

Evaluación de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre la broca del café empleando el método de aspersión foliar

Evaluation of *Beauveria bassiana* pathogenicity in the coffee berry borer using the leaf spraying method

FRANCISCO J. POSADA F.¹, EDUARDO OSORIO V.², ELENA T. VELÁSQUEZ S.³

Revista Colombiana de Entomología 28 (2): 139-144 (2002)

Resumen. Se presentan los resultados de la evaluación de la patogenicidad del hongo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. por aspersión sobre la broca del café, en la cual los adultos de la broca se expusieron por un minuto sobre hojas de café tratadas con cuatro grupos de gotas/cm² (3, 9, 27, 81) conteniendo el inóculo. Se estimó que cada gota contenía 3, 9, 27 y 81 esporas. Las esporas se aplicaron en dos formulaciones experimentales de aceite: Kerosene + Carrier (60:40) (K + C) y Carrier + Agua (50:50) (C + A). La mortalidad fue mayor con la formulación K + C (85.5 ± 17.1%) que con la formulación C + A (70 ± 25.8%) y cuando las esporas se aplicaron usando 81 esporas/gota y un cubrimiento de 81 gotas/cm². La mortalidad no presentó una relación directa entre el número de esporas y de gotas. La respuesta de la mortalidad fue más variable con la formulación K + C que con C + A. La CL50 y CL80 se estimaron en 15 y 75 esporas respectivamente cuando se asperjaron 81 gotas con 3, 9, 27 y 81 esporas por gota en promedio. Los resultados sugieren que la formulación afecta el comportamiento de la broca del café lo cual puede influir sobre la capacidad de la broca de recoger esporas de una superficie tratada. La concentración letal 50 y 80 se calculó con el programa Probit y se estimó en 15 y 70 esporas, respectivamente.

Palabras clave: Entomología. *Hypothenemus hampei*. Control biológico. Biocontroladores.

Summary. The results of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. pathogenicity test on the coffee berry borer (CBB) through application the spores in droplets are presented. Adults of CBB were exposed for one minute on coffee leaves treated with four droplets with coverage/cm² (3, 9, 27, 81). In each droplet 3, 9, 27 and 81 spores, respectively were estimated to be delivered. The spores were formulated in two experimental oil based formulations: Kerosene + Carrier (60:40) and Carrier + Water (50:50). The mortality was higher for K + C (85.5 ± 17.0%) followed by C + W (70 ± 25.8%) when the spores were sprayed using 81 spores/droplet and a coverage of 81 droplets/cm². The mortality tendency showed no direct relationship between the number of spores and the droplets. The mortality response was more variable with K + C than with C + W. The CL50 and CL80 were estimated in 15 and 75 spores/ droplet when 81 droplets/ cm² were applied loaded with 3, 9, 27 and 81 spores/ droplets, on average. The data suggest that the formulation can affect the CBB behavior and therefore the picking up and encountering of spores from a treated surface. The lethal concentrations, 50 and 80 were calculated with the software Probit and were estimated at between 15 and 70 spores.

Key words: Entomology. *Hypothenemus hampei*. Biological control. Biocontrol.

Introducción

Para la evaluación de la patogenicidad del hongo *Beauveria bassiana* (Bb) sobre la broca del café, se desarrolló en Cenicafé un bioensayo por inmersión de los adultos de broca en una suspensión de esporas, que permitió conocer el proceso de la enfermedad, seleccionar aislamientos y evaluar la calidad de las formulaciones comerciales del hongo Bb para el control de la broca del café (González *et al.* 1993; Vélez *et al.* 1997).

Dentro de la utilidad del bioensayo está conducir estudios sobre la efectividad de los agentes de control de las plagas. Con el bioensayo de patogenicidad por inmersión de uso corriente en Cenicafé, se determinó la CL50 del hongo Bb sobre la broca del café de 1492 esporas y con aplicación tópica, utilizando aceites, se determinó en 790 esporas (Posada 1998).

La evaluación del efecto de la aplicación de las esporas del hongo Bb en formulaciones en aceite y asperjadas con un cubrimiento promedio de 70 gotas/cm² y 230 esporas/gota en promedio, permitió estimar una concentración letal de 2 y 24 esporas para las formulaciones K + C y C + A, respectivamente (Posada 1998).

Payne y Frankenhuyzen (1995) han señalado con *Bacillus thuringiensis* que la aplicación de una determinada dosificación en una gota es más efectiva que la aplicación de la misma dosis en múltiples gotas. Igualmente, esto ha sido señalado por Ford (1996) y Matthews (1992) con insecticidas y por Hunter-Fujita *et al.* (1998) trabajando con virus.

