

# AVANCES TÉCNICOS 384 Composito de la composi de la composito de la composito de la composito de la composito

Gerencia Técnica / Programa de Investigación Científica / Junio de 2009 Fondo Nacional del Café

# CLAVES PARA EL ÉXITO DEL HONGO Beauveria bassiana COMO CONTROLADOR BIOLÓGICO DE LA BROCA DEL CAFÉ

Carmenza E. Góngora Botero\*; Patricia Marín Marín\*; Pablo Benavides Machado\*

os primeros microorganismos que se identificaron como causantes de enfermedades en insectos fueron los hongos, debido a que era posible observar su crecimiento sobre el cuerpo de éstos. Los hongos patógenos de insectos, conocidos como hongos entomopatógenos, penetran, invaden y se multiplican dentro de los insectos. En el grupo de los patógenos de insectos, una característica particular de los hongos es que no requieren ser ingeridos por el insecto para causar la enfermedad, ya que pueden penetrar a través de su cutícula. Su crecimiento y desarrollo está limitado principalmente por condiciones medioambientales adversas, especialmente la radiación solar, la baja humedad y las altas temperaturas.

Las unidades de reproducción de los hongos son llamadas esporas o conidias, que usualmente son las que infectan a los insectos. El proceso de infección se puede dividir en tres etapas: 1. Adhesión de las esporas a la cutícula del insecto, y germinación; 2. Penetración de la cutícula del insecto; 3. Desarrollo del hongo en el interior del insecto, que generalmente termina en la muerte de éste (16).

<sup>\*</sup>Investigador Científico III, Investigador Asociado e Investigador Científico II, respectivamente. Entomología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.



El hongo Beauveria bassiana es usado para el control de un gran número de insectos plaga y es la especie de entomopatógeno comercialmente más utilizada alrededor del mundo (1). Las formulaciones consisten en una combinación de ingredientes, de tal forma que las esporas del hongo se mantienen estables, efectivas y fáciles de aplicar. La mayoría de las formulaciones de hongos entomopatógenos se producen con materiales inertes como polvos y microtalcos, que deben ser resuspendidas en agua con coadyuvantes, como aceites emulsionables.

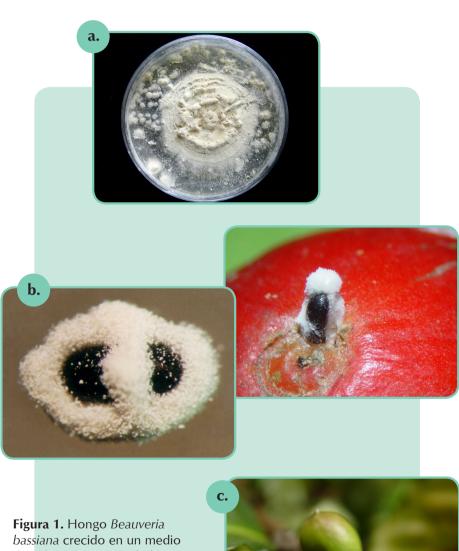
Desde la llegada de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) a Colombia, el hongo *B. bassiana* ha sido asociado con el insecto y fue reportado atacando la broca en 1990 (18). Actualmente, se le considera el mayor controlador natural de esta plaga del café y se encuentra causando mortalidad del insecto en todos los países donde éste ha llegado. El hongo hace parte de la estrategia de manejo integrado de esta plaga y su uso es recomendado por Cenicafé (4, 7).

Debido a que la mayoría de los caficultores en Colombia viven en su finca y no poseen experiencia ni tradición en el uso de insecticidas químicos, y considerando que las poblaciones de otras plagas potenciales no requieren control dada la presencia de enemigos naturales, que también pueden ser insectos, y que mantienen el equilibrio biológico en los ecosistemas cafeteros, es importante usar el hongo *B. bassiana* como una alternativa ambientalmente

amigable para el control de la broca.

El control natural que actualmente ejerce el hongo en la región cafetera (alrededor de 10%) (9), se debe a las aplicaciones recomendadas por Cenicafé (5). Por lo tanto, si el hongo no estuviera ejerciendo este efecto sobre las poblaciones de la plaga, las pérdidas ocasionadas en la caficultura colombiana serían aún mayores.

