

SIMTOMATOLOGI DAN WAKTU KEMATIAN RAYAP *Macrotermes gilvus* Hagen (ISOPTERA: FAMILI TERMITIDAE) SETELAH INFEKSI CENDAWAN *Metarhizium brunneum* Petch¹
[Symptomatology and Lethal Time of Termite *Macrotermes gilvus* Hagen (Isoptera: Family Termitidae) after Fungus Infection of *Metarhizium brunneum* Petch]

**Muhammad Sayuthi^{2*}, Teguh Santoso³, Idham Sakti Harahap³
dan Utomo Kastowondo³**

²Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian-Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

³Sekolah Pascasarjana-Institut Pertanian Bogor.

*e-mail:say_m2001@yahoo.com

ABSTRACT

The potential of entomopathogenic fungus *Metarhizium brunneum* Petch as biocontrol agent to termite *Macrotermes gilvus* Hagen has been tested in the laboratory. The purpose of this research is to study the symptomatology and lethal time of the termite *M. gilvus* fungus after infection by *M. brunneum*. The density of conidia at 1.21×10^6 /mL showed as effective concentration in causing *M. gilvus* mortality, when compared to 1.08×10^6 conidia/mL, and control. The infection stage of *M. brunneum* on the host until the death of its host occurred on day 2, and the sporulation of *M. brunneum* on the surface of the host integument occur on day 4. The entire surface of *M. gilvus* was covered by the mycelium and conidia of *M. brunneum* on day 7. Lethal time 50% of termite population of *M. gilvus* (LT₅₀) was achieved in 5 days (5.14), and LT₉₅ achieved on day 10 (10.03).

Key word: Symptomatology, infection, lethal time, *Metarhizium brunneum*, *Macrotermes gilvus*.

ABSTRAK

Cendawan *Metarhizium brunneum* Petch sebagai agen biokontrol yang berpotensi terhadap rayap *Macrotermes gilvus* Hagen telah diuji secara kualitatif di laboratorium. Tujuan penelitian ini untuk mempelajari simptomatologi dan waktu kematian rayap *M. gilvus* setelah infeksi cendawan *M. brunneum*. Kerapatan konidia $1,21 \times 10^6$ konidia/mL lebih efektif untuk menghasilkan mortalitas rayap *M. gilvus* dibandingkan $1,08 \times 10^6$ konidia/mL. Tubuh *M. gilvus* berwarna gelap setelah mengalami kematian akibat infeksi cendawan *M. brunneum*. Miselia mulai menembus permukaan integumen pada hari ke-4 dan pada hari ke-7 seluruh permukaan integumen hampir tertutupi seluruhnya oleh miselia. Mortalitas mulai ditunjukkan pada hari ke-2, dan mortalitas tertinggi dicapai pada hari ke-7. Waktu kematian 50% populasi rayap *M. gilvus* (LT₅₀) dicapai pada 5 hari (5,14), dan LT₉₅ dicapai pada hari ke-10 (10,03).

Kata kunci: simptomatologi, infeksi, waktu kematian, *Metarhizium brunneum*, *Macrotermes gilvus*.

PENDAHULUAN

Rayap *Macrotermes gilvus* Hagen (Isoptera: Famili Termitidae) merupakan salah satu spesies hama penting pada tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). Serangga ini mampu merusak tanaman dari bagian akar hingga permukaan batang tanaman yang dapat mengalami kematian. Serangan hama ini walaupun memiliki intensitas serangan kurang dari 10%, tetapi harus segera dikendalikan agar tidak menjadi epidemi dan menginfeksi tanaman lain (Asbani *et al.*, 2007).

Sampai saat ini, pengendalian rayap di Indonesia masih menggunakan termitisida sintetik, seperti blokade 100 EC, lentrek 400 EC dan premise

200 SL (Nandika *et al.* 2003). Akan tetapi, kebutuhan metode pengendalian yang lebih aman dan efektif mulai disadari masyarakat akibat dampak negatif dari penggunaan insektisida sintetik, seperti meningkatnya resistensi hama, terjadinya ledakan populasi hama sekunder, meningkatnya resiko keracunan pada manusia dan hewan ternak, serta bahaya lainnya terhadap manusia dan lingkungan (Butt *et al.*, 2001).