En la investigación con hongos entomopatógenos existe gran interés sobre los sistemas de aplicación para mejorar su eficiencia

de control (Bateman 1995). Diferentes autores han señalado que como la aspersión de hongos, virus y bacterias se realiza en suspensión, la eficiencia del control depende del volumen y del equipo de aplicación, los cuales producen un determinado patrón de gotas para una dosis dada del agente de control por área, es posible que muchas gotas no contengan esporas, partículas de virus o de bacteria, lo cual a su vez conlleva a obtener bajos niveles de control (Bateman 1995; Payne y Frankenhuyzen, 1995; Hunter-Fujita *et al.* 1998).

En el caso de los hongos entomopatógenos hay interés por encontrar la relación existente entre el efecto del control obtenido con las esporas depositadas en las gotas, la eficacia de la formulación, la concentración del producto requerida para alcanzar un nivel económico de control como biopesticida y el costo de las esporas que contie-

1 Autor para correspondencia: Investigador Científico I. Ph-D. Cenicafé. Disciplina de Entomología. A. A. 2427 Manizales. Caldas. Teléfono 8506550. E-mail: francisco.posada@cafedocolombia.com

2 Auxiliar de investigación. Cenicafé. Disciplina de Entomología.

3 Investigador científico II. M.Sc. Cenicafé. Disciplina de Entomología.

ne la formulación. Por esta razón el objetivo de este trabajo consistió en determinar la respuesta de mortalidad de la broca del café a superficies tratadas con diferentes cubrimientos de gotas y contenido de esporas por gota.

Materiales y Métodos

Las brocas utilizadas se obtuvieron de la unidad de parasitoides de Cenicafé, criadas en café pergamino con 45% de humedad para controlar la presencia de hongos contaminantes como *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. y Bb, entre otros, que comúnmente se presentan en las crías de broca y debilitan o llegan a causar mortalidad en la población de broca utilizada en los bioensayos con entomopatógenos y lo cual puede llevar a desvirtuar los resultados.

Las esporas se prepararon en las formulaciones experimentales con los aceites: Kerosene + Carrier (60:40) y Carrier + Agua (50:50) y se asperjaron sobre hojas de café colocadas en cajas de Petri (Posada 1998).

La aplicación se realizó con una aspersora a ultra bajo volumen fabricada por Micron sprayers Ltd., UK. (Bateman 1994) que produjo gotas con un promedio de diámetro volumétrico de 84 µm con la formulación K + C y de 78 µm con la formulación C + A. El volumen de las gotas se determinó utilizando un cubre objetos cubierto con una nube de óxido de magnesio y midiendo el tamaño del cráter donde impactó la gota, con una grátula Porton y el uso del programa de cómputo para calcular el parámetro VMD (Volume median diameter) (Matthews 1992).

El cubrimiento evaluado fue de 3, 9, 27 y 81 gotas por cm². El cual fue calibrado para cada una de las formulaciones utilizando tarjetas de Kromacote y como trazador azul de metileno con el fin de contabilizar el número de gotas.

Para realizar este trabajo se siguió la metodología de bioensayo por aspersión foliar desarrollada por Posada (1998). Después de asperjar las formulaciones sobre las hojas de café, las gotas se dejaron secar por una hora antes de realizar la exposición de las brocas a las superficies tratadas. El tiempo de exposición de las brocas fue de un minuto. En cada plato se ubicaron 40 brocas activas, las cuales después de expuestas se transfirieron a un plato de Petri esterilizado y con tapa. De este plato las brocas se tomaron con un pincel y se colocaron individualmente en frascos viales estériles en los que se pusieron tres rodetes de papel toalla estériles que fueron humedecidos con agua destilada estéril. Por repetición se asignaron 10 frascos viales conteniendo cada uno una broca, los cuales se ubicaron en cajas galleteras con papel toalla y se dejaron en cámara húmeda por 19 días.

El experimento se organizó en un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 2x4x4. Los tratamientos estuvieron conformados por dos formulaciones K + C y C + A,

cuatro cantidades de esporas por gota (3, 9, 27, 81) y cuatro cubrimientos de gotas por cm² (3, 9, 27, 81). Por tratamiento se utilizaron cuatro repeticiones y cada repetición tuvo 10 brocas como unidad experimental.

La variable evaluada fue la mortalidad. Los resultados se analizaron estadísticamente con un nivel de significancia del 95%. Se estimó la regresión para cada una de las combinaciones de las formulaciones, gotas y esporas y se calculó el Probit para los tratamientos que permitieron su estimación.

Resultados y Discusión

En los resultados se encontraron diferencias estadísticas significativas para la interacción formulación, gotas y esporas (df=31, f=13.01, P= 0.0001) lo que indica que el efecto de las aplicaciones del hongo Bb depende de la formulación, el cubrimiento de las gotas y la cantidad de esporas que

éstas contengan (Tabla 1). Estos resultados indican que la formulación puede contribuir a mejorar la acción del hongo Bb si se presenta un adecuado cubrimiento de gotas y concentración de esporas en la gota.

En la figura 1 se presenta, separada para cada formulación K + C y C + A, la tendencia de los efectos principales de las esporas por las gotas. En el análisis de variación se presentó diferencia significativa para los efectos principales gota x espора, formulación x gota y formulación x espора (Tabla 1) lo que indica que el efecto de cualquier factor depende del nivel con que fue combinado el otro factor.