En el laboratorio el hongo se caracteriza por su apariencia algodonosa y de color blanco, tanto en medio de cultivo como creciendo en el insecto atacado (Figura 1).



**Figura 1.** Hongo *Beauveria* bassiana crecido en un medio de cultivo (a), atacando la broca del café (b) y presente en cafetales, atacando la broca que se encuentra perforando cerezas de café (c).

### Selección de cepas patogénicas del hongo Beauveria bassiana

Un programa de manejo integrado de plagas con énfasis en el control biológico y el uso de hongos entomopatógenos, comienza con la selección de una cepa de fácil reproducción y alta patogenicidad al insecto que se desea controlar. Cenicafé posee actualmente un cepario de B. bassiana compuesto por 168 aislamientos, obtenidos a partir de broca y otros insectos, provenientes de Colombia y otros países. Estas cepas se vienen evaluando desde hace 15 años por sus características de virulencia contra la broca (8, 19) y su diversidad genética (12). Las investigaciones han permitido conocer que no todas las cepas de B. bassiana son genéticamente iguales, ni controlan la broca en la misma proporción (10). Existen cepas que son más virulentas que otras, y por lo tanto, al emplear la misma cantidad de esporas, algunas cepas causan mayor mortalidad sobre la broca (Tabla 1).

La aplicación de formulaciones basadas en hongos entomopatógenos como agentes biocontroladores, se ha caracterizado por utilizar un solo aislamiento. Sin embargo, se ha propuesto que más de un aislamiento se puede seleccionar para iniciar y mantener una infección del insecto en una población heterogénea en el campo. Las investigaciones de Cenicafé han permitido concluir que existen combinaciones o mezclas de cepas de B. bassiana que son más efectivas para el control de la broca que las cepas individuales, es así como se encontró que la mezcla de tres cepas genéticamente diferentes y que individualmente presentan baja virulencia, causan mortalidades cercanas al 70% en las brocas que se encuentran perforando los frutos en el campo (posiciones A y B) (9, 10). Estos hallazgos se encuentran en etapa de validación en aplicaciones semi-comerciales, con el fin de ponerlas a disposición de los caficultores. La Tabla 1 muestra las diferencias en virulencia sobre la broca del café de cepas de *B. bassiana*, y una mezcla de cepas empleando la misma concentración de esporas en el laboratorio.

Se destaca la mezcla y la cepa Bb9205, esta última recomendada por Cenicafé para el control de la broca y producida actualmente por laboratorios comerciales de bioinsumos.

■ Tabla 1. Promedios del porcentaje de mortalidad de la broca del café causada por cepas de *Beauveria bassiana* en el laboratorio (1x10<sup>6</sup> esporas/mL) (Ocho días después de la infección).

| Сера    | Porcentaje de<br>mortalidad de broca | C.V. |  |  |
|---------|--------------------------------------|------|--|--|
| Bb 9001 | 65,0                                 | 6,6  |  |  |
| Bb 9005 | 80,8                                 | 7,0  |  |  |
| Bb 9010 | 81,7                                 | 2,4  |  |  |
| Bb 9011 | 80,8                                 | 5,2  |  |  |
| Bb 9016 | 81,7                                 | 2,4  |  |  |
| Bb 9020 | 81,7                                 | 6,7  |  |  |
| Bb 9023 | 84,5                                 | 5,5  |  |  |
| Bb 9024 | 57,5                                 | 19,2 |  |  |
| Bb 9119 | 69,1                                 | 11,4 |  |  |
| Bb 9301 | 83,3                                 | 0,0  |  |  |
| Bb 9205 | 89,1                                 | 8,3  |  |  |
| Mezcla  | 93,3                                 | 2,9  |  |  |
| Testigo | 1,5                                  | 0    |  |  |

