

Evaluación de formulaciones en aceite y en agua del hongo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin en campo

.....

Evaluation of oil and water formulations of the fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in the field

.....

Patricia Eugenia Vélez Arango¹

Resumen

Con el propósito de evaluar la viabilidad del hongo *B. bassiana* (Bb-9205) en un ecosistema cafetero bajo condiciones de sol y sombra artificial (Estación Central Naranjal, CENICAFE, 1400 m.s.n.m), se realizaron aspersiones del hongo en agua (10 ml de aceite de uso agrícola para 20 lt de agua) y en aceite tersol (formulación del hongo en aceite al 10% en agua, más agente emulsificante: 500 ml/100 lt de formulación). En las 12 parcelas seleccionadas para cada condición, al sol y a la sombra, se sortearon aleatoriamente, seis para la aspersión del hongo en agua y seis para la aspersión de la formulación del hongo en aceite. Se seleccionaron parcelas de 50 árboles incluyendo las márgenes, para un total de 30 ramas y 120 frutos de las ramas seleccionadas (unidad experimental). Las aplicaciones se realizaron con el equipo "Ulvafan" de bajo volumen, utilizando la boquilla roja la cual tiene un flujo de 70 cc/min. Se utilizó un volumen de aplicación/rama de 17,5 ml y una dosis de hongo de $4,02 \times 10^9$ conidias/rama. La aspersión de las diferentes preparaciones del hongo se realizó mediante una aplicación dirigida a la parte superior e inferior de la rama. Se evaluó en diferentes tiempos (0, 2, 4, 5, 24, 48 y 336 h) de exposición de las preparaciones del hongo a los factores climáticos, la viabilidad de éste en los frutos seleccionados. Dicha estimación se realizó mediante el método de siembra de diluciones sucesivas de la muestra original (120 frutos en 30 ml de glicerol al 10%) en la superficie del medio selectivo para el aislamiento del hongo *B. bassiana* (Bb). Los tratamientos se evaluaron bajo un diseño de clasificación simple con un arreglo factorial 2x2 (dos condiciones de luminosidad del cultivo y dos preparaciones del hongo). Para evaluar las respuestas de los tratamientos se realizó un análisis de la variable

tasa relativa de reducción de la viabilidad del hongo Bb-9205 en cada uno de los tratamientos, de manera que el tratamiento seleccionado correspondía al de menor tasa relativa con una reducción menor de la viabilidad a través del tiempo. El análisis de los resultados no mostró diferencias entre los tratamientos bajo las modalidades sol y sombra, ni en la interacción medio-condición de luminosidad. El valor promedio de la tasa relativa de los tratamientos evaluados fue del 45,97%. Para cada uno de los tratamientos se observó recuperación del hongo en todos los tiempos evaluados (0 a 336 h). La respuesta obtenida muestra la persistencia del hongo *B. bassiana*, en las preparaciones en agua y en aceite, en el ecosistema cafetero, en condiciones de sol y sombra, a través del tiempo de evaluación y su potencial para el control biológico de la broca del café, *Hypothenemus hampei*.

Palabras claves: Control Biológico, *Hypothenemus hampei*, *Beauveria bassiana*, Formulación en aceite, Elementos climáticos.

Summary

In an attempt to evaluate the viability of the fungus *Beauveria bassiana* (Bb-9205) on the coffee ecosystem, under sunlight and artificial shadow (Naranjal Central Station, CENICAFE, 1400 m.s.n.m.), spraying of the fungus: *Bb* in water (10 ml of oil for agricultural use, in 20 lt of water) and *Bb* in tersol oil (10% of oil formulation of the fungus in water, plus the emulsifier agent: 500 ml/100 lt of formulation) was carried out. The sun and shadow plots (12 for each condition) were randomly selected, six to the water preparation and six to the oil formulation of the fungus. Plots of 50 trees with the borders were selected, for a total number of 30 branches and 120 coffee berries per branch (experimental unit). The sprayings were made with a low volume "Ulvafan", with a nozzle with a flux of 70cc/min. The spraying volume per branch was 17.5 ml, with a dose of $4,02 \times 10^9$ conidia. The spraying was directed to the upper and lower side of the branch. The vi-

ability of the fungus *Bb* on the selected berries was evaluated at different times (0, 2, 4, 5, 24, 48 and 336 h) of exposure of the preparations to the climatic factors. The estimation was made by the method of culture of successive dilutions of the initial sample (120 berries in 30 ml of 10% glycerol) on the surface of a selective medium for the isolate of *B. bassiana*. The treatments were evaluated under simple classification design with a factorial arrange 2x2 (two luminosity conditions, sun and artificial shadow and two preparations on the fungus, oil and water). In order to measure the response of the treatments, the variable relative ratio of reduction of the viability of the fungus *Bb*-9205 in each treatment was evaluated, and the selected treatment was that with the lower relative ratio, which had the lower reduction of the viability throughout time. The analysis of the results did not show any difference between treatments under sun and shadow, neither the interaction preparation - luminosity condition. The mean value of the relative ratio of reduction of viability of the treatments was 45.97%. Recovery of the fungus *B. bassiana* in the evaluated times was registered for all the treatments. The response shows the persistence of both preparations of the fungus *B. bassiana* (oil and water) on the coffee ecosystem, under sun and shadow conditions, throughout the time of evaluation and its biological potential to control the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*.

