

Calidad biológica de formulaciones de *Beauveria bassiana* usadas en el control de la broca del café

Biological quality of *Beauveria bassiana* formulations used for control of the coffee berry borer

PATRICIA MARÍN M.¹, FRANCISCO J. POSADA F.², MARÍA TERESA GONZÁLEZ G.¹,
ALEX E. BUSTILLO P.²

Revista Colombiana de Entomología 26(1-2): 17-23 (2000)

Resumen. La comercialización de formulaciones de hongos entomopatógenos requiere el control de las propiedades biológicas, físicas y químicas que aseguren al consumidor un producto con la máxima eficacia en campo. En la presente investigación se consolidan los resultados de calidad de las variables biológicas: concentración esporas/gramo (e/g), porcentaje de germinación (24 horas), mortalidad (%) y tiempo promedio de mortalidad (días) de la broca del café causada por las formulaciones de *Beauveria bassiana* evaluadas entre 1993-1998. Para establecer el promedio de cada variable se tuvo en cuenta el total de muestras por producto a través de seis años de evaluación. La mayor concentración de esporas de *B. bassiana*, fue obtenida en los productos Conidia WG® ($4,4 \times 10^{10}$ e/g) y Brocaril® liofilizado ($4,3 \times 10^{10}$ e/g). Brocaril® liofilizado presentó el mayor porcentaje de germinación ($95 \pm 5,4$) seguido por la producción artesanal ($86 \pm 5,6$). El mayor porcentaje de mortalidad lo causaron Brocaril® liofilizado (92 ± 10) en un tiempo promedio de $4,5 \pm 0,8$ días, y la cepa Cenicafé (81 ± 13) en $4,7 \pm 0,8$ días. Se utilizó como patrón de referencia el aislamiento Bb9205 reactivado en broca, multiplicado en arroz con 30 días de desarrollo, el cual presentó los siguientes promedios: concentración $1,9 \times 10^{10}$ e/g, germinación $90 \pm 8,1\%$, mortalidad $90 \pm 8,6\%$ en $4,7 \pm 1,0$ días. Los resultados muestran gran variabilidad a través del tiempo para todas las variables, siendo más notorio para la concentración de esporas; esta variable está ligada a factores involucrados al proceso de producción como sustrato, almacenamiento, temperatura y humedad. Sin embargo, los avances logrados en los procesos de producción han permitido obtener formulaciones de mayor calidad en los últimos años.

Palabras clave: Control de calidad. Control biológico. *Beauveria bassiana*. Hongos entomopatógenos. *Hypothenemus hampei*.

Summary. For commercialization of entomopathogenic fungal formulations the control of biological, physical and chemical properties are necessary to assure the consumer a product of maximum field efficacy. This study summarizes the results of the analysis of quality variables such as spore concentration per gram, germination percentage (24 h), mortality percentage and average mortality time (days) of the coffee berry borer, of different *Beauveria bassiana* formulations evaluated between 1993-1998. Average values were determined based upon the total number of samples of each product evaluated during the six years period. The highest spore concentration of *B. bassiana* was found in Conidia WG® ($4,4 \times 10^{10}$ e/g), followed by freeze-dry Brocaril® ($4,3 \times 10^{10}$ e/g). The latter also presented the highest germination ($95 \pm 5,4$) followed by the Cenicafé strain ($86 \pm 5,6$). The greater percentage of mortality caused to freeze-dry Brocaril® (92 ± 10) in a time average of $4,5 \pm 0,8$ days, and the Cenicafé strain (81 ± 13) in $4,7 \pm 0,8$ days. The Bb9205 isolation reactivated in berry borer, multiplied in rice with 30 days of development was used as reference, presented the following averages: concentration of $1,9 \times 10^{10}$ e/g, germination $90 \pm 8,1\%$, mortality $90 \pm 8,6\%$ in $4,7 \pm 1,0$ days. The results showed a high variability throughout the time especially in spore concentration; this variable is related to factors involved to the process of production like substrate, storage, temperature and humidity. The improvement of these limiting conditions has led to higher formulations quality in recent years.

Key words: Control of quality. Biological control. *Beauveria bassiana*. Entomopathogenic fungi. *Hypothenemus hampei*.

Introducción

La protección de los cultivos está basada en el uso de pesticidas químicos. Es así como en 1988 el mercado de los pesticidas en el mundo fue estimado en más de 6 billones de dólares, de los cuales sólo el 1,6% fue de origen biológico y la mayoría derivados de *Bacillus thuringiensis* (Richards y Rogers 1990). Sin embargo más de 700 especies de hongos generalmente Deuteromycetos y Entomophthorales de cerca de 90 géneros

son patógenos a insectos (Charnley 1989). Dentro de éstos los géneros más investigados incluyen *Beauveria*, *Metarhizium*, *Verticillium*, *Hirsutella*, *Erynia* (=Zoophtora), *Nomuraea*, *Aspergillus*, *Aschersonia*, *Paecilomyces* y *Tolypocladium* entre otros. Los dos primeros géneros han sido usados a gran escala por cierto número de años (Brady 1981).

Los intentos para usar hongos en forma extensiva en el control biológico fueron consi-

derados inicialmente por Samson *et al.* (1988) y Gillespie (1988). *B. bassiana* se ha empleado a gran escala en China y en Rusia (Ferrón 1981, Khlóptseva 1992), trabajos posteriores incluyen su utilización sobre *Hypothenemus hampei* (Murphy y Moore 1990, Bridge *et al.* 1990). En Irlanda *Beauveria brongniartii* ha sido usado para el control de *Melolontha melolontha* (Linnaeus) (Keller 1992). *Metarhizium anisopliae* ha sido desarrollado en Brasil (Metaquino) para control de *Mahanarva posticata* (Stal) plaga en

1 Bacterióloga, Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFÉ, Chinchiná, A. A. 2427, Manizales, Caldas. Colombia.

