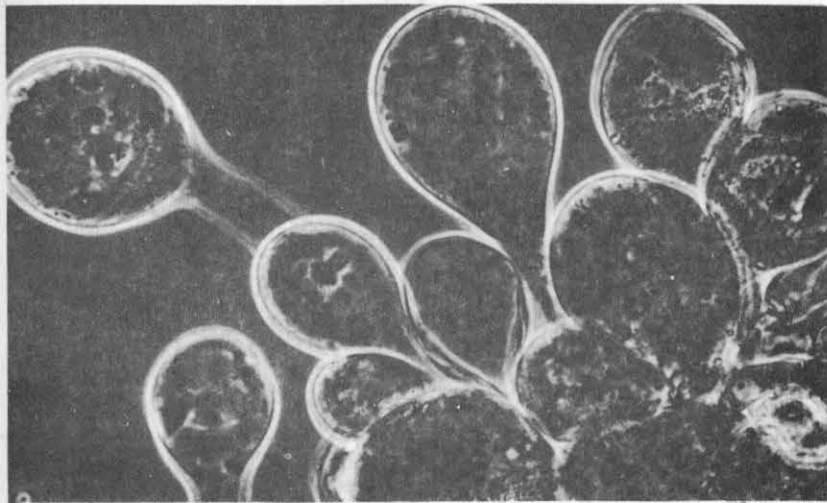


Fig. 8. Gonglioides de Phialocladus zsolttii.

mos nidos de Atta insularis, en simbiosis con Phialocladus zsolttii y mencionó que este último no es consumido por las hormigas, debido a que no forma gonglioides en los nidos ni en los cultivos; además señaló que su desarrollo conidial es debido al debilitamiento de Attamyces bromatificus por desequilibrio ecológico.

Se encontraron ciertas diferencias en el tamaño de los macroconidios, ya que Kreisel los señaló de 22-32 μ m de diámetro; además el hongo aquí considerado desarrolló gonglioides los cuales solo habían sido mencionados por Kreisel para Attamyces bromatificus en las cámaras de cultivo de los hormigueros, sin embargo, estas estructuras no se desarrollaron en los cultivos, ya que en éstos se presentaron solamente conidióforos (cabe mencionar que como inóculo se utilizaron solo porciones de estafilas con gonglioides), por lo que tal vez los gonglioides se desarrollen solo en presencia de hormigas. Los gonglioides de Phialocladus zsolttii son de menor tamaño que los de Attamyces bromatificus; Kreisel los mencionó de hasta 50 μ m de diámetro. A esta última especie Kreisel la definió por formar micelio estéril con gonglioides, tanto en los hormigueros como en los cultivos. Kreisel señaló que P. zsolttii puede corresponder a la forma conidial de Leucocoprinus gongylophorus (Möller) Heim y Attamyces bromatificus como la forma estéril de dicho Agarical, suposición que aceptó Singer (1986).

P. zsolttii se registra por primera vez para México y como el hongo cultivado por 2 especies de hormigas del género Atta.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al CONACYT, por el apoyo otorgado en la realización del presente trabajo. También agradecen la colaboración por parte de las autoridades e integrantes de los Laboratorios de Micología del INIREB y de la Universidad Veracruzana por su apoyo y sugerencias. Se reconoce la colaboración en la fotomicroscopía del Téc. Carlos Iglesias y del M. en C. Andrés Vovides del INIREB. El Dr. Neal A. Weber del Colegio de Swarthmore en Pennsylvania, proporcionó importante información y el M. en C. Daniel Martínez Carrera del INIREB apoyó los trabajos sobre el aislamiento de la cepa.

LITERATURA CITADA

- Batra, S.W.T. y L.R. Batra, 1967. The fungus gardens of insects. Scientific American 27: 2-9.
- Batra, L.R. y S.W.T. Batra, 1979. Termite-fungus mutualism. In: Batra, L.R., Insect-fungus symbiosis. Wiley, Nueva York.
- Bononi, V.L., 1983. Comunicación personal.
- Bononi, V.L., M. Autori y B. da Rocha, 1981. Leucocoprinus gongylophorus (Möller) Heim o fungo do formigero de Atta sexdens rubropilosa Forst. Rickia 9: 93-97.
- Coronado, P.R., 1970. Distribución geográfica de hormigas arrieras existentes en la República Mexicana. Memorias VII Congreso Nal. de Entomología, México, D.F.

- García, J., 1985. Descripción taxonómica de 25 especies de macromicetos poco conocidos del Estado de Veracruz. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Veracruzana, Xalapa. Tesis Profesional.
- Guzmán, G., 1977. Identificación de los hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera. Limusa, México, D.F.
- Heim, R., 1957. A propos du Rozites gongylophora Moller. Rev. Mycol. 22: 293-299.
- Hendrichs, J. y P. Reyes., 1963. Asociación entre coleópteros de la familia Passalidae y hormigas. Ciencia, Mex. 22: 101-104.
- Hervey, A., C.T. Rogerson y I. Leong, 1977. Studies on fungi cultivated by ants. Brittonia 29: 226-236.
- Kreisel, H., 1972. Pilze aus Pilzgärten von Atta insularis in Kuba. Z.Allg.Mikrobiol. 12: 643-654.
- Landeros, T.I., 1985. Estructura y composición de la sociedad de un nido de Atta cephalotes L. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Veracruzana, Córdoba. Tesis Profesional.
- Lindquist, J.C. y J.E. Wright, 1959. Sobre la identidad de Poroniopsis Speg. e Hypocreodendrum P. Henn. Darwiniana 11: 598-605.
- Lindquist, J.C. y J.E. Wright, 1964. Discoxyllaria, género nuevo, la forma perfecta de Hypocreodendron sanguineum. Darwiniana 13: 138-143.
- Marcin, M.M., 1970. The biochemical basis of the fungus-Attini ants symbiosis. Science 169: 16-20.
- Pérez-Silva, E., 1974. Primer registro del género Discoxyllaria (Pyrenomycetes) en México. Bol. Soc. Mex. Mic. 8: 49-52.
- Singer, 1986. The Agaricales in modern taxonomy. Koeltz, Koenigstein.
- Smith, M.R., 1963. Notes on the leaf-cutting ants, Atta spp. of the United States and Mexico. Jour. Animal Ecology 65: 299-302.
- Stahel, G., 1938. Sobre o fungo cultivado pela formiga Atta cephalotes. Anais 1: 199-206.
- Weber, N.A., 1957. Fungus-growing ants and their fungi: Cyphomyrmex costatus. Ecology 38: 480-494.
- Weber, N.A., 1966. Fungus-growing ants. Science 153: 587-604.
- Weber, N.A., 1972. Gardening ants. The Attinids. Mem. 92, Amer. Philos. Soc., Filadelfia.
- Weber, N.A., 1979. Fungus-culturing by ants, In: Batra, L.R., Insect-fungus symbiosis. Willey, Nueva York.
- Wheeler, W.M., 1973. The fungus-growing ants of North America. Dover, Nueva York.