Key words: Biological control, *Hypothenemus hampei*, *Beauveria bassiana*, Oil formulation, Climatic elements.

Introducción

En Colombia la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) es el insecto que más afecta la caficultura y su daño se refleja en la destrucción y caída de frutos. Colombia presenta un ecosistema muy favorable para su desarrollo y diseminación debido a las condiciones de clima y temperatura (Cenicafé 1993).

Con la aparición de la broca en el Departamento de Nariño en 1988, se implementó el uso de hongos entomopatógenos como una medida de control biológico, dentro del programa de manejo integrado de la broca (Cenicafé 1994).

Trabajos llevados a cabo en Cenicafé, en los cuales se han realizado aspersiones del hongo *B. bassiana* (Bb) en condiciones de campo, indican que se pueden producir epizootias mediante la aspersión de éste en cafetales con broca. Es así como se han obtenido porcentajes de control hasta del 64%, después de dos meses de evaluación, asperjando el hongo en dosis aproximadas de 1×10^8 esporas por árbol (Bustillo *et al.* 1991).

¹ Investigador Científico I, Disciplina de Entomología, CENICAFE, Chinchiná, Caldas. A.A. 2447, Manizales.

Otros trabajos en campo con el hongo entomopatógeno *B. bassiana* aplicado para el control de la broca del café, no han registrado altos porcentajes de infección del hongo (Flórez 1993), lo cual puede atribuirse a factores de tipo exógeno presentes en el ecosistema cafetero.

Experimentos en campo, tendientes a evaluar el efecto de la radiación solar global en la supervivencia de UFC/ml del hongo *B. bassiana* en diferentes formulaciones, en frutos de café, al sol y a la sombra, han mostrado que aún cuando la radiación solar desempeñó un papel decisivo en la respuesta de los tratamientos, lo cual se confirmó por la supervivencia de propágulos del hongo a través del estudio, en condiciones de sombreado, el uso de diferentes formulaciones del hongo *B. bassiana* se mostró promisorio en el control de la broca del café *H. hampei*, en nuestras condiciones climáticas (Vélez y Montoya 1993).

Factores de tipo abiótico como la luz solar, la temperatura, el agua o la humedad y las sustancias químicas determinan el éxito o el fracaso de un agente de control biológico en el campo (Couch e Ignoffo 1981).

La radiación solar, especialmente la de tipo ultravioleta, tiene un papel importante en la mortalidad de esporas de hongos (Rotem y Aust 1991). La luz solar puede inactivar a los entomopatógenos en forma directa, a través de delecciones, uniones cruzadas, ruptura de bandas y formación de sitios lábiles en la molécula del DNA y en forma indirecta, debido a la formación de radicales altamente reactivos, los cuales a su vez inactivan a los entomopatógenos, reduciendo su persistencia en el campo (Ignoffo y Batzer 1971).

La luz solar es probablemente el factor más destructivo del medio ambiente para la persistencia de entomopatógenos y pesticidas comerciales microbiales. Las temperaturas que prevalecen en la mayoría de los agroecosistemas (entre 10 y 40°C) generalmente no afectan en forma adversa a los entomopatógenos. Los efectos de las temperaturas extremas, sin embargo, pueden afectar cuando los entomopatógenos han sido ya afectados por otros factores tales como luz, agua, químicos, etc. (Rotem y Aust 1991; Ignoffo 1992).

El efecto de la humedad del agua en los entomopatógenos es algo difícil de separar de otros factores del medio ambiente. La humedad o agua por sí solas, generalmente no afectan en forma directa la actividad y viabilidad de entomopatógenos bacteriales y virales. En contraste, la humedad es un requerimiento primordial para la germinación de las conidias y la sobrevivencia de los hongos entomopatógenos y la falta de humedad reduce la vi-

lencia de muchas esporas de protozoarios (Ignoffo 1992).

Para avanzar en el control de plagas con hongos entomopatógenos se requieren formulaciones que sean resistentes a la acción de la luz solar. Dichas formulaciones están basadas en diluyentes como los aceites, los cuales no se evaporan rápidamente y aseguran protección al hongo del efecto de la radiación (Bateman *et al.* 1993)

Experimentos en los cuales se sometieron suspensiones conidiales del hongo *B. bassiana* en aceite y en agua, al efecto de la luz ultravioleta, en un simulador de luz solar, confirmaron el efecto letal de ésta sobre la germinación de conidias del hongo (aislamiento de *Bb* I91 650, CAB Institute, Inglaterra). Sin embargo, se plantea un mecanismo protector del aceite, lo que puede reducir el efecto directo de la luz ultravioleta sobre las conidias (Vélez y Montoya 1993).