Salah satu alternatif pengendalian serangan hama rayap *M. gilvus* yang ramah lingkungan dan mulai banyak dikembangkan adalah penggunaan cendawan entomopatogen (Yoshimura *et al.*, 1992; Yoshimura dan Takahashi, 1998; Desyanti, 2007).

¹Diterima: 5 Juli 2011 - Disetujui: 12 Agustus 2011

Desyanti (2007) telah menunjukkan bahwa isolat lokal cendawan *M. brunneum* efektif dalam mengontrol rayap tanah *Coptotermes* spp. Desyanti (2007) menguji keefektifan cendawan entomopatogen *M. brunneum* dengan kerapatan konidia $1,21 \times 10^6$ /mL dan ternyata hasilnya sangat efektif untuk mengendalikan rayap *Coptotermes gestroi* dan *Coptotermes curvignathus*, dibandingkan beberapa jenis cendawan entomopatogen lainnya seperti *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Fusarium oxysporum*, dan *Aspergillus flavus*.

Penelitian Desyanti (2007) dilakukan sebagai uji awal yang tidak terlalu kuantitatif dan belum memberikan informasi tentang waktu kematian dan simtomatologi. Pada penelitian ini akan dipelajari kecepatan infeksi yang diukur melalui waktu kematian dan simtomatologi rayap *M. gilvus* setelah aplikasi cendawan *M. brunneum* di laboratorium.

BAHAN DAN METODE

Rayap *M. gilvus*

Serangga yang digunakan dalam penelitian ini adalah rayap *M. gilvus* yang dikoleksi dari Kebun Induk Jarak Pagar (KIJP), Pakuwon, Sukabumi, Jawa Barat. Rayap contoh diambil dari satu koloni sehingga dapat dikatakan berasal dari satu spesies *M. gilvus* (Foto 1). Identifikasi rayap dilakukan berdasarkan karakter morfologi, dengan ciri morfologi utama adalah tubuh agak lebih besar, memiliki 2 jenis kasta prajurit yaitu; mayor (besar) dan minor (kecil). Kasta prajurit mayor kepala berwarna coklat kemerahan, dengan lebar kepala 2,88-3,10 mm. Panjang kepala dengan mandibel 4,80-5,00 mm. Antena terdiri dari 17 ruas, ruas ketiga sama panjang dengan ruas kedua, ruas ketiga lebih panjang dari ruas keempat. Sedangkan kasta prajurit minor kepala berwarna coklat tua, dengan lebar 1,52-1,71 mm, panjang kepala dengan mandibel 3,07-3,27 mm, panjang kepala tanpa mandibel 1,84-2,08 mm.

Antena juga terdiri dari 17 ruas, namun ruas kedua sama panjang dengan ruas keempat (Nandika et al., 2003).

Rayap dipelihara dalam cawan petri berisikan kertas kardus sebagai pakan yang telah dilembabkan dengan air steril, kemudian dibungkus dengan kertas koran, dan ditempatkan dalam ruangan gelap yang terhindar dari sinar matahari.

Cendawan *M. brunneum*

Cendawan entomopatogen *M. brunneum* yang digunakan merupakan koleksi Laboratorium Patologi Serangga, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian-Institut Pertanian Bogor (IPB). Cendawan diperbanyak pada media PDA (Potato Dextrose Agar), dengan komposisi 200 g kentang, 20 g dextrose, dan 20 g agar-agar dapur yang dilarutkan dalam 1 liter air. Biakan cendawan ditumbuhkan dalam inkubator pada suhu $\pm 25^\circ\text{C}$.