2 Ingeniero Agrónomo, Ph.D. Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFÉ, Chinchiná, A. A. 2427, Manizales, Caldas. Colombia.

caña de azúcar (Mendonca 1992, Ferrón 1981, Goettel *et al.* 1990) y en Australia contra plagas de pastos y caña de azúcar (Pinnock 1990); industrialmente Bayer formuló una preparación granular de micelio BIO 1020 (Reinecke *et al.* 1990) y cooperativas y compañías particulares lo han producido con niveles aceptables de control (Gillespie 1988). De las formulaciones más utilizadas, pero con éxito limitado, cabe destacarse *Verticillium lecanii* utilizado como un micoinsecticida contra áfidos y mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). Otro hongo, *Hirsutella thompsonii*, desarrollado como Mycar para control de *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) (McCoy 1986), ha tenido inconvenientes entre los cuales se incluyen la necesidad de almacenamiento en frío, falta de un bioensayo útil, dificultad de producir conidias infectivas y la inconsistencia de los resultados observados en campo, probablemente debido a las condiciones ambientales adversas como largos períodos de humedad (McCoy y Tigano-Milani 1992).

La velocidad de acción de los productos biológicos es más lenta que un tratamiento químico y puede demorarse varios días o aún semanas; sin embargo, la diferencia entre los micoinsecticidas y los químicos en el tiempo de mortalidad no es tan grande como se sugiere (Bateman 1992). Además, los efectos debilitantes de la infección pueden reducir la capacidad del insecto para dañar los cultivos muchos días antes de la muerte (Moore *et al.* 1992). En aspectos como la seguridad humana y ambiental, los micoinsecticidas son potencialmente muy superiores, pero se requiere la educación de los agricultores, para poder entender sus limitaciones y si es necesario cambiar algunas prácticas agronómicas.

El mayor inconveniente en la producción masiva y eficiente de algunos micoinsecticidas es el costo alto de producción, ya que la comercialización no ha sido exitosa. Las condiciones medio ambientales adversas, incluyendo los efectos de bajos niveles de humedad, radiación U.V., temperaturas altas y prácticas agrícolas como la aplicación de fungicidas, van en contra del éxito de éstos (Moore y Prior 1993). Se adicionan además inadecuadas condiciones de almacenamiento, poca estabilidad en campo, falsas expectativas y malas interpretaciones de los resultados prácticos. Muchas de las fallas provienen de investigación básica inadecuada en la mayoría de los aspectos, desde la selección del patógeno hasta la aplicación en campo (Moore y Prior 1993). La optimización de las formulaciones basadas en la prevención de la desecación del hongo, mejoramiento genético y modificaciones en las prácticas de aplicación pueden disminuir la influencia de las condiciones ambientales adversas (Clarkson 1992, Keller 1992).

Afortunadamente, los productos biológicos se están mejorando continuamente, mientras las dificultades asociadas con el manejo convencional de productos químicos se están incrementando. Las compa-

ñías de agroquímicos están actualmente interesadas en la producción de pesticidas biológicos y su intervención puede acelerar el proceso de desarrollo. Para avanzar en el control de plagas con hongos entomopatógenos se requieren formulaciones que conserven en campo las características biológicas. La mayoría de los Deuteromycetos tienen requerimientos no específicos para la germinación, pero algunos inhibidores de germinación pueden estar presentes en el hospedero (Brownlee *et al.* 1990).

En la literatura es escasa la información acerca de protocolos o procedimientos para establecer un control de calidad a hongos entomopatógenos. Existe bastante información sobre *Bacillus thuringiensis* (Maas *et al.* 1967, Burges 1967) y algunas publicaciones sobre pruebas de seguridad a entomopatógenos (Burges 1981). En cuanto a hongos la información se limita a indicar las pruebas que se deben realizar (Müller-Kögler 1967, Habib 1986) y los requerimientos sobre la legislación de hongos entomopatógenos para su comercialización (Hall *et al.* 1983).

En Colombia el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) en 1991 expidió una reglamentación sobre la producción de entomopatógenos y los requerimientos para obtener licencias de producción y venta. Sin embargo, esta reglamentación adolece de una información detallada sobre el control de calidad de estos productos. Es así como, ante la sentida necesidad de tener normas claras y metodologías estandarizadas, Cenicafé emprendió desde 1992 la búsqueda de parámetros necesarios para el análisis de los hongos entomopatógenos, desarrollando pruebas de control de calidad con el fin de estandarizar y optimizar metodologías que permitan la evaluación de la calidad biológica y fisicoquímica de los hongos producidos comercialmente. Como resultado de estas investigaciones se han ofrecido técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos las cuales permiten analizar periódicamente los productos presentados en sustratos naturales o formulados en seco con materiales inertes (Vélez *et al.* 1997).

En el laboratorio de control de calidad de hongos entomopatógenos de Cenicafé se han procesado hasta la fecha un total de 600 muestras, de las cuales el 33% corresponde

a productos industriales formulados en inertes, 59% producciones en arroz en forma artesanal y el 8% restante producciones en SDA (Sabouraud Dextrosa Agar). Dichas formulaciones han sido recibidas y evaluadas entre los años de 1993 y 1998. Dentro de los productores de entomopatógenos están las casas comerciales que se interesaron desde un comienzo en formular esporas de estos hongos con productos inertes tales como: polvo estéril, microtalco estéril, tierra de diatomáceas, tierra filtrante, lactosa peptona, entre otros, con el objeto de conservar la viabilidad y capacidad infectiva después de largos períodos de almacenamiento y resistencia a factores medio ambientales en condiciones de campo. Estas compañías son: Laverlam, Biocontrol, Agrevo, y otras empresas que están incursionando en la formulación industrial como: Vecol, Onatec y Biogarden. La producción artesanal en sustrato arroz la realizan empresas como: centro de biotecnología Mariano Ospina Pérez, Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), Cenicafé, cooperativas de caficultores a nivel nacional y agricultores asesorados a través de cursos de capacitación dictados por Cenicafé y por el Servicio de Extensión. Las producciones en SDA y en arroz (patrón de referencia) son realizadas en el laboratorio de Entomología de Cenicafé con el propósito de facilitar cepa reactivada a los laboratorios para sus producciones y para efectos de investigación, tanto de Cenicafé como de otras instituciones.

En el presente estudio se consolidan los resultados de calidad de las formulaciones existentes en el mercado nacional, para el control de la broca del café. Estos resultados han servido como parámetros y mecanismos de retroalimentación con los caficultores y productores con miras a mejorar los procesos de producción.

