

CARACTERIZACIÓN DE AISLAMIENTOS DEL HONGO ENTOMOPATOGENO *BEAUVERIA BASSIANA* Y SU PATOGENICIDAD EN *HYPOTHENEMUS HAMPEI* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE, SCOLYTINAE)

CHARACTERIZATION OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *BEAUVERIA BASSIANA* ISOLATES AND THE PATHOGENICITY IN *HYPOTHENEMUS HAMPEI* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE, SCOLYTINAE)

Luis Cañizalez¹, Clemencia Guédez^{1*}, Carmen Castillo¹ y Rafael Olivar²

¹ Universidad de Los Andes. Lab. Fitopatología y Control Biológico. NURR. ² MPPE. ETARZ. Adolfo Navas Coronado.

Resumen

La broca (*Hypothenemus hampei*) es insecto plaga que causa pérdidas considerables en café. El principal control ha sido el químico, sin embargo, actualmente se buscan alternativas más ecológicas. El objetivo fue caracterizar 12 aislamientos nativos de *Beauveria bassiana* y evaluar el control en la broca. La caracterización involucró la morfología, fisiología y patogenicidad de los aislamientos en adultos de *H. hampei*. El tamaño de los conidios osciló entre 2,55 y 2,42 micras. La germinación de los conidios presentó un promedio de 77,45% con diferencias significativas ($p < 0,001$) entre los aislamientos; la producción de conidios (concentración) presentó un rango entre los $1,5 \times 10^7$ conidios/mL y $5,9 \times 10^7$ conidios/mL. La tasa de crecimiento tuvo un promedio de 6,38 cm a los 10 días en todos los aislamientos con diferencias significativas ($p < 0,001$). Los aislamientos Bb-04C, Bb-08Co y Bb-12E fueron responsables de la mayor mortalidad corregida en *H. hampei* en este estudio. Así mismo, Bb-08Co, Bb-12E presentaron los mejores promedios de porcentaje de germinación. Este estudio demuestra que los aislamientos nativos de *B. bassiana* Bb-08Co y Bb-12E son altamente patógenos en adultos de *Hypothenemus hampei*, lo que sugiere que el uso de este hongo puede ser eficaz en el control de poblaciones de brocas protegiendo al ambiente.

Palabras clave: Broca, *Beauveria bassiana*, morfología, fisiología, patogenicidad.

Abstract

The coffee berry borer *Hypothenemus hampei* is a major insect-pest of coffee crops that causes considerable economic losses in coffee production. The main control is chemical, however, currently is searching for more ecological alternatives. The objective was to characterize 12 native isolates of *Beauveria bassiana* and evaluate the control against the coffee berry borer. The characterization involved the morphology, physiology and pathogenicity of isolates of *H. hampei* adults. The size of the conidia ranged between 2.55 and 2.42 microns. Conidia germination presented an average of 77.45% with statistical significant differences ($p < 0.001$) between the isolates; conidia production (concentration) ranged between 1.5×10^7 conidia / mL and 5.9×10^7 conidia / mL. The growth rate averaged 6.38 cm after 10 days in all isolates with statistical significant differences ($p < 0.001$). In this study, the isolates identified as Bb-04C, 08Co and Bb-Bb-12E were responsible for most *H. hampei* mortality. Likewise, Bb-08Co, Bb-12E presented the best germination percentage averages. This study demonstrates that the native isolates of *B. bassiana* are highly pathogenic against *H. hampei* adults, suggesting that the use of this fungus may be effective in controlling populations of the coffee berry borer protecting the environment.

Keywords: Coffe berry borer, *Beauveria bassiana*, morphology, physiology, pathogenicity.

Recibido: 01-06-2015 / **Aprobado:** 13-10-2015

Introducción

La broca del fruto del café, *Hypothenemus hampei*, (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), constituye uno de los mayores problemas entomológicos en la caficultura mundial (Dufour y col., 1999), ya que puede implicar pérdidas importantes en los rendimientos por cosecha que van desde 5% hasta 24%, según la infestación que se presente. Las hembras del insecto perforan el fruto y colocan los huevos en el endospermo y las larvas se alimentan de este y ocasionan la caída del fruto y pérdida de peso del grano de café (Wegbe y col., 2003). En casos extremos se reportan pérdidas de hasta el 50% de la cosecha (Ramírez y Mora, 2001).