Penyiapan suspensi

Cendawan *M. brunneum* yang digunakan untuk perlakuan adalah cendawan yang berumur 21 hari. Konidia yang terbentuk dikerok dengan kuas halus steril yang dibasahi dengan air steril kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi air steril dengan menambahkan Tween 20 dengan konsentrasi 0,025 ml per 50 ml akuades steril, kemudian suspensinya dikocok menggunakan vortex selama 30 detik. Kerapatan konidia *M. brunneum* dihitung menggunakan *haemocytometer* (Neubauer-Improved) untuk mendapatkan kerapatan $1,21 \times 10^6$ konidia/mL. Kerapatan konidia $1,21 \times 10^6$ /mL adalah estimasi LC_{95} yang telah diperoleh Desyanti (2007). Dalam penelitian ini, digunakan juga kerapatan konidia LC_{85} ($1,08 \times 10^6$ konidia/mL).

Revirulensi *M. brunneum*

Virulensi dalam penelitian ini adalah kemampuan *M. brunneum* untuk menimbulkan penyakit terhadap inangnya. Sebagai koleksi laboratorium *M. brunneum* telah lama tersimpan, sehingga kemam-

puan untuk menginfeksi inangnya sudah menurun. Oleh karena itu cendawan *M. brunneum* perlu dilakukan revirulensi kembali agar daya patogenisitas terhadap inangnya kembali efektif. Biasanya isolat yang virulen untuk mematikan inangnya membutuhkan waktu lebih cepat, sedangkan yang kurang virulen membutuhkan waktu lebih lama (Tanada dan Kaya, 2003).

Proses revirulensi dilakukan dengan menangkap sejumlah 55 individu rayap *M. gilvus* (50 kasta pekerja dan 5 kasta prajurit). Rayap tersebut dicelupkan ke dalam suspensi konidia *M. brunneum* yang telah disiapkan dalam cawan etri pada kerapatan $1,21 \times 10^6$ konidia/mL, dan ditempatkan dalam cawan petri lain yang berisikan kertas saring lembab sebagai pakan. Kemudian dibungkus dengan kertas koran agar terlindungi dari cahaya, dan diinkubasi pada suhu kamar selama tiga minggu. Kadaver rayap yang telah terkoloni cendawan *M. brunneum* dipindahkan ke tabung reaksi yang telah disterilkan, diisolasi dan dimurnikan pada media PDA. Setelah mendapatkan isolat murni, cendawan diperbanyak untuk penelitian berikutnya.

Uji hayati waktu kematian (*Lethal Time=LT*).

Percobaan ini terdiri atas tiga perlakuan ($1,21 \times 10^6$ /mL, $1,08 \times 10^6$ /mL dan kontrol). Tiap perlakuan diulang empat kali. Untuk setiap ulangan dari masing-masing perlakuan digunakan 55 individu rayap *M. gilvus* (50 kasta pekerja dan 5 kasta prajurit). Rayap dicelupkan ke dalam suspensi cendawan *M. brunneum* selama 4 detik dengan kerapatan konidia telah ditetapkan sebelumnya, kecuali kontrol hanya menggunakan akuades steril (Desyanti, 2007). Setiap unit ulangan dari masing-masing perlakuan disimpan pada suhu kamar antara $26-28^\circ\text{C}$ dengan kelembaban relatif 70%-95% pada kondisi gelap.

Pengamatan dilakukan selama tujuh hari menggunakan mikroskop optik merk Olympus

(model CX21FS1) terhadap simptomatologi dan mortalitas rayap, pada hari kelima diamati dengan menggunakan *Scanning Electronic Microscope* (SEM) (JSM 5310 LV, Japan) di Laboratorium Moluska dan Invertebrata Lain, Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Cibinong.