# Determinación y mantenimiento de la calidad del hongo Beauveria bassiana

Una vez seleccionadas las mejores cepas del hongo entomopatógeno o la combinación de éstas para el control de la broca, se garantiza que las casas comerciales productoras de hongos produzcan cepas altamente virulentas contra los insectos; sin embargo, muchos caficultores quisieran saber las razones por las que algunas veces el hongo no funciona cuando se

aplica en el campo. La respuesta tiene que ver con la calidad del hongo tanto durante la etapa de producción como en el transporte, el almacenamiento, la tecnología de aspersión y el momento en el que se aplica. Para que el hongo cause una alta mortalidad sobre la broca se requiere que la cepa empleada, altamente virulenta, permanezca así posterior al transporte y

el almacenamiento, que las esporas que se apliquen sean puras, que estén vivas para que puedan germinar y penetrar la cutícula de la broca y, que además, se apliquen en una cantidad apropiada; es decir, que las formulaciones tengan una buena calidad y se manipulen correctamente. En la Tabla 2 se muestran algunos de los productos de *B. bassiana* que se consiguen actualmente en el mercado nacional.

Con el fin de asegurar la calidad del hongo *B. bassiana* que aplican los agricultores y garantizar un buen desempeño de éste en el campo, Cenicafé ha desarrollado metodologías para el control de calidad de las formulaciones de entomopatógenos (13, 17). La calidad se define como el conjunto de acciones destinadas a garantizar la producción uniforme de lotes de productos terminados, que satisfagan entre otros, los parámetros de identidad, actividad y pureza establecidos (11). Las pruebas de calidad más importantes son la viabilidad y virulencia. Si una formulación de esporas tiene una alta viabilidad y alta virulencia, es mayor la probabilidad de que actúe bien en el campo para controlar al insecto.

En la prueba de **viabilidad y pureza** se determina si las esporas que contiene la formulación están vivas,

lo cual se establece mediante el conteo de Unidades Formadoras de Colonia (UFC), al tiempo que se verifica que el crecimiento corresponda al hongo *B. bassiana* o si por el contrario existe algún otro microorganismo en la formulación, el cual se definiría como un contaminante. La norma establece que el nivel de contaminantes no debe ser mayor del 5%, y bajo ninguna circunstancia se permite que éstos sean patógenos de plantas o de humanos. La prueba de **virulencia** se realiza aplicando el hongo sobre los insectos y determinando la proporción de brocas muertas por éste. A mayor cantidad de insectos muertos mayor virulencia del hongo.

Otra prueba importante es la **concentración de esporas**, la cual se determina tomando una muestra de la formulación del hongo y por observación al microscopio y conteo directo de las esporas, se establece si el número de éstas es la registrada en la etiqueta. Esta prueba garantiza que se aplique la cantidad de hongo que se recomienda para controlar el insecto.

La prueba de **germinación de esporas** evalúa mediante observación al microscopio, si las esporas del hongo germinan en un tiempo determinado después de haber sido sembradas en un medio de cultivo.

■ **Tabla 2.** Productos comerciales de *Beauveria bassiana* registrados ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), empresa productora y página en Internet donde se puede encontrar la información del producto.

| Nombre comercial | No.<br>Registro<br>ICA | Empresa productora                    | Página Internet                          |  |
|------------------|------------------------|---------------------------------------|--|--|
| ADRAL® WP        | 00392                  | Bio-Crop                              | www.bio-crop.com                         |  |
| AGRONOVA®        | 4366                   | Live System Technology S. A.          | http://www.lstsa.com                     |  |
| BASSIANIL        | 2273                   | Biocontrol                            | http://www.controlbiologico.com          |  |
| BAUBASSIL®       | 001558                 | Fungicol                              | http://www.fungicol.com                  |  |
| BOTANIGARD® 22WP | 4166                   | Laboratorios Laverlam                 | http://www.laverlamintl.com              |  |
| BOVETROPICO WP   | 5860                   | Soluciones Microbianas<br>del Trópico | www.smdeltropico.com                     |  |
| BROCARIL WP      | 3412                   | Laboratorios Laverlam                 | http://www.laverlam.net/                 |  |
| MUSCARDIN        | 5673                   | Bioecológicos Ltda.                   | CRA 6 No. 7-13. SOPO-CUND. 091/8570050/4 |  |
| MYCOTROL SE      | 4167                   | Laboratorios Laverlam                 | http://www.laverlamintl.com              |  |
| MICOSIS          | 6051                   | Bioprotección                         | www.elcriadero.com                       |  |

Además, se realizan pruebas de **estabilidad biológica**, las cuales determinan si la calidad del producto se mantiene durante el tiempo indicado en la etiqueta, siguiendo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

