

Los Entomopatógenos en el Manejo Integrado de Plagas

D. A. Rodríguez.

Consultora particular. Av. 26 # 42-B-31. Apartamento 12-01. Santafé de Bogotá, D. C. Colombia. E-mail: rodriguezsierra@hotmail.com

Resumen

El concepto de manejo ecológico de plagas (Ecologically Based Pest Management, EBPM) planteado últimamente, se basa en los conocimientos biológicos de las plagas y los aspectos fisicoquímicos y biológicos disponibles para el manejo de las mismas; el control de insectos con organismos entomopatógenos como un elemento del Control Biológico en Manejo Integrado de Plagas MIP, contribuye a lograr la máxima efectividad en la protección de cultivos a corto, mediano y largo plazo. En Colombia se han encontrado hongos, bacterias, virus, nematodos, protozoarios y rickettsias causando enfermedades en insectos de todos los Ordenes; las patologías se presentan bajo forma enzoótica o surgen epizootias importantes, principalmente en las crías de insectos, en las poblaciones plaga que afectan los cultivos perennes y semiperennes, cuando las condiciones agroecológicas son favorables. En este documento se tratarán aspectos sobre la biología, las características taxonómicas y fisicoquímicas, el modo de acción de los principales organismos mencionados; se presentan las especies encontradas en Colombia en las plagas de los cultivos agrícolas de las diferentes zonas climáticas y se comprueba su efectividad en el manejo de poblaciones de insectos perjudiciales para la Agricultura. Entre los Hyphomycetos con mayor opción para realizar investigaciones en multiplicación semicomercial y comercial figuran: el *Metharhizium anisopliae* (Metch) Sorokin contra chisas, mió de los pastos, gusano blanco de la papa, langosta llanera y palomillas de la papa; *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viegas contra escamas, áfidos, mosca blanca de los invernaderos, comedores de follaje y chisas; *Beauveria bassiana* (Bals) Vuillemin, patógeno del gusano blanco de la papa, chisas, broca del café, especies de lepidópteros principalmente en palma africana, maíz, soya y otros cultivos. Los virus de la poliedrosis nuclear VPN, citoplásmica VPC, la virosis granular VG, y la denonucleosis VD, comunes en plagas de palma africana y otros cultivos. Entre las bacterias, el *Bacillus thuringiensis* (Berliner), *B. popilliae* (Dutky) (Eubacteriales: Bacillaceae) en insectos Lepidóptera y *B. sphaericus* en mosquitos vectores de enfermedades en humanos. Los nemátodos más promisorios son *Steinernema feltiae* Filipjev (Neoaplectanide) (Steinernematidae) y *Hexameris* spp (Mermithidae) y *Heterorhabditis bacteriophaga* Poinar (Heterorhabditidae) en chisas, gusano blanco y palomillas de la papa y broca del café. Estas especies se registran naturalmente en las diferentes zonas agroecológicas, adaptadas a sus huéspedes y a los diferentes ecosistemas en donde se encuentran.

Introducción

Por las propiedades patológicas de los grupos involucrados y el amplio rango de huéspedes susceptibles presentan posibilidades de uso en planes de manejo integrado de insectos plagas en agricultura. Su estudio constituye la ciencia de la patología de insectos, es decir, el conocimiento de las enfermedades, de sus agentes causales, de la relación entre el huésped, el patógeno y el medio ambiente, para producir modificaciones morfológicas y fisiológicas que causan disturbios y/o muerte de los insectos. La mayoría de las especies involucradas son específicas e inocuas al hombre y a otros animales. Se encuentran en el medio agroecológico en forma natural, en toda clase de insectos plagas y contribuyen a mantener

bajas sus poblaciones. Su uso en manejo de plagas es seguro, implica menos riesgo de contaminación para las plantas, los operarios y los asentamientos humanos próximos a los cultivos agrícolas. El control microbiológico es compatible con todos los tipos de control de insectos, disminuye los residuos de contaminación en el suelo, en los alimentos, en los organismos vivos, la contaminación del medio ambiente y los costos del control, al favorecer el incremento de los benéficos y reducir el número de aplicaciones de insecticidas químicos en una cosecha. El efecto residual y la alta capacidad de dispersión de los entomopatógenos en el medio, permiten que las enfermedades se reproduzcan en los diferentes huéspedes susceptibles en las distintas generaciones de una misma plaga o de otros insectos que afecten al cultivo. El viento, el agua, los animales y los parasitoides y depredadores juegan un papel importante en la diseminación del inóculo infectivo.

Principios del Control Microbiológico en Agricultura

La experiencia adquirida con los estudios sobre entomopatógenos permitió establecer los principios básicos para la aplicación del control microbiológico en la agricultura las cuales son: las características patológicas y epizootiológicas de los organismos considerados, la sensibilidad del insecto, las condiciones ecológicas del medio en el cual se desarrollan y las necesidades agronómicas y económicas establecidas para los cultivos (Steinhaus 1961; Hurpin 1971).

En cuanto a las características patológicas y epizootiológicas de los entomopatógenos, el empleo de agentes microbiales en la protección de cultivos se basa en conocimientos adquiridos sobre los procesos patológicos que determinan la evolución de las enfermedades del estado enzoótico, hacia el estado epizootico, por intervención o no del hombre. Estos fenómenos están relacionados con la agresividad del inóculo o el poder patogénico del organismo en estudio, la receptividad del huésped y la acción del medio en el cual se desarrollan.

El estado del insecto y su susceptibilidad al patógeno favorecen o desfavorecen la enfermedad; algunas deficiencias nutricionales provocan estados de anormalidad en insectos, los cuales determinan la aparición de la patología. La especie del insecto a controlar es importante para la selección del patógeno; su comportamiento y la edad inciden igualmente en el desarrollo y diseminación del inóculo; en los insectos de hábito gregario se facilita más la propagación de la enfermedad que en los de vida solitaria.

El medio ambiente actúa directamente sobre los insectos huéspedes, los microorganismos patógenos y el desarrollo de la enfermedad en el insecto en un cultivo dado (temperatura, humedad, radiación solar, condiciones meteorológicas, ..). La relación entre el huésped y el patógeno está ampliamente influenciada por condiciones medio-ambientales favorables o desfavorables al establecimiento de los patógenos en los insectos; es decir, actúan sobre cada una de las poblaciones consideradas individualmente y sobre la interacción patógeno-insecto, y condiciones que predisponen al huésped para contraer la enfermedad y funcionan como activadores en el desarrollo del patógeno. Esto último implica tener en cuenta el tipo de cultivo considerado (perenne, semiperenne o transitorio) y las características geográficas y agroecológicas del medio. El patógeno introducido entra en concurrencia con los demás factores bióticos que intervienen en el proceso para obtener la regulación de la población huésped (entomófagos y parasitoides). El control se debe hacer cuando la biología de la especie plaga, el estado de evolución del insecto y la población de éste, garanticen un resultado satisfactorio en la reducción de plaga.

Con respecto a las condiciones agronómicas de los cultivos, el uso de entomopatógenos debe hacer parte de un programa de manejo integrado del cultivo, en donde todas las activi-

dades deben favorecer el establecimiento de los agentes microbiales en el medio. Los cultivos forestales, bananeros, cítricos, palma africana y otros, constituyen el medio más favorable para el obtener la eficiencia de planes de control microbiológico de insectos, en contraste con los cultivos transitorios en los cuales la acción de los microorganismos es menor.