El objetivo principal de este estudio fue evaluar en condiciones de campo, bajo sol y sombra artificial, el efecto de los elementos climáticos, temperatura, humedad relativa y radiación solar global en la supervivencia del hongo *B. bassiana* en diferentes presentaciones (agua y aceite).

Materiales y Métodos

El experimento se llevó a cabo en la Estación Central Naranjal, a una altitud de 1400 m.s.n.m., en un lote con café variedad Colombia. Se seleccionaron al azar 24 parcelas, 12 al sol y 12 a la sombra. Esta última condición se logró mediante el empleo de la tela negra "polisombra", la cual cubrió la parte superior y las partes laterales de la parcela, suministrando un 53% de luminosidad.

En las parcelas seleccionadas, al sol y a la sombra, se sortearon al azar dos tratamientos, uno, en el cual se aplicó la preparación del hongo *Beauveria bassiana* (*Bb*) en agua (10 ml de aceite de uso agrícola (0.05%) por botella de hongo, para un volumen total de 20 lt de agua) tal como lo utiliza el caficultor y el otro, en el cual se empleó el hongo *Bb* formulado en aceite "Tersol" (Shell, aceite mineral blanco, grado U.S.P., seleccionado previamente en laboratorio) al 10 % en agua, más un agente emulsificante.

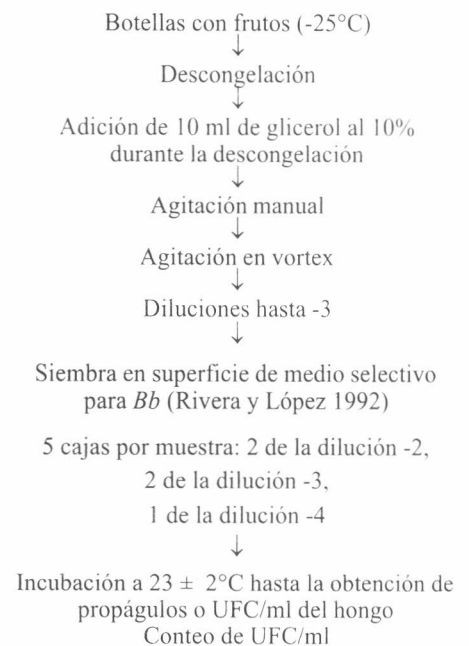
Para la aspersión del hongo *Bb*, en agua y en aceite, se seleccionaron parcelas de 50 árboles, incluyendo los bordes. Así mismo, se realizó la selección y marcación de las ramas por parcela, para un total de 30 ramas y 120 frutos de las ramas seleccionadas (Unidad experimental). Se evaluó el porcentaje inicial de infestación por broca e infección por el hongo *Bb*, tomando tres ramas por parcela, las cuales fueron asperjadas posteriormente con las

preparaciones del hongo y en las cuales no se realizó toma de frutos, con el fin de llevar a cabo el registro de estas variables, durante las cuatro semanas siguientes a la aspersión del hongo.

Aislamiento: Se utilizó el aislamiento de *Bb* 9205, proveniente de *Diatraea saccharalis* y cultivado en arroz (Cepa Cenicafé).

Equipo de aspersión: Las aplicaciones se realizaron con el equipo "Ulvafan" de bajo volumen, a un flujo de 70 cc/min. Se estableció un tiempo de aplicación de 15 segundos, para un volumen total de 17,5 ml de la preparación del hongo por rama y una dosis del hongo de $4,02 \times 10^9$ conidias por rama. La aspersión de las diferentes preparaciones del hongo *Bb* se realizó mediante una aplicación dirigida a la parte superior e inferior de la rama.

Una vez realizada la aspersión, se procedió a la evaluación considerando diferentes tiempos de exposición de las conidias del hongo a las variables exógenas: temperatura, radiación global y humedad relativa. Se registró el tiempo 0 y se tomaron los frutos al azar de las ramas seleccionadas. Dicha labor se realizó con pinzas y tijeras de acero inoxidable, depositando los frutos directamente a botellas estériles con 30 ml de glicerol al 10%. Posteriormente, se realizó la toma de frutos a las 2, 4, 5, 24, 48 y 336 horas (dos semanas). Las botellas con los frutos fueron transportadas al laboratorio en neveras de icopor y posteriormente almacenadas a -25°C, hasta el momento de la evaluación de la variable unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/ml) o propágulos viables del hongo. Con tal propósito, se tomó diariamente un número determinado de botellas y se realizó el siguiente procedimiento:



Los tratamientos se evaluaron bajo el diseño de clasificación simple con un arreglo factorial 2 x 2 (dos condiciones de luminosidad del cultivo y dos formulaciones del hongo).