Por formulación en las comparaciones de los efectos simples se encontró que cuando en las gotas se incrementa la cantidad de esporas por gota, se logra aumentar la mortalidad de la broca. La respuesta de mortalidad fue mayor cuando se asperjaron

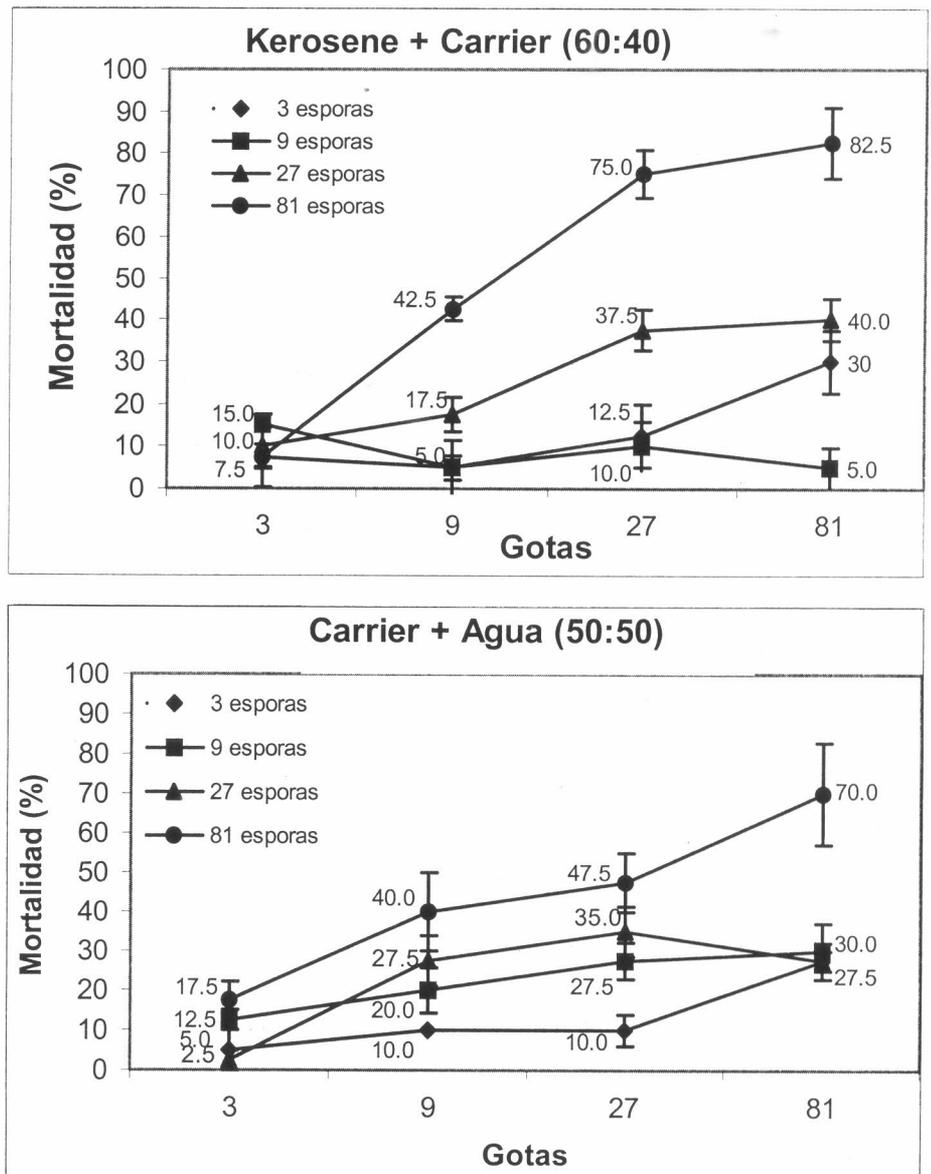


Figura 1. Tendencia de los efectos simples de las esporas por gotas para las formulaciones K+C y A+C sobre los adultos de la broca del café.

Tabla 1. Resultados del análisis de varianza del experimento de evaluación de dos formulaciones por cuatro cantidades de gotas y de esporas del hongo *Beauveria bassiana*

ANAVA	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F. CALCULADA	PR > F.
FORMULACIÓN	1	12.500	12.500	0.09	0.7615
ESPORA	3	15778.125	5259.375	38.99	0.0001
GOTA	3	21378.125	7126.042	52.83	0.0001
FORMULACIÓN*ESPORA	3	1218.750	406.250	3.01	0.0339
FORMULACIÓN*GOTA	3	3743.750	1247.917	9.25	0.0001
ESPORA*GOTA	9	6615.625	735.069	5.45	0.0001
FORMULACIÓN*ESPORA*GOTA	9	5675.000	630.556	4.67	0.0001
Error	96	12950	134.9		
Total	127	67371.9			

81 esporas por gota seguido de 27 esporas y la menor respuesta de mortalidad se alcanzó con 9 y 3 esporas por gota (Fig. 1).

