

Evaluación en campo de formulaciones en aceite del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill

Field evaluation of oil formulations of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill

Patricia Eugenia Vélez Arango¹

Resumen

Con el propósito de evaluar la viabilidad del hongo *Beauveria bassiana* (Bb-9205) en un ecosistema cafetero, bajo condiciones de sol y sombra artificial (Estación Central "Naranjal", Cenicafé, 1.400 msnm), se realizaron aspersiones con el hongo en agua (10 ml de aceite de uso agrícola para 20 l de agua) y en aceite "Tersol" (formulación del hongo en aceite mineral blanco al 10% en agua, más agente emulsificante: 500 ml/100 l de formulación). Las parcelas seleccionadas al sol y a la sombra, 12 para cada condición, 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 los bordes, para un total de 30 ramas y 120 frutos de las ramas seleccionadas (unidad experimental). Las aplicaciones se realizaron con un equipo "Ulvafan" de bajo volumen, utilizando la boquilla roja, la cual tiene un flujo de 70 cm³/min. Se utilizó un volumen de aplicación/rama de 17,5 ml y una dosis del hongo de 4,02x10⁹ 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. En diferentes tiempos (0, 2, 4, 5, 24, 48 y 336 h) de exposición de las preparaciones del hongo a los factores climáticos se evaluó la viabilidad de éste en los frutos seleccionados. La estimación se realizó mediante el método de siembra de diluciones sucesivas de la muestra original (120 frutos en 30 ml de glicerol al 10%) sobre la superficie de un medio selectivo para el aislamiento del hongo *B. bassiana*. Los tratamientos se evaluaron bajo un diseño de clasificación simple con un arreglo factorial 2x2 (dos condiciones de luminosidad del cul-

tivo y dos preparaciones del hongo). Para evaluar la respuesta de los tratamientos se realizó un análisis de la variable de la 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 la recuperación del hongo en todos los tiempos evaluados (0 a 336 h). La respuesta obtenida muestra la persistencia de las preparaciones del hongo *B. bassiana* 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: Hongos entomopatógenos, Control Biológico, *Beauveria bassiana*, Formulaciones, Aditivos, Luz, Condiciones ambientales.

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, Cenicafé, 1,400 masl), spraying of the fungus *Bb* in water (10 ml of oil for agricultural use, in 20 l of water) and *Bb* in Tersol oil (10% of oil formulation of the fungus in water, plus the emulsifier agent: 500 ml/100 l of formulation) was carried out. The sun and shadow plots (12 for each condition) were randomly selected, six for the water preparation and six for 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 sprays were made with a low volume "Ulvafan" sprayer, with a nozzle with a flux of 70 c/min. The spraying volume per branch was 17.5 ml, with a dose of 4.02 x 10⁹ conidia/branch. The spraying was directed to the upper and lower side of the branches. The viability of the fungus *Bb*, on the selected berries, was evaluated at different times (0, 2, 4, 5, 24, 48 and 336 hours) of exposure of the preparations to the luminosity 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 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*.

Introducción

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), es el insecto más dañino que afecta la caficultura en Colombia y su daño se refleja en la destrucción y caída de los frutos. Colombia presenta agroecosistemas muy favorables para el desarrollo y diseminación del insecto, 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).

¹ Investigador Científico I. Disciplina de Entomología. Cenicafé, Chinchiná (Caldas). Apartado Aéreo 2447. Manizales, Colombia.

Trabajos realizados en Cenicafé, en los cuales se han hecho aspersiones del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hyphomycetos) 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/árbol (Bustillo et al. 1991).

Otros trabajos de 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 (Florez 1993), lo cual puede atribuirse a factores de tipo exógeno presentes en el ecosistema cafetero. Experimentos de campo tendientes a evaluar el efecto de la radiación solar global en la supervivencia de las unidades formadoras de colonias (UFC/ml) del hongo *B. bassiana*, en diferentes formulaciones, en frutos de café al sol y a la sombra, mostraron que aun 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 sombra, el uso de diferentes formulaciones del hongo *B. bassiana* se mostró promisorio para el control de la broca del café bajo las condiciones climáticas colombianas (Vélez y Montoya 1993).