Materiales y Métodos

Para el análisis de los resultados de las pruebas de calidad, las diferentes formulaciones de *B. bassiana* se agruparon por producto (nombre comercial) y tipo de formulación (Tabla 1).

Las variables objeto de análisis para la discusión de resultados fueron: concentración de esporas/gramo, porcentaje de germinación a las 24 horas, porcentaje de mortalidad y tiempo promedio de mortalidad (días), las cuales determinan la aceptabilidad del hongo para aplicación en el campo.

Tabla 1. Formulaciones de *B. bassiana* sometidas a pruebas de calidad en Cenicafé. (1993-1998)

Tratamiento	Producto	Tipo de formulación
T1	Bassianil WP	Polvo mojable (microtalco estéril)
T2	Brocaril WP	Polvo mojable (microtalco estéril)
T3	Brocaril liofilizado	Formulación liofilizada con proteína
T4	Conidia WP	Polvo mojable (microtalco estéril)
T5	Conidia WG	Gránulos dispersables (tierra de diatomáceas)
T6	Cepa Cenicafé	Producción en arroz
T7	Producción artesanal	Producción en arroz
T8	Matabroca/Cebiopest	Producción en arroz
T9	Patrón de referencia	Producción en arroz

Patrón de Comparación

Las pruebas de calidad se comparan con un patrón del hongo seleccionado producido con la tecnología de finca (Antía *et al.* 1992). El cultivo fue desarrollado a una temperatura promedio de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y un tiempo de incubación de 25 días para obtener la máxima esporulación. El aislamiento utilizado fue Bb9205, este aislamiento ha presentado los mayores porcentajes de mortalidad y el menor tiempo promedio de mortalidad hacia la broca del café (González *et al.* 1993); motivo por el cual Cenicafé lo seleccionó para producirlo tanto a nivel artesanal como industrial.

Pruebas Microbiológicas

Concentración de esporas

La concentración de esporas determina el número de unidades infectivas por unidad de peso o volumen existente en la formulación, ésta sirve de base para establecer la dosificación de un producto. Para estimar la concentración de esporas del patrón de comparación de *B. bassiana* (Bb9205) se tomaron 4 submuestras procedentes de una misma botella escogida al azar de un cultivo con 25 días de desarrollo, a la cual se le removieron las esporas con la ayuda de una espátula, adicionando agua con Tween 80 al 0,1% hasta un volumen conocido (500 ó 1000 ml). De esta forma quedó preparada la suspensión madre de la cual se tomaron las submuestras de 1 ml; a partir de ésta se prepararon diluciones hasta 10^{-4} ó una dilución que permitiera el conteo en la cámara de Neubauer (Vélez *et al.* 1997). Para las formulaciones en polvo se tomó una muestra representativa del lote a examinar, por regla general, se toman 10g de cuatro recipientes y se prepara una mezcla de la cual se extraen cuatro submuestras de 1g, con estas submuestras, se prepararon las diluciones hasta 10^{-4} ó la dilución que permitiera el conteo (Vélez *et al.* 1997).

Germinación de esporas

Esta prueba, en combinación con el estimativo del número de esporas, calcula la cantidad de esporas viables de una formulación por unidad de peso o volumen. Este estimativo se hace con cada una de las submuestras preparadas para la concentración de esporas. La metodología empleada es la descrita por Vélez *et al.* (1997). Una formulación comercial debe tener una germinación superior al 85% en un tiempo de incubación de 24 horas. Lo anterior, debido a que cuando el hongo se asperja en el campo debe tener un rápido efecto sobre la población de la broca con miras a interrumpir el proceso reproductivo de ésta y a la vez sobreponerse a las condiciones ambientales adversas.

Prueba de patogenicidad

Corresponde al bioensayo más importante en el análisis de calidad de una formulación, determina si el patógeno realmente

ataca o no a la broca. Sin embargo, no asegura que bajo condiciones de campo su eficacia sea igual a la registrada en laboratorio. Requiere la cría de los insectos en el laboratorio. Para el desarrollo de la prueba se utilizó la metodología descrita por González *et al.* (1993). Los productos deben causar porcentajes de mortalidad superiores al 80% en el menor tiempo posible (3,8 días).

Las pruebas de calidad de las formulaciones se deben realizar en las etapas de producción, distribución y almacenamiento de los hongos, para obtener información que permita corregir los factores que hacen que la calidad del producto se deteriore o pierda y de esta forma mantener los estándares de calidad.

Resultados y Discusión

Para la discusión e interpretación de los resultados se realizó un análisis de varianza (ANOVA) donde se incluyeron to-

dos los tratamientos y se compararon mediante una prueba de Tukey a un nivel de significancia del 5%, a través de los 6 años de evaluación.

Los valores promedios para el producto Bassianil (T1) para los tres años (1993, 1994 y 1996) fueron los siguientes: Concentración de esporas/gramo $1,05 \times 10^9$; germinación 47,4%; porcentaje de mortalidad 25,26% en un tiempo de mortalidad de 5,39 días. Se presentaron diferencias significativas en la concentración de esporas a favor del año 1996 (Fig. 1).

El T2 (Brocaril WP) se evaluó por cuatro años (1993, 1994, 1995 y 1996). Los promedios encontrados fueron: Concentración de esporas/gramo $3,9 \times 10^9$; germinación 71,8%, porcentaje de mortalidad 32,78 y tiempo de 6,5 días. No se encontraron diferencias para las variables concentración, mortalidad y tiempo, pero sí para la variable germinación (Tukey 5%) (Fig. 2).