Analisis Data

Semua data yang diperoleh dilakukan analisis ragam menggunakan program SAS versi 6,12. Bila terdapat perbedaan di antara perlakuan yang diuji

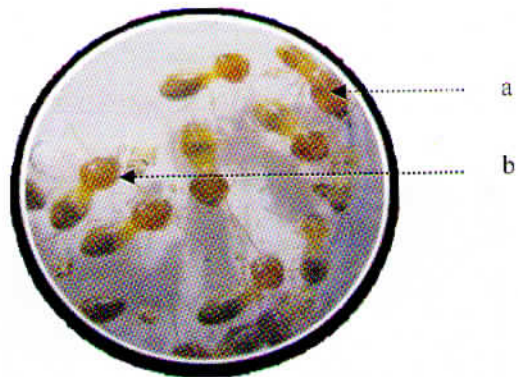


Foto 1. Rayap *Macrotermes gilvus* (a) kasta



Foto 2. Konidia cendawan *M. brunneum* diamati menggunakan mikroskop optik merk Olympus pembesaran (400 \times).

maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda (Duncan's Multiple Range Test) pada taraf nyata 0,05. Hubungan kerapatan konidia dengan mortalitas dan waktu aplikasi diduga menggunakan analisis probit (Finney, 1971).

HASIL

Simtomatologi rayap *M. gilvus* setelah terinfeksi cendawan *M. brunneum*.

Hasil pengamatan aktivitas cendawan *M. brunneum* terhadap rayap *M. gilvus* pada kerapatan $1,21 \times 10^6$ konidia/mL dan $1,08 \times 10^6$ konidia/mL selama hari ke-1 hingga hari ke-7 ditunjukkan dalam (Foto 3).

Mortalitas serangga uji

Konsentrasi letal (LC/Lethal Concentration) adalah konsentrasi yang dapat membunuh suatu populasi organisme dengan jumlah tertentu yang dinyatakan dalam persen (%). Aplikasi cendawan *M.*

brunneum dengan kerapatan $1,21 \times 10^6$ konidia/mL dan $1,08 \times 10^6$ konidia/mL efektif untuk menghasilkan mortalitas (Tabel 1).

Waktu kematian (Lethal Time=LT)

Lethal Time (LT) adalah waktu yang diperlukan untuk membunuh suatu populasi sejumlah tertentu yang dinyatakan dalam persen (%). Untuk mengetahui hubungan regresi waktu aplikasi dengan mortalitas menggunakan analisis probit (Finney, 1971).

Persamaan regresi mengindikasikan korelasi positif antara waktu pengamatan dengan mortalitas probit (Gambar 1 dan Gambar 2).

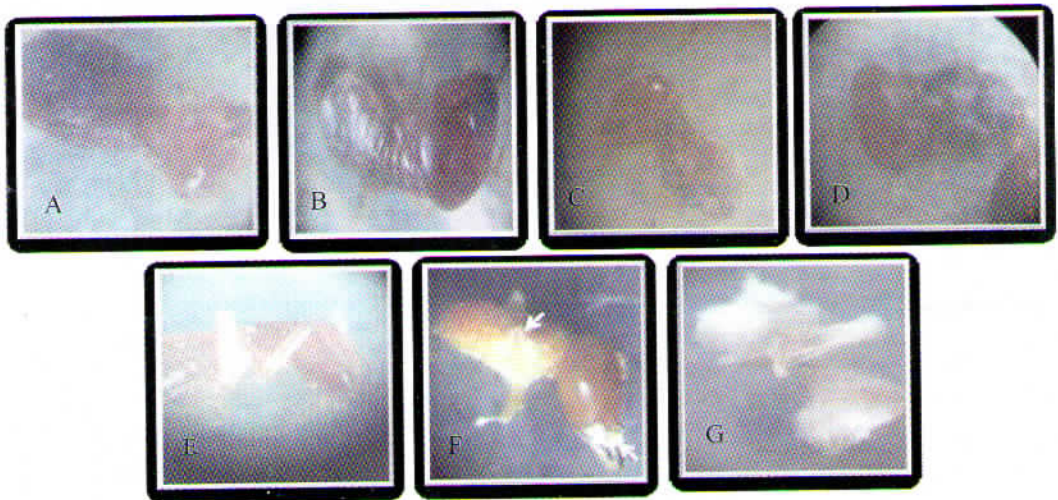


Foto 3. Rayap *M. gilvus* terinfeksi konidia *M. brunneum* mengalami kematian pada hari ke-2 (Gambar A), hari ke-3 (Gambar B, E), hari ke-4 dan 5 (Gambar C, F), dan hari ke-6 dan 7 (Gambar D, G).