Para evaluar la respuesta de los tratamientos se realizó un análisis de la variable tasa relativa de reducción de la viabilidad del hongo *Bb* 9205 en cada uno de los tratamientos, bajo el diseño de clasificación simple:

$$TR (\%) = \frac{I_0 - I_f}{I_0} \times 100$$

donde,

$$TR (\%) = \text{Tasa relativa de reducción en porcentaje}$$

$$I_0 = \text{Lectura inicial (UFC/ml)}$$

$$I_f = \text{Lectura final (UFC/ml)}$$

Por tanto, el tratamiento seleccionado correspondió al de menor tasa relativa, con menor reducción en la viabilidad a través del tiempo de evaluación.

Resultados y Discusión

En la tabla 1 se observa el número promedio de UFC/ml en el tiempo 0, es decir, inmediatamente después de asperjado el hongo *Bb*, en cada uno de los tratamientos. Para el tratamiento agua, al sol, el número promedio de UFC/ml es aproximadamente el doble del número registrado en el tratamiento agua, a la sombra. En el tratamiento aceite, a la sombra, el número promedio de UFC/ml correspondió al doble del registrado en el tratamiento aceite, al sol, pero estadísticamente no hay efecto ni de la interacción tipo (agua y aceite) - modalidad (sol y sombra), ni del tipo ni de la modalidad.

En este punto inicial se aprecian diferencias considerables en cuanto al promedio de las UFC/ml para cada uno de los tratamientos, lo cual es inherente al tipo de preparación asperjada, teniendo en cuenta que se partió de la misma concentración de esporas del hongo para cada uno de los tratamientos. El mayor número promedio de UFC/ml en este tiempo inicial de evaluación lo presentó el tratamiento aceite a la sombra, lo cual puede explicarse por la protección que brinda el aceite a las conidias (Vélez y Montoya 1993), para el caso de la formulación en aceite al 10% más agente emulsificante; sin embargo, este comportamiento no fue uniforme a través del tiempo de evaluación, con promedios de UFC/ml mayores para el tratamiento aceite al sol, en los tiempos de evaluación 2 y 4 horas.

Hasta las 24 horas, después de aplicado el hongo, la interacción tipo por modalidad no fue significativa, lo cual implica que la respuesta para UFC/ml es independiente de la modalidad y del tipo. En los tiempos en los cuales no

fue significativa la interacción, no hubo respuesta a la modalidad; sin embargo, a las 2 horas después de aplicado el hongo hubo respuesta en el tipo, a favor del aceite, con un promedio de 611972 UFC/ml para el aceite y de 156216 UFC/ml para el agua.

A las 48 y 336 horas la interacción fue significativa, lo cual implica que la respuesta en cuanto a permanencia del hongo, depende de la modalidad sol y sombra y del tipo agua y aceite, presentándose los mayores promedios de UFC/ml en agua al sol y en aceite a la sombra. La respuesta obtenida en estos tiempos de evaluación no permite concluir al respecto de la modalidad y del tipo, puesto que en el tiempo 48h, los mayores promedios fueron para el tratamiento agua al sol y en el tiempo 336 h, los mayores promedios fueron para el tratamiento aceite a la sombra, es decir, no se presentó una respuesta consistente a través del tiempo para una determinada condición.

A la luz de estos resultados se procedió a evaluar la tasa relativa de reducción de la viabilidad del hongo con respecto a las UFC/ml en el tiempo 0. Dichas tasas fluctuaron entre el 23,8 y el 57% de reducción, de tal manera que descriptivamente la menor tasa de reducción la presentó el tratamiento agua a la sombra, pero es de anotar que corresponde al tratamiento de menor número promedio de UFC/ml en el tiempo inicial cero.

El análisis de varianza para evaluar el efecto de tratamientos en la variable tasa de reducción no indicó efecto de la interacción tipo por modalidad. Además dicho análisis no mostró efecto del tipo ni de la modalidad. Para el análisis, los datos de tasa relativa de reduc-

ción se transformaron a arco seno raíz de porcentaje.

En general, se observaron fluctuaciones en el número promedio de UFC/ml a través del tiempo de evaluación, para cada uno de los tratamientos (Tabla 1), lo cual puede atribuirse a la presencia de frutos brocados, previamente atacados por el hongo *B. bassiana*, en las muestras evaluadas. Esto se explica, porque en el muestreo de los frutos se incluyeron frutos verdes en su mayoría y susceptibles al ataque de la broca y es posible, que aspersiones previas del hongo o la presencia de un inóculo natural diseminado a través del insecto, hayan permitido el establecimiento del hongo en el área.

La literatura registra que una broca atacada por el hongo *B. bassiana* aporta un inóculo que fluctúa entre 2,5 y 8,8 x 10⁶ esporas, para los aislamientos *Bb* 9002, *Bb* 9114, *Bb* 9116 y *Bb* 9201, es decir, el inóculo equivalente al aplicado por árbol en las aspersiones con las formulaciones comerciales. Tal respuesta, indica el carácter autidiseminativo del hongo una vez se establece en un cafetal (González *et al.* 1993) y confirma lo expresado en el párrafo anterior.