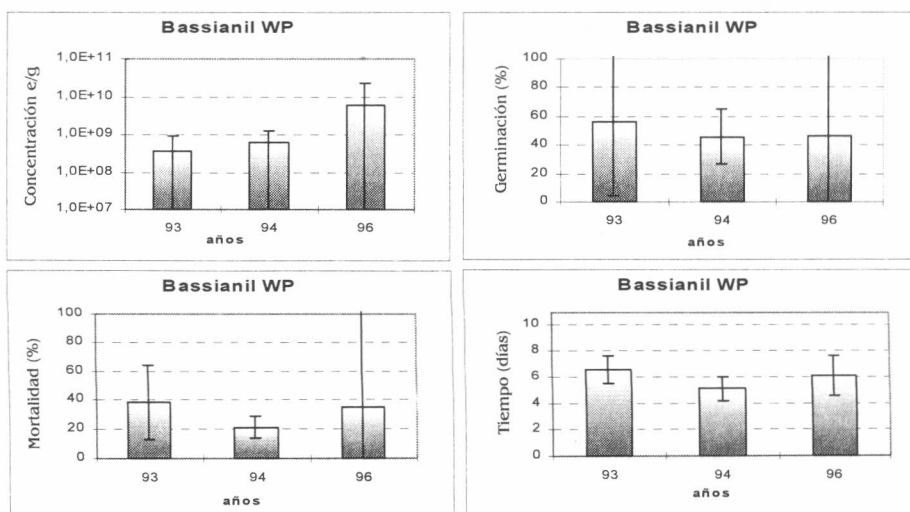


Figura 1. Promedio de las variables: Concentración de esporas/gramo, Germinación (%), Mortalidad (%) y Tiempo de mortalidad (días) del producto Bassianil WP.

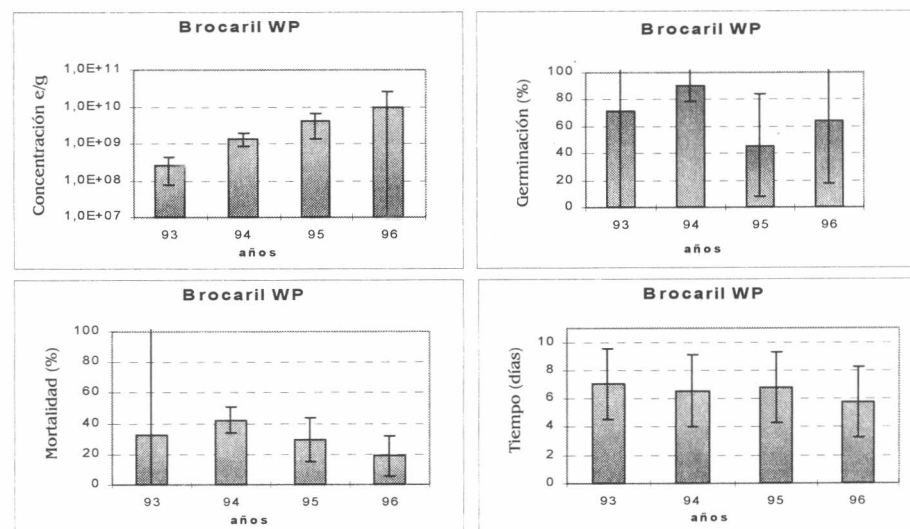


Figura 2. Promedio de las variables: Concentración de esporas/gramo, Germinación (%), Mortalidad (%) y Tiempo de mortalidad (días) del producto Brocaril WP.

El producto Brocaril liofilizado (T3) fue recibido por dos años (1994, 1995), destacándose como el mejor producto formulado. Los promedios obtenidos a través del tiempo fueron: Concentración $4,3 \times 10^{10}$ e/g; germinación 95,8%; mortalidad del 91,56% en un tiempo de 4,5 días. Se presentaron diferencias significativas para las variables germinación, mortalidad y tiempo, a favor del año 1994 (Fig. 3). No obstante, las buenas características biológicas, presentó taponamiento de boquillas (aspersora presión previa retenida con boquilla HC-3) por el tamaño de partícula del inerte.

A pesar de que la concentración del producto Conidia WP (T4) presentó en los dos años de evaluación (1993, 1994) muy buen promedio de esporas ($1,1 \times 10^{10}$), los promedios de germinación, mortalidad y tiempo estuvieron por debajo de los parámetros establecidos. No se presentaron diferencias significativas en las variables en los dos años de evaluación (Fig. 4).

Es de anotar que los tratamientos 1, 2 y 4 fueron formulaciones en polvo mojable que no cumplieron con los estándares de calidad, probablemente debido al tipo de inerte, el cual favoreció la presencia de contaminantes y causó pérdida de humedad de las conidias, retardando los procesos de germinación y patogenicidad.

El tratamiento Conidia WG (T5), elaborado en gránulos dispersables, inició su producción en 1994 hasta la fecha. Los promedios para las cuatro variables fueron: Concentración $4,4 \times 10^{10}$ e/g; germinación del 49%, mortalidad del 35% y tiempo de 4,9 días. Se presentaron diferencias significativas (Tukey 5%) en la germinación a favor de los años 1997 y 1998 respecto a los años anteriores. Igual ocurrió con la patogenicidad la cual fue mayor para los años 97 y 98 (Fig. 5).

La Cepa Cenicafé (T6) fue producida artesanalmente en botella, siguiendo la metodología de Antía *et al.* (1992), elaborado por un laboratorio particular ubicado en las instalaciones de Cenicafé-granja. Los promedios en los seis años de evaluación han sido los siguientes: concentración de esporas/gramo $3,7 \times 10^9$; germinación 84,8%; mortalidad 80,75% en un tiempo de 4,7 días. En todo el tiempo de seguimiento de la calidad de las formulaciones de *B. bassiana*, conservó las cualidades biológicas y físicas y mejoró la concentración significativamente en 1997 y 1998 con respecto a los años anteriores (Fig. 6).

En la producción artesanal (T7) se incluyeron las producciones en arroz recibidas de las Cooperativas de Caficultores, agricultores y personas particulares que han incurrido en el proceso de comercialización. En general los resultados mostraron promedios aceptables para las cuatro variables, así: Concentración $3,9 \times 10^9$ e/g, germinación 86%, mortalidad de 79% en 4,9 días. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas en los cinco años de evaluación para ninguna de las variables (Fig. 7).