El café ha sido muy importante para la economía venezolana, en sus inicios ayudó a incrementar los ingresos nacionales gracias a la demanda del producto. Venezuela fue un gran exportador de café y cacao (*Theobroma cacao*) aún hasta los primeros años del siglo pasado, marcando una pauta especial gracias a su calidad de renombre internacional (García y Ochoa, 2014).

Así mismo, el café cambió favorablemente las condiciones de vida de los pueblos andinos, especialmente de los estados Táchira, Mérida y Trujillo mejorando todos los aspectos sociales y de infraestructura, abriendo caminos y canales fluviales; así como el comercio e intercambio con el puerto de Maracaibo a través del cual se exportaba el producto a Europa y Norteamérica y luego regresar con productos y tecnologías importados de esas naciones. La expansión del cultivo del café en Venezuela, se inscribe dentro de un escenario de grandes cambios en la producción y el consumo (García y Ochoa, 2014).

En Venezuela, la broca fue reportada por primera vez en 1995 en el estado Táchira y en el 2000 se reportó en el estado Lara en la localidad de Caspo, municipio Andrés Bello (Fernández, 2005). En mayo del año 2000, el Servicio Autónomo de

Sanidad Agropecuaria (SASA), señaló la presencia de la broca en cafetales ubicados en el sector Corojo, municipio Boconó, del estado Trujillo; por lo que en ese mismo año, basados en referencias experimentales de otros países y con la cautela de que la broca como sus agentes de regulación poblacional pueden tener un comportamiento diferente en nuestras condiciones ambientales, se iniciaron los estudios para su control (Montilla y col., 2006). La broca es considerada como la plaga más importante del café y causa pérdidas entre el 30 y 35% en el rendimiento, la cual puede ser mayor si se retrasa la cosecha (Barrera, 2002).

Al principio este insecto- plaga fue controlado mediante la aplicación de insecticidas de origen químico, pero la dificultad para su control efectivo, por estar el adulto protegido en el interior de los frutos y su reproducción es muy rápida, los insecticidas han demostrado ser poco eficaces (Posada-Florez y col., 2004). Asimismo, este tipo de control, trajo consigo fenómenos nuevos, no previstos, como el desarrollo de resistencia a los insecticidas y la aparición de nuevas plagas por la destrucción de sus enemigos naturales. La contaminación del medioambiente, destrucción de la fauna silvestre, y los peligros de intoxicación, son fenómenos comunes ligados al uso de insecticidas (Bustillos, 2002).

Para el control de la plaga se recomienda el manejo integrado, donde se incluyen las prácticas de control cultural como la regulación de sombra, poda de la planta café, deshierba y control de malezas, que dificultan la multiplicación del insecto y facilitan las labores de cosecha y junto a esas labores se complementan con el control etológico, monitoreo del insecto, control biológico (e.g., hongos entomopatógenos) y uso del insecticidas de origen químico, como última alternativa en casos estrictamente necesarios (Rojas, 2012).

Los enemigos naturales más importantes son algunos parasitoides (*Cephalonomia*

stephanoderis, *Prorops nasuta* y *Phymastichus coffea*) y el hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Ascomycota: Hipocreales) (Barrera y col., 1990, Moore y Prior, 1988). En cuanto al hongo *B. bassiana*, los avances en la investigación son notables y el ascomiceto a través de procesos sencillos de producción se ha distribuido en las zonas cafeteras colombianas infestada con *H. hampei* (Bustillo y col., 1998).

El hongo *Beauveria bassiana*, es muy eficiente como controlador biológico, particularmente en regiones de alta humedad donde puede eliminar hasta el 70% de los adultos de la broca, cuando éstos inician la perforación de los frutos del café (Damon y col., 2000). El hongo se puede cultivar sobre granos de arroz en el laboratorio, a pesar que es un bioinsecticida se formula y se asperja de manera similar a un insecticida químico, y con la ventaja de tener pocos efectos patógenos y tóxicos para el humano y los ecosistemas en general (Baker, 1998, Arias, 2007). Algunos estudios destacan que la dosis óptima de *B. bassiana* para el control de *H. hampei* es de 0.60 kg ha⁻¹ y que se puede aumentar la dosis hasta 1.2 kg ha⁻¹ (Balaskrishnan y col., 1994; Klein-Koch y col., 1998).

La eficiencia de los agentes de control biológico usados en programas de manejo integrado de insectos-plaga, depende en gran medida del conocimiento de su biología, fisiología y genética, del ambiente en el cual se aplican y de los mecanismos de interacción de éstos con el hospedante (Hokkanen y Pimentel, 1984; Prior, 1992; Hajek y Leger, 1994).

