



Kurú: Revista Forestal (Costa Rica) 2(4), 2005

## ARTÍCULO CIENTÍFICO

### Posibilidades de control de *Nasutitermes corniger* utilizando el hongo entomopatógeno *Metarhizium* sp.

Beatriz Salas Acuña<sup>1</sup>

#### Resumen

Se realizó un estudio *in vitro* para determinar la efectividad del control de *Nasutitermes corniger* utilizando el hongo entomopatógeno *Metarhizium* sp. Se estableció una prueba exploratoria, en la cual se inocularon individuos de esta especie con una muestra purificada del hongo *Metarhizium* sp. Con individuos infectados, se realizaron aislamientos para obtener colonias potencializadas del hongo. Posteriormente se estableció un ensayo, en el cual se inocularon los insectos para cuantificar el porcentaje de mortalidad. El porcentaje de mortalidad obtenido fue del 100% siete días después de establecido el ensayo; sin embargo, sólo el 76,9% de los individuos presentaba evidencia de desarrollo micelial sobre el cuerpo. Catorce días después de establecido el ensayo, se determinó que el porcentaje de individuos con micelio visible alcanzó el 89%. Para el 11% de los individuos restantes no fue posible determinar la causa de muerte. El análisis estadístico realizado determinó que existe una alta diferencia significativa ( $z=-12$ ,  $\alpha=5\%$ ) entre el testigo y el tratamiento con el hongo entomopatógeno.

**Palabras clave:** Control biológico, *Nasutitermes corniger*, *Metarhizium* sp, Termitas, Costa Rica.

#### Possibilities for controlling *Nasutitermes corniger* using the fungal entomopathogen *Metarhizium* sp.

#### Abstrac

An *in vitro* study was carried out to determine the effective control of *Nasutitermes corniger* using the fungal entomopathogen *Metarhizium* sp. An exploratory trial, involving a purified sample of the *Metarhizium* sp. fungus, was carried out. Isolations with infected individuals were made in order to obtain conditioned colonies of the fungus. Subsequently, a trial, using insects, was set up in order to quantify the mortality percentage. Seven days after the trail was set up, a mortality percentage of 100% was obtained, however only 76.9% of individuals showed evidence of mycelial development on their bodies. Fourteen days after the trail was set up it was determined that the percentage of individuals with visible mycelium reached 89%. It was not possible to establish cause of death for the remaining 11% of individuals. Statistical analysis carried out revealed a high significant difference ( $z = -12$ ;  $\alpha = 5\%$ ) between the control and treatment with the fungal entomopathogen.

**Keywords:** Biological control, *Nasutitermes corniger*, *Metarhizium* sp., termites, Costa Rica.

<sup>1</sup> Instituto Tecnológico de Costa Rica, [beatrizsalas13@hotmail.com](mailto:beatrizsalas13@hotmail.com)

## INTRODUCCIÓN

Las termitas son insectos sociales que viven en nidos o colonias con una compleja organización social. Están capacitados para alimentarse indirectamente de celulosa por entosimbiosis con flagelados que viven en su tubo digestivo (Martínez, 1952). La especie *Nasutitermes corniger* presenta tres castas diferentes: soldados, obreros y reproductores; los obreros miden aproximadamente 4,5 mm de largo, son de color blanco transparente y se encargan de alimentar a las otras castas dependientes; los soldados miden de 3,5 a 4 mm, tienen el cuerpo color café claro y la cabeza café oscuro, con una proyección cónica a manera de nariz (nasute) y su principal función es la defensa de la colonia; las reproductoras aladas son de color café amarillo ferroso con la cabeza café oscuro (Cibrián *et al*, 1995).

*N. corniger* construye termiteros acartonados de 50 a 60 cm de diámetro en las ramas de los árboles, sin embargo no afecta árboles vivos (Cibrián *et al*, 1995). A pesar de esto, se ha presentado una alta incidencia en plantaciones de teca (*Tectona grandis* L.f.) en Panamá, lo que ha requerido un manejo intensivo.

El control biológico aplicado se refiere a aquellas estrategias que tienden a regular poblaciones de insectos mediante sus enemigos naturales. Estos enemigos se agrupan en depredadores, parasitoides y patógenos (Andrews, 1989).

Los hongos entomopatógenos se caracterizan por su escasa toxicidad sobre otros organismos en el ambiente y por su dependencia de las condiciones ambientales de temperatura y alta humedad relativa, para que su efecto sea el adecuado (INFOAGRO, 2005). *Metarhizium* sp. es un deuteromycete que produce conidióforos sobre los cuales surgen los conidios; éstos son septados, de forma cilíndrica u ovoide y forman cadenas usualmente arregladas en columnas prismáticas o cilíndricas (Ordóñez, 1999).

Debido a la alta incidencia de *N. corniger* en plantaciones de teca en Panamá, se planteó establecer ensayos *in vitro* para determinar la eficiencia de *Metarhizium* sp. en el control de *N. corniger*.