En cuanto al promedio de UFC/ml para cada uno de los tratamientos a través del tiempo de evaluación, 0 a 336 horas (14 días), cabe resaltar la persistencia del hongo *B. bassiana* en sus diferentes modalidades, agua y aceite, sol y sombra, en el lote experimental (Tabla 1; Figs. 1 y 2). Tal respuesta, se muestra promisorio en el uso de este agente de control biológico en programas de manejo integrado de la broca del café,

Tabla 1. Promedio de Unidades Formadoras de Colonia por ml (UFC/ml) según tipo y modalidad.

Tipo	Agua		Aceite	
	Sol	Sombra	Sol	Sombra
Modalidad				
Tiempo (horas)				
0	194166	90483	143483	355250
2	173133	139300	723700	518866
4	344500	230600	393666	294583
5	81416	92583	87000	246333
24	61416	94333	69833	109916
48	822166	44341	83600	183950
336	69166	42520	57766	85750
Tasa media de reducción (%)	57.0	23.8	53.4	49.7
C.V (%)	18.2	13.7	12.2	11.8

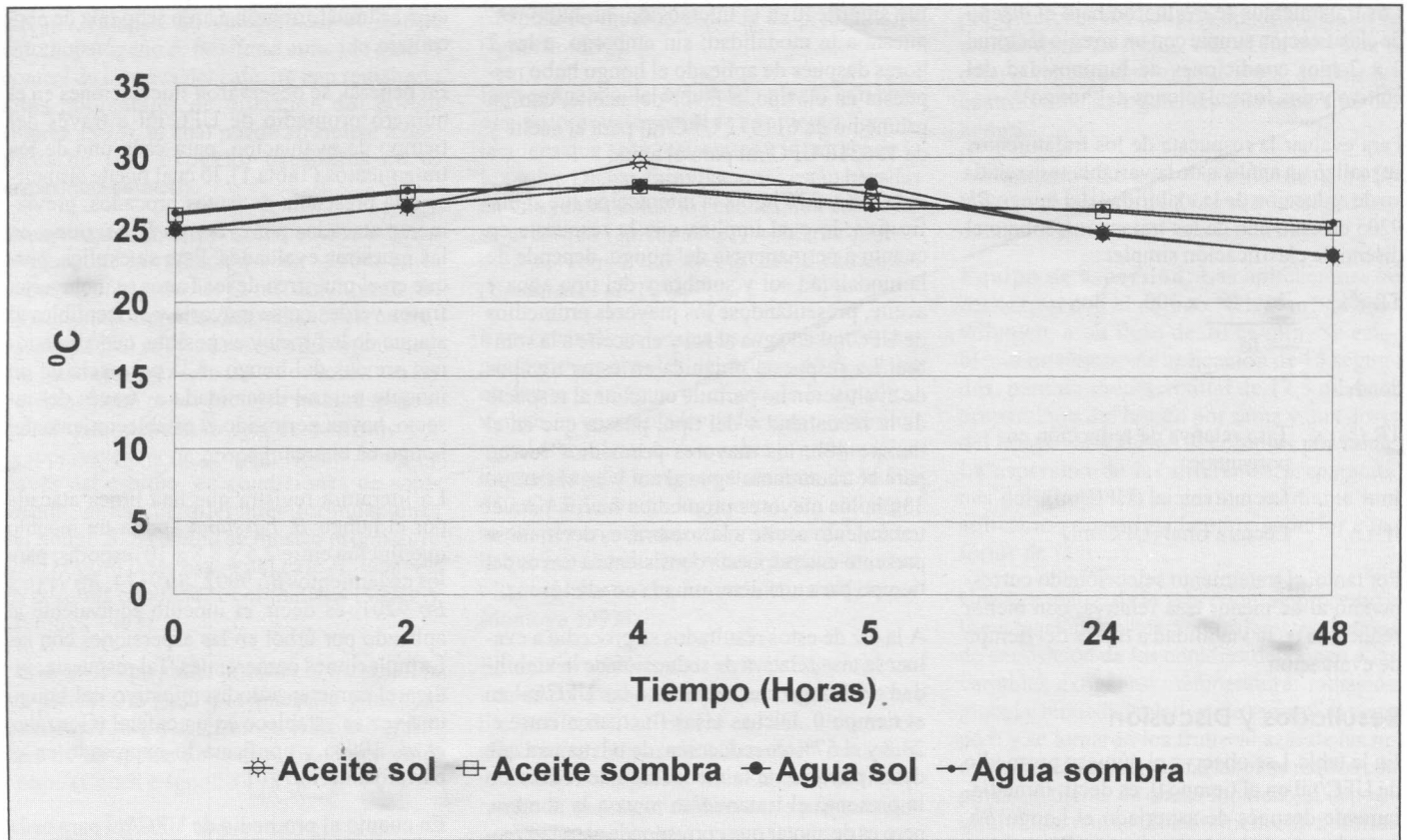


Figura 1. Comportamiento de la variable exógena temperatura, a través del tiempo de evaluación.

