

Patogenicidad de *Paecilomyces lilacinus* y *Metarhizium anisopliae* sobre termitas *Microcerotermes* sp. (Isoptera: Termitidae)

Pathogenicity of *Paecilomyces lilacinus* and *Metarhizium anisopliae* on *Microcerotermes* sp. termites (Isoptera: Termitidae)

ANA ISABEL GUTIÉRREZ G.¹ YAMILLÉ SILDARRIAGA O.², SANDRA URIBE S.³,
MÓNICA P. ZULUAGA A.⁴, FABIO PINEDA G.⁵

Revista Colombiana de Entomología 31 (1): 9-14 (2005)

Resumen. Se realizaron ensayos de laboratorio para determinar la patogenicidad de *Paecilomyces lilacinus* y *Metarhizium anisopliae*, sobre las termitas *Microcerotermes* sp. Las termitas se colectaron en plantaciones de Eucalipto de la reforestadora San Sebastián de Buenavista, Magdalena (Colombia) y se mantuvieron en oscuridad a una temperatura promedio de 25°C y humedad relativa de 59,5%. Los bioensayos consistieron en colocar en contacto las termitas obreros con lonas 100% algodón, impregnadas con los hongos a concentraciones de 1×10^1 , 1×10^3 , 3×10^5 , 1×10^7 , 3×10^8 conidios/ml. Para evaluar el efecto del hongo se utilizó la metodología del agar-arena. El análisis estadístico mostró que no hubo diferencias significativas entre los efectos originados por *P. lilacinus* y los testigos ($X^2 = 3,32$, $P = 0,51$). Pero se presentaron diferencias significativas entre la mortalidad de las termitas con las diferentes concentraciones siendo 3×10^8 conidios/ml la que causó los porcentajes más altos de mortalidad ($X^2 = 81,3$, $P < 0,001$). Con *M. anisopliae* se observaron diferencias en la mortalidad, a las diferentes concentraciones y los testigos, excepto entre 1×10^3 y 3×10^5 conidios/ml ($Z = -0,97$, $P = 0,33$). La conidiación de ambos hongos en las termitas muertas fue mayor a concentraciones de 3×10^8 conidios/ml ($P < 0,001$). La DL_{50} fue de $1,78 \times 10^8$ conidios/ml para *P. lilacinus* a los dos días y de $0,69 \times 10^2$ conidios/ml para *M. anisopliae* a los siete días.

Palabras clave: Control biológico. Reforestadora. Eucalipto. Comejenes. Hongo entomopatógeno.

Summary. Laboratory bioassays were performed to determine the susceptibility of the termite *Microcerotermes* sp. to the entomopathogenic fungus *Paecilomyces lilacinus* and *Metarhizium anisopliae*. The termites were collected from *Eucalyptus* plantations at the locality San Sebastián of Buenavista, Magdalena (Colombia). Termites were maintained in darkness at mean temperature, 25°C, and relative humidity, 59,5%. The bioassays consisted in putting worker termites in direct contact with 100% cotton canvas, impregnated with concentrations of the fungus at concentrations of 1×10^1 , 1×10^3 , 3×10^5 , 1×10^7 , 3×10^8 conidia/ml. The agar-sand method was used to evaluate the effect of the fungus. Statistical analysis showed that there were no significant differences ($X^2 = 3,32$, $P = 0,51$) between the effects caused by *P. lilacinus* and the control. But, there was a significant difference in the mortality of the termites with the different concentrations, 3×10^8 conidia/ml being the dose that caused the highest percentages of mortality ($X^2 = 81,3$, $P < 0,001$). With *M. anisopliae* significant differences were observed in the mortality at the different concentrations and the control ($X^2 = 320,7$, $P < 0,001$), except for 1×10^3 and 3×10^5 conidia/ml ($Z = -0,97$, $P = 0,33$). The conidiation of both fungi in the dead termites was higher at the concentration of 3×10^8 conidia/ml ($P < 0,001$). The DL_{50} was $1,78 \times 10^8$ conidia/ml for *P. lilacinus* at two days and $0,69 \times 10^2$ conidia/ml for *M. anisopliae* at seven days.

Key words: Biological control. Reforestation. *Eucalyptus*. Termites. Entomopathogenic fungus.

Introducción

Las termitas son insectos que se alimentan de una gran variedad de sustratos entre ellos los lignocelulíticos, el caucho, plástico, entre otros, constituyéndose en organismos muy nocivos en los ecosistemas de zonas templadas y tropicales. (Garcés 1997; Harris 1971).

Las termitas atacan frecuentemente a *Eucalyptus tereticornis*, árbol utilizado ampliamente por las reforestadoras como fuente de madera, utilizando la parte seca de la corteza como fuente de alimentación y posteriormente accediendo al interior causando la muerte lenta del árbol (Berón 1983; Madrigal 1989; Garcés 1997).

Aunque en Colombia existen algunos registros sobre daños ocasionados por termitas en diversos cultivos y plantaciones de eucalipto, son muy pocos los trabajos realizados en control biológico para las termitas.