## METODOLOGÍA

Las labores se realizaron en el Laboratorio de Protección Forestal del Instituto Tecnológico de Costa Rica. La muestra purificada *Metarhizium* sp., utilizada en el desarrollo de los ensayos, fue proporcionada por el Centro Nacional de Agricultura Orgánica del Instituto Nacional de Aprendizaje (INA).

### Prueba exploratoria

Con el fin de determinar la efectividad de *Metarhizium* sp. en el control de *N. corniger*, se realizó una prueba exploratoria, dicha prueba no siguió un diseño estadístico.

### Aislamientos

Se realizaron varios aislamientos, procurando obtener colonias puras del hongo desarrollado sobre los insectos enfermos a partir de la prueba exploratoria, con el fin de obtener una muestra potencializada del hongo.

El primer aislamiento se realizó colocando directamente los individuos muertos (con y sin micelio visible) en un medio de cultivo llamado PDA (papa, dextrosa y agar) para permitir el crecimiento y desarrollo de colonias del hongo.



El segundo aislamiento se realizó colocando 4 individuos muertos (con y sin micelio visible), en 8 tubos de ensayo con 5 ml de agua destilada estéril. Se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 10 días. Una vez verificado visualmente el desarrollo del hongo en el medio, se realizaron raspados del líquido, utilizando un asa bacteriológica, en el medio de cultivo PDA.

### **Propagación**

La propagación del hongo obtenido de los aislamientos realizados, se hizo utilizando arroz como sustrato, con el fin de obtener una concentración de esporas similar a la utilizada originalmente. Para esto, se utilizó una matriz estéril de 100 g de arroz, a la que se le adicionó un segmento de 2 x 8 cm del medio de cultivo PDA que contenía micelio y esporas del hongo. Se dejó reposar durante siete días a temperatura ambiente en la cámara de transferencia para garantizar su esterilidad.

Una vez transcurridos los siete días, cuando la matriz estaba totalmente cubierta de esporas, ésta fue disuelta en 500 ml de agua destilada estéril para conservar las esporas en un medio líquido.

Finalmente, se realizó una última propagación de hongo utilizando una matriz estéril de arroz de 300 g a la que se le agregaron 15 ml del medio líquido obtenido anteriormente y se dejó reposar bajo las mismas condiciones.

### **Inoculación**

Se colocaron 100 individuos (soldados y obreros) de *N. corniger* en un plato petri con papel filtro humedecido con agua destilada estéril. Sobre los insectos se inoculó la mezcla de conidios del hongo entomopatígeno potencializado, obtenido a partir de los aislamientos realizados. Esta mezcla consistió en 60 g de una matriz de arroz y conidios licuados en 1000 ml de agua destilada estéril. Cada plato petri fue considerado como una repetición y se establecieron ocho en total.

Para los ensayos establecidos como testigos, se colocaron 100 individuos (soldados y obreros) en un plato petri con papel filtro humedecido con agua destilada estéril. Se establecieron cuatro repeticiones.

Las observaciones se realizaron cada dos días durante un periodo de 14 días. La cuantificación de la mortalidad por *Metarhizium* sp. se realizó a los siete y catorce días de establecido el ensayo, de acuerdo a la diferenciación entre individuos con micelio visible e individuos sin micelio.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En el Cuadro 1, se presentan los resultados obtenidos al cuantificar la mortalidad por *Metarhizium* sp. de los individuos inocuados.

**Cuadro 1.** Mortalidad de *Nasutitermes corniger* obtenida siete días después de inoculados. 2003.

Tratamiento	Repetición	Vivos	Muertos con micelio		Muertos sin micelio	
			(n)	(%)	(n)	(%)
1	1	0	75	75	25	25
1	2	0	85	85	15	15
1	3	0	69	69	31	31
1	4	0	86	86	14	14
1	5	0	74	74	26	26
1	6	0	59	59	41	41
1	7	0	84	84	16	16
1	8	0	83	83	17	17
2	1	100	-	-	0	0
2	2	100	-	-	0	0
2	3	75	-	-	25	25
2	4	100	-	-	0	0

Como se puede observar, la cuantificación de mortalidad se realizó haciendo la diferenciación de individuos muertos con presencia de micelio sobre el cuerpo e individuos sin desarrollo de micelio, ésta diferenciación se realizó debido a la posibilidad de que aquellos individuos sin presencia de micelio, hubieran muerto por causas diferentes a la infección del hongo.

