

Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* en la langosta migratoria, *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn, en Colombia

.....

Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* on the migratory locust, *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn, in Colombia

.....

Alex E. Bustillo P.¹
Juan C. López N.¹
Haether Devia²

Resumen

Las langostas son el grupo de insectos del cual se registran los efectos más devastadores en la agricultura. Son insectos migratorios que cuando llegan a un sitio consumen todo el material vegetal disponible especialmente gramíneas, se presentan formando grandes nubes que pueden alcanzar unas 100 toneladas, con un consumo diario equivalente a su peso. La duración de estos ataques puede prolongarse por 4-5 años hasta que sucumbe. En Colombia en los Llanos Orientales (Arauca, Casanare, Guaviare, Meta, Vichada), recientemente se ha registrado un ataque severo de *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn (Orthoptera: Acrididae) en pastos para ganadería, en un área estimada en 4 millones de hectáreas. Una alternativa para el control de esta plaga son los hongos entomopatógenos para lo cual se contempló la evaluación de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, bajo condiciones de laboratorio, con el fin de desarrollar un método de laboratorio y encontrar un aislamiento patogénico para *R. schistocercoides*. Los aislamientos de *M. anisopliae* evaluados fueron Ma9218 obtenidas de *Teleugryllus comodus* (Orthoptera: Gryllidae) de Australia y el Ma9236 de huésped desconocido. Se utilizó un diseño completamente aleatorio, formado por los dos aislamientos de *M. anisopliae* y un testigo. Los aislamientos fueron cultivados en Agar Sabouraud Dextrosa más ácido láctico al

0,37%. Se utilizaron ninfas de cuarto instar provenientes de Carimagua las cuales se infectaron en el laboratorio con una concentración de *M. anisopliae* de 1×10^7 esporas/ml, por inmersión en 50 ml de la suspensión de hongo durante 30 segundos. Las ninfas que sirvieron como testigo se trataron solo con agua destilada estéril. Luego las ninfas se colocaron en cajas plásticas de 17,5 x 12 x 7 cm, con orificios en sus paredes laterales cubiertas con muselina. Por tratamiento se utilizaron cinco repeticiones y cada una estuvo conformada por cinco ninfas. Diariamente se introdujo alimento en las unidades experimentales.

El efecto de *M. anisopliae* sobre ninfas de *R. schistocercoides*, se evidenció a partir del segundo día después de la inoculación. En el día quinto, de manera independiente al aislamiento evaluado, se presentó la mayor mortalidad diaria: 20% para Ma 9218 y 28% para Ma 9236. Se encontraron diferencias significativas ($P=0,05$) entre los tratamientos al final de la evaluación, con mortalidades del $68,0 \pm 4,9\%$ para Ma 9218 y $84,0 \pm 7,5\%$ para Ma 9236; el testigo no presentó mortalidad por el hongo. El aislamiento Ma 9236 se puede considerar como candidato para evaluarlo en un programa de control de esta plaga al nivel de campo. La metodología de bioensayo desarrollada en este estudio se puede utilizar para seleccionar nuevos aislamientos.

Palabras claves: Entomopatógenos, Control microbiológico, Bioensayos.

Summary

The migratory locusts are a group of insects which cause large economic losses to agriculture. When these migratory insects arrive at a place, they can eat all the plant material available especially grasses; they appear in large clouds which can weigh up to 100 tons, and are capable of consuming daily the equivalent to their own weight. The

duration of an outbreak can last 4-5 years. In Colombia in Los Llanos Orientales (Arauca, Casanare, Guaviare, Meta, Vichada), a severe outbreak of *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn (Orthoptera: Acrididae) has been registered since 1993 in pastures over an area estimated at 4 million hectares. An alternative to control this insect is fungal entomopathogens, specially *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin. This study was planned to develop a bioassay to select highly virulent isolates for further studies to control *R. schistocercoides* under field conditions. The isolates evaluated were Ma9218 from *Teleugryllus comodus* (Orthoptera: Gryllidae) isolated in Australia and Ma9236 from an unknown host. A completed randomized design was used to test treatment effects. The experiment had three treatments, the two isolates of *M. anisopliae* and a control. Isolates were cultivated in Sabouraud Dextrose Agar plus lactic acid at 0.37%. Nymphs of 4th instar collected from Carimagua, were infected by submerging them for 30 seconds in a *M. anisopliae* suspension containing 1×10^7 spores/ml. The control treatment was exposed to sterile distilled water. Then the treated nymphs were placed in square plastic cages (17.5x12x7cm) provided with lateral holes covered with nylon cloth for ventilation. Five repetitions were set up for each treatment and five nymphs were deposited in each cage. The experimental units were provided daily with fresh food.