En Colombia, la comercialización de productos con base en hongos entomopatógenos se vio limitado por la calidad. Para corregir esto y poder garantizarle al caficultor la oferta de un buen producto, el ICA elaboró unas normas de control de calidad y permanentemente adelanta acciones para que los laboratorios de producción de bioinsumos las cumplan. Es así como se expidió la resolución 00375 para el Registro y Control de los Bioinsumos de uso agrícola en Colombia (11), la cual exige a los productores de hongos entomopatógenos que tengan un contrato vigente de control de calidad con un laboratorio registrado ante el ICA (Tabla 3), con el fin de que sus productos biológicos cuenten con una certificación de buena calidad. El laboratorio de Control de Bioinsumos ubicado en la Disciplina de Entomología de Cenicafé, está registrado ante el ICA y presta un servicio de análisis de calidad de bioinsumos para beneficio de los caficultores.

En la tabla 3 se presentan los laboratorios que cuentan con registro del ICA, para prestar el servicio de análisis de calidad de formulaciones de *B. bassiana*, siguiendo las metodologías estandarizadas en Cenicafé (Tabla 3).

De acuerdo con estas reglamentaciones, los laboratorios de producción de bioinsumos deben demostrar que los hongos entomopatógenos que comercializan cumplen con las normas de calidad. Por lo tanto, el caficultor puede verificar que el producto que está comprando tenga este certificado, el cual debe encontrarse en el laboratorio del productor y en los almacenes y distribuidores del producto; si no lo poseen, no es posible asegurar la buena calidad del hongo. Es necesario que cada lote del producto que se comercializa cuente con su certificado de análisis de calidad.

El caficultor, además de exigir la certificación, debe tener presente la fecha de vencimiento del producto, la cual aparece en los envases, ya que el hongo cumplirá con los estándares de calidad solamente hasta que se cumpla la fecha de vencimiento.

■ Tabla 3. Laboratorios registrados ante el ICA para realizar análisis de calidad de formulaciones comerciales del hongo *Beauveria bassiana*.

| Laboratorio   | Dirección   | Teléfono             | Representante                         | Resolución<br>ICA | Página Internet   |
|---|---|----------------------|---------------------------------------|-------------------|---|
| Control de calidad<br>de Bioinsumos                             | Centro Nacional<br>de Investigaciones<br>de Café. Cenicafé,<br>Planalto. Disciplina de<br>Entomología.<br>Chinchiná. Caldas | 8506550<br>Ext 334   | Patricia Marín                        | 2670              | http://www.<br>controldebioinsumos.com/   |
| Centro de<br>Investigaciones<br>Microbiológicas -<br>CIMIC      | Universidad de los<br>Andes. Carrera 1E<br>No. 18A -10 Edificio<br>J Laboratorios 302 y<br>306. Bogotá D. C.                | 3394949              | Carlos Angulo<br>Galvis               | 01249             | http://cimic.uniandes.edu.<br>co/   |
| Laboratorio<br>Nacional de<br>Insumos Agrícolas<br>- ICA- LANIA | ICA-Tibaitatá.<br>Bogotá D. C.  | 4426373              | Fernando<br>Caicedo Lince             |                   | http://www.ica.gov.<br>co/Areas/laboratorios/<br>Lab-Nacional-de-Insumos-<br>Agricolas.aspx |
| Live System<br>Tecnology S.A<br>LST S.A .                       | Calle 17A No. 68D-<br>38. Bogotá D. C.  | 6050202 /<br>4050127 | Esperanza<br>Morales de<br>Leguizamón | 1962              | http://www.lstsa.com/   |

Luego de adquirir el hongo, las buenas condiciones de transporte y almacenamiento son fundamentales para asegurar su eficacia en el campo. El hongo es un organismo vivo y, por lo tanto, requiere de ciertas condiciones de temperatura, exposición al sol y humedad, para garantizar la sobrevivencia de sus esporas. Se deben seguir las recomendaciones de la etiqueta del producto para su almacenamiento. En general, se aconseja no someterlo a temperaturas

superiores a 25°C, ni a exposición directa de los rayos solares; también se recomienda almacenarlo en un lugar fresco y limpio y, si es posible, refrigerado en nevera. El hongo no se debe congelar y el empaque debe estar totalmente sellado hasta el momento de su uso. No se debe permitir su contacto con agua u otras sustancias, excepto si éstas hacen parte de la formulación comercial y el laboratorio de producción garantice la inocuidad de estas sustancias mediante el certificado de calidad.