Para la formulación K + C, en las comparaciones individuales por cada relación de gotas, se encontraron, para 81 gotas, diferencias significativas entre 81 esporas con 27, 9 y 3 esporas. Igualmente, para 81 gotas se presentó diferencia significativa entre 27 esporas con 3 y 9 pero no entre 27 con 3 esporas (Fig. 1, Tabla 2).

Para 27 gotas/cm² se lograron diferencias significativas entre 81 esporas con 27 esporas, pero no entre 27 esporas con 3 y 9. Para 9 gotas/cm² se encontraron diferencias entre 81 esporas con 27 esporas, pero no entre 27 con 9 esporas (Fig. 1, Tabla 2).

Para la formulación C + A en las comparaciones individuales de los contenidos de esporas en las gotas se encontró que cuando se utilizó 81 gotas/cm² se presentó diferencia significativa entre el contenido de 81 esporas por gota y los contenidos de 27, 9 y 3 esporas. Cuando se utilizaron 27 gotas/cm² hubo diferencias significativas entre 81 con 9 y 3 pero no entre 81 y 27 esporas. Con 9 gotas/cm² se presentaron diferencias significativas entre 81 con 27 pero no entre 27 con 9 y 3 esporas. Con 3 gotas/cm² no se obtuvo diferencia significativa, cuando las gotas tenían los diferentes contenidos de esporas (Fig. 1, Tabla 2).

La mortalidad fue mayor con la formulación K + C (82.5 ± 17.1%) que con C + A (70 ± 25.8 %) cuando se utilizaron 81 esporas/

gota y 81 gotas/cm². Para las esporas formuladas en K + C la mortalidad no presentó una tendencia a aumentar en la medida que se incrementó el número de esporas con el de las gotas (Tabla 3). Esta respuesta probablemente fue debida a que las brocas presentaron una baja actividad sobre la superficie tratada con esta formulación, mientras que con la formulación C + A la tendencia de la mortalidad guardó una relación directa con el incremento de las esporas y de las gotas asperjadas. El mismo comportamiento de la actividad de las brocas frente a las formulaciones de aceite fue registrado por Posada (1998) cuando evaluó las mismas dos formulaciones y determinó la cantidad de esporas que recoge una broca en promedio. Se sospecha que esta respuesta se debe a un efecto repe-

Tabla 2. Coeficientes de comparación de las formulaciones W+C1 y W+C para el contenido de esporas por gota cuando se asperjan 3, 9, 27 y 81 esporas /cm²

FUENTE VARIACIÓN	GRADOS LIBERTAD	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F. CALCULADA	F. TEÓRICA	
					0.5	0.1
					3.9	9.6
Formulación Kerosene + Carrier						
81E*81G vs 27E*81G	1	3.612,5	3.612,5	26,8	ds	
27E*81G vs 3E*81G	1	200,0	200,0	1,5	dns	
27E*81G vs 9E*81G	1	9.800,0	9.800,0	72,6	ds	
3E*81G vs 9E*81G	1	1.250,0	1.250,0	9,3	ds	
81E*27G vs 27E*27G	1	2.812,5	2.812,5	20,8	ds	
27E*27G vs 3E*27G	1	1.250,0	1.250,0	9,3	ds	
81E*9G vs 27E*9G	1	1.250,0	1.250,0	9,3	ds	
27E*9G vs 9E*9G	1	312,5	312,5	2,3	dns	
Formulación Carrier + Agua						
81E*81G vs 27E*81G	1	3.612,5	3.612,5	26,8	ds	
27E*81G vs 9E*81G	1	12,5	12,5	0,1	dns	
81E*27G vs 27E*27G	1	312,5	312,5	2,3	dns	
81E*27G vs 9E*27G	1	1.662,5	1.662,5	12,3	ds	
27E*27G vs 9E*27G	1	112,5	112,5	0,8	dns	
9E*27G vs 3E*27G	1	612,5	612,5	4,5	ds	
27E*27G vs 3E*27G	1	1.250,0	1.250,0	9,3	ds	
81E*9G vs 27E*9G	1	612,5	612,5	4,5	ds	
27E*9G vs 9E*9G	1	112,5	112,5	0,8	dns	
9E*9G vs 3E*9G	1	200,0	200,0	1,5	dns	
81E*3G vs 3E*3G	1	312,5	312,5	2,3	dns	
ERROR	96	12.950,0	134,9			

lente del kerosene o que las brocas perciben una sensación más pegajosa en la formulación K + C que con C + A.

En la formulación K + C la tendencia de la mortalidad en los tratamientos fue a incrementar a medida que se aumentó el número de gotas (27 y 81) y los resultados fueron más consistentes; es decir, que la mortalidad guardó una relación directa con el aumento de las gotas (Tabla 3).