Propiedades de los Microorganismos Entomopatógenos

Las principales propiedades de los organismos entomopatógenos son: alto poder patógeno estable; conservación de la virulencia en la preparación antes de la dispersión del inóculo en el campo; especificidad, que comprende la inocuidad para el hombre, los vertebrados y las plantas; las posibilidades para multiplicarlos y conservarlos en condiciones económicamente rentables; la residualidad y la alta capacidad de dispersión (Steinhaus 1961; Fargues y Remaudiere 1977).

La especificidad es una característica importante de los organismos causales de enfermedades en insectos; algunos autores la definen como "el conjunto de adaptaciones recíprocas entre los organismos entomopatógenos y sus huéspedes, en relación con las condiciones del medio en el cual se encuentran". Las pruebas realizadas con virus y bacterias han dado resultados negativos en cuanto a su patogenicidad para el hombre y otros vertebrados; con respecto a los hongos entomopatógenos, algunos autores, basados en las experiencias de investigadores en patología de insectos, registran que los accidentes surgidos en el manejo de preparaciones pulverulentas de hongos, corresponden a casos de reacciones alérgicas de tipo individual, al emplear gran cantidad de material activo; los inconvenientes se pueden evitar usando máscaras, guantes, gafas protectoras y vestidos adecuados en los laboratorios de producción masiva y en las aplicaciones de campo; por otra parte, las personas que presenten algún tipo de alergia deben evitar el contacto con éstos microorganismos (Heimpel 1971; Burges y Hussey 1991). En general, se recomiendan seguir las mismas precauciones que se usan en la manipulación de productos agroquímicos.

Existen registros de Entomophthorales, entre los cuales el *Entomophthora coronata* causa fomicosis en caballos y en el hombre (Heimpel 1971); sin embargo, en condiciones de campo, se han confirmado frecuentes epizootias naturales en áfidos, mosquitos vectores de enfermedades en humanos y en otros insectos. Otra de las propiedades de los agentes de control microbiológico es la residualidad; casi siempre queda establecido el patógeno en el medio; se pueden originar epizootias permanentes que resurgen en las siguientes generaciones de insectos plaga y de otros huéspedes susceptibles, dispersándose a otras zonas del medio agroecológico.

Entomopatógenos utilizados en el Control de Plagas

En Colombia se iniciaron investigaciones sobre el *B. thuringiensis* Berliner contra plagas de lepidopteros en algodónero (Aragon 1964) y maíz (Revelo 1965); el Instituto de Fomento Algodonero IFA, en 1969, introdujo el *Trichovirus* sp. (virus aislado de *Tricoplusia nii* Hübner Lepidoptera: Noctuidae), para el control de *T. nii*, plaga severa en algodón y otros cultivos en el país. El establecimiento y la diseminación del virus en los insectos y en los cultivos de la zona fue rápida y su alta efectividad disminuyó progresivamente las poblaciones del insecto, hasta dejar de ser plaga de importancia económica (Cujar y otros, en: Espinel 1975).

En 1997, en el Programa de Entomología del CNI Tibaitatá se inició el Proyecto "Reconocimiento, aislamiento y pruebas de patogenicidad de entomopatógenos", financiado parcialmente por Colciencias, cuyos objetivos fueron la búsqueda de agentes patógenos en insectos

tos, la selección de medios de cultivo, las pruebas biológicas y multiplicación masiva de las especies promisorias. Los resultados del estudio confirmaron la existencia de abundantes especies de hongos, virus y bacterias causales de enfermedades en insectos Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, Hemiptera, entomopatógenos, Homoptera, siendo más abundantes los hongos (Rodríguez 1984).

En la última reestructuración del Instituto Colombiano Agropecuario ICA (1993), las funciones de investigación de éste Instituto pasaron a la Corporación de Investigaciones Agrícolas Corpoica, entidad que a través del Programa Nacional de Manejo Integrado de Plagas MIP involucra los estudios de entomopatógenos, como auxiliares en el control de las mismas. El proyecto de caracterización de cepas de *B. thuringiensis*, financiado parcialmente por Colciencias (Rodríguez y Narváez 1993), desarrollado por la Corporación ha permitido caracterizar bioquímicamente y molecularmente más de tres mil cepas de la bacteria provenientes de diferentes regiones del país, con fines de buscar nuevas delta endotoxinas que ofrezcan mayores posibilidades en el control de plagas agrícolas (Hernández y otros 1997); este material constituye un recurso genético importante, con el cual se realizan pruebas biológicas y de control del gusano blanco y palomillas en papa. El proyecto de mosca blanca (ICA-Corpoica- Pronatta, 1993) registra la importancia de *Verticillium lecanii* (Hyphomycetos), *Aschersonia alleyrodis* (Coelomycetos) y varios parasitoides en el manejo del insecto además de las Entidades mencionadas anteriormente, es importante citar los avances obtenidos por Cenicafé, desde su creación hasta la fecha, sobre la broca del café, con hongos entomopatógenos (Bustillo y otros 1999) y caracterización bioquímica de los mismos (Vélez y otros 1999); de Cenipalma, del Centro de Investigaciones de Agricultura Tropical Ciat y el Centro Internacional de Control Biológico CIB de Medellín (Antioquia) con los trabajos de control biológico de plagas en agricultura y en mosquitos. El Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional trabaja en *B. thuringiensis* sobre biología molecular, bioquímica y obtención de cepas comerciales (Cerón y otros 1994).

Hongos Entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos están representados en todos los grupos taxonómicos, desde los inferiores hasta los superiores, siendo las clases mejor representadas los Hyphomycetos, Coelomycetos y Zygomycetos. Entomophthorales Ascomycetos. Los criterios de identificación se basan en la morfología del conidióforo y en la forma cómo se originan las conidias en éste (Tubaki 1952).

En Colombia han surgido las epizootias naturales causadas por diferentes microorganismos, principalmente en regiones productoras de palma africana, bananero y cítricos, en épocas de invierno. Entre los años 1974 y 1977 se presentaron varios brotes del defoliador *Antaeotricha* sp. (Lepidoptera: Stenomidae), en la región de Puerto Wilches (Santander); *Beauveria brogniartii* controló en más de 95% el insecto (Genty 1984). Las altas poblaciones *Stenoma cecropia* Meyrick (Lepidoptera: Stenomidae) registradas en Palmeras de Tumaco (Nariño), (en 700 ha 800 larvas por hoja), se regularon por la actividad del *B. bassiana* (Guerra y Bernal 1985); el hongo se identificó en el CNI del ICA en Tibaitatá (Mosquera.Cund.) y multiplicó en medios semisintético y arroz precocido estériles (25° C, 90- 95% HR); se asesoró a técnicos de la plantación en manejo de mismo, para realizar aplicaciones masivas el la plantación, logrando así, un 70% de control, hasta obtener poblaciones subeconómicas del insecto (ICA 1989; Rodríguez 1989). En cultivos de palma de Unipalma (Cumaral, Meta) se presentó una explosión *Brassolis sophorae lurida* Stickel (Lepidoptera: Brassolidae); el *B. bassiana* surgió en la población insectil, a manera de epizootia que controló eficazmente sus poblaciones; bajo la iniciativa del Dr. Guillermo Vallejo, gerente de plantación en ese entonces, el ICA asesoró la creación del primer laboratorio rústico de producción de hongos

entomopatógenos en palma africana (ICA 1986; Rodríguez 1989). Posteriormente, Fedepalma impulsó éstas iniciativas para sequirlas en otras plantaciones del país. Cenipalma, en 1992, organizó un curso sobre "Control Microbiano de insectos plagas en palma Africana" para los técnicos de la Entidad; actualmente esta empresa ha logrado avances importantes en sus investigaciones.