The effect of *M. anisopliae* on nymphs of *R. schistocercoides* was evident from the second day after inoculation. At the fifth day, independent of isolate evaluated, the highest daily mortality occurred: 20% for Ma 9218 and 28% for Ma 9236. Significant differences were found ($P=0,05$) between treatments at the end of evaluation reaching mortalities of $68,0 \pm 4,9\%$ for Ma 9218 and $84,0 \pm 7,5\%$ for Ma 9236; mortality due to fungus was not observed in the control. Isolate Ma 9236 can be considered a candidate to be evaluated in a control program against this insect under field conditions. Bioassay methodology developed in this study can be used to test further isolates.

Key words: Entomopathogens, Microbial control, Bioassays.

Introducción

La langosta migratoria *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn (Orthoptera: Acrididae), conocida como la langosta brasilera debido a que sus ataques se conocieron inicialmente en ese país (Carbonell 1988), se ha detectado desde 1993 en Colombia causando grandes pérdidas a las actividades agrícolas y ganaderas en la zona de los Llanos Orientales. Se estima que se ha distribuido en cerca de 4 millones de hectáreas, en los departamentos

¹ Investigador Principal y Asistente de Investigación, respectivamente, Disciplina de Entomología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFE, Chinchiná, Caldas, Colombia. Apartado Aéreo 2427, Manizales.

² Investigador. Centro de Investigaciones Carimagua, Convenio Corpoica-CIAT.

de Arauca Casanare, Guaviare, Meta y Vichada, arrasando los pastos nativos de esas regiones como la paja llanera, *Paspalum pectinatum* (León 1996, Jiménez y Jiménez 1996). Este insecto constituye una seria amenaza no solo para las zonas afectadas sino para otras donde potencialmente puede llegar.

La literatura sobre las investigaciones en langostas migratorias ha sido recientemente revisada (Lomer y Prior 1992). Dentro de la familia Acrididae existen alrededor de 18 especies consideradas plagas de importancia económica, ya que causan serios daños en diversos cultivos (Abdalla 1992; Bahana y Byaruhanga 1992; Bani 1992; Coffi 1992; Maiga 1992; Mouhim 1992; Niassy 1992; Zelazny 1992) siendo comunes en Suramérica algunos géneros como *Schistocerca*, *Dicroplus*, *Staurorhectus* y *Rhammatocerus*. La biología de *R. schistocercoides* ha sido estudiada en el Brasil (Cosenza 1987; Westin et al. 1994), el insecto presenta un estado de ninfa con una duración de 127 días, tiempo en el cual ocurren de cinco a seis instares con duración media por instar de 26 días y un estado de adulto el cual dura 210 días. Las hembras, colocan sus posturas entre los meses de octubre y noviembre, enterrando su ooteca a 5 cm de profundidad del suelo, la cual contiene de 25 a 30 huevos; cada hembra llega a efectuar hasta 5 posturas. La emergencia de las ninfas ocurre entre noviembre y diciembre; la transformación a adultos entre abril y mayo y la migración de los adultos entre agosto y septiembre; los adultos se aparean entre septiembre y octubre (Cosenza 1987). En Colombia observaciones realizadas por León (1996) indican que la biología de *R. schistocercoides* es muy similar. El insecto es univoltino, las oviposiciones se observaron a finales de febrero y en marzo en grupos de 30 y demoraron aproximadamente un mes para su eclosión. Las ninfas emergen con las primeras lluvias de abril y se desarrollan durante cinco meses al cabo de los cuales alcanzan el estado adulto. Los adultos de la langosta inician su migración que se prolonga entre septiembre y marzo; la cópula se inicia hacia el mes de febrero.