La respuesta de la mortalidad por formulación fue mayor en la medida que se utilizó mayor número de esporas por gota. Para la formulación K + C, la mortalidad fue mayor cuando se utilizaron 81 y 27 esporas en el grupo de gotas evaluadas y superó el 50 % de mortalidad. Para la formulación C + A la respuesta de mortalidad sólo superó el 50% cuando se evaluaron 81 esporas en el grupo de gotas (Fig. 2, Tabla 3).

La mortalidad en el testigo por Bb fue de $5.0 \pm 5.8\%$. Este valor es bajo y tolerable dentro de los bioensayos con hongos (Posada 1998) y se utilizó para hacer la corrección de Abbott (1925) en cada uno de los tratamientos (Tabla 3).

En el análisis Probit sólo fue posible estimar la concentración letal 50 (CL50) con el tratamiento de 81 esporas por el grupo de gotas (3, 9, 27, 81). La estimación de CL50 de esporas requeridas para aplicar el hongo Bb con un cubrimiento de 81 gotas fue de 15 esporas con la formulación K + C y la CL90 fue de 70 esporas aplicadas en 81 gotas (Fig. 2). Con la formulación C + A no se estimó el Probit porque la mortalidad de los resultados no guardó una respuesta ascendente en la medida que se incrementó el número de esporas por grupo de gotas (Tabla 3).

En la formulación C + A la tendencia fue más consistente en la medida que se utilizó menor número de gotas (9, 27, 81). El desempeño más uniforme de las esporas utilizadas con la formulación C + A probablemente fue debido a que las brocas presentaron mayor actividad, lo cual permitió adquirir las esporas en una relación directamente proporcional al incremento de la cantidad aplicada. Sin embargo, la respuesta de mortalidad no alcanzó para estimar el Probit. El comportamiento de la respuesta de mortalidad fue contrario para la formulación K + C, para la cual sólo se pudo estimar el Probit cuando se utilizaron 81 gotas/cm² y la relación de 3, 9, 27 y 81 esporas por gota (Tabla 3, Figs. 2 y 3).

Un cubrimiento de 81 gotas es posible obtenerlo para propósitos experimentales en bioensayo y en campo sobre follaje, pero obtener un cubrimiento de esta cifra sobre frutos en condiciones de campo, está lejos de la realidad, ya que los mejores cubrimientos sobre frutos de café registrados en campo alcanzan 66 gotas en promedio por frutos, cuando las formulaciones son aplicadas con equipos de ultra bajo volumen (Ulva+) y 11 gotas en promedio por fruto con equipos de alto volumen (Motax) (Posada 1998).