Entre los Hyphomycetos con mayor actividad patológica en insectos se registran: *M. anisopliae* var. *anisopliae* contra las chisas *Ancognatha scarabaeoides* Burmeister, *A. ustulata* Burmeister, *Hetherogomphus dilaticollis* (Coleoptera: Melolonthidae: Dynastinae) y *Clavipalpus ursinus* Blanchard (Melolonthidae), en pastos, rosas y papa en Cundinamarca, en el gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax* Hustache (Coleoptera: Curculionidae) (Rodríguez 1986; Torres y López 1997); afecta también el *Metamasius hemipterus sericeus* Olivier, y *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae) en Cundinamarca, Meta, Caldas y Valle del Cauca respectivamente (Rodríguez 1984). *M. anisopliae* afecta la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Rivera y Marín 1999), y la langosta migratoria *Rhammatoceros schistocercoides* (Bustillo y Devia 1997).

M. anisopliae var. *major* (Johnston) y Johnston en las especies de chisas mencionadas; *Beauveria brogniartii* (Delacroix) en chisas y *B. bassiana* en gusano blanco (Rodríguez 1984; Torres y López 1997; Castellanos y Espitia 1999) y otros lepidópteros. Londoño y otros autores en Corpoica (Antioquia) llevan a cabo estudios sobre enemigos naturales de chisas en el Oriente Antioqueño; igualmente *B. bassiana* y *M. anisopliae* afectan naturalmente sus poblaciones y son promisorios para conformar planes de manejo de Melolonthidae, en especial de *Phyllophaga*, *Anomala* y *Plectris* (Londoño y otros 1997). El *Nomuraea rileyi* Farlow (Samson) en *Antigastra catalaunalis* Duponchel y *A. gemnatalis* Hübner y otros lepidóptera; el *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas es un regulador importante de mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Homoptera: Trialeurodidae) (Rodríguez 1984; Bonilla y otros 1989; Bustillo y otros 1998; Quintana y otros, 1998; García y López 1997). El *Hirsutella thompsoni* (Fisher) controla *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) y *Retractus eleis* Keifer (Acari: (Tetranychidae). Entre los Zygomycetos Entomophthorales: Entomophthoraceae, el *Entomophthora* sp. se encontró en áfidos *Macrosiphum avenae* (F.), *Rhopalosiphum padi* L. y *Myzus persicae* (Sulzer), en trigo. El *Neozygites* sp. se registra en ácaros Tetranychidae en yuca. El *Myophagus* sp. (Wize) Sparrow (Chitridiomycetes: Chytridiales) ocasiona epizootias importantes en Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) y Diatraea sp. en algodónero y arroz de la región Urabá.

Aschersonia allelyrodii P. Henn. (Coelomycetos: Sphaerosidales) es común en escamas Diaspididae y Coccidae de cítricos; su efectividad fue probada en *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae) y se puede usar en planes MIP del insecto (Vargas y otros 1997; ICA-Pronatta-Corpoica 1993).

Entre los Ascomycetes: Clavicipitales se registran varias especies de *Cordyceps*, entre éstos *C. militaris* y otros que afectan chisas en regiones húmedas tropicales; recientemente se encontraron afectando hormigas en el departamento del Putumayo (Colombia) (Sanjuán y otros 1999); varios autores mencionan que esta es la fase sexual de *Nomuraea* y *Paecilomyces*.

Cultivo de *Paecilomyces fumoso-roseus* (Wize) (Brown & Smith), aislado de larvas de *P. vorax*, desarrollado en medio semisintético. Las coloraciones, el tamaño y la forma de las esporas de cada especie de hongo son importantes para su clasificación; las esporas de *B. bassiana* son blancas, las de *M. anisopliae* verde oliváceo diferente del verde azulado que presentan las esporas de *N. rileyi*; *Paecilomyces* forma esporas de coloración variable de violeta a rosado pálido como *P. fumoso-roseus*.

Ciclo de una Enfermedad por Hyphomycetos en Insectos

Con algunas excepciones, la penetración del hongo se efectúa por vía tegumentaria y no por el tubo digestivo, como en el caso de bacterias y virus. La muerte del insecto ocurre dentro de un período de tiempo variable según el huésped, la virulencia de la cepa, la dosis de inóculo y las condiciones abióticas como temperatura y humedad (Ferron 1978). En una primera fase, el germen penetra por el tegumento del insecto; la muerte ocurre cuando se contamina la hemolinfa, donde se multiplica el hongo en forma de blastosporas. Los hemocitos se concentran alrededor del punto de infección y luego se aglomeran en torno a los elementos miceliales, formando un quiste o granuloma (Vey y Fargues 1977). A la formación de granulomas sigue una reacción de melanización de la pared celular del tegumento del insecto.

La evolución de la enfermedad depende de la virulencia del patógeno; en ciertos casos el insecto sobrevive, debido a que el hongo permanece en los granulomas. En el caso contrario, el hongo atraviesa la membrana celular y se multiplica en la sangre, ocasionando la muerte del insecto. La emisión de toxinas por los elementos miceliales del proceso infeccioso puede ser también responsable de la muerte de éste, antes de que ocurra la destrucción de los tejidos. Dresner (1947) y otros autores han trabajado para demostrar la existencia de toxinas en cultivos de diversos Deuteromycetos. A partir de filtrados de *Metarhizium anisopliae* han identificado las dextruxinas A y B; éstas son depsipéptidos cíclicos compuestos de cinco ácidos aminados y un ácido graso. Después de la muerte del insecto, el hongo sale a través de los espacios intersegmentales para esporular sobre el tegumento. El tegumento del insecto está formado por proteínas y quitinas asociadas a lípidos y compuestos fenólicos; por lo tanto, la penetración del hongo en el huésped depende de su equipo enzimático (Müller y Kögler 1965).

Bacterias Entomopatógenas

Dentro de las bacterias causales de enfermedades en insectos figura el *Bacillus thuringiensis* Berliner; aislado éste autor en 1911 de la polilla de la harina, *Anagasta kuehniella* Zeller. Sus propiedades insecticidas fueron estudiadas por Steinhaus (1961). Actualmente, las investigaciones sobre la actividad de la bacteria contra diversos insectos lepidópteros han avanzado y existen diferentes cepas comerciales como biotrol, dippel, thuricide, bactospeina.

La bacteria ha sido registrada en insectos de los órdenes Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Orthoptera y otros. En Colombia se han encontrado varias especies de bacterias afectando lepidópteros y chisas. El *Bacillus cereus* Frankland y Frankland en *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) L. *Heliothis* sp. y *Alabama argillaceae* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), insectos que ocasionan daños en cultivos de algodón y soya en el Valle del Cauca; *B. circulans* (Jordan Ford.) en larvas de *Lichnoptera gulo* Herrichschaeffer, en Antioquia; *B. thuringiensis* Berliner, atacando larvas de *Oxydia thichiata* (Guenée) en ciprés y pino (Bustillo 1976; Lara y otros 1975). Esta bacteria ofrece posibilidades de utilización en cultivos forestales para el control de larvas de lepidópteros. El *B. thuringiensis* ataca igualmente larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) y de *Erinnyis ello* L. (Lepidoptera: Sphingidae).