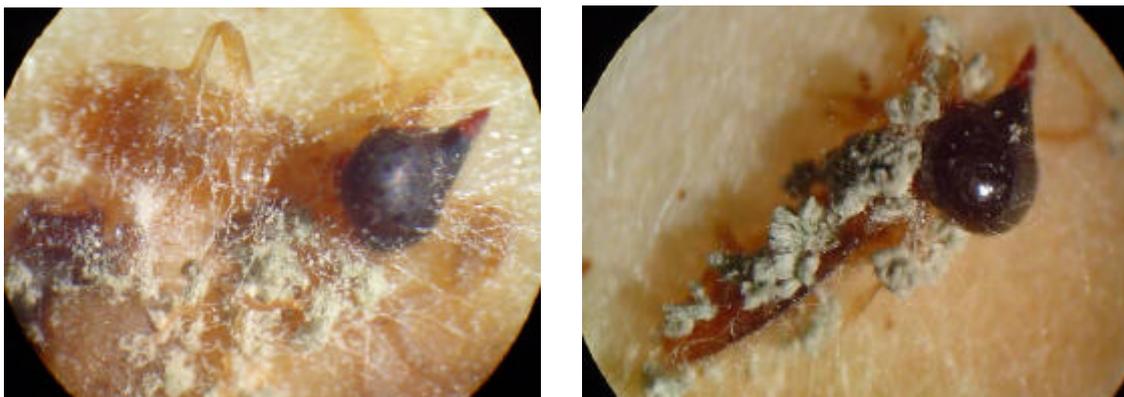
El porcentaje de mortalidad promedio, obtenido para individuos con micelio visible, fue del 76,9% y un 23,1% de individuos sin micelio visible; mientras que los testigos establecidos presentaron un 6,25% de mortalidad.

En el Cuadro 2 se presentan los resultados de mortalidad obtenidos a los catorce días de inoculados los insectos.

**Cuadro 2.** Mortalidad de *Nasutitermes corniger* obtenida catorce días después de inoculados. 2003.

Tratamiento	Repetición	Vivos	Muertos con micelio		Muertos sin micelio	
			(n)	(%)	(n)	(%)
1	1	0	80	80	20	20
1	2	0	92	92	8	8
1	3	0	84	84	16	16
1	4	0	97	97	3	3
1	5	0	97	97	3	3
1	6	0	77	77	23	23
1	7	0	100	100	0	0
1	8	0	85	85	15	15
2	1	100	0	0	0	0
2	2	100	0	0	0	0
2	3	75	0	0	25	25
2	4	100	0	0	0	0

De acuerdo con el Cuadro 2, el crecimiento micelial de *Metarhizium* sp. y la producción de conidios fue evidente en el 89% de los individuos muertos (Figura 1), lo que significa una diferencia del 12,1% respecto a la cuantificación realizada anteriormente. El 11% restante, al momento de la cuantificación, no presentaba evidencia de desarrollo del hongo en el exterior del cuerpo. Respecto a los ensayos establecidos como testigos, el porcentaje de mortalidad se mantuvo en 6,25%.



**Figura 1.** Soldados de *Nasutitermes corniger* cubierto con el micelio y esporas de *Metarhizium* sp.

De acuerdo con el análisis estadístico realizado a los datos presentados en el Cuadro 2, se comprobó que existe una alta diferencia significativa ( $z=12$ ,  $\alpha=5\%$ ) entre los tratamientos aplicados, lo que demuestra la eficacia del hongo *Metarhizium* sp. en el control de *Nasutitermes corniger* a nivel de laboratorio.

Adicionalmente, se realizó un montaje al microscopio de las esporas de *Metarhizium* sp desarrollado sobre el cuerpo de los insectos (Figura 2).



**Figura 2.** Esporas de *Metarhizium* sp. tomadas de un individuo de *Nasutitermes corniger*.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se comprobó, a nivel de laboratorio, la eficiencia de *Metarhizium* sp. en el control de *Nasutitermes corniger*.

El porcentaje máximo de mortalidad obtenido por infección de *Metarhizium* sp. fue de 89%, catorce días después de establecido el ensayo.

Para el 11% de los individuos muertos restantes, no fue posible determinar la causa de muerte.

Se recomienda prolongar el tiempo de observación de los ensayos hasta lograr el 100% de mortalidad por infección del hongo.



## AGRADECIMIENTO

Se agradece la colaboración brindada por el Dr. Miguel Obregón del Centro Nacional de Agricultura Orgánica del Instituto Nacional de Aprendizaje (INA).

## BIBLIOGRAFÍA

- Andrews, K. 1989. Introducción a los conceptos del manejo integrado de plagas. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: estado actual y futuro. Andrews, K y Quezada, JR (editores). Departamento de Protección Vegetal. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano, Honduras. 623p.
- Cibrián, D; Méndez, T; Campos, R; Yates, H; Flores, J. 1995. Insectos Forestales de México. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 166p.
- INFOAGRO. 2005. Enemigos naturales. (en línea). Consultado en febrero 2005. Disponible en [http://www.infoagro.com/agricultura\\_ecologica/enemigosnaturales3.asp](http://www.infoagro.com/agricultura_ecologica/enemigosnaturales3.asp)
- Martínez, J. 1952. Conservación de maderas en sus aspectos teórico, industrial y económico. Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias. Madrid, España. 550p.
- Ordóñez, H. 1999. Evaluación de problemas fitosanitarios en plantaciones de teca en Forestales Costarricenses S.A. Informe de práctica de especialidad. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. 61p.