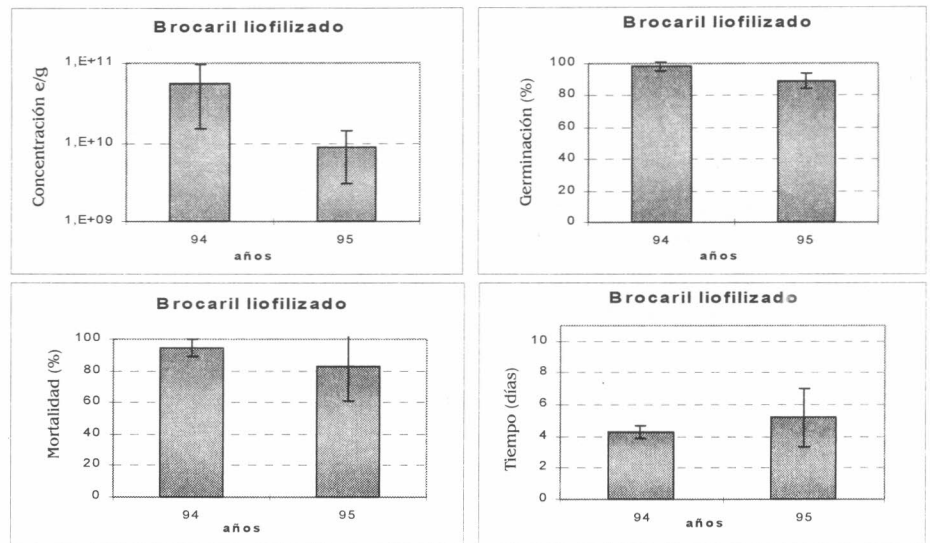


Figura 3. Promedio de las variables: Concentración de esporas/gramo, Germinación (%), Mortalidad (%) y Tiempo de mortalidad (días) del producto Brocaril liofilizado.

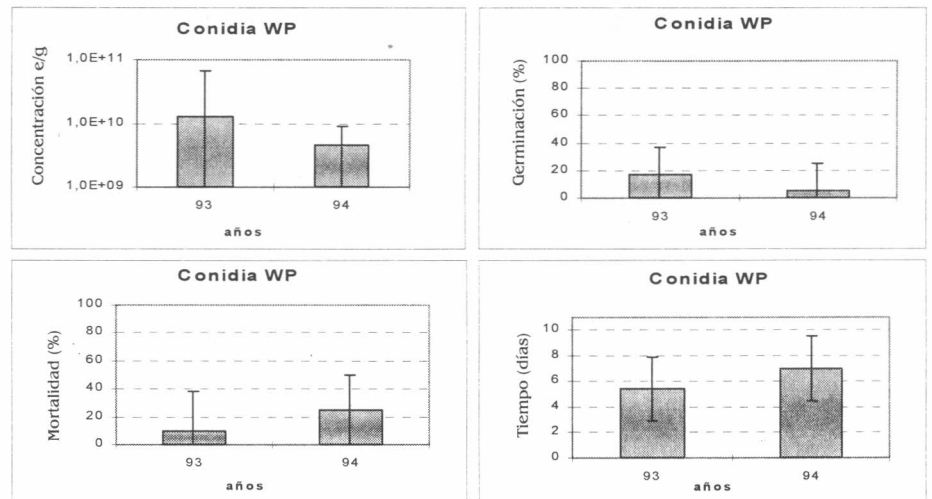


Figura 4. Promedio de las variables: Concentración de esporas/gramo, Germinación (%), Mortalidad (%) y Tiempo de mortalidad (días) del producto Conidia WP.

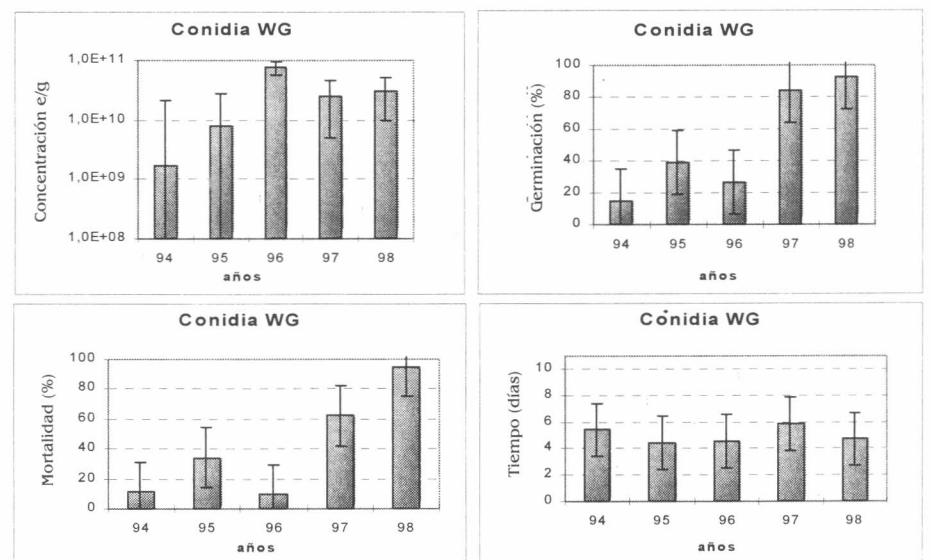


Figura 5. Promedio de las variables: Concentración de esporas/gramo, Germinación (%), Mortalidad (%) y Tiempo de mortalidad (días) del producto Conidia WG.

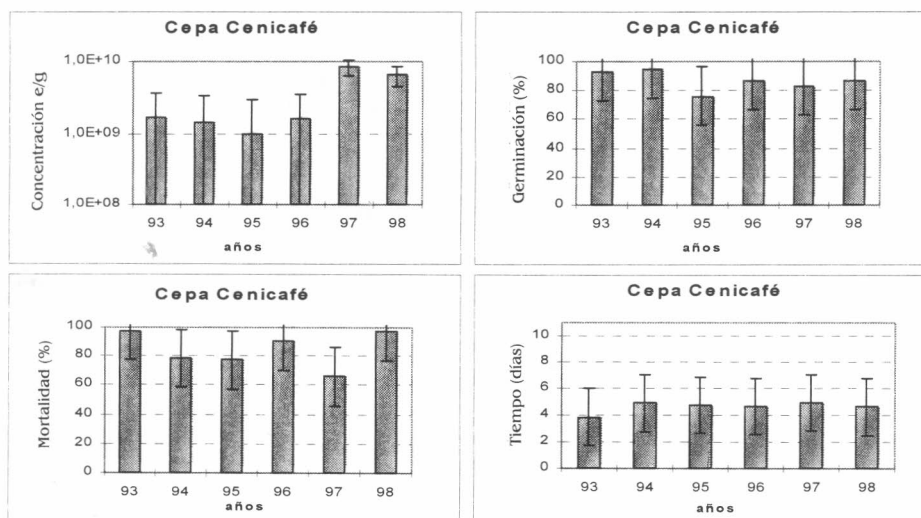


Figura 6. Promedio de las variables: Concentración de esporas/gramo, Germinación (%), Mortalidad (%) y Tiempo de mortalidad (días) de la Ceba Cenicafé.