Modo de Acción

El *B. thuringiensis* pertenece a la clase Eubacteriales que incluye bacterias esporuladas en forma de bacilos móviles, característicos de la familia Bacillaceae (Fischer). Presenta formas vegetativas grampositivas; la fase de reproducción se caracteriza por la presencia de una espora o forma de resistencia y un cristal paraesporal, el cual se sitúa en la parte del bacilo cercana a la espora. El cristal es de naturaleza protéica y su estructura es la de un polipéptido, con cadenas constituidas por varios polímeros; secreta una endotoxina que

actúa sobre el intestino de las larvas afectadas. Se observa un frotis de la bacteria (Coloración azul de metileno y fuschina). Se observan bacilos en cadena, bacilos con esporas y cristales y esporas y cristales libres.

La muerte del insecto ocurre por intoxicación, luego de la ingestión del *B. thuringiensis*, bajo el efecto de la endotoxina. Esta se activa cuando el pH del tubo digestivo del insecto es superior a 8,9 (Burges y Hussey 1971) y está provisto de enzimas proteolíticas capaces de liberar las fracciones tóxicas del cristal. Se ha podido constatar que casi todos los lepidópteros poseen esta característica. La espora y la endotoxina son necesarias para matar el insecto.

En las especies sensibles, la intoxicación se manifiesta porque los insectos afectados dejan de consumir el vegetal una hora después de la ingestión del cristal; esto podría explicarse por un bloqueo de las transmisiones nerviosas, lo cual disminuye significativamente los daños producidos por los insectos en las plantas. Ocurre luego la parálisis del tubo digestivo y se presentan lesiones intestinales, debido a que las toxinas solubilizadas del cristal se unen a moléculas receptoras específicas, en las células de la pared intestinal. La acción de la toxina baja el pH de la hemolinfa (Burges y Husey 1971)

Las lesiones se manifiestan como poros que se van agrandando, dando paso a las bacterias de la flora intestinal del insecto, que se multiplica desordenadamente, ocasionando septicemia y mal olor a las larvas muertas. La unión entre la toxina y el receptor ocurre a nivel molecular, cuando los insectos son susceptibles. La parálisis del insecto sucede antes de la muerte del mismo: sin embargo, la tasa de mortalidad está en relación directa con la concentración del material activo; el insecto muere generalmente en el momento en que la muda larval debiera sucederse, bien antes o en el curso de ésta.

Actualmente, en Colombia, la Corporación de Investigaciones Agropecuarias Corpoica, el Centro de Investigaciones Biológicas CIB, de Medellín y el Instituto de Biología de la Universidad Nacional de Bogotá IBUN han estandarizado técnicas de identificación molecular de colecciones de *B. thuringiensis*, basadas en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) usando primers generales y específicos para diferenciar los grupos de CRY (Mariño y otros 1955; Contreras y Hernández 1997; Hernández y otros 1997; Orduz y otros 1994-1996; Restrepo y otros 1996; Cerón y otros 1994). Las cepas de *B. thuringiensis* de la colección de Corpoica constiuyen un recurso genético importante para investigarlas en el control de plagas. En el CIB se ha descrito una nueva especie de *B. thuringiensis* subespecie medellín (Orduz y otros 1992, 1994); estudian el *B. thuringiensis* var. *kurstaky* contra mosquitos.

La bacteria *Bacillus popilliae* Dutky (Eubacteriales: Bacillaceae), es agente causal de la enfermedad lechosa de larvas de diferentes especies del orden Coleoptera. Se ha usado en Estados Unidos, Canadá y otros países contra el cucarrón japonés *Popillia japonica* (Coleoptera: Melolonthidae), plaga introducida de este país a Norteamérica, y causante de grandes problemas en pastos (Rhodes 1967). Se han cultivado comercialmente cepas que contienen dos microorganismos: *B. popilliae* y *B. lentimorbus* (Dutky), producidas en el insecto huésped y liofilizadas. En 1940, Dutky identificó y caracterizó parcialmente los dos microorganismos causales de la enfermedad lechosa. *B. popilliae* presenta bacilos alargados similares a los de *B. thuringiensis*, éstos forman una espora terminal y un cristal o cuerpo paraesporal refráctil adyacente a la espora, el cual no se encuentra en *B. lentimorbus* (Dutky 1941; Dulmage y Rhodes 1971).

En Colombia, la bacteria se aisló por primera vez de larvas de *Clavipalpus ursinus* recolectadas en pastos en Tibaitatá (Mosquera, Cundinamarca); se cultivó en medio J. estéril (Milner 1981) a 26 y 29°C, y se obtuvo un mayor desarrollo de colonias, que con el producto comercial, en el medio ensayado. Afecta igualmente las diversas poblaciones de chisas en

Cundinamarca y Antioquia en donde se han efectuado reconocimientos de entomopatógenos. En los cultivos en cajas de Petri se observan tres zonas de crecimiento: central, intermedia o de esporulación, y periférica. Se desarrolla mejor en condiciones de oscuridad, lo cual concuerda con lo descrito por algunos autores, como patógeno obligado esporógeno de organismos del suelo. A temperaturas bajas (20 y 18°C), la bacteria se crece y esporula lentamente; la temperatura óptima se sitúa entre 26 y 29°C por lo cual es apta para usarla en climas cálidos moderados y fríos, en donde está en condiciones endémicas en la población de las chisas registradas en la Sabana de Bogotá, principalmente en *A. scarabaeoides*, *A. ustulata*, *Clavipalpus ursinus* (Rodríguez y otros 1989).

Actualmente Corpoica (Antioquia) lleva a cabo trabajos sobre la biología, la acción patológica del bacilo contra larvas de *Phyllophaga obsoleta* (Melolonthidae) ejerciendo muy buen control del insecto; se han evaluado medios de cultivo para su producción "in vitro" para ensayos de campo (Guarín y otros 1997).

Virus Entomopatógenos

Los virus están en primer plano entre todos los organismos causales de enfermedades en insectos, por la frecuencia de las epizootias que provocan, principalmente en especies de lepidópteros. Al igual que otros entomopatógenos, se caracterizan por ser altamente específicos; su utilización en el control microbiológico de insectos exige el estudio de los huéspedes susceptibles, con el fin de multiplicarlos en éstos. Los virus se desarrollan en el interior de las células del tejido afectado del insecto. Se caracterizan por ser inocuos para los vertebrados; hasta ahora no se han constatado accidentes, teniendo en cuenta las vastas epizootias surgidas en algunas poblaciones de insectos (Hurpín 1971). Los trabajos de Ignoffo y Heimpel (1965), sobre inoculación artificial de virus en ratones, conejos y humanos para determinar la acción sobre éstos, no han dado prueba de patogenicidad. Los virus están constituidos por dos elementos: el virión y los poliedros; el virión está formado por una parte central compuesta de ácido nucleico, el cual puede presentar diferentes formas según el tipo de virus. Contiene además una doble capa de proteína que rodea el elemento central y una capa o membrana viral que envuelve toda la estructura. En algunos casos pueden existir uno o más viriones (Vaughn 1974).