## Aspersiones del hongo Beauveria bassiana en el campo

La estimación de la concentración de esporas del hongo que se debe utilizar es el aspecto más importante a considerar antes de realizar una aspersión en el campo. De la misma manera que un producto químico requiere una concentración determinada para ser letal, el hongo será más eficaz dependiendo del número de esporas que se depositan sobre el insecto. Es fundamental asperjar la dosis de esporas que se indique en la etiqueta de los productos. En general, para el caso de la cepa Bb9205, los experimentos realizados en Cenicafé demuestran que ésta causa mortalidad sobre la broca cuando se aplica una concentración de 2x10<sup>7</sup> esporas/ rama del árbol. De esta manera, se debe preparar una solución con 2x10<sup>10</sup> esporas/L de agua y asperjar 50 cc de ésta por cada árbol, para asegurar la dosis de 1x109 esporas/árbol recomendada para causar mortalidad de las brocas. La metodología de aspersión permite que se asegure un buen cubrimiento de los frutos de los árboles (20).

En Cenicafé, cuando se cultiva la cepa Bb9205 en arroz, bajo condiciones controladas de laboratorio, se pueden obtener 1x10° esporas/g de arroz. De esta manera, para asperjar un litro de esporas a la concentración deseada, de 2x10¹º esporas/L, se requerirían 20 g de las formulaciones que tengan 1x10° esporas/g. La cantidad (en gramos) que se debe usar de la formulación dependerá entonces de la concentración de esporas que indique la etiqueta. En general, como la mayoría de productos comerciales contienen un número de esporas mínimo indicado como 10° y máximo indicado como 10¹º, se recomienda usar 20 g/L y 2 g/L, respectivamente.

El siguiente paso es mezclar adecuadamente las esporas del hongo para asperjarlas. Algunas casas comerciales aconsejan suspender el producto en agua con coadyuvantes, tipo aceites emulsivos. Estos aceites protegen las esporas contra las condiciones ambientales adversas, permiten la emulsión del producto en el agua y la adherencia de las esporas a la superficie del insecto. El agua sirve como vehículo transportador de las esporas, ésta debe ser limpia y en lo posible con un pH cercano a 7, valores diferentes pueden alterar la germinación de las esporas. Se deben seguir las especificaciones de la etiqueta del empague con respecto a la cantidad de agua y aceite que se requieren para la lograr una adecuada suspensión de las esporas. En general, se recomienda adicionar de 2 a 5 cc de aceite agrícola por litro de agua.

Con respecto a la tecnología de aspersión, se recomienda asegurar una calibración apropiada de las máquinas aspersoras, que permita un buen cubrimiento de esporas sobre los frutos a proteger, de tal forma que se asegure que se está aplicando la concentración adecuada del hongo por litro de agua. Los buenos resultados biológicos y económicos que se obtienen con la aspersión de un producto de calidad, dependen de la tecnología de aspersión (20). Se recomienda utilizar aspersoras convencionales (de presión previa retenida o de palanca), nebulizadoras o equipos de bajo volumen (7), con boquillas de bajo flujo de descarga (180 - 400 cc/min. a 40 PSI). La cantidad total del hongo que se debe aplicar en un lote dependerá de la edad de los árboles, el número de árboles afectados por hectárea, la pendiente del terreno, el tipo de equipo y la boquilla (14).

Los criterios para la aplicación del hongo deben considerar las evaluaciones de infestación en el campo. Las aspersiones, al igual que los productos químicos de contacto, únicamente son eficaces cuando el producto entra en contacto directo con los insectos. Esto ocurre cuando las brocas adultas están volando en los cafetales o iniciando el ataque a los frutos de café (posiciones A y B) (7).