La literatura registra que factores de tipo abiótico, como luz solar, temperatura, agua o humedad y 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 organismos entomopatógenos en forma directa, mediante deleciones, 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 microorganismos entomo-

patógenos al reducir su persistencia en el campo (Ignoffo y Batzer 1971).

La luz solar es probablemente el factor del medio ambiente más destructivo para la persistencia de organismos entomopatógenos e insecticidas microbiales. Las temperaturas que prevalecen en la mayoría de los agroecosistemas (entre 10 y 40°C) generalmente no afectan, en forma adversa, a los organismos 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 o productos químicos (Rotem y Aust 1991; Ignoffo 1992).

El efecto de la humedad o del agua sobre 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 organismos entomopatógenos bacteriales y virales. En contraste, la humedad es un requisito primordial para la germinación de las conidias y la supervivencia de los hongos entomopatógenos, y la falta de humedad reduce la virulencia 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 aceites, los cuales no se evaporan rápidamente y aseguran protección al hongo del efecto de la radiación (Bateman et al. 1992).

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 las 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 principal objetivo de este estudio fue evaluar en el campo, bajo condiciones de sol y sombra artificial, el efecto de los

factores climáticos (temperatura, humedad relativa y radiación solar global) sobre la supervivencia del hongo *B. bassiana* en diferentes formulaciones (agua y aceite).

Materiales y Métodos

El experimento se llevó a cabo en la Estación Central "Naranjal", a una altitud de 1.400 msnm, en un lote de café de la variedad Colombia. Al azar se seleccionaron las 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.

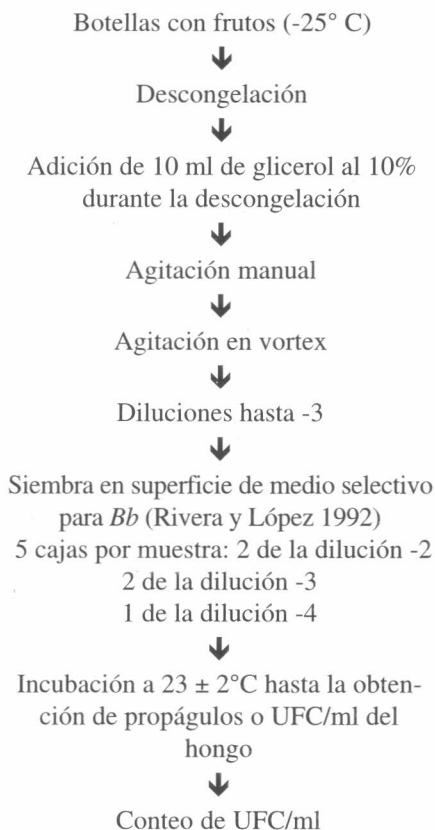
En las parcelas seleccionadas, al sol y a la sombra, se sortearon al azar dos tratamientos, uno en el cual se aplicó la preparación del hongo *B. bassiana* (*Bb*) en agua (10 ml de aceite de uso agrícola 0,05% por botella de hongo, para un volumen total de 20 l de agua), tal como lo utiliza el caficultor, y el hongo *Bb* formulado en aceite "Tersol" (Shell, aceite mineral blanco, grado U.S.P., seleccionado previamente en el laboratorio) al 10% en agua más un agente emulsificante.

Para la aspersión del hongo 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 y la infección por el hongo *Bb*, tomando tres ramas por parcela, las cuales se asperjaron posteriormente con las preparaciones del hongo y no se realizó la 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.