Tipos de virus

Virus ocluidos: Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN) (Baculoviridae), caracterizados por la formación de grandes cuerpos de inclusión llamado poliedros, dentro de los núcleos de las células infectadas, de donde derivan su nombre. Dentro del cuerpo de inclusión se encuentra el virus o verdadero material infeccioso, compuesto por una doble hélice de ADN envuelta en dos capas o cubiertas proteicas. Algunos virus poseen un solo virión, o raramente dos, y se llaman virus simple embebido (SEV). Cuando poseen más de dos viriones se conocen como virus múltiple embebido (MEV). El tamaño de los poliedros está entre 0,5 y 15 µm de diámetro; la forma puede variar en el mismo insecto; los viriones son bastones de 20 a 50 nm de diámetro y cerca de 200 a 400 nm de largo. Los virus son resistentes al ataque de varios químicos, no se disuelven en agua, ni alcohol, éter, cloroformo y acetona; no se destruyen por acción bacteriana ni de proteinazas (Vaughn 1974; Harrap 1972). En Colombia, desde 1975, se registró el VPN en el gusano gregario de palma africana, *Dirphia peruvianus* Bouvier (Lepidoptera:Attacidae) ocasionando 90% de mortalidad (Jiménez y Reyes 1978). El VPN de *Euprosterina elaeasa* Dyar (Lepidoptera: Limacodidae), se registró en forma epizootica en palma africana de Bucarelia en Puerto Wilches (Santander) (Jiménez y Reyes 1978; Pedraza 1987). En el Instituto Armand Frappier (U. de Laval, Québec-Canadá), se estudió el VPN de *E. elaeasa* mediante métodos bioquímicos de purificación, digestión

del ADN con enzimas de restricción (Eco r1), extracción y precipitación del ADN viral, se identificó por microscopía electrónica de barrido.

VPN es común en plagas importancia económica de algodónero, maíz, arroz, soya y otros; afecta *Heliothis virescens* (F.), *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith, *S. ornithogalli* (Guenée), *Anticarsia gemnatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae); *Dirphia peruvianus* Bouvier (Attacidae), *Natada pucara* Dodgin (Limacodidae) y varias especies de plusinidos (Posada y García 1978; Genty 1978; Jiménez 1980).

Virus de la granulosis (VG). Tienen forma de poliedros dentro de la célula infectada; generalmente se desarrollan en el núcleo de las células, pero estas se rompen y liberan los gránulos en el citoplasma. Los cuerpos de inclusión son muy pequeños y en el microscopio óptico semejan gránulos brillantes en movimiento constante; presentan formas ovales, o elipsoidales; su tamaño es de 0,2 a 0,5 μm de longitud y 0,15 a 0,35 μm de diámetro. Los cuerpos de inclusión, constituidos por ADN en doble hélice poseen uno o raramente dos viriones (Vaughn 1974). Últimamente algunos autores han registrado más de un virión embebido en los gránulos. Las propiedades fisicoquímicas son similares a las VPN; los cuerpos de inclusión de disuelven en álcalis y el virión se degrada e inactiva; pueden resistir temperaturas de 70 a 75° durante 10 minutos e inactivarse a bajas temperaturas (Vaughn 1974). El virus de la granulosis registrado en larvas de *Automeris* sp VGAs, desarrolló una epizootia en el insecto en palma africana (Palmasol, Meta 1990); con 100% de efectividad del patógeno en las plagas; las larvas enfermas tienen aspecto lechoso, posteriormente se tornan negras, debido a la septicemia de los tejidos. El virus se identificó (MEB); los gránulos alargados, en forma bacilar se aprecian en el tejido del insecto, después de una purificación parcial (20000x); en los cortes de gránulos se aprecia el virión (ADN, doble hélice), dentro del cuerpo del inclusión (gránulos) (Rodríguez y otros 1992), constituido por capas de proteínas, principalmente granulinas en red (Vaughn 1974). En Corpoica Antioquia se multiplica comercialmente el *Baculovirus pthorimaea* (Baculoviridae) en *T. solanivora* (Povolny).

Virus de la Poliedrosis Citoplásmica (vpc): Al igual que los virus de la poliedrosis nuclear forman poliedros o cuerpos de inclusión con viriones; difieren de los VPN en que los poliedros de forma y tamaño variable se reproducen en el citoplasma de las células infectadas; estos cuerpos de inclusión se forman dentro del citoplasma de las células de los tejidos afectados; la forma y tamaño varían según la especie del virus. Los viriones tienen forma icosaédrica, contienen un núcleo denso compuesto por ARN en doble cadena. Se pueden observar al microscopio óptico cuando se tiñen con Giemsa. Son insolubles en agua; en alcalis presentan menor solubilidad que los VPN. Los viriones se liberan al tratarlos con Na_2CO_3 (Vaughn 1974).

Virus entomopox: fueron recientemente descubiertos; se describieron por primera vez en 1963, como patógenos de larvas de Coleoptera. Al igual que los virus de la poliedrosis y la granulosis, los viriones están embebidos en grandes cuerpos esferoidales. Su tamaño, cuando están maduros, va de 6 a 7 μm por 12 a 20 μm . Cada cuerpo de inclusión contiene muchos viriones individuales. Las células afectadas pueden presentar grandes cuerpos proteínicos en forma ahusada. Los viriones son ovoides, de tamaño comprendido entre 150 y 250 μm por 350 y 480 μm . Cada virión contiene un núcleo denso de ADN en doble cadena (Vaughn 1974).

Virus no Ocluidos

Virus Iridiscentes: Estos virus no poseen cuerpos de inclusión o cristales protéicos; se encuentran libres en el citoplasma de células enfermas. El virión es un icosaedro (de seis lados) y no en forma de bastón como en VPN y V G. El tamaño de la partícula varía de 130

µm a 195 µm de diámetro. El virión está formado por un núcleo de proteína compuesta por 11 a 18% de ADN y rodeado por una membrana o cápside; el conjunto está cubierto por una membrana externa. Además del ADN contienen 5% de lípidos y el resto de proteínas. Su efectividad se pierde a temperaturas mayores de 50 grados centígrados por 30 minutos (Vaughn 1974).

Virus de la Densonucleosis: Las partículas son icosaédricas de 21 a 23 µm de diámetro. Cada partícula consta de una nucleoproteína, rodeada por una cápside (de proteína) con 42 capsómeros. La cápside completa está desprovista de cubierta externa. Están compuestos por una sola cadena de ADN; los insectos afectados por este virus presentan hipertrofia del núcleo de células atacadas y el desarrollo de cristales de Feulgen positivos dentro de éste (Vaughn 1974). El virus de la densonucleosis aislado en *Sibine fusca* Stoll. (Lepidóptera: Limacodidae) defoliador de palma africana en San Alberto (César), presenta partículas globosas de tamaño irregular que, contienen viriones de 20 a 22 µm. Los viriones se forman alrededor de la masa central del núcleo y se reparten libremente en la zona periférica del mismo (Meynadier y otros 1977). Las epizootias por este patógeno mantienen en equilibrio las poblaciones del insecto.

Los insectos se contaminan por ingestión del virus, a diferencia de la contaminación de enfermedades producidas por hongos; los primeros síntomas son pérdida de actividad y de apetito; luego se observan cambios en la coloración del tegumento; la cutícula se decolora tomando un aspecto blanquecino; la hemolinfa se vuelve lechosa.

El virus de la poliedrosis citoplásmica se encontró en *Sibine fuscae* Stoll y *S. apicalis* Dyar (Lepidóptera: Limacodidae), en *Glena bisulca* Rindge (Lepidóptera: Geometridae), en palma, ciprés y pino. Afecta igualmente larvas de *Heliothis virescens* (F.) (Lepidóptera: Noctuidae) (Posada y García 1976; Genty 1978).