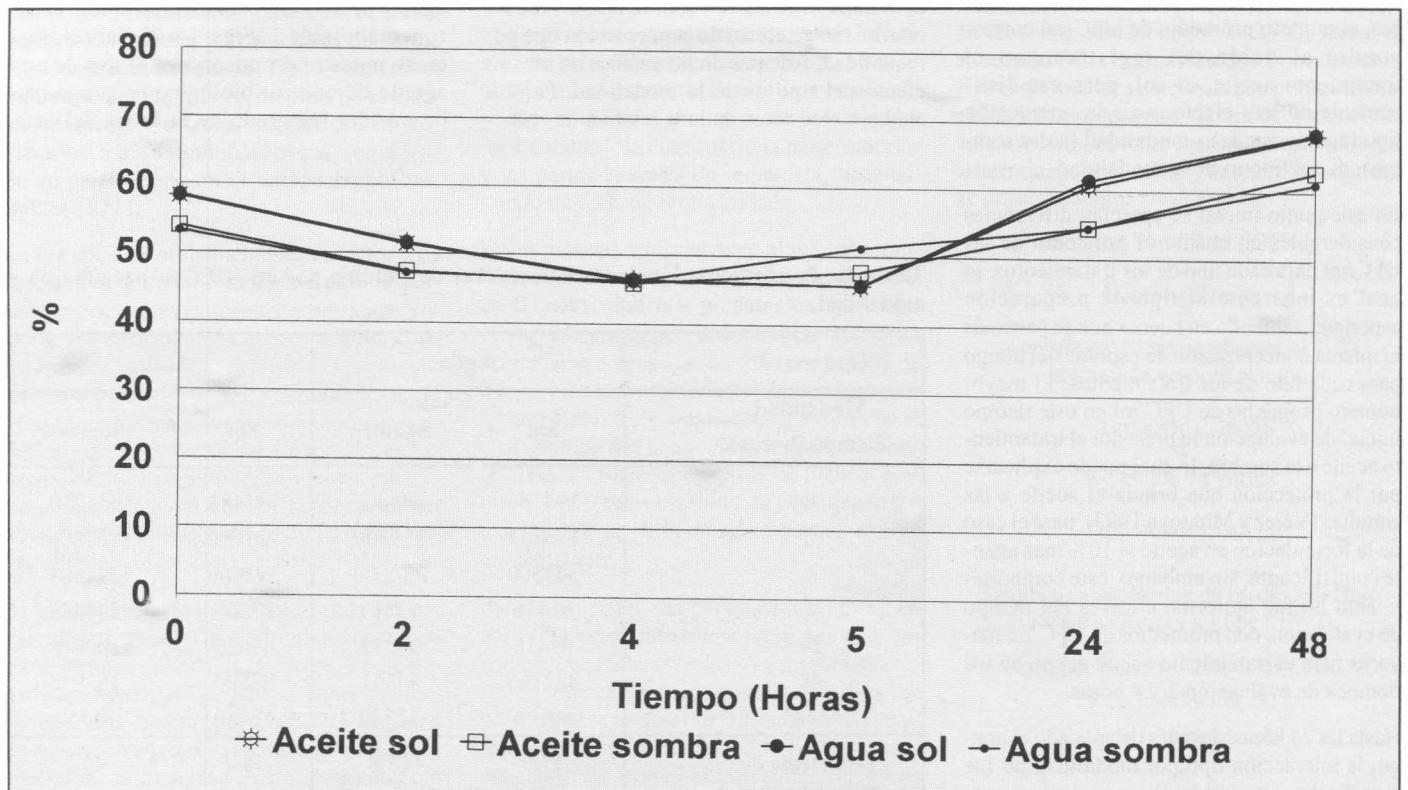


Figura 2. Comportamiento de la variable exógena humedad relativa, a través del tiempo de evaluación.

para las condiciones del ecosistema cafetero Colombiano.

Ambas preparaciones del hongo *B. bassiana*, la actualmente utilizada por el agricultor (Antía *et al.* 1992) y la formulación en aceite, al 10% más un agente emulsificante, se muestran eficientes en el control de esta plaga de importancia económica, debido a la supervivencia de propágulos del hongo en los frutos de café, como inóculo potencial para el ataque del insecto, al momento de posarse en él.

Doberski y Tribe (1980) afirman que aún cuando el hongo *B. bassiana* crece bien en un medio de cultivo puro, en la naturaleza está restringido probablemente al insecto hospedante, en cuyo cadáver puede presentar una esporulación profusa. Así mismo, Heimpel, (1972) citado por Barnes *et al.* (1975), registra que los hongos *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae* son altamente patógenos a varios insectos, pero la influencia de condiciones ambientales locales ha causado fallas en su uso para el control de insectos en el follaje.

Gardner *et al.* (1977) evaluaron la persistencia de *Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi* y *Nosema necatrix* en el follaje de la soya y

registraron una pérdida de viabilidad del 50% después de cinco a diez días de aplicación. Tal respuesta, estuvo asociada a factores tales como la luz solar directa, las temperaturas altas y los rangos de evaporación altos.