En el ensayo se utilizó el aislamiento de *Bb* 9205, proveniente de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) y cultivado en arroz (Cepa Cenicafé). Las aplicaciones se realizaron con un equipo "Ulvafan" de bajo volumen, con un flujo de 70 cm³/min. Se estableció un tiempo de aplicación de 15 segundos, para un volumen total de 17,5 ml de la preparación del hongo/rama y

una dosis del 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 las ramas.

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 al azar se tomaron los frutos de las ramas seleccionadas. Esta labor se realizó con pinzas y tijeras de acero inoxidable, y los frutos se depositaron directamente en 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 se transportaron al laboratorio dentro de neveras de icopor, y allí se almacenaron 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, diariamente se tomó un número determinado de botellas y se realizó el siguiente protocolo:



Los tratamientos se evaluaron bajo el diseño de clasificación simple con un arreglo factorial 2×2 (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:

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

donde,

TR (%) = Tasa relativa de reducción en porcentaje

I_o = Lectura inicial (UFC/ml)

I_f = 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 cada uno de los tratamientos. En el tiempo 0, es decir inmediatamente después de asperjado el hongo Bb, 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) x 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 x 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 respecto de la modalidad y del tipo, puesto que en el tiempo 48 h 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 éste corresponde al tratamiento con 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 mostró efecto de la interacción tipo x modalidad. Además, dicho análisis no mostró efecto del tipo ni de la modalidad. Para el análisis, los datos de

tasa relativa de reducción se transformaron a arco seno raíz de porcentaje (arco de seno $\sqrt{\%}$).

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 por el insecto hayan permitido el establecimiento del hongo en el lote.

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 autodiseminativo 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, Fig. 1 y 2). Tal respuesta se muestra promisoría en el uso de este agente de control biológico en programas de manejo integrado de la broca del café, 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, debido a la supervivencia de los 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 aun cuando el hongo *B. bassiana* crece bien

Tabla 1. Número promedio de unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml) según el tipo (agua y aceite) y la modalidad (sol y sombra). E.C. "El Naranjal".

Tipo Modalidad Tiempo (horas)	Agua		Aceite	
	Sol	Sombra	Sol	Sombra
0	194.166	90.483	143.483	355.250
2	173.133	139.300	723.700	518.866
4	344.500	230.600	393.666	294.583
5	81.416	92.583	87.000	246.333
24	61.416	94.333	69.833	109.916
48	822.166	44.341	83.600	183.950
336	69.166	42.520	57.766	85.750
Tasa media de reducción (%)	570	23,8	53,4	49,7
C.V (%)	18,2	13,7	12,2	11,8