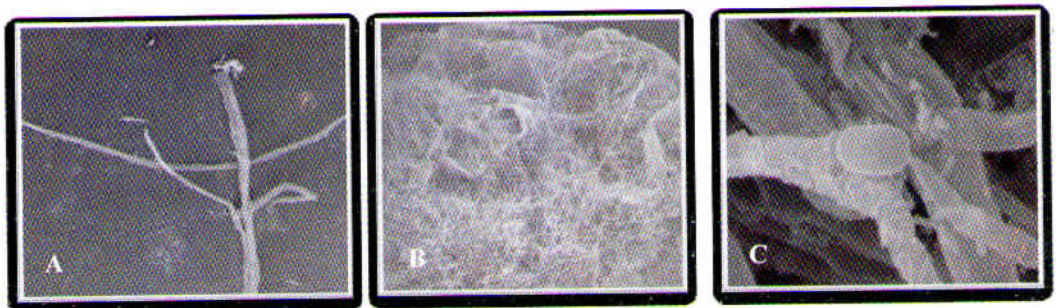


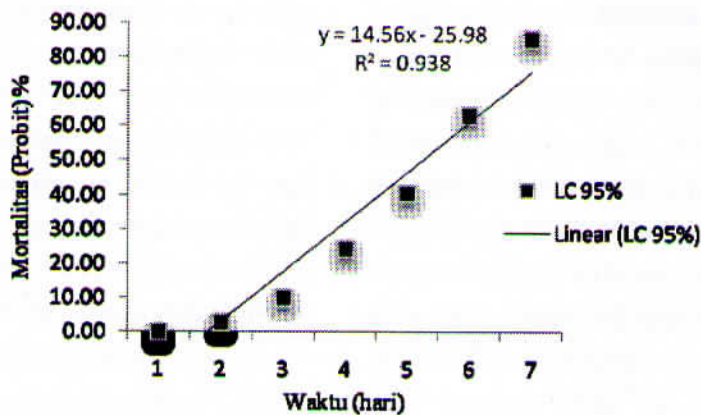
Foto 4. Hari ke-5 diamati dengan *Scanning Electron Microscope* (JSM 5310LV, Japan) pembesaran $5000 \times$. (a) hifa *M. brunneum* keluar menembus integumen inang melalui lubang alami, (b) miselia hampir menutupi seluruh permukaan tubuh inang, (c) konidia pada permukaan tubuh inang.

Table 1 Mortalitas rayap *M. gilvus* selama 7 hari setelah aplikasi cendawan *M. brunneum*

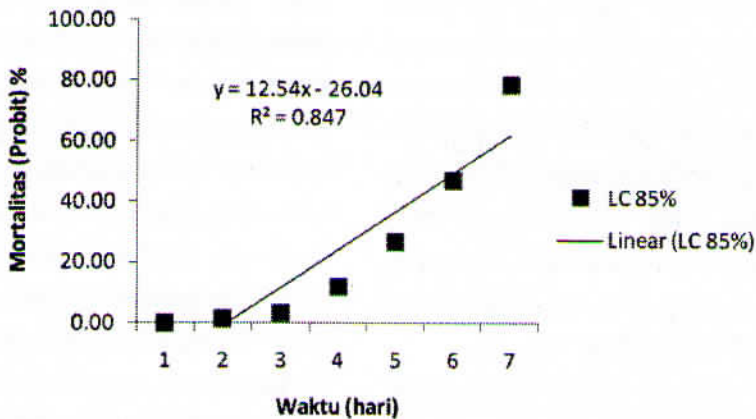
Hari Setelah Perlakuan	Mortalitas (%)		
	LC ₉₅	LC ₈₅	Kontrol
1	0,00 h	0,00 h	0 h
2	2,71 h	1,35 h	0 h
3	9,99 g	3,17 h	0 h
4	24,08 f	11,83 g	0 h
5	40,44 e	26,81 f	0 h
6	63,17 c	47,26 d	0 h
7	85,45 a	78,63 b	0 h