En general, es conveniente realizar las aspersiones en el momento en que los adultos de la broca se encuentren volando, cuando exista el riesgo de que estas brocas vayan a afectar la cosecha en formación y bajo condiciones climáticas de alta humedad, que permitan la acción y el establecimiento del hongo. En las condiciones de la zona central cafetera, donde la traviesa y la cosecha principal se encuentran distribuidas en una proporción de 20 y 80%, respectivamente, para cada semestre del año, se recomienda asperjar el hongo durante los meses de mayo a agosto y noviembre a enero (momentos críticos de la formación del fruto para el ataque de la broca), en aquellos momentos en los cuales el porcentaje de infestación supere el 2% y la proporción de broca perforando frutos (posiciones A + B) sea mayor al 50%. Las aspersiones deberán dirigirse a las ramas productivas y al plato del árbol, asegurando un buen cubrimiento de ambos. Las aplicaciones se deben realizar en los "focos" o "puntos calientes", es decir, aquellos sitios donde la broca se encuentra agregada dentro de los cafetales, con el propósito de hacer un uso más eficiente y racional de los productos.

Igualmente, se recomienda aplicar el hongo en los cafetales que se encuentran en los alrededores del beneficiadero y los pesaderos de café durante las cosechas, ya que de estos sitios se dispersa un alto número de brocas adultas que colonizan frutos sanos (6). En los lotes a renovar mediante zoqueo, se recomienda aplicar el hongo tanto en el árbol como en el suelo antes de eliminar las ramas, y posteriormente, en las ramas de los árboles trampa, ya que de estos sitios emergen altas poblaciones de broca procedentes de los frutos caídos durante la labor del zoqueo (2, 3, 15).

Las aplicaciones se deben realizar cuando exista baja luminosidad, baja radiación solar y menores temperaturas, temprano en la mañana o en las últimas horas de la tarde, debido a que las esporas son sensibles a condiciones extremas de luz y radiación.

El seguimiento de estas recomendaciones junto con las prácticas de control cultural y el manejo de la finca permitirá un control eficiente de la broca en los cafetales.

El interés en el mercado por una caficultura orgánica y limpia, y el conocimiento de los daños medioambientales que causa el uso de insecticidas químicos, abren un nuevo campo para el uso de *B. bassiana* en el control de la broca. Cenicafé continuará con un proceso permanente de selección y mejoramiento de cepas, para ofrecer alternativas viables que puedan ser implementadas en el manejo integrado de la broca del café.

### Literatura Citada

- 1. ALVES, S. B.; PEREIRA, R. M.; LOPES, R.; TAMAI MA, B. Use of entomopathogenic fungi in Latin America. *In*: Advances in microbial control of insect pests, Upadhyay, R. K. ed., Kluwer, New York, p. 193-211. 2003.
- ARISTIZÁBAL, A., L. F.; SALAZAR, E., H. M.; MEJÍA, M., C. G. Evaluación de dos componentes del manejo de la broca en la renovación de cafetales, mediante investigación participativa. Avances Técnicos Cenicafé (Colombia) No. 295: 1-8. 2002.
- 3. BENAVIDES, M., P.; ARÉVALO, M., H. Manejo Integrado: una estrategia para el control de la broca del café en Colombia. Cenicafé 53(1): 39-48. 2002.
- 4. BUSTILLO, P., A.E. ¿Cómo participa el hongo *Beauveria bassiana* en el manejo integrado de la broca del café? Brocarta Cenicafé (Colombia) No. 37:1-4. 2004.
- 5. BUSTILLO, P., A.E. El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. Boletín Técnico Cenicafé (Colombia) No. 24:1-40. 2002.
- BUSTILLO, P., A. E. Recomendaciones de manejo de cafetales, que contribuyen al control de la broca del café en Colombia. Chinchiná, Cenicafé, noviembre 17, 2000. 47 p.
- 7. BUSTILLO, P., A.E.; CÁRDENAS, M., R.; VILLALBA, G., D.A.; BENAVIDES, M., P.; OROZCO, H., J.; POSADA, F., F.J. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Chinchiná, Cenicafé, 1998. 134 p.
- 8. BUSTILLO, P., A.E.; POSADA, F., F.J. El uso de entomopatógenos en el control de la broca del café en Colombia. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 42:1-13. 1996.