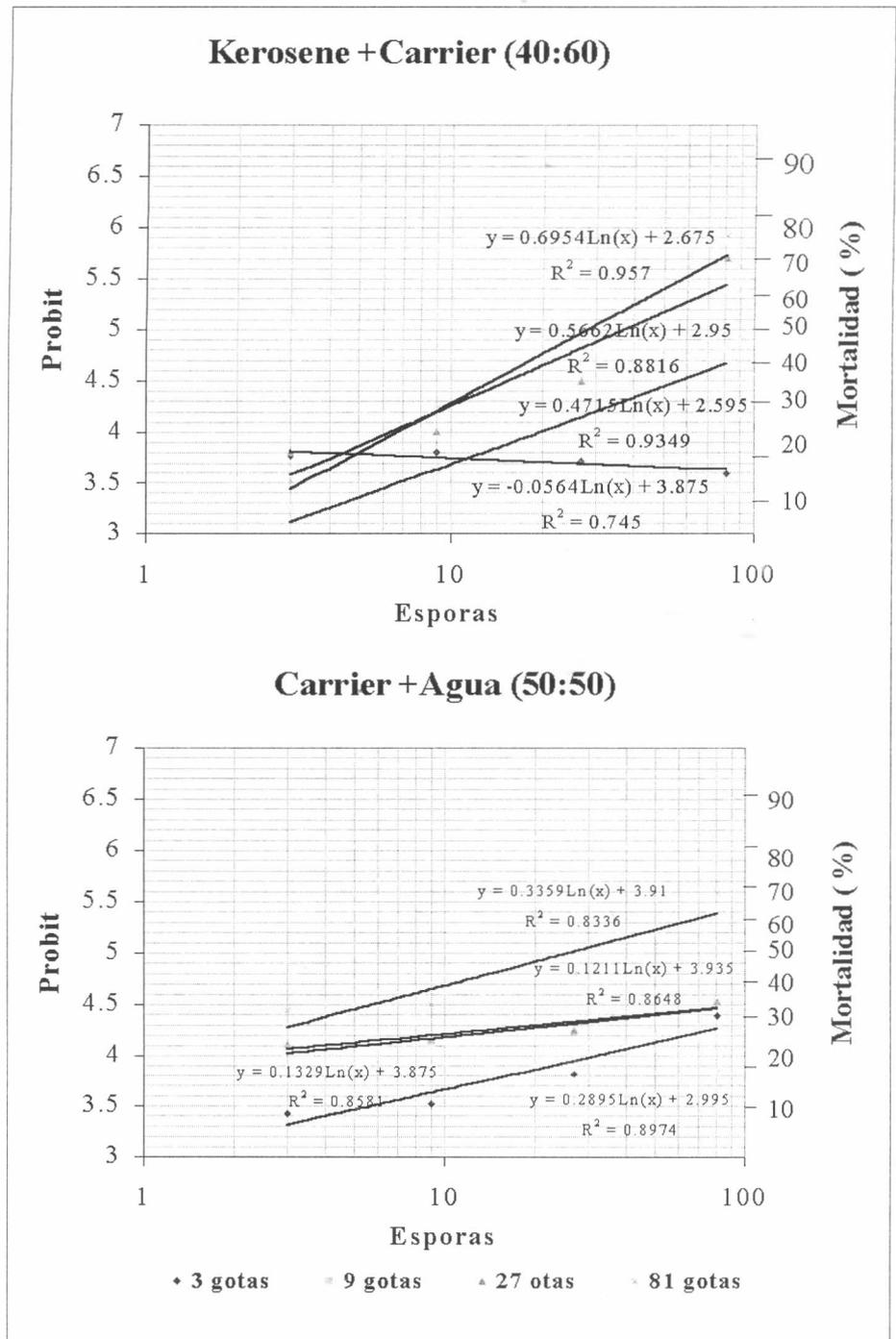


Figura 2. Respuesta estimada de mortalidad de la broca del café a las esporas aplicadas en diferente número de gotas por cm² sobre hojas de café.

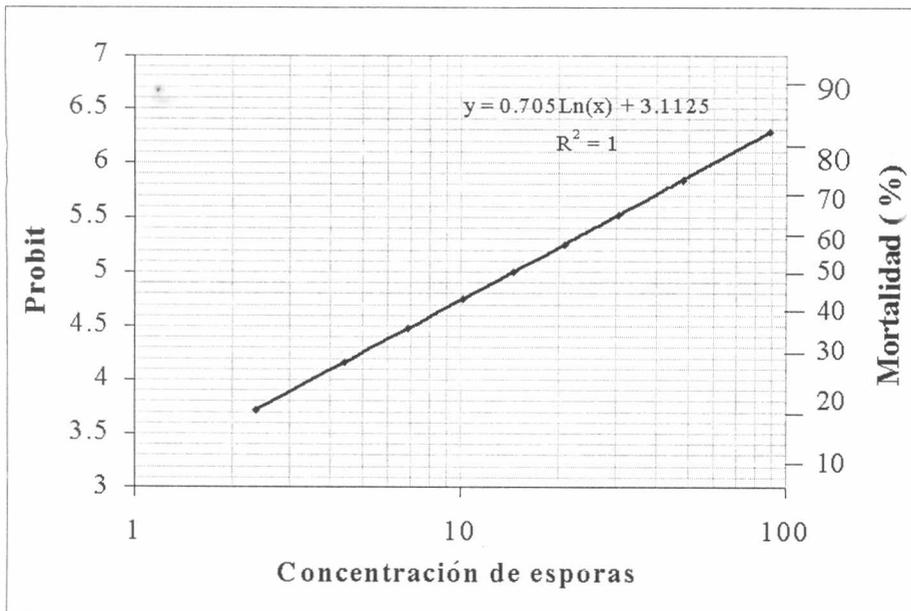
La evaluación de patogenicidad aplicando las esporas por aspersión brinda la oportunidad de conocer el comportamiento de las formulaciones con relación al hábito de la broca para entrar en contacto con las esporas, al número de esporas que contienen las gotas y al cubrimiento obtenido en una aplicación.

La metodología de bioensayo de asperjar gotas con esporas sobre hojas de café en platos de Petri con un minuto de exposición de los adultos de la broca permitió obtener resultados consistentes para la evaluación de la patogenicidad del

hongo Bb sobre la broca del café. Además, este método brinda la posibilidad de estimar la respuesta de mortalidad de acuerdo con la concentración de esporas utilizada y el volumen empleado en la aspersión en campo. La respuesta que debe presentar el grupo de concentraciones evaluadas en este tipo de estudios demostró que hay efecto de la formulación por la composición de sus ingredientes y por el nivel del cubrimiento. El bajo cubrimiento, con poco contenido de esporas en las gotas, no garantiza mortalidades altas de la población de la broca (Tabla 3, Fig. 2).