Tabel 2. LT cendawan entomopatogen *M. brunneum* sebagai agen hayati terhadap *M. gilvus*

Kerapatan konidia	Waktu Kematian (LT) (Hari)	
	LT ₉₅	LT ₅₀
LT ₉₅	10,03	5,14
LT ₈₅	10,50	5,87



Gambar 1. Kematian rayap *M. gilvus* selama 7 hari pengamatan akibat perlakuan konidia cendawan *M. brunneum* (LC₉₅)



Gambar 2. Kematian rayap *M. gilvus* selama 7 hari pengamatan akibat perlakuan konidia cendawan *M. brunneum* (LC₈₅)

PEMBAHASAN

Setelah aplikasi cendawan *M. brunneum* terhadap rayap *M. gilvus* pada kerapatan konidia $1,21 \times 10^6$ /mL dan $1,08 \times 10^6$ konidia/mL dalam 40 mL suspensi yang dicelupkan selama 4 detik, mengakibatkan rayap *M. gilvus* menjadi terinfeksi dengan gerakan menjadi lambat. *M. gilvus* mulai menunjukkan mortalitas pada hari ke-2. Beberapa saat setelah mengalami kematian warna tubuhnya berubah menjadi gelap terutama pada bagian abdomen (Foto 3A). Data ini mendukung pendapat yang dilaporkan oleh Tanada dan Kaya (1993) di mana inang yang terinfeksi cendawan entomopatogen menjadi kurang aktif, gelisah atau stress. Apabila telah memasuki tahap akhir infeksi, rayap menjadi lemas, tidak aktif bergerak, dan mati. Pada awal kematian, miselia belum kelihatan jelas pada permukaan tubuh inang (Desyanti, 2007). Organ infeksi berupa konidia (Foto 2) berperan penting untuk menimbulkan kematian inang dengan cara kontak dan menempel serta berkecambah pada integumen inang, kemudian berpenetrasi serta menginvasi seluruh jaringan tubuh inang menggunakan *apresorium* (hifa penetrasi) yang masuk ke dalam hemosel, melalui proses mekanis dan kimiawi dengan menghasilkan *enzym* atau *toxin*, kemudian menembus keluar melalui lubang alami (Foto 4A). Menurut Ferron (1985) kematian rayap akibat infeksi konidia cendawan entomopatogen berawal dari inokulasi yaitu kontak antara propagul cendawan dengan tubuh serangga. Kemudian propagul menempel dan berkecambah pada integumen serangga, yang didukung oleh lingkungan optimal dengan menghasilkan suatu kombinasi enzim untuk mempenetrasi tubuh inang.

Pengamatan hari ke-3 miselia belum keluar dan berkecambah pada permukaan integumen inang. Mulai tampak berkecambah pada pengamatan hari ke -4 dan 5 terutama bagian ventral dari abdomen

tampak berwarna gelap dan miselia mulai terlihat jelas pada abdomen (Foto 3C). Namun permukaan abdomen belum tertutupi seluruhnya oleh miselia. Miselia mulai tumbuh pada mandibel dan abdomen (Foto 3F). Pengamatan hari ke-5 miselia tampak keluar melalui lubang-lubang alami yang menembus integumen inang menggunakan hifa penetrasi (*apresorium*) (Foto 4A), hingga konidia tampak seperti bulat lonjong (Foto 4C). Pertumbuhan miselia hampir menutupi seluruh permukaan tubuh inang (Foto 4B).