Entre las alternativas para el control biológico de estos insectos, se han realizado a

- 1 Bióloga. M. Sc. Investigadora Asociada al Grupo de Micología. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Corporación de Patologías Tropicales. Universidad de Antioquia. E-mail: anaisaguti@hotmail.com
- 2 Autor para correspondencia: Licenciada en Biología y Química. M. Sc. Profesor de Micología. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Corporación de Patologías Tropicales. Universidad de Antioquia. A. A. 1226. Medellín, Colombia. Fax: 2330120. E-mail: ysaldar@matematicas.udea.edu.co
- 3 Ingeniera Agrónoma. M. Sc. Ph. D. Posgrado de Entomología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional. Sede Medellín. Colombia. E-mail: suribe@unalmed.edu.co
- 4 Bióloga. Universidad de Antioquia. E-mail: aguazul@hotmail.com
- 5 Biólogo. Licenciado en Biología y Química. M. Sc. Profesor de Micología. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Corporación de Patologías Tropicales. Universidad de Antioquia. E-mail: fpgutier@matematicas.udea.edu.co

nivel mundial estudios con virus (Hassan 1990), bacterias (Gavino 1984; Logan *et al.* 1990), nemátodos (Mix y Beal 1985; Coppel y Liang 1987) y hongos como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. y *M. anisopliae* (Metsch.) Sor. (Zoberi y Grace 1990; Fernandes y Alves 1991; Alves *et al.* 1995; Zoberi 1995; Milner *et al.* 1998a, 1998b; Shimizu y Yamaji 2002; Wright *et al.* 2002). Dichos estudios señalan que los hongos nativos son los agentes de control biológico más promisorios debido a que se encuentran en el mismo nicho ecológico y se replican por sí mismos, aumentando la población e infectando la colonia (Delate *et al.* 1995; Zoberi 1995; Madrigal 1999).

En países como Brasil, diversos grupos de investigadores han utilizado los hongos entomopatógenos contra termitas tanto en laboratorio como en campo, obteniendo porcentajes de mortalidad altos. No obstante, algunos de los resultados se han controvertido debido a que varían de acuerdo con las condiciones ambientales y con aislamientos fúngicos particulares.

Milner *et al.* (1998a), en Australia, realizaron pruebas *in vitro* y en campo con varios aislamientos de *M. anisopliae* sobre termitas *Coptotermes* spp. y *Nasutitermes exitiosus* encontrando que todos los aislamientos fueron patógenos siendo más susceptibles *Coptotermes* spp.

Los investigadores Csiro (1990), Fernandes y Alves (1991), Alves *et al.* (1995), Grace (1991), Grace y Zoberi (1992), Delate *et al.* (1995) y Zoberi (1995) observaron que las termitas *Coptotermes* spp., *Reticulitermes flavipes* y *Cornitermes cumulans* tratadas con *M. anisopliae* y *B. bassiana* en sus sitios de alimentación, sobre la colonia y aplicando suspensiones conidiales tóxicas, murieron a causa de la invasión de los hongos. Es importante aclarar que *M. anisopliae* a concentraciones bajas produjo mayor mortalidad en menor tiempo que *B. bassiana*. Igualmente, Rosengaus (1997) demostró que la termita *Zootermopsis angusticollis* expuesta en papel de filtro impregnado con varias suspensiones de conidias de *M. anisopliae* son susceptibles a la infección por éste.

Sajap y Kaur (1990) observaron la histopatología y la ontogenia del hongo *M. anisopliae* sobre *Coptotermes curvignathus* encontrando que la mortalidad ocurrió 36-48 h postinoculación y la colonización completa de la termita no fue evidente hasta 72 h.

Estudios realizados por Khader Khan *et al.* (1990) y Khan *et al.* (1991) en termitas de cultivos agroforestales (*Odontotermes brunneus*, *O. wallonensis* y *O. obesus*) tratadas con los hongos: *B. bassiana*, *M. anisopliae* var. *anisopliae*, *M. flavoviridae* var. *minus*, *Paecilomyces lilacinus* y *P. fumosoroseus* señalaron que *B. bassiana* fue la más patógena.

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la patogenicidad de dos aislamien-

tos de los hongos entomopatógenos *P. lilacinus* (Thom) Samson y *M. anisopliae* sobre las termitas *Microcerotermes* spp. que atacan las plantaciones de eucalipto en la reforestadora San Sebastián de Buenavista, Magdalena.

Materiales y Métodos

Origen de los aislamientos

El estudio se realizó en el laboratorio de Micología del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia. Las termitas se colectaron en la reforestadora San Sebastián, ubicada en el municipio de San Sebastián de Buenavista en el departamento de Magdalena, con coordenadas latitudinales de 9°17' norte y longitudinales de 74°32' oeste, con un total de 7.000 hectáreas. El área se encuentra en la zona de vida Bosque Seco Tropical (bs-T) caracterizada por tener una temperatura promedio de 28,8°C, una precipitación media anual de 1.787 mm y una altitud de 25 m sobre el nivel del mar (Espinal 1990; Hernández 1993; Borreros 1996).

Colección de insectos

Las termitas se colectaron con sus respectivos sustratos (hojas, litera y suelo), fragmentos o termiteros completos. Se trasladaron al laboratorio en recipientes plásticos de 16 x 12 cm de diámetro tapados con muselina, sellados con vinilpel y envueltos en bolsas oscuras dándoles condiciones apropiadas.

En el laboratorio, las termitas se mantuvieron en recipientes plásticos dentro de una cámara climatizada (WTBbinder 78532 (Tuttlingen/Germany) con temperatura controlada de 25°C, humedad relativa de 59,5% y en oscuridad.