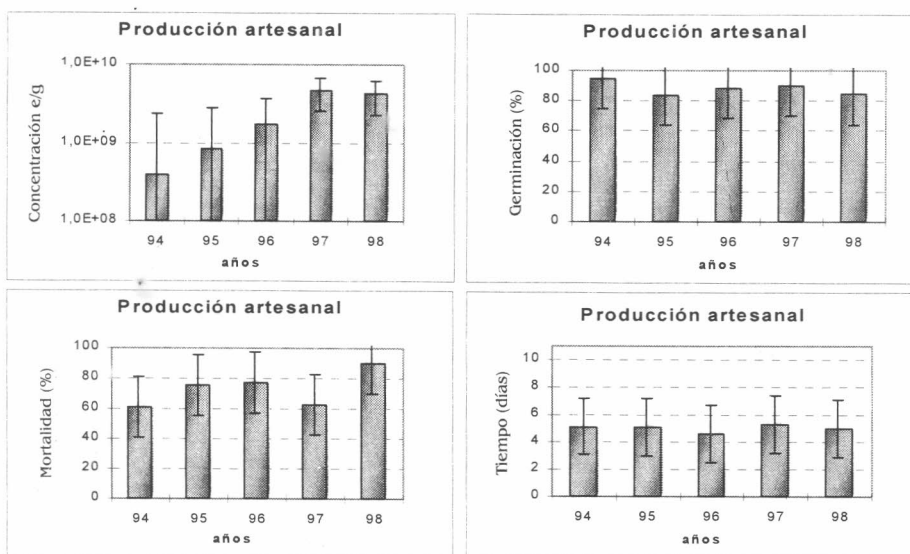


Figura 7. Promedio de las variables: Concentración de esporas/gramo, Germinación (%), Mortalidad (%) y Tiempo de mortalidad (días) de la producción artesanal.

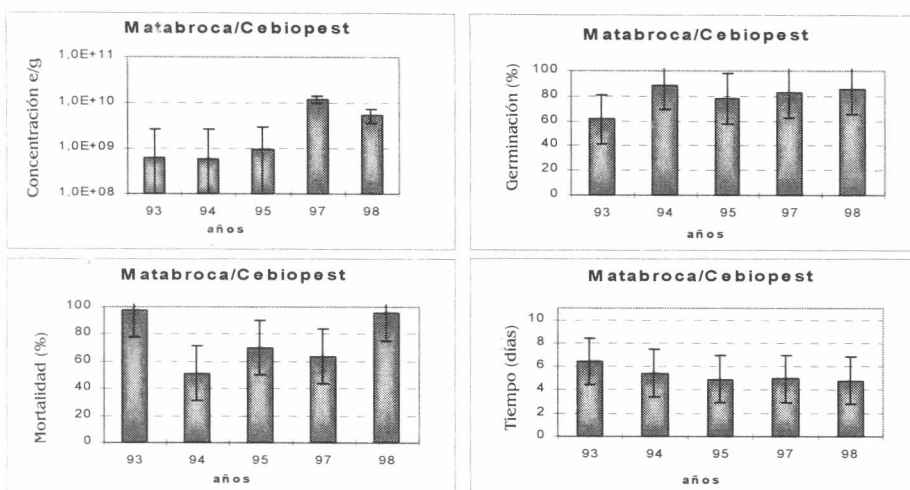


Figura 8. Promedio de las variables: Concentración de esporas/gramo, Germinación (%), Mortalidad (%) y Tiempo de mortalidad (días) de la producción Matabroca/Cebiopest.

El tratamiento 8 correspondió a la formulación del hongo en arroz inicialmente denominada "Matabroca" el cual era empaquetado en bolsa plástica de polipropileno (1993, 1994, 1995) y posteriormente denominado Cebiopest cambiando su presentación de empaque a bolsas metalizadas. Los resultados han mostrado en general altos promedios de concentración y germinación de esporas, sin embargo, el promedio de mortalidad en los cinco años evaluados fue de 68,8%. Se presentaron diferencias significativas (Tukey 5%) en el año 98 para las variables concentración y mortalidad con respecto a los años 94, 95 y 97 (Fig. 8).

El tratamiento 9 (T9) o patrón de referencia ha sido el más estable y el mejor producto en arroz en todo el tiempo de evaluación, presentando promedios de concentración de $1,9 \times 10^{10}$ e/g, germinación de 89%, mortalidad del 90% y tiempo promedio de 4,7 días. No se presentaron diferencias significativas a través del tiempo para las cuatro variables. Es de anotar que estas producciones corresponden a lotes pequeños utilizados como patrón de referencia en el proceso de calidad, evaluación de aislamientos de Cenicafé, distribución de cepa madre a las diferentes casas comerciales y ensayos de laboratorio y campo tanto de Cenicafé como de otras instituciones (Fig. 9).

Los resultados anteriores muestran que el aislamiento Bb9205 producido en arroz, pese a que presenta variaciones inherentes a su fisiología y condiciones medioambientales, ha sido el más estable a través del tiempo, lo que deja al descubierto la necesidad de continuar desarrollando investigación en el área de formulaciones, dado que hasta el momento cuando se adiciona al hongo cualquier insumo o inerte (talco, bentonita, tierra de diatomáceas, entre otros) los hongos no logran conservar las cualidades biológicas y alteran las propiedades físicas del mismo. Igualmente, se pone de manifiesto los esfuerzos realizados por Cenicafé para desarrollar investigaciones que conduzcan al conocimiento integral de los hongos tales como: efecto de la luz ultravioleta en laboratorio y campo (Vélez 1993), pH, tiempo y condiciones óptimas de almacenamiento (González 1994), evaluaciones en campo (Bustillo *et al.* 1991, Benavides y Posada 1995), tecnologías de aplicación en campo (Villalba *et al.* 1998), técnicas para el análisis de calidad (Vélez *et al.* 1997), selección de aislamientos y mejoramiento de cepas (Vélez 1996). En cuanto a la adopción en finca del hongo *B. bassiana*, Duque y Chaves (1997) registran un 13% en nueve departamentos cafeteros de Colombia, pero anotan que el caficultor piensa que el hongo es muy lento en su acción; sin embargo, en la medida en que se mejore la calidad biológica y fisicoquímica de las formulaciones, la posibilidad de que los agricultores adopten el hongo *Beauveria bassiana*, como otro componente en el Manejo Integrado de la Broca, es mayor.