Pada hari ke-6 pertumbuhan cendawan tidak berbeda nyata dengan pengamatan hari ke-7 yaitu seluruh permukaan integumen inang telah diselimuti oleh miselia berwarna putih. Pertumbuhan miselia pada bagian anterior (mandibel) dan posterior (abdomen) lebih padat dibandingkan bagian lain (Foto 3F). Permukaan integumen tubuh inang tampak kering, mengkerut dan berwarna gelap khususnya bagian segmen terakhir abdomen yang semakin mengecil (Foto 3D). Hal ini diduga cairan sel dari tubuh inang telah diserap oleh cendawan *M. brunneum* hingga menjadi kering dan mengeras seperti mumi. Perkecambahan miselia hanya berlangsung di dalam internal tubuh inang, dan diduga kondisi lingkungan di luar internal tubuh inang kurang optimal. Menurut Ferron (1985) serangga mati dan keras seperti mumi akibat cairan tubuh inang telah diserap oleh cendawan entomopatogen sebagai nutrisi hingga kering. Umumnya serangga sudah mati sebelum proliferasi blastospora (Freimoser *et al.*, 2003). Terjadinya perubahan biokimia dalam hemolimfa terutama kandungan protein, difisiensi nutrisi, suatu toksin yang dikeluarkan oleh cendawan (*beauverisin*, *beauverolid*, *isarolit* dan asam oksalat) yang membantu merusak jaringan internal tubuh rayap dan menyebabkan terjadinya paralisis dan kematian (Tanada dan Kaya, 1993).

Pengamatan pada hari pertama setelah aplikasi cendawan *M. brunneum* dengan kerapatan konidia $1,08 \times 10^6$ /mL dan $1,21 \times 10^6$ konidia/mL belum menunjukkan adanya mortalitas. Mortalitas pada populasi rayap mulai tampak pada hari ke-2 untuk setiap perlakuan dan terus meningkat setiap hari pengamatan. Mortalitas tertinggi terjadi pada hari ke-7 untuk setiap kerapatan konidia ($1,08 \times 10^6$ /mL dan $1,21 \times 10^6$ /mL). Kerapatan konidia $1,21 \times 10^6$ /mL lebih efektif untuk menghasilkan mortalitas dibandingkan kerapatan $1,08 \times 10^6$ konidia/mL. Data ini mendukung pernyataan Neves dan Alves (2004) yang berpendapat bahwa dosis aplikasi dan virulensi dari isolat cendawan sebagai faktor penting untuk menimbulkan mortalitas rayap. Umumnya kematian serangga inang diakibatkan oleh metabolit sekunder berupa *toxin*, seperti *destruxins* yang dikeluarkan oleh cendawan *M. anisopliae* (Amiri-Besheli *et al.*, 2000). Tampaknya jumlah inokulum yang tinggi juga menghasilkan toksin yang banyak sehingga berakibat terhadap mortalitas. Kematian inang akibat infeksi cendawan entomopatogen sangat bervariasi, biasanya terjadi dalam waktu singkat (3 hari), dan selambat-lambatnya 12 hari (Tanada dan Kaya, 1993). Umumnya kematian inang akibat infeksi cendawan entomopatogen terjadi antara 5-8 hari, dan sangat tergantung pada ukuran inangnya.

Persamaan regresi berkorelasi positif antara kerapatan konidia cendawan *M. brunneum* dengan waktu kematian rayap *M. gilvus* (Gambar 1 dan 2). Analisis probit dengan kerapatan konidia kurang lebih LC_{95} dan LC_{85} menunjukkan bahwa untuk menimbulkan mortalitas hingga 50% dibutuhkan waktu 5 hari, dan untuk menghasilkan mortalitas hingga 95% dibutuhkan waktu 10 hari. Aplikasi cendawan *M. brunneum* dengan metode kontak melalui pencelupan selama 4 detik, sangat efektif untuk menghasilkan mortalitas rayap *M. gilvus*. Adanya perbedaan antara nilai LT_{95} dan LT_{50}

terhadap tingkat mortalitas inangnya dipengaruhi oleh tingkat kerapatan konidia yang diaplikasikan atau dosis aplikasi, dan virulensi isolat. Menurut Butt *et al.* (2001) kemampuan patogenisitas cendawan entomopatogen untuk menginfeksi inangnya dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk sifat fisiologi cendawan, seperti viabilitas, laju pertumbuhan, kemampuan bersporulasi, metabolit sekunder yang dihasilkan (*enzym* dan *toxin*), serta pengaruh lingkungan.