Tabla 3. Porcentaje de mortalidad de la broca del café tratada con cuatro cantidades de esporas de *Bb* formuladas en K + C y C + A y asperjadas con cuatro cubrimientos de gotas por cm²

Esporas /gota	Gotas/ cm2							
	3		9		27		81	
	% Muerte Bb	Corrección Abbott						
	X ± D.E.	X ± D.E.						
Formulación K+C								
3	7.5 ± 2.5	2.6 ± 2.6	15.0 ± 6.5	10.5 ± 6.8	10.0 ± 5.8	5.3 ± 6.1	7.5 ± 4.8	2.6 ± 5.0
9	5.0 ± 2.9	0.0 ± 3.0	5.0 ± 2.9	0.0 ± 3.0	17.5 ± 7.5	13.2 ± 7.9	42.5 ± 7.5	39.5 ± 7.9
27	12.5 ± 4.8	7.9 ± 5.0	10.0 ± 4.1	5.3 ± 4.3	37.5 ± 4.8	34.2 ± 5.0	75.0 ± 5.0	73.7 ± 5.3
81	30.0 ± 7.1	26.3 ± 7.4	5.0 ± 2.9	0.0 ± 3.0	40.0 ± 5.8	36.8 ± 6.1	82.5 ± 17.1	81.6 ± 8.9
Formulación C+A								
3	5.0 ± 5.0	0.0 ± 5.3	10.0 ± 0.0	5.3 ± 0.0	10.0 ± 4.1	5.3 ± 4.3	27.5 ± 2.5	23.7 ± 2.7
9	12.5 ± 2.5	7.9 ± 2.6	20.0 ± 5.8	15.8 ± 6.1	27.5 ± 4.8	23.7 ± 5.0	30.0 ± 7.1	26.3 ± 7.4
27	2.5 ± 2.5	-2.6 ± 2.6	30.0 ± 4.1	26.3 ± 4.3	35.0 ± 6.5	31.6 ± 6.8	27.5 ± 4.8	23.7 ± 5.1
81	17.5 ± 4.8	13.2 ± 5.0	40.0 ± 0.0	36.8 ± 10.5	47.5 ± 7.5	44.7 ± 7.9	70.0 ± 25.8	68.4 ± 13.9

**Figura 3.** Concentración letal 50 (CL50) del hongo *B. bassiana* aplicado en 81 gotas/cm² en un grupo de 3, 9, 27, 81 esporas por gota.

Estos resultados permiten un mejor uso del hongo en campo donde se conoce que la broca después de aterrizar gasta en promedio cinco minutos para encontrar y seleccionar el fruto que va a ser atacado (Posada 1998). Ese tiempo puede ser suficiente para encontrar las gotas y adquirir el nivel de esporas necesario para causar su mortalidad. Sin embargo, para que esto ocurra se debe asegurar que haya buen cubrimiento y que cada gota tenga la cantidad de esporas suficiente para causar

mortalidad. Falta identificar cuáles son los factores que hacen que la efectividad de las aplicaciones en campo no produzcan los resultados esperados de control de la broca del café. Fuera de las condiciones ambientales reconocidas por el efecto negativo sobre el hongo (Inglis *et al.* 1995; Vélez y Montoya 1995), y del sistema de evaluar los hongos entomopatógenos, es probable que la mayor razón sea la concentración aplicada y que muchas gotas del volumen asperjado no tengan esporas

(Bateman 1995; Payne y Frankenhuyzen 1995; Hunter-Fujita *et al.* 1998).

Conociendo la respuesta de mortalidad para el número de esporas y de gotas por formulación es posible estimar el número de esporas para obtener una eficacia del 50 o del 80%. En la tabla 4 se presentan los estimativos de esporas necesarios para un volumen de aplicación por hectárea extrapolando los resultados de mortalidad alcanzados con el bioensayo por aspersión a condiciones de campo. En este sentido, la obtención de un control aceptable y los costos que justifiquen el uso del hongo como biopesticida fueron discutidas por Posada (1998).

La respuesta indica que para conseguir las mortalidades más altas en campo, utilizando 50 l/ha y el número mayor de esporas por gota, se requeriría utilizar concentraciones de 1.3×10^{13} o 1.6×10^{13} esporas/ha con la formulación K + C y C + A, respectivamente. La utilización de estas concentraciones por hectárea es económicamente viable y se podría esperar que fueran efectivas si se tiene un adecuado cubrimiento en la aspersión en campo. Sin embargo, por ser el hongo muy susceptible a los factores externos, mientras no se tengan formulaciones estables se debe continuar en la búsqueda de aislamientos más virulentos que tengan una mayor respuesta a dosis más bajas (número de esporas por gota) que garanticen que en campo, con los cubrimientos convencionales alcanzados con los equipos de aspersión, se tenga una eficacia aceptable y se puedan utilizar cantidades de producto comercial a costos competitivos con otras medidas de control.