Estos insectos tienen hábito gregario, formando grupos que alcanzan densidades poblacionales de 500 insectos por m². Su movimiento y por ende el daño a los cultivos aumenta a medida que pasa de un instar a otro. Forman nubes de tipo estratiforme, con una longitud hasta de 30 km de largo y una altura de 30 m desde el nivel del suelo. Algunos autores mencionan que el peso de una nube de estas puede alcanzar hasta 100 toneladas, con un consumo por día de materia verde del equivalente a su peso (Cosenza 1987).

Tanto condiciones climáticas como topográficas especialmente baja humedad atmos-

férica, alta temperatura, bajas altitudes, suelos de textura fina favorecen la dispersión de *R. schistocercoides* (Ego-Aguirre 1946). Dentro de las preferencias alimenticias se destacan gramíneas, arroz, caña de azúcar, millo, sorgo, soya, frijol, leguminosas, tabaco, pastos, camote, café y plátano (Cosenza 1987; Ego-Aguirre 1946). En Colombia se ha observado alimentándose de pastos nativos y de pastos mejorados como *Brachiaria decumbens* así como de cultivos de arroz, maíz y sorgo (León 1996; Cortés y Cotes 1996).

Las poblaciones de langostas al igual que otros insectos se caracterizan por tener una gran diversidad de enemigos naturales como son parasitoides (dípteros e himenópteros), predadores (aves) y microorganismos (hongos, bacterias, protozoarios y virus) (Cunningham 1992; Greathead 1992). Algunos de estos organismos pueden ocasionar altas mortalidades como es el caso de la bacteria *Cocobacillus acridiorum* d'Herelle, causante de serias epidemias naturales (Bierig 1940). En 1946 en la región de Jaén (Perú), se liberó una colonia de la mosca parásita *Acridiophaga caridei* Bréthes, enemigo natural de la plaga en Argentina, en donde alcanzó un nivel de parasitismo del 50% en un intento para controlar *Schistocerca paranensis* (Burmeister) (Ego-Aguirre 1946).

En Estados Unidos, Europa, África y Asia se llevan a cabo investigaciones para determinar el efecto de algunos agentes de control biológico sobre poblaciones de langostas como son: los protozoarios *Nosema locustae* Canning y *Malamoeba locustae* (King y Taylor), algunos parasitoides como *Scelio howardi* Crawford, *Alcimius* sp., *Ommatius variabilis* Engel, *Philodictus nigrescens* Ricardo (pertenecientes todos a la familia Asilidae), *Anisoptera* spp. (Odonata), hongos patógenos como *Entomophaga grylli* (Fresenius) Batko, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *Metarhizium flavoviridae* (W. Gams & J. Rozsypel), *Sorospora* sp., *Aspergillus flavus* Link ex Fries, microsporidium *Vairimorpha* sp. y algunos entomopoxvirus (Cunningham 1992; Krall y Nasseh 1992; Magor 1992; Raina 1992; Zelazny 1992). También se ha probado el efecto de insecticidas de origen vegetal como el Nim, *Azadirachta indica* (Krall y Nasseh 1992).

Los hongos entomopatógenos pueden jugar un papel importante en el control de langostas; sin embargo, es necesario realizar investigaciones encaminadas a entender la epizootiología del hongo y seleccionar los mejores aislamientos antes que se puedan utilizar satisfactoriamente en el desarrollo de insecticidas microbiales (Goettel 1992; Milner 1992). El desarrollo de un insecticida microbial per-

mitiría eliminar muchos problemas asociados con el uso de insecticidas químicos, especialmente lo relacionado con la contaminación ambiental y la toxicidad hacia otros organismos (Prior 1992). Actualmente se estudia la preparación de una formulación en aceite de *M. flavoviridae* que se pueda asperjar bajo una tecnología de gotas controladas a bajo volumen para el control de langostas en África (Lomer y Prior 1992). En este trabajo se pretende mostrar la potencialidad del uso de *M. anisopliae* en el control de *R. schistocercoides* mediante la selección en laboratorio de aislamientos patogénicos.