El hongo *B. bassiana* se ha observado en forma natural en cafetales de la región brasileña cafetera infectando a la broca en porcentajes menores y en otros países se ha observado una infección de *B. bassiana* mayor a 1.0% (Costa y col., 2002). Estos hallazgos son muy importantes debido a la búsqueda de aislamientos autóctonos de cada zona cafetalera, por estar adaptados a las condiciones ambientales locales donde se aplicará el

hongo *B. bassiana*. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar *in vitro* morfológica y fisiológicamente 12 aislamientos nativos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, y evaluar su acción patógena sobre adultos de *Hyphotenemus hampei*.

Materiales y Métodos

Aislamientos de *Beauveria bassiana*

Se utilizaron 12 aislamientos de *Beauveria bassiana* procedentes de diferentes localidades del estado Trujillo, región andino-venezolana, los cuales pertenecen a la colección de hongos entomopatógenos del laboratorio de Fitopatología y Control Biológico, Núcleo Universitario “Rafael Rangel” (NURR), Universidad de Los Andes (ULA), Trujillo, estado Trujillo, Venezuela; en la Tabla 1 se indican sus procedencias e indexaciones.

Cultivo y mantenimiento de los aislamientos

Los aislamientos se sembraron en medio de cultivo Papa Agar y Dextrosa (PDA), colocando un disco de hongo previamente crecido en el medio de cultivo en tubos de ensayo e incubados durante 15 días a 27±1°C y 65% HR, en condiciones de laboratorio.

Caracterización morfológica

Características macroscópicas

Las características macroscópicas evaluadas en las colonias de los 12 aislamientos fueron aspecto de la colonia, color anverso y reverso.

Características microscópicas

Se midió el tamaño de conidios (largo y ancho), en láminas portaobjetos colocando gotas de una suspensión de conidios (1 x 10⁶ conidios/ml) y Tween 80 al 1%. Con la ayuda de un micrómetro incorporado al ocular del microscopio, se midieron 50 conidios por aislamiento, usando un objetivo 100x (Glare y Inwood, 1998, Vélez y col., 1999). El tamaño de los conidios se midió en micras.

Tabla 1. Indexación y procedencia de los 12 aislamientos del hongo *B. bassiana* evaluados.

Aislamiento	Procedencia	Año	Insecto hospedante
Bb-01M	Monay	1991	<i>Rhodnius prolixus</i> (HEMIPTERA: REDUVIIDAE)
Bb-02M	Monay	1991	<i>Heliotaurus ruficollis</i> (COLEOPTERA: ALLECULIDAE)
Bb-03C	Cuicas	2006	<i>Hypothenemus hampei</i> (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)
Bb-04C	Cuicas	2006	<i>Hypothenemus hampei</i>
Bb-05M	Monay	1995	<i>Periplaneta americana</i> (BLATTODEA: BLATTIDAE)
Bb-06Ca	Cabimbú	1995	<i>Premnotrypes vorax</i> (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)
Bb-07A	Arapuey	2006	<i>Hypothenemus hampei</i>
Bb-08Co	Corozo	2006	<i>Hypothenemus hampei</i>
Bb-09V	Villita	2006	<i>Hypothenemus hampei</i>
Bb-10Mi	Miton	2008	<i>Hypothenemus hampei</i>
Bb-11Ch	Chapa	2008	<i>Hypothenemus hampei</i>
Bb-12E	Escuque	2008	<i>Hypothenemus hampei</i>

*Todos los aislamientos son procedentes del estado Trujillo, Venezuela

Caracterización fisiológica

La caracterización fisiológica consistió en la evaluación de las variables o parámetros que se describen a continuación:

Germinación de conidios o viabilidad. Se determinó el porcentaje de germinación de los conidios procedentes de colonias de cada aislamiento de *B. bassiana* desarrollado en medio sólido PDA. Se depositaron 50 microlitros de la suspensión de conidios (1×10^6 con/ml) en una porción de medio PDA de 10x10mm, colocado en un portaobjeto e incubados en cámara húmeda (27 ± 1 y 100%HR). Se realizaron 5 repeticiones por cada aislamiento. Las evaluaciones se realizaron cada 2 horas por 12 horas. El porcentaje de germinación se determinó mediante el conteo del número de conidios germinados en 25 campos por aislamiento, considerando como conidio germinado aquel cuyo tubo germinativo

fue igual o mayor a su diámetro (Vélez y col., 1997).