Origen de los hongos

El hongo *P. lilacinus* se aisló de muestras de suelo de las plantaciones de eucalipto de la reforestadora y se purificó realizando cultivos monospóricos, siguiendo la técnica descrita por Calle (2000). Su determinación taxonómica se realizó según criterios morfológicos y de cultivo, de acuerdo con las claves de Nelson *et al.* (1983), Samson *et al.* (1984), Domsch *et al.* (1993), Goettel e Inglis (1997), Papierok y Hajek (1997) y Barnett y Hunter (1998).

M. anisopliae (Ma 45), aislado de un coleóptero (de una subfamilia de la familia Melolonthidae) fue donado por CORPOICA (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Seccional Antioquia). Los hongos se cultivaron a temperatura ambiente en tubos y cajas con Agar Sabouraud Dextrosa (SDA) (Oxoid LTD., Basingstoke, Hampshire, England), durante 10-12 días antes de hacer la dilución. Además, después de las pruebas se multiplicaron en arroz acidificado (ácido láctico) y se conservaron en el laboratorio de Micología del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia.

Pruebas de Patogenicidad

Preparación de la suspensión de conidios

A partir de los cultivos en SDA se realizaron diluciones para obtener las concentraciones de 1×10^1 , 1×10^3 , 3×10^5 , 1×10^7 , 3×10^8 conidios/ml según la metodología de Goettel e Inglis (1997) y Pérez (1997).

Bioensayo

Se utilizaron las concentraciones 1×10^1 , 1×10^3 , 3×10^5 , 1×10^7 , 3×10^8 conidios/ml, que fueron vertidas en cajas de vidrio previamente esterilizadas donde se sumergieron las lonas (100% de algodón) durante 4 min. Los ensayos se realizaron con termitas obreros. Estos se introdujeron en frascos oscuros de vidrio de 9 x 8 cm preparados con las lonas y de acuerdo con la metodología de agar-arena de Staples y Milner (2000). Se realizaron cuatro repeticiones, cada una con 30 termitas obreros, por cada una de las concentraciones de los hongos y un lote de testigos (lona tratada con agua destilada estéril).

Las termitas tratadas se mantuvieron en condiciones de oscuridad en una cámara climatizada (WTBbinder 78532 (Tuttlingen/Germany), a una temperatura de 25°C y una humedad relativa de 59,5%.

La supervivencia de las termitas se verificó durante 10 días contando el número de individuos muertos y calculando el porcentaje de mortalidad diaria y acumulada. Los cadáveres se colocaron en cámara húmeda y se incubaron a temperatura ambiente (22°C) durante 10 días, para favorecer la conidiación del hongo y verificar la muerte por el mismo (mortalidad intrínseca). A todos los insectos muertos y colonizados por el hongo se les realizaron montajes en placa microscópica con azul de lactofenol, KOH y cultivos para observar las diferentes estructuras morfológicas y verificar la presencia e identidad del mismo (Goettel e Inglis 1997).

Análisis estadístico

Para cada concentración de los conidios de *P. lilacinus* y *M. anisopliae*, se analizó la patogenicidad de las termitas tomando como criterio el porcentaje de mortalidad. La mortalidad diaria de las termitas se comparó mediante las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier y utilizando la prueba generalizada de Gehan. Mediante estas curvas se estimaron también los TL_{50} para cada concentración. La CL_{50} se estimó con el análisis Probit según Wardlaw (1987). Se consideró $\alpha=0,05$ como el nivel de significancia estadística y se calculó la corrección de Bonferroni en la comparación de las curvas de supervivencia. La mortalidad corregida fue determinada según el método de Schneider - Orelli (CYBA GEIGY 1981).

Resultados y Discusión

Patogenicidad del aislamiento de *P. lilacinus* y *M. anisopliae* sobre obreros *Microcerotermes* sp.

En el aislamiento de *P. lilacinus* no se observaron diferencias significativas en la sobrevivencia de las termitas tratadas con dosis entre 1×10^1 y 1×10^7 conidios/ml. No obstante, al comparar la sobrevivencia de las termitas tratadas con la concentración de 3×10^8 conidios con las demás, se encontraron niveles de significancia ($X^2 = 81,3$; $P < 0,001$). Con esta concentración se obtuvieron los valores más bajos de sobrevivencia: 2,5% a los cuatro días. Esto se evidencia en la gráfica de sobrevivencia acumulada (Fig. 1) en la cual los porcentajes similares se obtuvieron entre el 8° y 10 día con las demás dosis.

Resultados similares se encontraron para el aislamiento de *M. anisopliae*, ya que la dosis de 3×10^8 conidios/ml originó los niveles más bajos de sobrevivencia en las termitas al quinto día después del tratamiento. Valores tan bajos de sobrevivencia sólo se observaron con las demás dosis entre 8 y 10 días después del tratamiento. Sin embargo, para las dosis 3×10^5 y 1×10^1 conidios/ml los períodos de sobrevivencia fueron mayores a los 10 días (Fig. 2).

Se observaron diferencias significativas en la sobrevivencia de las termitas tratadas con todas las dosis de *M. anisopliae* ($X^2 = 320,7$; $P < 0,001$) excepto entre 1×10^3 y 3×10^5 conidios/ml. Con excepción de la dosis 3×10^5 conidios/ml hubo correspondencia entre la dosis y la mortalidad.

Las diferencias en tiempo de sobrevivencia relacionadas con la dosis de tratamiento son relevantes cuando se realizan bioensayos con entomopatógenos, ya que el tiempo es considerado como un factor real de respuesta al agente (Matthews 1997). Para el presente estudio, con base en la sobrevivencia en función de la dosis y el tiempo, la respuesta de las termitas al agente se observó en menor tiempo para el hongo *Paecilomyces* que para *Metarhizium*.