Materiales y Métodos

Para el presente experimento se utilizaron ninfas de cuarto instar de *Rhammatocerus schistocercoides* suministradas por el Centro de Investigaciones Carimagua (Meta) de Corpoica. Dos aislamientos de *Metarhizium anisopliae* se seleccionaron del cepario de la disciplina de Entomología de Cenicafé, los codificados como Ma9218 obtenidas de *Teleugryllus comodus* (Orthoptera: Gryllidae) originario de Australia y Ma9236 de huésped desconocido. Se utilizó un diseño completamente aleatorio, que constó de tres tratamientos, dos aislamientos de *M. anisopliae* y un testigo. Por tratamiento se utilizaron cinco repeticiones y cada una estuvo conformada por cinco ninfas. Los aislamientos fueron cultivados en Agar Sabouraud Dextrosa acidificado con ácido láctico al 0,37% (ASDL), en tubos de ensayo de 15 cm de largo por 1,5cm de diámetro.

El inóculo del hongo se preparó suspendiendo las esporas de cada aislamiento en 10 ml de mezcla de Agua Destilada Estéril y Tween 80 al 0,1% (ADET). La concentración de esporas del inóculo por ml, se determinó mediante recuentos en hemocitómetro ajustándola a una concentración de 1×10^7 para la infección de las ninfas, la cual se realizó por inmersión completa en 50 ml de la suspensión de hongo durante 30 segundos (Vélez et al. 1996). Las ninfas que sirvieron como testigo se sumergieron en agua destilada estéril, en la misma forma. La unidad experimental la conformó una caja plástica de 17,5 x 12 x 7 cm, con orificios en sus paredes laterales, cubiertas con muselina y colocando en su interior cinco ninfas de *R. schistocercoides* y se utilizaron 5 repeticiones por tratamiento (n= 25). Diariamente se introdujo pasto común que sirvió como fuente de alimento para las langostas. Las evaluaciones se realizaron a los 2, 3, 5, 6, 8 y 9 días después de la inoculación del *M. anisopliae* sobre las ninfas de la langosta, registrando la mortalidad del hongo sobre las ninfas. La mortalidad causada por el hongo se ratificó colocando las ninfas muertas en cámara húmeda, con el fin de facilitar su manifestación sobre el insecto.

Resultados y Discusión

Los signos de la infección de *M. anisopliae* en *R. schistocercoides* son claramente diferenciables, caracterizándose por la aparición de micelio blanco en las membranas intersegmentales del insecto, con el posterior cambio de coloración a verde oliva, indicando de esta forma la esporulación del hongo sobre la ninfa (Fig. 1).

El efecto de *M. anisopliae* sobre ninfas de *R. schistocercoides* se evidencia a partir del segundo día después de la inoculación. En el día quinto, independiente del aislamiento evaluado, se presentó el mayor porcentaje de mortalidad diario, 20% para Ma9218 y 28% para Ma9236 (Fig. 2.). En relación con el porcentaje de mortalidad acumulado, se registra para este mismo tiempo un 36% y un 56% de mortalidad para Ma9218 y Ma9236 respectivamente (Fig. 3), lo que indica que el mayor efecto del hongo sobre ninfas de cuarto instar se logra en los cinco días posteriores a la infección. Lo anterior concuerda con otros trabajos en donde se evaluó el efecto de *M. anisopliae*, *M. flavoviridae* y *B. bassiana* sobre *R. schistocercoides*, encontrándose los mayores porcentajes de infección entre los 4 y los 7 días después de la infección (Cosenza 1987; León y Rey 1995).

Al analizar los resultados mediante análisis de varianza ($p=0,05$), se encontraron diferencias significativas entre los aislamientos evaluados, presentándose porcentajes de mortalidad ($\bar{X} \pm DE$) al final de la evaluación del $68,0 \pm 4,9\%$ y $84,0 \pm 7,5 \%$ de mortalidad para Ma9218 y Ma9236 respectivamente, el testigo no presentó mortalidad por el hongo. Esta diferencia se corrobora al observar el tiempo de mortalidad del 50% de la población (TL₅₀) para cada uno de los aislamientos (Fig. 3). La variabilidad en patogenicidad de entomopatógenos de la misma especie sobre un mismo insecto se conoce como virulencia (Prior 1992) y para el caso particular de *M. anisopliae* sobre *R. schistocercoides*, esta virulencia ya ha sido registrada por otros autores (León y Rey 1995).