Producción de conidios (esporulación).

Los aislamientos fueron sembrados en cajas de Petri con medio PDA e incubados a temperatura de 27 ± 1 y 100%HR (con el fin de cuantificar la producción de conidios), a los 12 días de incubación se preparó una suspensión con el contenido de las cajas de Petri, cortando una sección de 5 mm² que fue colocada en un tubo de ensayo con 10ml de agua destilada estéril para formar la solución madre. El conteo de conidios por ml se realizó a través de la cámara de Neubauer. Se evaluaron cinco repeticiones por aislamiento.

Tasa de crecimiento. El crecimiento de cada aislamiento fue medido en cajas de Petri con medio PDA, las cuales fueron inoculadas en el centro, con un disco (diámetro 3 mm) de medio de cultivo con el hongo. Las cajas

de Petri se incubaron a temperatura ambiente ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$) y 65% HR. El crecimiento se midió cada 12 horas hasta los 12 días.

Mortalidad de *Hyphotenemus hampei* por *B. bassiana*.

Insectos

Los insectos utilizados fueron traídos en granos de café infestado con *H. hampei* de una plantación de café de la localidad El Corozo, parroquia Monseñor Carrillo, municipio Trujillo del estado Trujillo.

Reactivación de los aislamientos de *B. bassiana*

Los aislamientos de *B. bassiana* se reactivaron previamente al estudio inoculando adultos de broca, al aparecer el micelio sobre el insecto (Fig.1) fue pasado a medio de cultivo PDA en cajas de Petri.

Diseño experimental

Para evaluar la mortalidad de *H. hampei* se seleccionaron 390 adultos divididos en trece grupos, uno por cada aislamiento de *B. bassiana* y un grupo control, se organizaron bajo un diseño completamente al azar, con 13 tratamientos y 3 repeticiones por cada tratamiento. Se colocaron 10 insectos/Caja de Petri, 30 insectos por tratamiento y a temperatura ambiente, $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa variable entre 65% y 66%, mientras se les aplicaba cada tratamiento.

Los insectos fueron inoculados sumergiéndolos por 3 seg en una suspensión de conidios con una concentración de 1×10^7 con/ml en agua destilada estéril con Tween 80 al 1%. Los insectos del tratamiento control fueron sumergidos en agua destilada estéril y tween 80 al 1%. Posteriormente, fueron colocados en una Caja de Petri de vidrio (9 cm diámetro), un disco de papel absorbente humedecido ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 100%HR) e incubadas a 12 h luz y 12 h oscuridad. Diariamente y durante 10 días se realizaron evaluaciones de los insectos en la lupa estereoscópica, evaluando la mortalidad diaria y la presencia

de signos de la infección causada por el hongo.

Los insectos muertos eran pasados a cámara húmeda para incentivar el crecimiento del hongo. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de mortalidad (González y col., 1993).

El análisis estadístico se realizó de acuerdo a la variable estudiada:

Para la caracterización microscópica, el tamaño de los conidios se analizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de medias de comparación múltiple (Tukey).

Los resultados del porcentaje de germinación de los conidios se transformaron por medio de la fórmula $\text{sen}^{-1}\sqrt{x}\sqrt{x}$, se analizaron por ANOVA y se compararon las medias (Tukey). El crecimiento y la producción de conidios fueron analizadas por ANOVA y comparadas las medias (Tukey). Para el porcentaje de mortalidad de los insectos los resultados se corrigieron con respecto al testigo tratado, calculando el porcentaje de eficacia mediante la fórmula de Schneider - Orelli (Ciba - Geigy, 1973):

Porcentaje = $(b - k) / (100 - k) \times 100$ de eficacia.

Donde b equivale al porcentaje de individuos muertos en el tratamiento y k equivale al porcentaje de individuos muertos en el testigo absoluto.

Para los análisis estadísticos se utilizó el software SAS® versión 9.1.3 para Windows y se consideró como estadísticamente significativo un valor de probabilidad de $P \leq 0,05$.

Resultados y Discusión

Caracterización morfológica

Características macroscópicas

Las colonias en medio de cultivo PDA, presentaron una coloración blanca y pigmentación color crema en el reverso

de la caja Petri, de aspecto polvoriento y semielevada en todos los aislamientos.