En estudios similares con *M. anisopliae* sobre *Macrotermes subhyalinus* los tiempos promedios de sobrevivencia de las termitas variaron entre dos y ocho días después del tratamiento (Abebe 2002). El tiempo promedio de sobrevivencia varió dependiendo del aislamiento. En la presente investigación los rangos de sobrevivencia variaron entre 4 y 10 días para *Paecilomyces*. Para *M. anisopliae* los rangos fueron mayores ya que en el día 10 se observaron altos porcentajes de sobrevivencia para las dosis 1×10^1 (52%) y 3×10^5 conidios/ml (21%).

Capacidad de conidiación de *P. lilacinus* y *M. anisopliae* sobre cadáveres de *Microcerotermes* sp.

En la figura 3 se observa el porcentaje de termitas conidiadas cuando se trataron con *P. lilacinus*. De las 600 termitas trata-

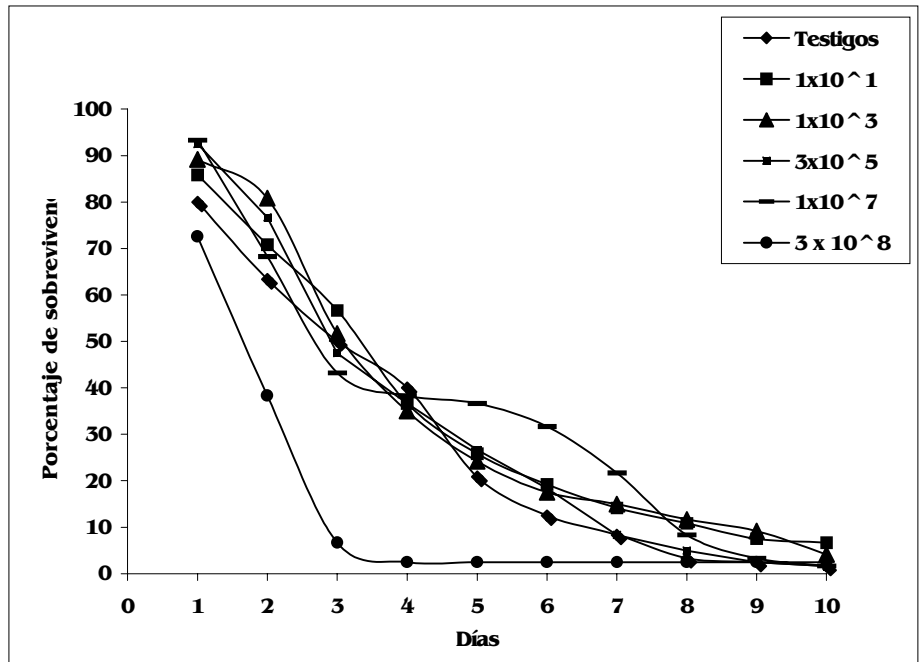


Figura 1. Evolución de la sobrevivencia de obreros *Microcerotermes* sp. en presencia de *P. lilacinus* en función del tiempo y la dosis aplicada.

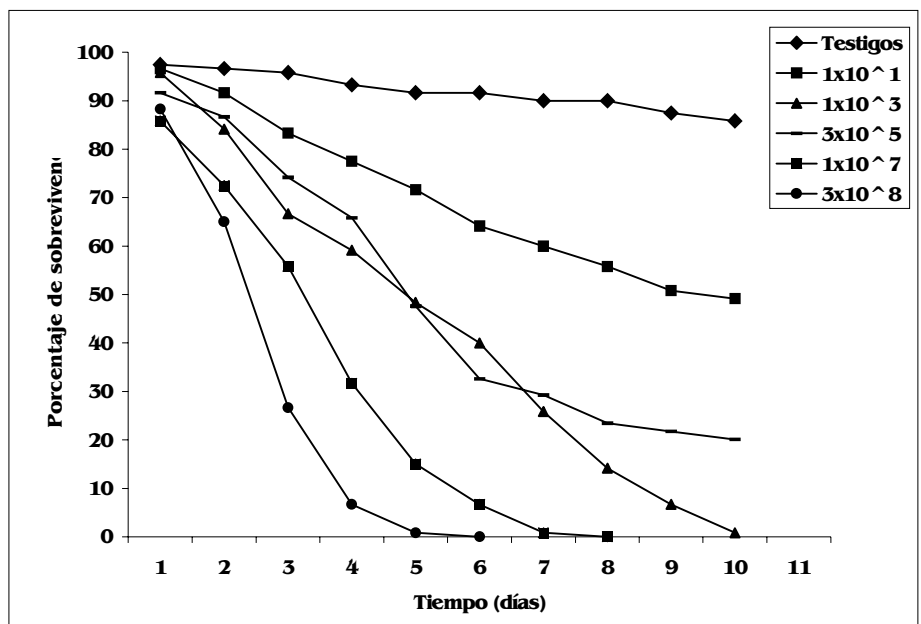


Figura 2. Evolución de la sobrevivencia de obreros *Microcerotermes* sp. en presencia de *M. anisopliae* en función del tiempo y la dosis aplicada.

das con *P. lilacinus*, 433 presentaron invasión por el hongo. En general, la conidiación sobre los cadáveres se observó desde el primer día después de la muerte. Para la dosis 3×10^8 conidios/ml, que causó los porcentajes más altos de mortalidad en el menor tiempo, se observó el mayor número de termitas colonizadas por el hongo encontrándose diferencias significativas con respecto a las demás dosis ($X^2 = 89,6$; $P < 0,001$).