KESIMPULAN

Kerapatan konidia yang efektif untuk menginfeksi rayap *M. gilvus* adalah $1,21 \times 10^6$ konidia/ mL. Mortalitas terjadi mulai hari ke-2, meningkat mencapai angka tertinggi pada pengamatan hari ke-7. Miselia pada tubuh serangga mulai jelas terlihat pada hari ke-4, dan memasuki hari ke-7 seluruh permukaan tubuh rayap hampir tertutup seluruhnya oleh miselia yang berwarna putih dengan kerapatan konidia $1,21 \times 10^6$ /mL. Untuk dapat mematikan hingga 50% populasi dibutuhkan waktu 5 hari dan kematian 95% membutuhkan waktu 10 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Amiri-Besheli B, B Khambay, S Cameron, ML Deadman and TM Butt. 2000. Inter and intraspecific variation in destruxin production by insect pathogenic *Metharhizium* spp., and its significance to pathogenesis. *Mycological Research* 104(4), 447-452.
- Asbani N, AM Amir dan Subiyakto. 2007. Inventarisasi hama tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L). *Prosiding Lokakarya II: Status Teknologi Tanaman Jarak Pagar* (*Jatropha curcas* L), 7-16. Puslitbang Perkebunan, Bogor.
- Butt TM, CW Jackson and N Magan. 2001. *Fungi as Biocontrol Agents; Progress, Problem and Potential*. United Kingdom: CABI Publishing, CAB International. New York.
- Desyanti. 2007. Kajian Pengendalian Rayap Tanah *Coptotermes* spp. (Isoptera: Rhinotermitidae) dengan menggunakan Cendawan Entomopatogen Isolat Lokal. *Disertasi*. Fakultas Pertanian- Institut Pertanian Bogor.
- Ferron P. 1985. Pest control by fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In: Burgers HD, editor. *Microbial of Pest and Plant Diseases 1970-1980*, 465-482. London: Academic Press Inc.
- Finney DJ. 1971. *Probit Analysis*. 3rd Edition. CambridgeUniver-

sitas Press. Cambridge.

- Freimoser FM, S Screen, S Bagga, G Huand and RJ St Leger. 2003.** Expressed Sequence Tag (EST) analysis of two subspecies of *Metarhizium anisopliae* reveals a plethora of secreted proteins with potential activity in insect hosts. *Microbiology* **149**, 239247.
- Nandika D, Y Rismayadi and F Diba. 2003.** *Rayap Biologi dan Pengendaliannya*. Muhammadiyah University Press. Surakarta.
- Neves PMOJ and SB Alves. 2004.** External events related to the infection process of *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) by the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*.

Neotropical Entomology **33(1)**, 051-056.

- Tanada Y and HK Kaya. 1993.** *Insect Pathology*. Academic Press, Inc. New York.
- Yoshimura T, K Tsunoda, M Takahashi and Y Katsuda. 1992.** Pathogenicity of an entomopathogenous fungus, *Conidiobolus coronatus* TYRRELL and MACLEOD to *Coptotermes formosanus* SHIRAKI. *Jpn. J Environ. Entomol. Zool.* **4(1)**, 11-16.
- Yoshimura T and M Takahashi. 1998.** Termiticidal performance of an entomogenous fungus, *Beauveria brongniartii* (SACCARDO) PETCH in Laboratory Tests. *Jpn. J. Environ, Entomol. Zool* **9(1)**, 16-22.