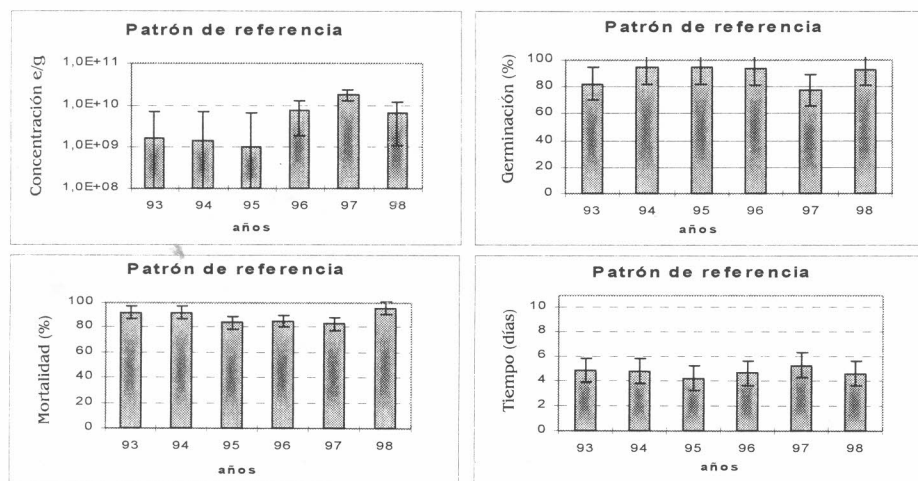


Figura 9. Promedio de las variables: Concentración de esporas/gramo, Germinación (%), Mortalidad (%) y Tiempo de mortalidad (días) del patrón de referencia.

Conclusiones y Recomendaciones

- El conocimiento adquirido permite realizar retroalimentación con los caficultores y productores acerca de los requerimientos específicos del hongo para el desarrollo de una formulación óptima.

- Se deben realizar estudios donde se evalúen los factores que influyen en los procesos de germinación (tipos de inerte, tiempo de secado, procesos de deshidratación), requerimientos nutricionales específicos para cada hongo y condiciones adecuadas de almacenamiento necesarias para garantizar la estabilidad del producto final a través del tiempo.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a los señores Eduardo Osorio, Myriam Giraldo, Carlos A. Quintero y Sergio Sánchez por su gran colaboración en el desarrollo de la investigación.

Bibliografía

ANTIA, O. P.; POSADA, F. J.; BUSTILLO, A. E.; GONZALEZ, M. T. 1992. Producción en finca del hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café. *Avances Técnicos Cenicafé*, No. 182, 12 p.

BATEMAN, R. P. 1992. Controlled droplet application of mycopesticides to locusts. En: LOMER, C. J.; PRIOR, C. (eds.), *Biological control of locusts and grasshoppers*. Wallingford, UK; CAB International, p. 249-254.

BENAVIDES M., P.; POSADA F., F. J. 1995. Efecto de *Beauveria bassiana* sobre poblaciones de broca del café *Hypothenemus hampei*, en cafetales zoqueados. En: *Resúmenes Congreso Socolen*, 22. Santafé de Bogotá, julio 26-28, p. 54.

BRADY, B. L. 1981. Fungi as parasites of insects and mites. *Biocontrol News and Information* 2: 281-296.

BRIDGE, P. D.; ABRAHAM, Y. J.; CORNISH, M. C.; PRIOR, C.; MOORE, D. 1990. The chemotaxonomy of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) isolates from the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Mycopathologia* 111: 85-90.

BROWNLEE, H. E.; HEDGER, J.; SCOTT, I. M. 1990. Host extracts cause morphological variation in germ-tubes of the cocoa pathogen, *Crinipellis perniciosa*. *Mycological Research* 94: 543-547.

BURGES, H. D. 1967. The standardization of products based on *Bacillus thuringiensis*. En: VAN DER LAAN, ed. *Insect Pathology and Microbial Control*. Amsterdam. North Holland Publishing Co. p. 306-312.

BURGES, H. D. 1981. Safety, safety testing and quality control of microbial pesticides. En: BURGES, H. D. ed. *Microbial control of pests and plant diseases. 1970-1980*, London, Academic Press. p. 737-767.

BUSTILLO P., A. E.; CASTILLO, H.; VILLALBA, D.; MORALES, E.; VELEZ, P. 1991. Evaluaciones de campo con el hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* en Colombia. En: *Colloque Scientifique Internationale Sur le Café*, 14. San Francisco, Juillet 14-19, 1991. Paris, ASIC. p. 679-686.

CHARNLEY, A. K. 1989. Mycoinsecticides: present use and future prospects. En: *Progress and prospects in insect control*. BCPC Monograph (43): 165-181.

CLARKSON, J. M. 1992. Molecular approaches to the study of entomopathogenic fungi. En: LOMER, C. J.; PRIOR, C. (eds.), *Biological Control of locusts and grasshoppers*. Wallingford, UK; CAB International, p. 191-199.

DUQUE O., H.; CHAVES C., B. 1997. Estudio de adopción de tecnología en Manejo Integrado de Broca *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Chinchiná (Colombia). *Cenicafé*. 114 p.

FERRON, P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. En: BURGES H. D. (ed.), *Microbial control of pests and*

plant diseases 1970-1980. London; Academic Press, p. 465-482.

GILLESPIE, A. T. 1988. Use of fungi to control pests of agricultural importance. En: BURGE, M. N. (ed.), *Fungi in biological control systems*. Manchester, UK; Manchester University Press, p. 37-60.