Es de mencionar que el hongo *P. lilacinus* esporuló en un 30% de las termitas testi-

go, lo cual sugiere una probable contaminación mecánica o por manipulación con el hongo (Carvajal 2002). Este valor explica, en parte, los bajos porcentajes de sobrevivencia del testigo que se observaron en el bioensayo.

Para el caso de *M. anisopliae*, de 600 termitas tratadas, 199 fueron colonizadas por el hongo; el mayor porcentaje de termitas conidiadas se obtuvo con la dosis de 3×10^8 conidios/ml, pero la aparición del micelio sólo se observó a partir del quinto día (Fig. 4) y al segundo día en *P. lilacinus*

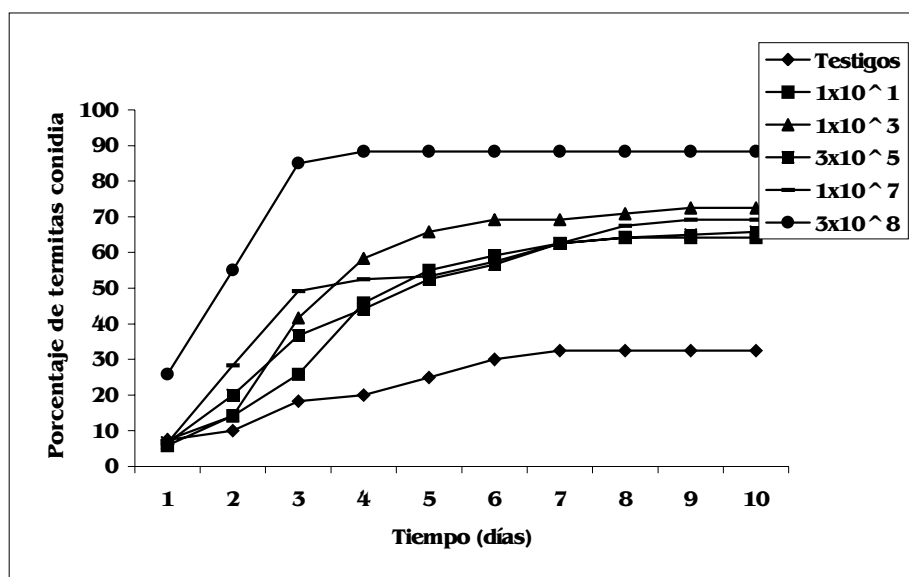


Figura 3. Evolución de la conidiación de *P. lilacinus* sobre termitas obreros *Microcerotermes* sp. en función del tiempo y la dosis aplicada.

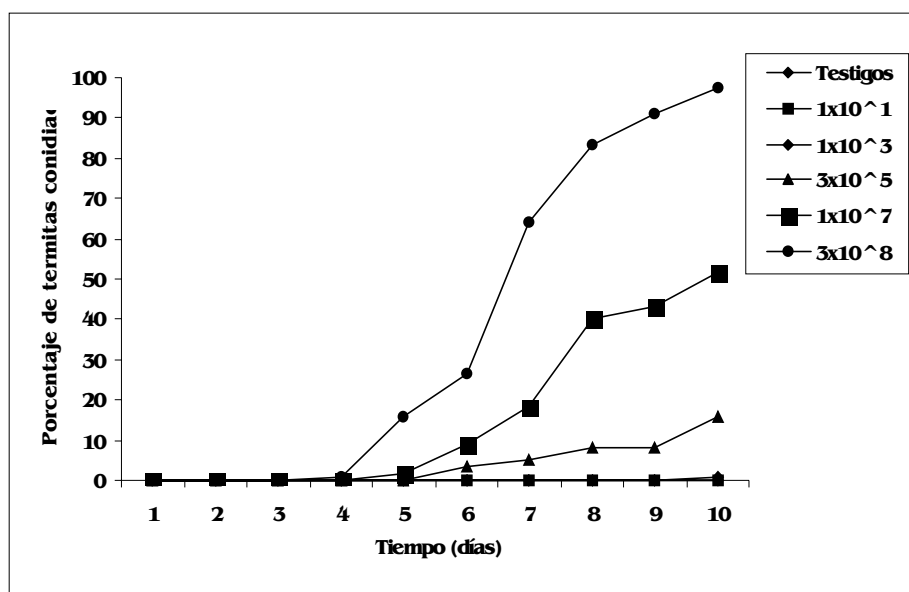


Figura 4. Evolución de la conidiación de *M. anisopliae* sobre termitas obreros *Microcerotermes* sp. en función del tiempo y la dosis aplicada.

con la misma dosis (Fig. 3). Patcharin (1996) observó que *M. anisopliae* en termitas *Coptotermes* sp. y *Microcerotermes* sp. murieron después de dos días de postinoculación y a los 7 días se desarrolló el micelio blanco y el verde alrededor de los cadáveres. Ambos aislamientos en este estudio causaron micosis a las termitas; sin embargo, *P. lilacinus* invadió los cadáveres en menor tiempo.