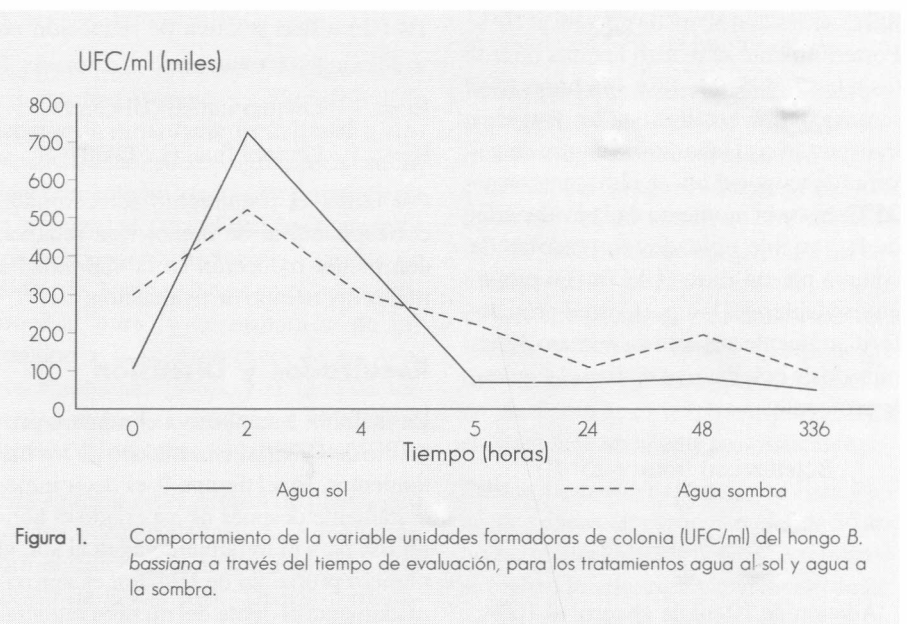


Figura 1. Comportamiento de la variable unidades formadoras de colonia (UFC/ml) del hongo *B. bassiana* a través del tiempo de evaluación, para los tratamientos agua al sol y agua a la sombra.

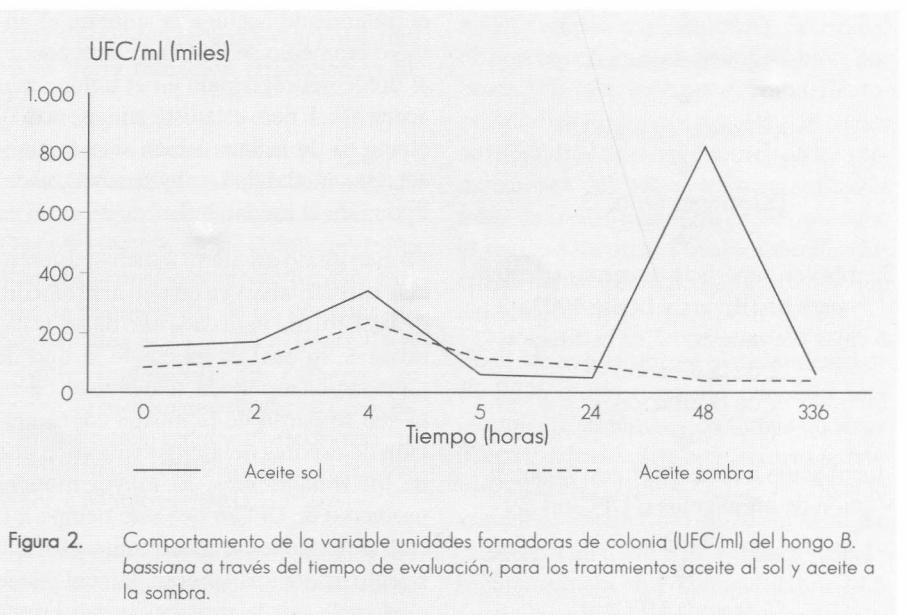


Figura 2. Comportamiento de la variable unidades formadoras de colonia (UFC/ml) del hongo *B. bassiana* a través del tiempo de evaluación, para los tratamientos aceite al sol y aceite a la sombra.

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, Heimpele (1972), citado por Barnes et al. (1975), registra que los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* son altamente patogénicos a varios insectos, pero la influencia de las 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 *B. bassiana*, *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson 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 con factores tales como luz solar directa, altas temperaturas y altos rangos de evaporación.

En este trabajo, las variables exógenas temperatura y humedad relativa fueron relativamente constantes a través del tiempo de evaluación, para cada uno de los tratamientos (Fig. 3 y 4), mientras que la radiación solar global acumulada mostró valores inferiores para la condición sombra (Fig. 5).