En relación con la expresión del hongo sobre el insecto, se puede observar que varía según el aislamiento, así Ma9236 presentó crecimiento abundante y pulverulento a diferencia de Ma9218, trayendo como consecuencia alta producción y fácil desprendimiento de las esporas del cuerpo del insecto infectado, lo cual contribuye a asegurar su establecimiento en el campo, favoreciendo el desarrollo de epizootias (Figs. 4 y 5).

Conclusiones

Este estudio presenta una metodología para la selección de aislamientos de entomopatógenos, que se debería acoger por todas

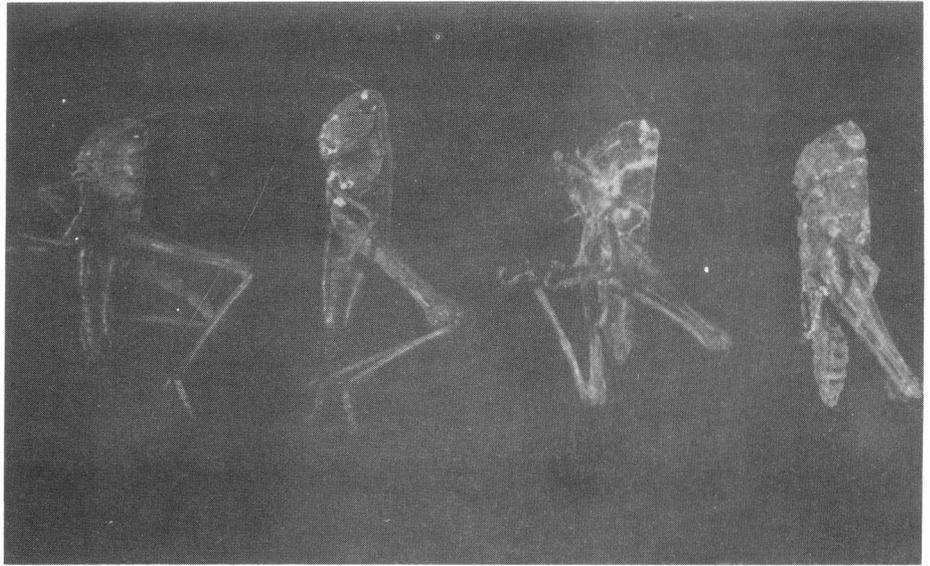


Figura 1. Desarrollo progresivo de *M. anisopliae* en ninfas de cuarto instar de *R. schistocercoides*.

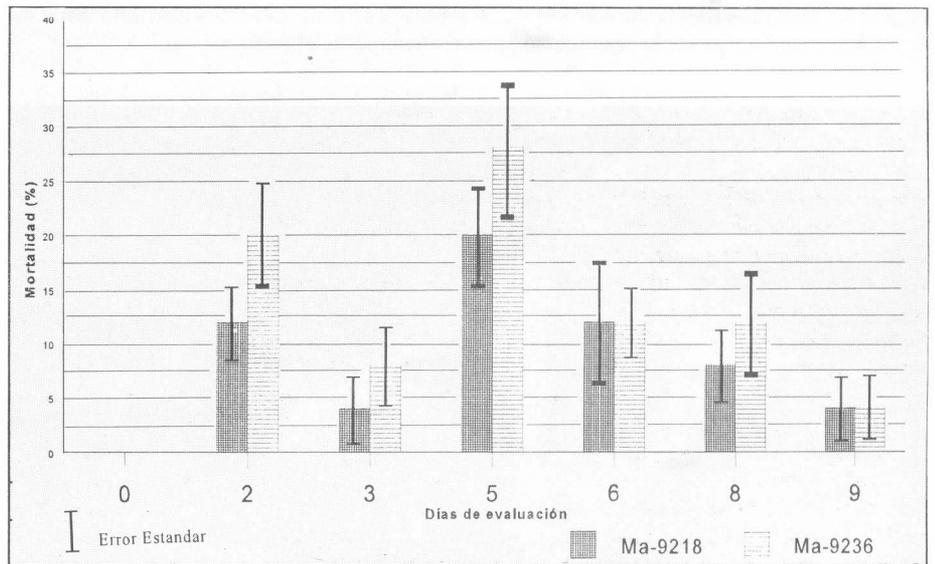


Figura 2. Mortalidad diaria causada por *M. anisopliae* en ninfas de cuarto instar de *R. schistocercoides*.