El hecho de que el hongo invada los cadáveres es de gran importancia, ya que la posibilidad de la transmisión de la micosis a partir de termitas enfermas sería una forma exitosa de acceder a las partes de la colonia y el nido, que no son accesibles por tratamiento directo (Fig. 5). Adicionalmente, el tiempo de conidiación sobre los cadáveres puede influir sobre la diseminación y contagio de termitas sanas a partir de termitas infectadas (Rosengaus *et al.* 1998; Rath 2000).

Concentración letal mediana (CL_{50}) del aislamiento de *P. lilacinus* y de *M. anisopliae* y tiempo letal medio (TL_{50}) de las concentraciones utilizadas

La dosis letal 50 (DL_{50}) para *P. lilacinus* fue de $1,78 \times 10^8$ conidios/ml en 2 días con un intervalo de confianza del 95%: (0,44; 3,59) $\times 10^8$ conidios/ml. El tiempo de TL_{50} fue de 3 días para todas las concentraciones excepto para 3×10^8 conidios/ml (dos días).

Para *M. anisopliae* la dosis letal 50 (DL_{50}) fue de $0,69 \times 10^2$ conidios/ml pero en un tiempo de 7 días con un intervalo de confianza del 95%: (0,33; 1,44) $\times 10^2$ conidios/ml. El tiempo letal 50 (TL_{50}) fue de 5 días para las concentraciones 1×10^3 y 3×10^5 conidios/ml y de 3 días para la concentración de 3×10^8 conidios/ml.

De acuerdo con los resultados, las termitas del género *Microcerotermes* son susceptibles a los aislamientos de *P. lilacinus* y *M. anisopliae*. Tomando como criterios la sobrevivencia, la conidiación del hongo en los cadáveres, el tiempo promedio de invasión y el TL_{50} y DL_{50} , *P. lilacinus* aparece como mejor candidato que *M. anisopliae* como agente potencial de control microbiológico de termitas. Los tiempos de res-

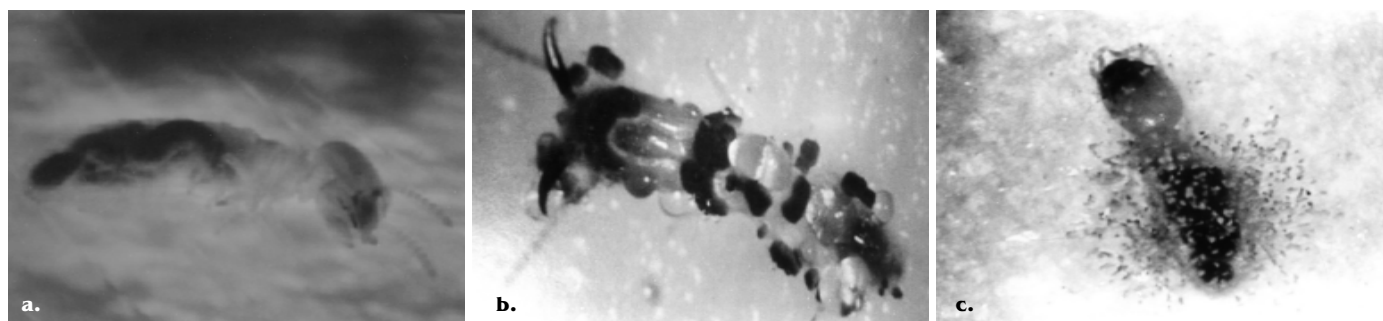


Figura 5. a. *Microcerotermes* sp. Obrero testigo, b. *Microcerotermes* sp. Soldado tratado con *M. anisopliae*, c. *Microcerotermes* sp. Obrero tratado con *P. lilacinus*.

puesta tanto en la mortalidad, como en la conidiación y en la efectividad para matar el 50% de la población tratada así lo confirman. Las diferencias podrían explicarse teniendo en cuenta aspectos como la procedencia de los aislamientos. *P. lilacinus* fue aislado directamente de la zona de hojas de eucalipto mientras que *M. anisopliae* se aisló de un coleóptero de una subfamilia de la familia Melolonthidae donado por CORPOICA. La patogenicidad varía de acuerdo con el sustrato de procedencia, su nicho ecológico y por lo tanto sus condiciones fisiológicas y metabólicas.

Aunque hongos entomopatógenos como *M. anisopliae* han sido utilizados con éxito para el control de termitas en Brasil, es necesario realizar pruebas en campo bajo las condiciones del país y considerar aspectos propios del ecosistema, el aislamiento fúngico y el comportamiento de las termitas, que podrían afectar los resultados (Shimizu y Yamaji 2003; Sun *et al.* 2003; Abebe 2002; Myles 2002; Traniello *et al.* 2002).

Conclusiones

- Las termitas obreros *Microcerotermes* spp. presentaron una susceptibilidad similar para *P. lilacinus* y *M. anisopliae*, por lo cual podrían ser considerados como agentes potenciales de control biológico.
- La mortalidad en las termitas obreros *Microcerotermes* spp. fue atribuida a la conidiación causada por ambos aislamientos debido a que éstos fueron recuperados de los cadáveres de los insectos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al profesor Abel Díaz Cadavid y a Camilo Quintero por el análisis estadístico y elaboración de tablas y gráficos, respectivamente. A los compañeros del laboratorio de Micología de la Universidad de Antioquia por su aporte técnico y logístico en el desarrollo de esta investigación. Se agradece a la Corporación de Patologías Tropicales, al Instituto de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, al CODI de la Universidad de Antioquia y al Posgrado de Entomología de la Universidad Nacional por su apoyo y financiación. Se agradece de manera muy especial al personal de la Reforestadora San Sebastián de Buenavista, Magdalena (Colombia) por su hospitalidad y ayuda en el trabajo de campo.