Nematodos Entomopatógenos

La mayoría de las especies de nematodos atacan insectos de los órdenes Coleoptera, Lepidoptera, Orthoptera y Diptera. Existen algunos que viven en el tracto alimenticio de los invertebrados y otros en la cavidad del cuerpo o en los tejidos del insecto. Estos últimos presentan especial interés por la forma como penetran en el insecto; algunos estudios han demostrado que entran al tegumento por medio del estilete, ayudado probablemente por la acción de disolventes de la quitina, secretados por una o más glándulas esofageales (Tanada 1971).

Las especies más importantes se clasifican dentro de los géneros *Rhabditis*, *Parasitorhabditis* (Rhabditia: Rhabditidae); *Steinernema* (=Neoaplectana) (Steinernematidae), *Bursaphelenchus* (Tylenchida: Aphelenchodidae), *Mermis*, *Hexameris* (Mermithidae).

En Villavicencio (Meta-Colombia), se ha registrado en forma natural un nemátodo del género *Mermis* (Mermithidae) afectando el mión de los pastos (*Aeneolamia varia* L.). En pasto *Brachiaria* las ninfas atacadas presentan el abdomen abultado; a través de la cutícula abdominal se observa el nemátodo enrollado. Al salir del huésped afectado, perfora los tejidos de éste ocasionándole la muerte.

El *Steinernema* (=Neoaplectana) *carpocapsae* Weiser (Neoaplectanidae) se ensayó en *Oxydia trychiata* (Guenée); resultando susceptibles las larvas, prepupas y pupas del insecto (Bustillo 1976). También se registra en larvas de gusano blanco de la papa *P. vorax*, y en larvas de chisas encontradas en la Sabana de Bogotá y Antioquia. Se ha estimado que el nemátodo afecta en un 30% la población de larvas del gusano blanco encontradas en tubérculos de

papa evaluados en el ICA en 1985. Los insectos afectados se observan aparentemente hinchados, de color amarillo cremoso, algunas veces son oscuros. Tres a cuatro días después de la muerte de las larvas huésped, se aprecian abundantes nemátodos al exterior de los tejidos de las mismas (Rodríguez 1986). Garzón y otros, 1995, comprobaron la patogenicidad del nemátodo en gusano blanco con trabajos realizados en papa. Igualmente es promisorio contra *Sagalasa valida* Walker (Lepidoptera: Glyphipterigidae), ensayado en palma africana en Tumaco (Ortiz 1993). Los estudios de reconocimiento de nemátodos en plagas de papa confirmaron la efectividad del *S. Feltiae* Filipjev (Rhabditidae) en *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) en papa (Sáenz 1999; Corredor y otros 1999).

Protozoarios

El grupo de los protozoarios comprende varias categorías: amebas, gregarias y microsporidias, encontradas en insectos pertenecientes a todos los géneros. De estos organismos, aunque son importantes las enfermedades de las crías artificiales de insectos en las condiciones naturales (Brooks 1974). No se pueden multiplicar en medios artificiales y no se tiene conocimiento suficiente con relación a la selectividad. Por lo tanto su utilización en el control microbiológico es restringida y exige estudios sobre la especificidad. Las especies más importantes son: *Leptomonas pyrrocoris* (Zoomastigophora: Kinetoplastida: Trypanosomidae). Los estadios infectivos se localizan en el tracto intestinal y el hemocelo de ninfas y adultos de *Pyrrocoris apterus* L. (Hemiptera: Pirrocoridae), ocasionando diarrea y coloración anormal de la hemolinfa; la misma especie de protozoario causa también infección en larvas de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) (Brooks 1974). La especie *Malpighamoeba mellifica* Prell (Sarcodina: Amoebidae) es común en abejas *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae); *M. locustae* se presenta en los tubos de Malpigio de grillos del género *Melanoplus* (Brooks 1974); *Malameba locustae* King y Taylor (Amebidae), en *Locusta migratoria* L. (Orthoptera: Acrididae). Dentro de los Sporozoa, la especie *Gregarina blattarum* Siebold (Eugregarinida: Gregarinidae), se ha descrito en insectos pertenecientes a los órdenes: Coleoptera, Orthoptera y Diptera; este protozoario es muy común en *Blatta orientalis*, *Blattella germanica* L., *Periplaneta americana* (Orthoptera: Blattidae) (Brooks 1974), y otras especies de cucarachas; en el intestino de *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), se encuentran el *Farinocytyis tribolii* Weiser y el *Adelina tribolii* Bhatia (Eugregarinida: Coccididae).

El género *Nosema* (Cinidiospora: Nosematidae), incluye varias especies importantes: *N. heliothidis* en *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae), *N. apis* en abejas. En Colombia no se han efectuado trabajos sobre protozoarios patógenos de insectos.

Rickettsias

Son organismos próximos a las bacterias. Por su estructura y metabolismo propio se comportan como virus por la localización intracelular en los tejidos del insecto y por ciertos aspectos del desarrollo de estos organismos. No se pueden cultivar en medios artificiales y, como en el caso de los protozoarios, el fenómeno de la selectividad, no ha sido estudiado suficientemente, desconociendo algunos aspectos importantes tales como la inocuidad para vertebrados.

Pertencen a la familia Rickettsiaceae, dividida en tres tribus: Rickettsiae, Erlinchieae y Wolbachieae.; esta última ataca únicamente los artrópodos (Vaugh 1974). Los miembros del género *Rickettsoides* crecen sobre el epitelio intestinal del insecto enfermo, causando su destrucción por su multiplicación abundante en el intestino del huésped; la especie *Enterella culicis* fue aislada de *Culex quinquefasciatus*. Las especies del género *Rickettsiella*, atacan

inicialmente la grasa del cuerpo y pueden algunas veces causar infección generalizada; las más importantes son: *R. popilliae* aislada de *Popillia japonica*, conocida como la enfermedad azul, debido a la apariencia azulosa de las larvas afectadas y *R. melolonthae* en *Melolontha melolonthae* (Coleoptera: Melolonthinae) (Vaugh 1974). En Colombia se encuentran comúnmente larvas de chisas de color azuloso generalizado en todo el cuerpo, siendo más visible en el abdomen. Los frotis de tejido de larvas enfermas observadas en un microscopio bajo lente de inmersión muestran estructuras similares a rickettsias y abundantes bacterias del tracto intestinal de las larvas de *Ancognatha scarabaeoides*, *A. ustulata* y *Clavipalpus ursinus* (Rodríguez 1997).

Conclusiones y Recomendaciones

Se comprueba la existencia de un gran número de especies de microorganismos entomopatógenos que contribuyen a mantener en equilibrio las poblaciones de insectos plaga, mediante enzootias o epizootias que surgen en forma permanente en diferentes cultivos y zonas del país. Por otra parte, se confirma que entre los diferentes microorganismos existen numerosas especies ya establecidas en determinadas localidades y en varias plagas de importancia económica. Este aspecto es muy importante para la escogencia de las cepas patógenas más promisorias, adaptadas al medio, y asegurar en esta forma el éxito de su aplicación en el control de insectos plagas, sin recurrir a cepas importadas, o de otras localidades, que requieren condiciones distintas para su reproducción.