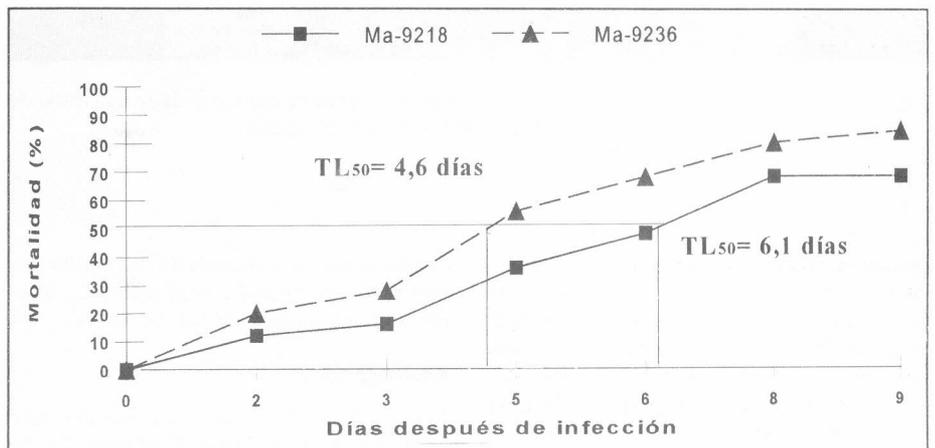


Figura 3. Tiempo letal 50 de ninfas de cuarto instar de *R. schistocercoides* infectadas con *M. anisopliae*.



Figura 4. Crecimiento del aislamiento Ma9236 sobre el cuerpo de una ninfa de cuarto instar de *R. schistocercoides*. Nótese la esporulación pulverulenta sobre el insecto.



Figura 5. Crecimiento del aislamiento Ma9218 sobre el cuerpo de una ninfa de cuarto instar de *R. schistocercoides*. Nótese el desarrollo poco profuso sobre el insecto.

las organizaciones interesadas en los estudios de control biológico de las langostas en el país, con el fin de realizar comparaciones viables y así llevar a cabo programas de investigación en campo con los mejores organismos. A pesar de que no se evaluaron muchos aislamientos de *M. anisopliae*, se considera que el codificado como Ma 9236 se puede tener en cuenta para posteriores evaluaciones de campo debido a que bajo

condiciones de laboratorio presentó una mayor patogenicidad y producción de esporas sobre el cadáver de las langostas.

Bibliografía

ABDALLA, A. 1992. Sudan; the situation of desert locust, tree locust and grasshoppers in the Sudan (1990-91). *In: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*. Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.97-98. Proceedings of the

International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.

BAHANA, J. W.; BYARUHANGA, E. K. 1992. IRLCOCSA; perspectives and prospects of biological control of the red locust, *Nomadacris septemfasciata*. *In: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.57-63. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.

BANI, G. 1992. Congo; the acridid situation in the Congo. *In: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p. 79-81. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.

BIERIG, A. 1940. La langosta invasora. Departamento Nacional de Agricultura, Costa Rica. Boletín técnico 30, 21p.

CARBONELL, C. S. 1988. *Rhammatocerus schistocercoides* (Rehn.) especie perjudicial para la agricultura en la región centro oeste del Brasil (Orthoptera: Acrididae; Gomphocerinae). Boletín do Museu Nacional (nova série), v. 318, p. 1-17.

COFFI, A. 1992. Republic of Benin; the acridid situation in the Republic of Benin. *In: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p. 86-89. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.