GOETTEL, M. S.; POPRAWSKI, T. J.; VANDENBERG, J. D.; LI, Z.; ROBERTS, D. W. 1990. Safety to nontarget invertebrates of fungal biocontrol agents. En: LAIRD M.; LACEY L. A.; DAVIDSON E. W. (eds.), *Safety of microbial insecticides*. Boca Raton, Florida, USA; CRC Press, p. 209-231.

GONZALEZ G., M. T. 1994. Efecto de la edad, pH, condiciones de almacenamiento, y subcultivos sobre la patogenicidad de *Beauveria bassiana* a la broca del café *Hypothenemus hampei*. En: *Cultivo de hongos promisorios*. Chinchiná (Colombia), Noviembre 3-5, 1994. Ed. Chinchiná (Colombia), Cenicafé-ACAC. 1994. P. V.

GONZALEZ, M. T.; POSADA, F. J.; BUSTILLO, A. E. 1993. Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. *Revista Cenicafé (Colombia)*: 44(3): 93-102.

HABIB, M. E. M. 1986. Padronização de inseticidas microbianos. En: *Controle microbiano de insetos*, ed., cap. 15, p. 289-296. Editora Manole Ltda., São Paulo, Brasil 407 p.

HALL, R. A.; ZIMMERMANN, G.; VEY, A. 1985. Guidelines for the registration of entomogenous fungi as insecticides. *Entomophaga* 27(2): 121-127.

ICA. 1991. Resolución N° 4313 del 5 de diciembre de 1991. Por la cual se dictan disposiciones sobre producción, comercialización y manejo de los insecticidas microbianos y nemátodos entomopatógenos. Santafé de Bogotá, Diario Oficial, 26 p.

KELLER, S. 1992. The *Beauveria-Melolontha* project: experiences with regard to locust and grasshopper control. En: LOMER C. J.; PRIOR C. (eds.), *Biological control of locusts and grasshoppers*. Wallingford UK, CAB International, p. 279-286.

KHLOPTSEVA, R. I. 1992. The use of microbial preparations in the USSR. *Biocontrol News and Information* 13(2):29N-32N.

MAAS GEESTERANUS, H. P.; NOORDINK, J. Ph. W.; VAN DEN ANKER, C. A. 1967. A bioassay to characterize strains and preparations of *Bacillus thuringiensis* Berliner. En: P. A. VAN DER LAAN, (ed.), *Insect Pathology and Microbial Control*, ed. p.302-306. North Holland Publishing Co., Amsterdam, 360 p.

McCOY, C. W. 1986. Factors governing the efficacy of *Hirsutella thompsonii* in the field. En: SAMSON R. A.; VLAK J. M.; PETERS D. (eds.), *Fundamental and applied aspects of invertebrate pathology*. Wageningen, Netherlands; Foundation of the IV International Colloquium of Invertebrate Pathology, p. 171-174.

McCOY, C. W.; TIGANO-MILANI, M. S. 1992. Use of entomopathogenic fungi in biological control: a world view. *Pesq. Agropec. Bras.* 27: 87-93.

MENDONCA, A. F. 1992. Mass production, application and formulation of

- Metarhizium anisopliae* for control of sugarcane froghopper, *Mahanarva posticata*, in Brazil. En: LOMER C. J.; PRIOR C. (eds.), Biological control of locusts and grasshoppers. Wallingford, UK, CAB International, p.239-244.
- MOORE, D.; PRIOR, C. 1993. The potencial of mycoinsecticides. International Institute of Biological Control, Silwood Park, Buckhurst Road, Ascot, Berks, SL5 7TA, UK. Biocontrol News and Information 14 (2): 31N-40N.
- MOORE, D.; REED, M.; LE PATOUREL, G.; ABRAHAM, Y. J.; PRIOR, C. 1992. Reduction of feeding by *Schistocerca gregaria* Forsk. after infection by *Metarhizium flavoviridae* (Gams and Rozypal). Journal of Invertebrate Pathology 60: 304-307.
- MÜLLER-KÖGLER, E. 1967. On mass cultivation, determination of effectiveness, and standardization of insect pathogenic fungi. En: P. A. VAN DER LAAN, (ed.), Insect Pathology and Microbial Control, p.339-353. North Holland Publishing Co., Amsterdam, 360 p.
- MURPHY, S. T.; MOORE, D. 1990. Biological control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera Scolytidae): previous programmes and possibilities for the future. Biocontrol News and Information 11: 107-117.
- PINNOCK, D. E. 1990. The use of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* for control of soil pests. En: CASIDA J. E. (ed.). Pesticides and alternatives: innovative chemical and biological approaches to pest control. Amsterdam; Elsevier Science Publishers, p. 171-174.
- REINECKE, P.; ANDERSCH, W.; STENZEL, K.; HARTWIG, J. 1990. BIO 1020, a new microbial insecticide for use in horticultural crops. Brighton Crop Protection Conference-Pests and Diseases, p. 49-54.
- RICHARDS, M. G.; ROGERS P. B. 1990. Commercial development of insect biocontrol agents. En: The exploitation of microorganisms in applied biology. Aspects of Applied Biology 24: 245-253.
- SAMSON, R. A.; EVANS, H. C.; LATGE, J. P. 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. New York; Springer Verlag, 187p.
- VELEZ A., P. E. 1993. Efecto de la radiación solar en la supervivencia del hongo *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin aplicado en diferentes formulaciones al café. Resúmenes Congreso Socolen, 20. Cali, p. 101.
- VELEZ A., P. E. 1996. Caracterización y obtención de cepas mejoradas de hongos entomopatógenos. En: BIOTECNOLOGÍA cinco años de investigaciones en Colombia. 1991-1996. Santafé de Bogotá (Colombia), COLCIENCIAS. p.91-92. Esp.
- VELEZ A., P. E.; POSADA F., F. J.; MARIN M., P.; GONZALEZ G., M. T.; OSORIO V., E.; BUSTILLO P., A. E. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Boletín Técnico No 17. Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia. 37p.
- VILLALBA G., D. A.; POSADA F., F. J.; BUSTILLO P., A. E.; CHAVES C., B. 1998. Evaluación de insecticidas químicos y biológicos para el control de la broca del café en parcelas comerciales en fincas de caficultores. Resúmenes Congreso Socolen 25. Cali, p. 116.