Literatura citada

ABEBE, H. 2002. Potential of entomopathogenic fungi for the control of *Macrotermes subhyalinus* (Isoptera: Termitidae). Dem Fachbereich Gartenbau der Universität Hannover zur Erlangung des Akademischen Grades eines. Äthiopien. 161 p.

ALVES, S. B.; ALMEIDA, J. E. M.; MOINO, A.; STIMAC, J. L.; PEREIRA, R. M. 1995. Uso de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* no controle de *Cornitermes cumulans* em pastagens. Ecossistema

Faculdade de Agronomia "Manoel Carlos Gonçalves". Brasil. 20: 50-57.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. APS Press. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 218 p.

BERÓN, W. C. 1983. Daños y control de termitas. Seminario. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 68 p.

BORREROS, S. 1996. Diccionario geográfico de Colombia. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. 3ª ed. Tomo 3. Bogotá, Colombia. p. 1404-1405.

CALLE, J. 2000. Vers un contrôle Microbiologique des populations Colombiennes de Triatominae, insectes vecteurs de la maladie de Chagas. Tesis presentada para obtener el título de Doctor de la Universidad de Paris V-René Descartes-Facultad de Medicina Necker. 141 p.

CARVAJAL, L. D. 2002. Estudio del efecto patológico de algunos microorganismos sobre *Eurhizococcus columbianus* Jakubsi (Homoptera: Margarodidae). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Sede Medellín. 57 p.

CIBA-GEIGY. 1981. Manual para ensayos de campo en protección vegetal. 2ª ed. CIBA-GEIGY. S. A. Basilea, Suiza. Printed in Switzerland. 205 p.

COPPEL, H. C.; LIANG, M. C. 1987. Rhabditoid nematodes associated with subterranean termites. Forestry Research Notes. Nº 274, 5 p.

CSIRO. (1990). New termite controls. En: Entomology. Science for survival. Australia. CSIRO, Division of Entomology p. 32.

DELATE, K. M.; GRACE, J. K.; TOME C. H. M. 1995. Potential use of pathogenic fungi in baits to control the Formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). Journal of Applied Entomology 119 (6): 429-433.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; TRAUTE-HEIDI, A. 1993. Compendium of Soil Fungi. Academic Press. London. 1: 525-535.

ESPINAL, L. S. 1990. Geografía ecológica de Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 1ª ed. Medellín. p. 61-62.

FERNANDES, F. M.; ALVES, S. B. 1991. Control of *Cornitermes cumulans* Kollar 1832. (Isoptera: Termitidae) with *Beauveria bassiana* Bals. Vuill. and *Metarhizium anisopliae* Metsch. Sorok. under field conditions. Anais da Sociedade Entomologica do Brasil 20: 50.

GARCÉS, J. E. 1997. Generalidades sobre las principales plagas insectiles en plantaciones forestales de Colombia (Guía de campo). Trabajo final de especialización. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias y Ciencias Agropecuarias. Postgrado en Entomología. Medellín. p. 293-311.

GAVINO, A. A. 1984. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillales, biochem product Ltd.) as biological insecticide against subterranean termites Philippines. Scientific Journal 6 (1): 25.

GOETTEL, M.; INGLIS, G. D. 1997. Fungi Hyphomycetes. En: Lawrence Lacey (ed.). Manual of techniques in insect pathology. USDA, ARS. Academic Press, Great Britain. p. 213-249.

GRACE, J. K. 1991. Termite-fungal associations and manipulations for termite control. En: Society for Invertebrate Pathology, XXIV Annual Meeting, Northern Arizona University. p. 29.

GRACE, J. K.; ZOBERI, M. H. 1992. Experimental evidence for transmission of *Beauveria bassiana* by *Reticulitermes flavipes* workers (Isoptera: Rhinotermitidae). Sociobiology 20: 23-28.

HARRIS, W. V. 1971. Termites. Their recognition and control. Longman. Second ed. London, Great Britain. 186 p.

HASSAN, F. A. 1990. Important insects pests of Casuarina in Egypt. En: Advances in Casuarina research and utilization. Proceeding of the Second International Casuarina Workshop. Cairo, Egypt. p. 102-109.

HERNÁNDEZ, R. J. 1993. Evaluación del efecto de la densidad de crecimiento del *Eucalyptus tereticornis* en la Costa Atlántica Colombiana. Trabajo de grado para obtener el título de Ingeniero Forestal. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Medellín. 101 p.

KHADER KHAN, H.; JAYARAJ, S.; GOPALAN, M. 1990. Testing entomopathogenic fungi against the common agro-forestry termites. En: Veeresh, G. K., Mallick, B. and Viraktamath, C. A. (eds.). Social insects and the environment. p. 636.

KHAN, K.; JAYARAJ, S.; GOPALAN, M. 1991. Mycopathogens for biological control of *Odontotermes brunneus* Hagen. Journal of Biological Control. India. 5: 32-35.

LOGAN, J. W. M.; COWIE, R. H.; WOOD, T. G. 1990. Termite (Isoptera) control in agriculture and forestry by non-chemical methods: a review. Bulletin of Entomological Research 80 (3): 309-330.