CORTÉS, M. R.; COTES, A. M. 1996. Contribución al estudio de la biología de la langosta brasilera *Rhammatocerus schistocercoides* y al desarrollo de estrategias para su control bajo condiciones experimentales. CONGRESO Socolen. 23. Resúmenes. Julio 17-19 de 1996, Cartagena de Indias (Colombia), p. 16.

COSENZA, G.W. 1987. Biología e controle do Gafanhoto *Rhammatocerus* sp. Planaltina, DF (Brasil), EMBRAPA-CPAC. Documentos 25. 23p.

CUNNINGHAM, G.L. 1992. APHIS; grasshopper integrated pest management in the United States - a co-operative project with emphasis on biological control. *In: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.21-25. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.

EGO-AGUIRRE, A. 1946. Las langostas de Jaen. Ministerio de Agricultura. Dirección de experimentación Agrícola. Estación experimental agrícola de La Molina. Lima (Perú). Informe No. 61, 25p.

- GOETTEL, M.S. 1992. Fungal agents for biocontrol. *En: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.122-129. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.
- GREATHEAD, D. J. 1992. Natural enemies of tropical locusts and grasshoppers: their impact and potential as biological control agents. *En: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.105-121. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.
- JIMÉNEZ, O.; JIMÉNEZ, J. 1996. Detección y manejo integrado de la "langosta brasilera" en los Llanos Orientales. CONGRESO Socolen, 23, Julio 17-19 de 1996. Resúmenes, Cartagena de Indias (Colombia), p.126.
- KRALL, S.; NASSEH, O. M. 1992. GTZ; the integrated biological control of locusts and grasshoppers - a GTZ research project. *En: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.44-49. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.
- LEÓN, G. A.; REY, V. E. 1995. Pruebas preliminares de patogenicidad de *Metarhizium* spp. y *Beauveria bassiana* sobre el grillo *Rhammatocerus schistocercoides*. CONGRESO Socolen, 22, Julio 26- 28 de 1995. Resúmenes, Santafé de Bogotá (Colombia), p.4.
- _____. 1996. Estudios biológicos sobre la langosta *Rhammatocerus schistocercoides* (Orthoptera: Acrididae) en los Llanos Orientales de Colombia. CONGRESO Socolen, 23, Julio 17-19 de 1996. Resúmenes, Cartagena de Indias (Colombia), p.17.
- LOMER, C. J.; PRIOR, C. 1992. Biological control of locusts and grasshoppers. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.
- MAGOR, J. I. 1992. NRI; statement of position. *En: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.64-69. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.
- MAIGA, B. 1992. Mali; notes on the acridid problem in Mali. *En: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.82-85. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.
- MILNER, R. J. 1992. Selection and characterization of strains of *Metarhizium anisopliae* for control of soil insects in Australia. *En: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p. 200-207. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.
- MOUHIM, A. 1992. CNLA; short report on the control strategy of acridids in Morocco 1987-89. *En: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.38-40. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.
- NIASSY, A. 1992. Senegal; grasshopper and locust control in Senegal. *En: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.90-96. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.
- PRIOR, C. 1992. Discovery and characterization of fungal pathogens for locust and grasshopper control. *En: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.159-180. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.
- RAINA, S. K. 1992. ICIPE; development of a biocontrol strategy for the management of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *En: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.54-56. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.
- VÉLEZ, P. E.; F. J. POSADA; A. E. BUSTILLO; M. T. GONZÁLEZ; P. MARÍN; E. OSORIO. 1996. Metodología para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Cenicafé, Chinchiná (Colombia). Boletín Cenicafé (En prensa). 31p.
- WESTIN, C. G.; BALDIN, J. G.; CARVALHO. 1994. Programa nacional de controle do gafanhoto. Min. da Agric. do Abastecimento e da Reforma Agraria. Manual Técnico, Embrapa-SP1, Brasil, 34p.
- ZELAZNY, B. 1992. CEC; biological control of locusts with entomopathogens. *En: Biological Control of Locusts and Grasshoppers*, Lomer, C.J.; Prior, C. eds., p.26-29. Proceedings of the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin, 29 April - 1 May 1991. Redwood Press Ltd., Melksham, 394p.