Las variables exógenas, temperatura y humedad relativa, fueron relativamente constantes a través del tiempo de evaluación, para cada uno de los tratamientos (Figs. 1 y 2), mientras que la radiación solar global acumulada mostró valores inferiores para la condición sombra (Fig. 3).

Conclusiones

A la luz de los resultados, se concluye que el hongo *B. bassiana* se establece fácilmente en las condiciones de nuestro ecosistema, lo cual puede explicarse por los valores de humedad relativa que se registran en la zona cafetera, los cuales para este caso particular, estuvieron en el rango entre 45,6 y 68,5%.

La variable radiación solar global, no afectó la respuesta de los tratamientos, para las condiciones sol y sombra y agua y aceite, lo cual puede atribuirse a las condiciones de autosombreado propias de la planta de café, es decir, las ramas seleccionadas al sol y a la

sombra, no estuvieron totalmente expuestas al efecto de la radiación. Dichos factores favorecen la supervivencia de estos hongos aplicados en diversas formulaciones al follaje y frutos de café.

Algunos autores registran en otro tipo de ecosistemas, una mayor supervivencia de estos agentes de control biológico en el suelo y una supervivencia reducida en las condiciones del follaje (Ferron 1981; Roberts *et al.* 1981, citado por Gardner y Storey 1985). Así mismo, se ha demostrado una eficiencia mayor de estos hongos entomopatógenos formulados en aceite y aplicados en el control de otras plagas de importancia económica, como es el caso de la langosta del desierto, *Schistocerca gregaria* (Forsk.), en Asia y Africa (Lomer y Prior 1992).

La respuesta obtenida en el presente trabajo presenta un ecosistema óptimo para la supervivencia del hongo *B. bassiana* en diferentes preparaciones, la que usa actualmente el agricultor y la formulación en aceite, al 10% más un agente emulsificante, y bajo condiciones de plena exposición solar y sombra artificial (53% de luminosidad).