A la luz de los resultados se concluye que el hongo *B. bassiana* se establece fácilmente en las condiciones del ecosistema cafetero colombiano, 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 un 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 autosombrío propias de las plantas 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 a los 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

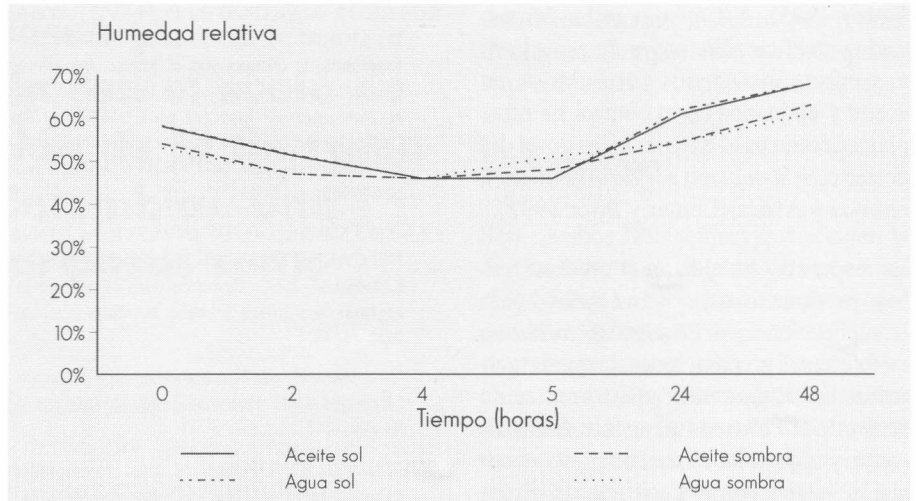


Figura 3. Comportamiento de la variable exógena humedad relativa a través del tiempo de evaluación.

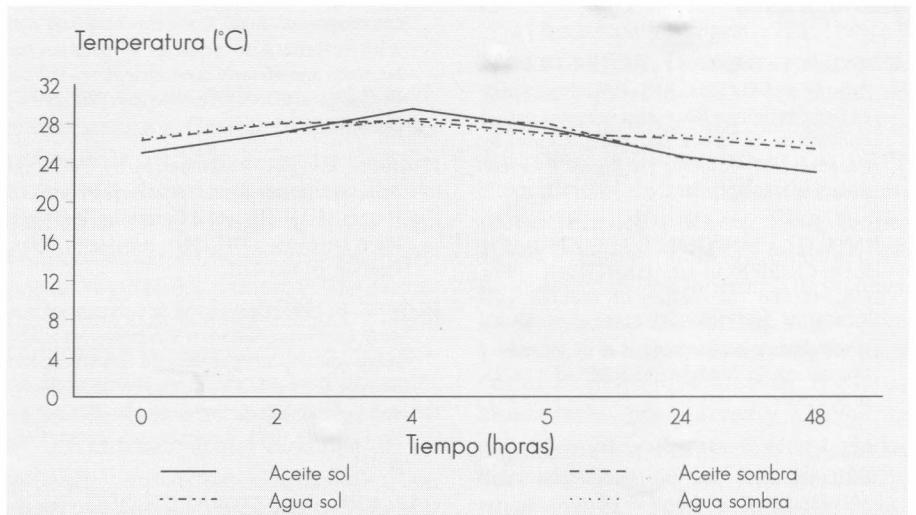


Figura 4. Comportamiento de la variable exógena temperatura a través del tiempo de evaluación.