Los virus de la poliedrosis nuclear VPN y de la poliedrosis citoplásmica VPC, son auxiliares de manejo de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) y en otros Noctuidae, en cultivos de maíz, arroz y algodón de diversas zonas del país. El virus de la granulosis de *Automermis* sp, registrado por primera vez en el insecto en El Meta (Colombia), puede estar afectando otras especies plagas. Considero necesario mencionar la importancia de las epizootias naturales por diferentes patógenos y el estudio de las condiciones que las favorecen; posiblemente, en algunos casos, dependiendo de estos factores, las aplicaciones masivas de hongos u otros entomopatógenos no sean necesarias. Así se podrán evitar futuros problemas por el excesivo uso de estos microorganismos. No es aconsejable introducir cepas de diferentes zonas, a menos que después de un reconocimiento, los patógenos no se encuentren en los insectos, lo cual es relativamente raro en el país. A pesar de los avances logrados después de veinte años de investigación, en Colombia se requiere fomentar estudios sobre los virus entomopatógenos. Los agentes microbiales encontrados hasta el presente, son un material importante para involucrarlos en planes de control integrado de plagas, tendientes a restablecer y conservar el equilibrio del ecosistema agrícola y por ende a obtener beneficio social que no se cuantifica como elemento de rentabilidad en la agricultura. La efectividad del Control microbiológico se da a largo plazo como resultado de planes de acción a nivel nacional e internacional, con presupuesto suficiente y personal entrenado para llevar a cabo los proyectos.

La biodiversidad existente en Colombia, y reconocida mundialmente para animales, fauna y flora, no involucra hasta el presente las especies de hongos, bacterias, virus, protozoarios y rickettsias causales de enfermedades de insectos. Los patógenos de insectos registrados hasta ahora, podrían representar sólo una mínima parte de los recursos genéticos de los que disponemos, por ser un país tropical donde se encuentran todas las plagas en evolución permanente en todos los cultivos y climas; hasta ahora se ha incursionado únicamente en explotaciones agrícolas; las zonas de los bosques húmedos tropicales, los Llanos, la Amazonia y la selva se podrían encontrar especies nuevas, con amplias posibilidades para el manejo de insectos plagas en explotaciones agrícolas, forestales y mosquitos vectores de enfermedades en humanos.

Bibliografía

- Aragón, J. H. 1964. Control microbiológico de plagas (larvas de Lepidoptera) en algodónero *Gossypium hirsutum* L., mediante el uso de la bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis* Berliner. Agricultura Tropical (Colombia) v. 14, p. 103-224.
- Burges, H.D.; Hussey, N.H. 1971. Microbial control of insects and mites. Londres. Academic Press Inc. 681 p.
- Brooks, W. M. 1974. Protozoan infections. En: Cantwell, G. E. Nueva York. Marcel Dekker Inc. v. 1 Cap. 5, p. 231-300.
- Bustillo, A. 1976. Patogenicidad del nematodo *Neoaplectana carpocapsae* en larvas, prepupas y pupas de *Oxydia trychiata*. Revista Colombiana de Entomología SOCOLEN. Santafé de Bogotá (Colombia). v. 2, n°. 4, Dic. 1976.p. 139-144.
- Bustillo, A.; Lopez, J. C.; Devia, H. 1997. Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* en la langosta migratoria *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn. en Colombia. Revista de la Sociedad Colombiana de Entomología Socolen, Santafé de Bogotá (Colombia) v, 23,n°. 1-2, p. 39-43.
- Caicedo, A. M.; Belloti, A. 1996. Reconocimiento de nemátodos nativos asociados a *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae) en ocho localidades de Colombia. Revista Colombiana de Entomología Socolen, Santafé de Bogotá (Colombia) v. 22, n°. 1, p.
- Cantwell, G.E. 1974. Insect Diseases. Nueva York. Marcel Dekker, Inc. v. 2., p. 301-585.
- Castellanos, G.; Espitia, E. 1999.Evaluación de una cepa de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin para el control del gusano blanco de la papa *Premnotripes vorax* (Hustache) en Siachoque (Boyacá). Congreso Sociedad Colombiana de Entomología Socolen. Santafé de Bogotá (Colombia) 26°. p. 44.
- Ceron, J.; Corrubias, L.; Quintero, R.; Ortiz, A; Ortiz, M.; Aranda, E.; Bravo, A. 1994. PCR analys of the CR I insecticidal crystal family genes from *Bacillus thuringiensis*. Appl. Environm. Microbiology. v. 60, p.351-353.
- Contreras, S.; Hernandez, J. 1997. Caracterización biológica y molecular de aislamientos nativos de *Bacillus thuringiensis* en Colombia. Doc. en prensa. 105 pp.
- Corpoica. 1997. Desarrollo de tecnologías para el manejo Integrado de la mosca de los invernaderos. Proyecto ICA-Pronatta- Corpoica. Informe técnico final. MIP. Santafé de Bogotá (Colombia). Dic. 1997, 169 pp.
- Corredor, T.; Palacios, L.; Prada, J. 1999. Capacidad de búsqueda de *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) sobre *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) afectando Solanum pureja en el laboratorio. Resúmenes Congreso Sociedad Colombiana de Entomología Socolen, 26°. Santafé de Bogotá (Colombia).
- Dulmage, H. T ; Rhodes, R.A. 1971. Production of pathogens in artificial media. Burges, H.D. Hussey, N.Y. 1971. p.507-539.
- Dutky, S. R. 1941. Susceptibility of certain scarabaeid larvae to infection by type A milky spore diseases. J. Econ. Entomol. V.34 p.215-216.
- Espinel, R. 1975. Rentabilidad de la investigación entomológica en Colombia asimilada a ejemplos de cultivos de climas cálidos. En: Congreso Sociedad Colombiana de Entomología Socolen, 8°. Medellín (Antioquia) Junio 25-27 de 1975. Bogotá, Socolen. p.3-9.
- Fargues, J.; Remaudiere, J. 1977. Considerations of the specificity of entomopathogenus fungi. Francia. Micopathología v.62, n. 1, p. 31-37.
- Garzón, M. V.; Aza, B. O.; Jimenez, J.; Luque, J. Estado: 1996. Potencial del Nematodo *Steinernema* spp. para el control biológico del gusano blanco de la papa. Rev. Col. de Entomología Socolen. Santafé de Bogotá (Colombia). v. 22, n°. 1, p. 1-5.
- Genty, P. 1978. Una virosis de tipo densonucleosis como control del defoliador de la palma africana, *Sibine fuscae*. V Congreso Soc.Col Entomología, Socolen. Ibagué (Colombia). 15 p.
- Guarin, J. G.; Londoño, M. E. 1997. Evaluación de la patogenicidad de *Bacillus popilliae* Dutky sobre *Phyllophaga obsoleta* Blanchard (Coleoptera: Melolonthidae): Congreso