MADRIGAL, A. 1989. Reconocimiento de insectos dañinos en plantaciones forestales de la Costa Atlántica Colombiana. Sociedad Colombiana de Entomología. Miscelánea 12: 1-24.

MADRIGAL, A. 1999. Notas sobre control biológico de plagas. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Agropecuarias. p. 1-13.

MATTHEWS, G. A. 1997. Techniques to evaluate insecticide efficacy. En: Methods in ecological & agricultural Entomology. D.R. Dent and M. P. Walton (eds.). CAB International. Printed and bound in the UK at the University Press, Cambridge. p. 243-269.

MILNER, R. J.; STAPLES, J. A.; LUTTON, G. G. 1998a. The selection of an isolate of the hyphomycete fungus, *Metarhizium anisopliae*, for control of termites in Australia. Biological control: theory and applications in pest management 11 (3): 240-247.

MILNER, R. J.; STAPLES, J. A.; HARTLEY, T. R.; LUTTON, G. G.; DRIVER, F.; WATSON, J. A. L. 1998b. Occurrence of *Metarhizium*

- anisopliae* in nests and feeding sites of Australia termites. Mycological Research [Cambridge: Cambridge University Press] 102: 216-220.
- MIX, J.; BEAL, R. H. 1985. Can nematodes halt subterranean termites?. Pest Control 53 (2): 22-23.
- MYLES, T. G. 2002. Alarm, aggregation, and defense by *Reticulitermes flavipes* in response to a naturally occurring isolate of *Metarhizium anisopliae*. Sociobiology 40 (2): 243-255.
- NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; MARASAS, W. F. O. 1983. *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press. University Park and London. Printed in the United States of America. 457 p.
- PAPIEROK B.; HAJEK, A. E. 1997. Fungi Entomophthorales. En: Lawrence Lacey (ed.). Manual of techniques in insect pathology. USDA, ARS. Academic Press, Great Britain. p. 187-212.
- PATCHARIN K. 1996. Laboratory studies on green muscardine fungus, *Metarhizium anisopliae* for control of termites (Isoptera). Bangkok (Thailand). 82 p.
- PÉREZ, L. E. 1997. Desarrollo para evaluar virulencia de *Verticillium lecanii* sobre *Myzus persicae* y *Trialeurodes vaporariorum*. Tesis de investigación presentado como requisito para optar al título de Magister en Entomología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. 79 p.
- RATH, A. C. 2000. The use of entomopathogenic for control of termites (Review). Biocontrol Science & Technology 10 (5): 563-581.
- ROSENGAUS, R. B. 1997. Pathobiology and disease transmission in dampwood termites (*Zootermopsis angusticollis*) (Isoptera: Termopsidae) infected with the fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina, Hyphomycetes). Sociobiology 44 (2): 125-134.
- ROSENGAUS, R. B.; MAXMEN, A. B.; COATES, L. E.; TRANIELLO, J. F. A. 1998. Disease resistance: a benefit of sociability in the dampwood termite *Zootermopsis angusticollis* (Isoptera: Termopsidae). Behavioral Ecology & Sociobiology 44 (2): 125-134.
- SAJAP, A. S.; KAUR, K. 1990. Histopathology of *Metarhizium anisopliae*, on entomopathogenic fungus infection in the termite, *Coptotermes curvignathus*. Pertanika 13 (3): 331-334.
- SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; OORSCHOT, A. N. 1984. Introduction to food-borne fungi. Second edition. Central bureau voor Schimmelcultures. Institute of the Royal Netherlands. Academy of arts and sciences. 247 p.
- SHIMIZU, S.; YAMAJI, M. 2002. Pathogenicity of entomopathogenic fungi to the termite, *Reticulitermes speratus*. Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology 46 (2): 89-91.
- SHIMIZU, S.; YAMAJI, M. 2003. Effect of the termite, *Reticulitermes speratus* Kolbe (Isoptera: Rhinotermitidae), on the susceptibilities to *Metarhizium anisopliae*. Applied Entomology and Zoology 38 (1): 125-130.
- STAPLES, J. A.; MILNER, R. J. 2000. A laboratory evaluation of the repellency of *Metarhizium anisopliae* conidia to *Coptotermes lacteus* (Isoptera: Rhinotermitidae). Sociobiology 36 (1): 133-148.
- SUN, J. Z.; FUXA, J. R.; HENDERSON, G. 2003. Effects of virulence, sporulation, and temperature on *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* laboratory transmission in *Coptotermes formosanus*. Journal of Invertebrate Pathology 84 (1): 38-46.
- TRANIELLO, J. F. A.; ROSENGAUS, R. B.; SAVOLE, K. 2002. The development of immunity in a social insect: Evidence for the group facilitation of disease resistance. PNAS 99 (10): 6838-6842.
- WARDLAW, A. C. 1987. Practical statistics for experimental biologist. John Wiley & Sons. New York: p. 107-110.
- WRIGHT, M. S.; OSBRINK, W. L. A.; LAX, A. R. 2002. Transfer of entomopathogenic fungi among formosan subterranean termites and subsequent mortality. Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie. Germany 126 (1): 20-23.
- ZOBERI, M. H. 1995. *Metarhizium anisopliae*, a fungal pathogen of *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). Mycologia 87 (3): 354-359.
- ZOBERI, M. H.; GRACE, J. K. 1990. Isolation of the pathogen *Beauveria bassiana* from *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). Sociobiology 16 (3): 289-296.

Recibido: Dic. 05/2003

Aceptado: Jun. 11/2004