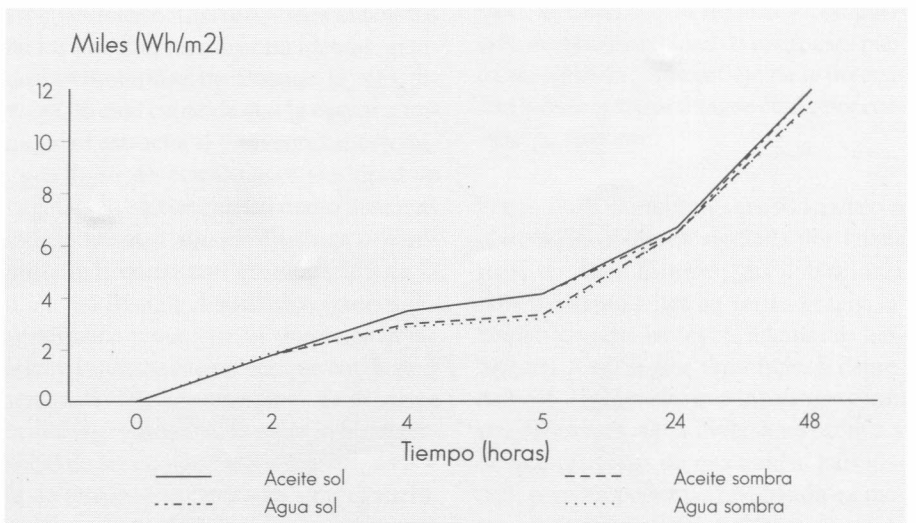


Figura 5. Comportamiento de la variable exógena radiación solar global a través del tiempo de evaluación.

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, 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 actualmente usa 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).

Bibliografía

ANTIA L., O.P.; POSADA F., F.J.; BUSTILLO P., A.E.; GONZÁLEZ 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 N° 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 (Estados Unidos) 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. Annals of Applied Biology (Reino Unido) v. 122, p. 145-152.

BUSTILLO, A. E.; CASTILLO, H.; VILLALBA, D., MORALES, E.; VÉLEZ, 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. ASIC, París. p. 679-686 p.

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFE-CENICAFE. CHINCHINÁ (COLOMBIA). 1993. Criterios para el manejo integrado de la broca del café. Brocarta (Colombia) N° 13.

-----, 1994. Puede la naturaleza regular las poblaciones de la broca del café. Brocarta (Colombia) N° 22.

COUCH, T.L.; IGNOFFO, C.M. 1981. Formulation of insect pathogens. In: H.D. Burges. Microbial Control of Pest and Plant Diseases 1970-1980. Academic Press, London, 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* and *Metarhizium anisopliae*. British Mycological Society. Transactions (Reino Unido) v. 74, p. 95-100.

FERRON, P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium*. In: H.D. Bruges (Ed.). Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. Academic Press, London, p. 465-470.

FLÓREZ, E. 1993. Evaluación de concentraciones de *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin, asperjado sobre frutos para el control de *Hypothenemus hampei* (Ferrari). En: Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, 2°, Cali, julio 13-16 de 1993. Resúmenes. Socolen. Cali. p.103.

GARDNER, W.A.; STOREY, G.K. 1985. Sensitivity of *Beauveria bassiana* to selected herbicides. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 78 no. 6, p. 1275-1279.

GARDNER, W.A.; SUTTON, R.M.; NOBLET, R. 1977. Persistence of *Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi* and *Nosema necatrix* on soybean foliage. Environmental Entomology (Estados Unidos) v. 6 no. 3, p. 616-618

GONZÁLEZ G., M.T.; POSADA F., F.; MONTES, L.M. 1993. Potencial de inóculo de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. producido sobre *Hypothenemus hampei* (Ferrari). En: Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, 20°, Cali, julio 13-16 de 1993. Resúmenes. Socolen, Cali. p. 102.

IGNOFFO, C.M.; BATZER, O.F. 1971. Microincapsulation and ultraviolet protectants to increase sunlight stability of an insect virus. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 64 no. 4, p. 850-853.

----- 1992. Environmental factors affecting persistence of entomopathogens. Florida Entomologist (Estados Unidos) v. 75 no. 4, p. 517-525.

LOMER, C.J.; PRIOR, C. 1992. Biological Control of Locusts and Grasshoppers. CAB International, Oxon, U.K. 394p.

RIVERA M., A.; LOPEZ N, J.C. 1992. Medio selectivo para aislamiento de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin a partir de muestras de suelo. En: Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, 19°, Manizales, julio 15-17 de 1992. Resúmenes. Socolen, Manizales. 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 (Alemania) 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. Cenicafé (Colombia). v. 44 no. 3, p. 111-122.