- Soc. Col. de Entomología Socolen, 24°. Pereira (Colombia), Julio 16-18 1977. p. 121.
- Guerra, A.; Bernal, N. F. 1985. Algunas observaciones sobre el control biológico y mecánico de *Stenoma cecropia* Meyrick defoliador de a palma de aceite (*Elaeis guineense* Jacq.). En: Congreso Soc. Col. de Entomología Socolen, 12°. Medellín (Antioquia). julio.
- Heimpel A. M. 1971. In new approaches to best control and erradicatio. Bull. Am. Chem. Soc. v. 41, p. 64-74.
- Hurpin, B. 1971. Principes de lutte microbiologique en agriculture. Paris (France) Ann. de Parasitology, T. 46, n° 3 bis. p.243-276.
- ICA. Programa Entomología Bogotá (Colombia).1986. Informe anual. 17 pp.
- Ignoffo, C.M.; Heimpel, A.M. 196. The nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis zea* (Boddie) and *Heliothis virescens* (Fabricius) V. Toxicity pathogenicity of virus to whit mice and guinea pigs. Journal of Invertebrate Pathology. Estados Unidos. v.7, p. 329-340.
- Jimenez, O. D.; Reyes, A. R. 1978. Perspectivas para el control de *Euprosterma elaeasa* Dyar y *Euclea* sp. cerca de *distraens* con microorganismos entomopatógenos. 1° Conf. sobre Palma aceitera. Fedepalma, Bogotá (Colombia), p.68-115.
- Jimenez, J. 1980. Estudios preliminares tendientes al control de *Spodoptera frugierda*. Programa de Estudios para graduados PEG-ICA. Bogotá (Colombia). Sepbre-October. 51pp.
- Lara, L.; Gutiérrez, R.; Triviño, T.; Rendón, E. 1975. Pruebas de laboratorio y de campo con una formulación de *Bacillus thuringiensis* y su efecto sobre *Oxydia trichiata* y *Glennia bisulca* defoliadores del ciprés y pino pátula. Medellín (Colombia). III Congreso Soc. Col. de Entomol. 3°. p.35.
- Londoño; M. E.; Rios, A. M. 1997, Efecto de los diferentes agentes de control biológico sobre *Phyllophaga obsoleta* y *Anomala undulata* (Coleoptera: Melolonthidae). Congreso Soc. Col. de Entomología, 24. Pereira Julio 1977: p. 120.
- Müller-Kögler. 1965. Pilzkrankheiten bei Insekten. Anwendung zue Biologischen Scharlingsbekämpfung und Grudlagen der Insektenmykologie. Berlin. Paul Parey Ed., p560.
- Orduz, S.; Rojas, W.; Correa, M. M.; Montoya, A. E.; De Barjc, H. 1992. A New serotype of *Bacillus thuringiensis* from Colombia toxic to the mosquito larvae. Jour. Invert. Pathol, (Estados Unidos) v. 59, p.99-103.
- Orduz, S.; Diaz, T.; Thiery, I.; Charles, J. F.; Rojas, N. 1994. Crystal proteins from *Bacillus thuringiensis* serovar. medellin. Appl. Microb. and Biotech (Estados Unidos) v. 40, p. 749.
- Ortiz, L. E. 1993. Control microbiano de *Sagalassa valida* Walker (Lepidoptera: Glypterigidae) con el nematodo *Steinernema carpocapsae* en Tumaco (Nariño). Fac. Agronomía U. Nacional de Colombia. Santafé de Bogotá (Colombia). 78 pp. (Tesis Ing. Agr.)
- Pedraza. J. 1987. Aislamiento, identificación y caracterización del virus de larvas de *Euprosterma elaeasa* Dyar (Lepidoptera: Limacodidae). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía. Bogotá (Colombia). Tesis I.A., 108 p.
- Posada, L.; García, F. 1976. Lista de predadores, parásitos y patógenos de insectos registrados en Colombia. Bogotá. Instituto Colombiano Agropecuario, Programa de Entomología. 90 p. (Boletín Técnico no. 41).
- Rhodes, B. 1967. Milky diseasesof the Japanes beetle. Semmar. on Microbiol Control of Insects and Pests. Fukuoka (Japan), April 21-23. p. 85-92.
- Rodriguez S., D. A. 1984. Hongos entomopatógenos registrados en Colombia. Revista Colombiana de Entomología Socolen. Bogotá (Colombia) v. 10, n. 142, p. 57-64.
- Rodriguez S., D. A. 1986. Entomopatógenos del gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax* (Hustache) (Coleoptera: Curculionidae) y pruebas de patogenicidad. En: Memorias del curso sobre control integrado de plagas de papa. Centro Internacional de la Papa, Instituto Colombiano Agropecuario, CIP-ICA. Junio 29 a julio 19. 1986. Bogotá (Colombia) p.9-17.
- Rodriguez S., D. A. 1989. Posibilidades del uso de entomopatógenos en el control biológico de insectos plagas en palma africana. Revista Palmas. Federación de Cultivadores de Palma. Fedepalma, Bogotá (Colombia), año 10, n.2, mayo 1989 p.5-22.
- Rodriguez S., D. A.; Arella, M.; Letartre, M. 1992. Biología molecular del virus de la granulosis de *Autormermis* sp. (ASPGV) en palma africana. En: Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Memorias 19° Socolen. Manizales (Caldas). pp. 60.

- Rodríguez S.; Narvaez, J. 1993. Caracterización bioquímica y molecular de cepas de *Bacillus thuringiensis*. Proyecto ICA-Corpoica-Colciencias.
- Rodríguez S., D. A. 1997. Biología y manejo de chisas. Bol. Sanidad Vegetal 21 ICA. Santafé de Bogotá (Colombia), Produmedios. 31 pp.
- Sáenz, A. 1999. Evaluación de Procedimientos para Aislamiento y Almacenamiento del Entomopatógeno *Steinernema feltiae* Filipjev (Rhabditida: Steinernematidae). Rev. Col. Entomología Socolen. Santafé de Bogotá (Colombia). v. 22, n° 1, p. 209-215.
- Sanjuan, T.; Amat, G.; Henao, L.G. 1999. La Conga y el Yare, Percepción de la Etnia Inga del Hongo Entomopatógeno *Cordyceps* sp. en Hormigas. Resúmenes Congreso Soc. Col. Entomología, 26°. Santafé de Bogotá (Colombia), 28-30 Julio. p.14.
- Steinhaus, E.A. 1961. Insect pathology and advanced treatise. New York. Academic Press. v.1., 61 p.
- Tanada, Y. 1971. Persistence of entomogenous viruses in the insect systems. In : Entomological essays commemorate the retirement of prof. Yasumatsu. Tokyo, Public. Co. Japan. p.367-379.
- Torres, R.; López, A. 1997. Estudios básicos para control microbiológico del gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax* Hustache con *Beauveria* sp. y *Metarhizium* sp. Rev. Col. de Entomología Socolen. Santafé de Bogotá (Colombia). v. 23; n°. 1-2, p. 17.
- Tubaki, K. Studies on japanese hyphomycetes V. lead and steam group with a discussion of the classification of hyphomycetes and their perfect stade. Journal Maittori Bot. Lab. no 30., 1962.
- Vargas, M.M.; Rodríguez S, D.A.; López, A. 1997. Patogenicidad de *Aschersonia aleyrodis* Weber y parasitismo de *Encarsia formosa* en *Trialeurodes vaporariorum*. Rev. Col. de Entomología Socolen. Santafé de Bogotá (Colombia). v. 21, n° 3, Julio-Septiembre 1995, p. 159-170.
- Vaughn, J.L. 1974. Virus and rickettsial diseases. In: Insect diseases. v. 1. ed. G.E. Cantwell, Chapter 2, 336p.
- Vey, A.; Fargues, J. 1977. Ethological and ultrastructural studies of *Beauveria bassiana* infection in *Leptinotarsa decemlineata* larval during ecdysis. J. of Inv. Pathol. v. 30, p. 207-215.