Tabla 4. Estimación de la concentración de esporas de *B. bassiana* requeridas por el volumen aplicado por hectárea para que cada gota contenga un número de 3, 9, 27 y 81 esporas

Gota		Concentración esporas / ha si se aplica en un volumen (litros) ^b			
Número esporas	Volumen Pl ^a	1	10	30	50
Formulación K+C					
3	310	9.7 x 10 ⁹	9.7 x 10 ¹⁰	2.9 x 10 ¹¹	4.8 x 10 ¹¹
9	310	2.9 x 10 ¹⁰	2.9 x 10 ¹¹	8.7 x 10 ¹¹	1.5 x 10 ¹²
27	310	8.7 x 10 ¹⁰	8.7 x 10 ¹¹	2.6 x 10 ¹²	4.4 x 10 ¹²
81	310	2.6 x 10 ¹¹	2.6 x 10 ¹²	7.8 x 10 ¹²	1.3 x 10 ¹³
Formulación C+A					
3	248	1.2 x 10 ¹⁰	1.2 x 10 ¹¹	3.6 x 10 ¹¹	6.0 x 10 ¹¹
9	248	3.6 x 10 ¹⁰	3.6 x 10 ¹¹	1.1 x 10 ¹²	1.8 x 10 ¹²
27	248	1.1 x 10 ¹¹	1.1 x 10 ¹²	3.3 x 10 ¹²	5.4 x 10 ¹²
81	248	3.3 x 10 ¹¹	3.3 x 10 ¹²	9.8 x 10 ¹²	1.6 x 10 ¹³

a. VMD de las gotas 84 y 78 para las formulaciones K+C y A+C corresponden a un volumen de 310 y 248 picolitros (pl) respectivamente. (1 litro = 1 x 10¹² pl = 3.2 x 10⁹ gotas si el VMD = 84µm y el volumen de 310 pl).

b. Aplicación a ultra bajo volumen comprende entre 1 y 5 l/ha y la aplicación a bajo volumen entre 5 y 50 l/ha (Matthews 1992).

Estos resultados son importantes para mejorar el uso de los hongos entomopatógenos, porque la efectividad de un agente de control no sólo está en función de disponer de él como producto y de su calidad, sino también de la disponibilidad en el campo que garantiza el contacto con el hospedante y el cual se consigue con la aspersión que es el método más generalizado para aplicar las esporas de los hongos entomopatógenos como biopesticidas. Esa efectividad requiere que tenga un buen cubrimiento (gotas/cm²) y un contenido de esporas en la gota que son dependientes del equipo y del volumen de aplicación.

Literatura citada

- BATEMAN, R.P. 1994. Performance of myco-insecticides: importance of formulation and controlled droplet application. En: Brighton Crop Protection Conference Monograph N° 59: Comparing Glasshouse and Field Pesticide Performance II. 323 p.
- BATEMAN, R.P. 1995. Formulation and application of mycopathogens for locust and grasshopper control. LUBILOSA Technical Bulletin. Number 4, LOMER, C. and LOMER, C. J. (ed.). 67 p.
- FORD, M. G. 1996. Impact of formulation properties on insecticidal efficacy. En: Brighton Crop Protection Conference-Pests and Diseases 2: 801-806.
- GONZÁLEZ G., M.T.; POSADA F., F.J.; BUSTILLO P., A.E. 1993. Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. Revista Colombiana de Entomología 19 (4): 123-130.
- HUNTER-FUJITA, F. R.; ENTWISTLE, P. F.; EVANS, H. F.; CROOK, N. E. 1998. Spray application of baculoviruses. En: HUNTER-FUJITA, F. R.; ENTWISTLE, P. F.; EVANS, H. F.; CROOK, N. E. (Ed) Insect viruses and pest management. Chichester, John Wiley, p. 159-164.
- INGLIS, G. D.; JOHNSON, D. L.; GOETTEL, M. S. 1995. Effects of simulated rain on the persistence of *Beauveria bassiana* on leaves of alfalfa and wheat. Biocontrol Science and Technology 5: 365-369.
- INGLIS, G. D.; JOHNSON, D. L.; GOETTEL, M. S. 1997. Field and laboratory evaluation of two conidial batches of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin against grasshoppers. The Canadian Entomologist 129: 171-186.
- MATTHEWS, G.-A. 1992. Pesticide application methods, 2. ed. Harlow. Longman Scientific and Technical. 405 p.
- PAYNE, N. J.; VAN FRANKENHUYZEN, K. 1995. Effect of spray droplet size and density on efficacy of *Bacillus thuringiensis* Berliner against the spruce budworm *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). Canadian Entomology 127: 15-23.
- POSADA F., F. 1998. Production, formulation and application of *Beauveria bassiana* for control of *Hypothenemus hampei* in Colombia. Ascot, Berkshire, University of London. Ph-D Thesis. 227 p.
- VÉLEZ A., P.E.; MONTOYA R., E.C. 1995. Efecto de la radiación solar en la supervivencia del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. en laboratorio y campo. Revista Colombiana de Entomología 21 (2): 91-98.
- VÉLEZ A., P.E.; POSADA F. F.J.; MARÍN, P. BUSTILLO P., A.E. GONZÁLEZ G., M.T.; OSORIO, E. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Boletín Técnico Cenicafé N° 17: 1 - 37.

Recibido: Jun. 30 / 2001

Aceptado: Mar. 25 / 2002