- 9. CÁRDENAS, R., A.B.; VILLALBA, G., D.A.; BUSTILLO, P., A.E.; MONTOYA, R., E.C.; GÓNGORA, B., C.E. Eficacia de mezclas de cepas del hongo Beauveria bassiana en el control de la broca del café. Cenicafé 58(4):293-303. 2007.
- 10. CRUZ, L. P., GAITÁN, A. L.; GÓNGORA, B., C. E. Exploiting the genetic diversity of Beauveria bassiana for improving the biological control of the coffee berry borer through the use of strain mixtures. Applied Microbiology and Biotechnology 71 (6): 918-926. 2006.
- 11. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO-ICA. Resolución No. 00375 (27 de febrero de 2004). Por la cual se dictan las disposiciones sobre Registro y Control de los Bioinsumos y Extractos Vegetales de uso agrícola en Colombia. 2004. 78 p.
- 12. GAITÁN, A.; VALDERRAMA, A.M.; SALDARRIAGA, G.: VÉLEZ, P.: BUSTILLO, A. Genetic variability of Beauveria bassiana associated to the coffee berry borer Hypothenemus Hampei and other insects. Mycol Res 106: 1307-1314. 2002.
- 13. MARÍN, P.; BUSTILLO, P., A. E. Pruebas microbiológicas y físico - químicas para el control de calidad de hongos entomopatógenos. Curso internacional teórico - práctico sobre entomopatógenos y parasitoides que atacan la broca del café. Cenicafé, Chinchiná. Marzo 11 al 15 de 2002. p. 72-116.
- 14. MEJÍA, M., C. G.; ARISTIZÁBAL, A., L. F.; SALAZAR, H. M. Técnicas de aspersión y evaluación de Beauveria bassiana para el control de la broca del café. Curso internacional teórico - práctico sobre entomopatógenos y parasitoides que atacan la broca del café. Chinchiná, Cenicafé, marzo 11 al 15 de 2002. p. 196-209.
- 15. MEJÍA, M., C.G.; BUSTILLO, P., A.E.; DUQUE, O., H.; MONTOYA, R., E.C.; BENAVIDES, M., P. Análisis biológico v económico del manejo integrado de la broca en la renovación de cafetales. Cenicafé 58 (2): 99-110. 2007.

- 16. TANADA, Y.; KAYA, H. K.. Chapter 10, Fungal Infection. In: Insect pathology. Eds. Y, Tanada y H.K. Kaya. Academic press. 1993. p. 318-366.
- 17. VÉLEZ, A, P.; POSADA, F, F. J.; MARÍN, M, P.; GONZÁLEZ, G, M. T.; OSORIO, V., E.; BUSTILLO, P., A. E. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Boletín Técnico Cenicafé (Colombia) No. 17: 1-34. 1997.
- 18. VÉLEZ, A, P.; BENAVIDES, G, M. Registro e identificación de Beauveria bassiana en Ancuyá, Nariño, Colombia. Cenicafé 41(2): 50-57. 1990.
- 19. VÉLEZ, A., P.; GONZÁLEZ, G., M.T., VALDERRAMA, F.; ESTRADA, V., M.N.; BUSTILLO, P., A. E; MONTOYA, R., E.C. Caracterización morfológica, fisiológica y molecular de aislamientos de Beauveria bassiana. Cenicafé 51(3):196-206. 2000.
- 20. VILLALBA, G., D. Calibración de aspersoras manuales de espalda. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Cenicafé, Gerencia de Producción y Desarrollo. Boletín de extensión No. 75, 1995.16 p.

Los trabajos suscritos por el personal técnico del Centro Nacional de Investigaciones de Café son parte de las investigaciones realizadas por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Sin embargo, tanto en este caso como en el de personas no pertenecientes a este Centro, las ideas emitidas por los autores son de su exclusiva responsabilidad y no expresan necesariamente las opiniones de la Entidad.



Centro Nacional de Investigaciones de Café "Pedro Uribe Mejía"

Chinchiná, Caldas, Colombia Tel. (6) 8506550 Fax. (6) 8504723 A.A. 2427 Manizales cenicafe@cafedecolombia.com

Edición: Sandra Milena Marín, Gloria E. Aristizábal V. Fotografía: Gonzalo Hoyos S.,

Luis Miguel Constantino C.

Diagramación: María del Rosario Rodríguez L.

Imprenta: Feriva