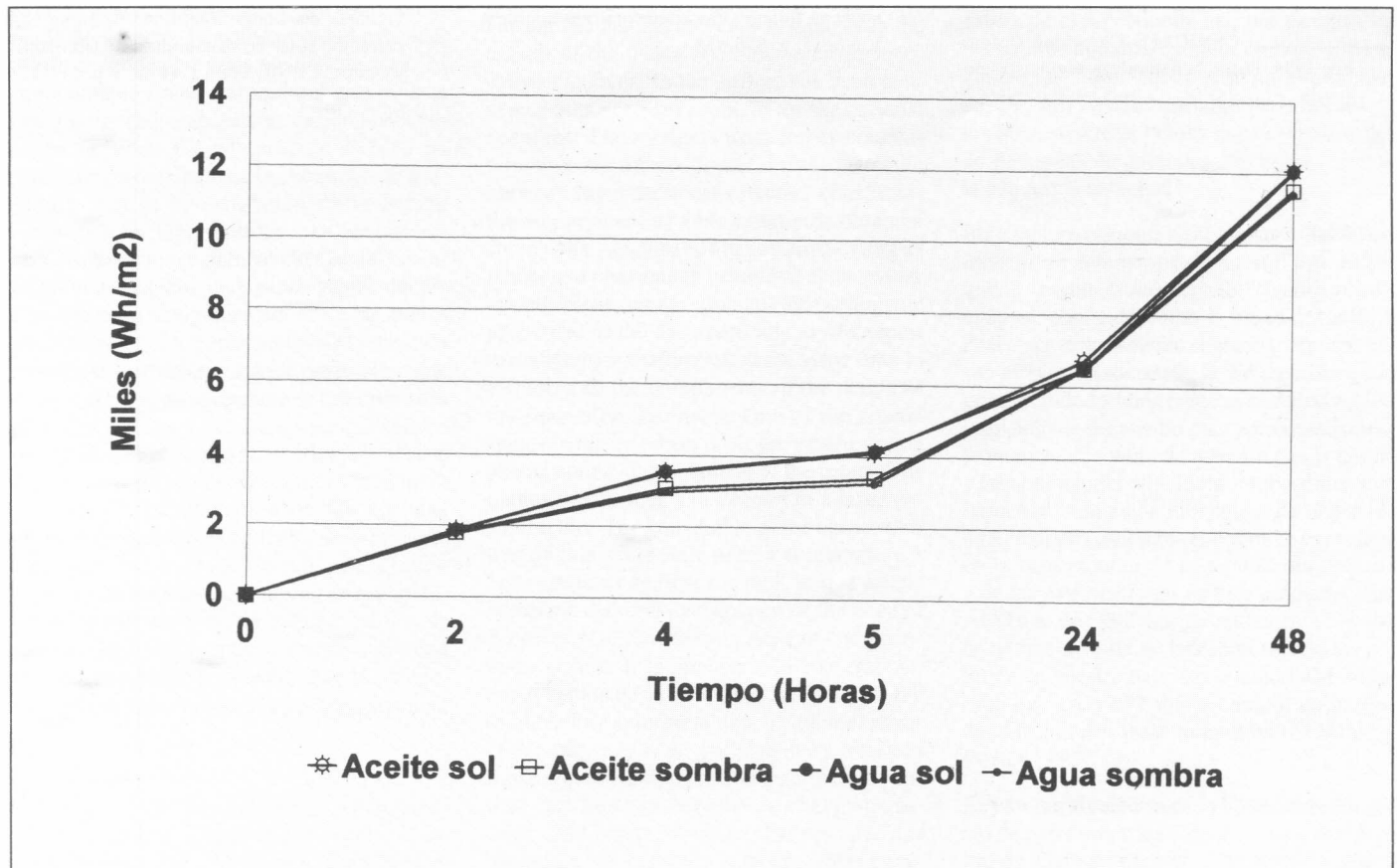


Figura 3. Comportamiento de la variable radiación solar global, a través del tiempo de evaluación.

Bibliografía

- ANTIA, L.O.P.; POSADA, F.J.; BUSTILLO, P.A.E.; GONZALEZ, G.M.T. 1992. Producción en finca del hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café. Cenicafé, Chinchiná (Colombia), (Avances técnicos Cenicafé No. 182).
- BARNES, G.L.; BOETHEL, D.J.; EIKENBARY, R.D.; CRISWELL, J.T.; GENTRY, R. 1975. Growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on media containing various peptone sources. Journal of Invertebrate Pathology, v. 25, p. 301-306.
- BATEMAN, R.P.; CAREY, M.; MOORE, D.; PRIOR, C. 1993. The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviridae* in oil formulations to desert locust at low humidities. Ann. appl. Biol. v. 122, p. 145-152.
- BUSTILLO, A. E.; CASTILLO, H.; VILLALBA, D.; MORALES, E.; VELEZ, P. E. 1991. Evaluaciones de campo con el hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* en Colombia. In: Colloque Scientifique International sur le café, 14. San Francisco. 14-19 Juillet, Paris, ASIC. p. 679-686.
- CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFE- CENICAFE, Chinchiná. Colombia. 1993. Criterios para el manejo integrado de la broca del café. BROCCARTA (Colombia), no. 13.
- _____, CENICAFE, Chinchiná, Colombia. 1994. Puede la naturaleza regular las poblaciones de la broca del café. BROCCARTA (Colombia), no. 22.
- COUCH, T.L.; IGNOFFO, C.M. 1981. Formulation of insect pathogens. In: BURGESS, H.D. Ed. Microbial control of pest and diseases 1970-1980. London, Academic Press, p. 621-634.
- DOBERSKI, J.W.; TRIBE, H.T. 1980. Isolation of entomogenous fungi from elm bark and soil with reference to ecology of *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Trans. Br. Mycol. Soc. v. 74 no. 1, p. 95-100.
- FERRON, P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium*. IN: BURGESS; H.D. Microbial control of pests and plant diseases 1970 - 1980. London, Academic Press, p. 465-470.
- FLOREZ, E. 1993. Evaluación de concentraciones de *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin, asperjado sobre frutos para el control de *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Resúmenes XX Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN), Cali, Colombia, p. 103.
- GARDNER, W.A.; STOREY, G.K. 1985. Sensitivity of *Beauveria bassiana* to selected herbicides. Journal of Economic Entomology, v. 78 no. 6, p. 1275-1279.
- _____; SUTTON, R.M.; NOBLET, R. 1977. Persistence of *Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi* and *Nosema necatrix* on soybean foliage. Environmental Entomology, v. 6 no. 3, p. 616-618.
- GONZALEZ, G. M.T.; POSADA F. F.; MONTES, L.M. 1993. Potencial de inóculo de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. producido sobre *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Resúmenes XX Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN). Cali, Colombia. p.102.
- IGNOFFO, C.M. 1992. Environmental factors affecting persistence of entomopathogens. Florida Entomologist, v. 75 no. 4, p. 517-525.
- _____; BATZER, O.F. 1971. Microencapsulation and ultraviolet protectants to increase sunlight stability of an insect virus. Journal of Economic Entomology, v. 64 no. 4, p. 850-853.
- LOMER, C.J.; PRIOR, C. 1992. Biological control of locusts and grasshoppers. Oxon, CAB International, 394 p.
- RIVERA M, A.; LOPEZ N, J.C. 1992. Medio selectivo para aislamiento de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin a partir de muestras de suelo. Resúmenes XX Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN). Manizales, Colombia. p. 77.
- ROTEM, J.; AUST, H.J. 1991. The effect of ultraviolet and solar radiation and temperature on survival of fungal propagules. Journal of Phytopathology, v. 133 no. 1, p. 76-84.
- VELEZ, A. P.E.; MONTOYA R. E.C. 1993. Supervivencia del hongo *Beauveria bassiana* bajo radiación solar en condiciones de laboratorio y campo. CENICAFE . v. 44 no. 3, p. 111-122.