Características microscópicas

Se observaron estructuras fúngicas con conidióforos en forma de racimo simpodial corto y globoso. Asimismo, células conidiógenas o conidióforos con ápice en forma de zig-zag y conidios esféricos unicelulares. El tamaño (largo y ancho) de los conidios osciló en todos los aislamientos entre $2,55 \pm 0,25 \mu\text{m}$ y $2,42 \pm 0,38 \mu\text{m}$ (Tabla 2).

Similares resultados encontró Safavi, (2010) cuando identificaron y estudiaron la patogenicidad de nuevos aislamientos de *Beauveria bassiana* en Iran. Thakur y col. (2005), no encontraron diferencias significativas en la morfología de los conidios en comparaciones entre distintos aislamientos. Por otro lado no existe correlación de la virulencia de aislamientos de *B. bassiana* con el tamaño de los conidios, la producción de pigmento, ni el crecimiento micelial (Talaie-Hassanloui y col., 2006).

Caracterización fisiológica

Germinación y viabilidad de conidios.

Los 12 aislamientos de *B. bassiana* presentaron un porcentaje de germinación con un promedio de 77,45% lo que significa una buena viabilidad de sus conidios. Se presentaron diferencias significativas entre la germinación de los aislamientos ($p < 0,01$), y la prueba de medias (Tukey) dividió estadísticamente los 12 aislamientos en 7 grupos (Fig. 2), los aislamientos Bb08Co, Bb04C, Bb12E presentaron una germinación superior al 83%. Similares resultados han publicado Velez y col. (1997), señalaron que una formulación comercial debe tener una germinación cerca al 85% en un tiempo de incubación de 24 horas, ya que al asperjar en campo, el hongo debe tener un rápido efecto sobre la población del insecto que está atacando y un corto periodo de exposición a condiciones ambientales.

Tabla 2. Dimensiones de los conidios de 12 aislamientos de *B. bassiana*.

Aislamientos	largo μm	CV	ancho μm	CV
Bb-01M	2,8	0,16	2,3	0,25
Bb-02M	2,7	0,74	2,2	0,70
Bb-03C	2,3	0,22	2,0	0,32
Bb-04C	2,6	0,21	2,2	0,28
Bb-05M	2,1	0,19	2,8	0,15
Bb-06Ca	2,6	0,11	2,6	0,19
Bb-07A	2,5	0,29	2,6	0,33
Bb-08Co	2,6	0,12	2,7	0,15
Bb-09V	2,7	0,17	2,4	0,17
Bb-10Mi	2,5	0,20	2,5	0,14
Bb-11Ch	2,4	0,53	2,0	0,42
Bb-12E	2,8	0,54	2,7	0,40

CV: Coeficiente de variación

El porcentaje de germinación fue superior al 85 %, lo que indicó la buena calidad biológica del control biológico. La viabilidad de los conidios se relaciona con la calidad del inoculo y con el tiempo de sobrevivencia del hongo en el medio. Diferencias en la viabilidad de los conidios generan variabilidad en las respuestas que podrían ser atribuidas a diferencias de patogenicidad (Cupull-Santana y col, 2012; Lazo, 1990).

Producción de conidios.

La producción de conidios de los aislamientos de *B. bassiana*, presentó un rango de concentración entre $1,5 \times 10^7$ conidios/mL y $5,9 \times 10^7$ conidios/mL. Con diferencias significativas ($p < 0,001$) entre los 12 aislamientos (Fig. 2) y la prueba de medias según Tukey al 1%, generó 5 grupos. El aislamiento Bb02M, presentó la mayor concentración con un promedio de $5,8 \times 10^7$ conidios/mL, (Grupo I) seguido de Bb09V

con un promedio de $4,7 \times 10^7$ conidios /mL (Grupo II).

Tasa de crecimiento.

El crecimiento de las colonias de los aislamientos de *B. bassiana* fue expansivo, crecimiento diametral con tendencia lineal con el avance de los días, presentando un promedio de crecimiento de 6,38 cm; con diferencias significativas entre los aislamientos ($p < 0,001$). La prueba de media (Tukey) mostró dos grupos: el grupo I, que presentaron el mejor crecimiento y agrupa los aislamientos Bb08Co, Bb02M, Bb07A, Bb12E, Bb06Ca, Bb10Mi, Bb01M y Bb09V y el grupo II conformado por los aislamientos Bb05M, Bb11Ch, Bb03C y Bb04C (Fig. 2).

Luna-Rodríguez y Leucona (2002), estudiaron el crecimiento de la cepa Bb 142 de *B. bassiana* en medio Agar Papa Glucosa y reportan un crecimiento radial de 36,8

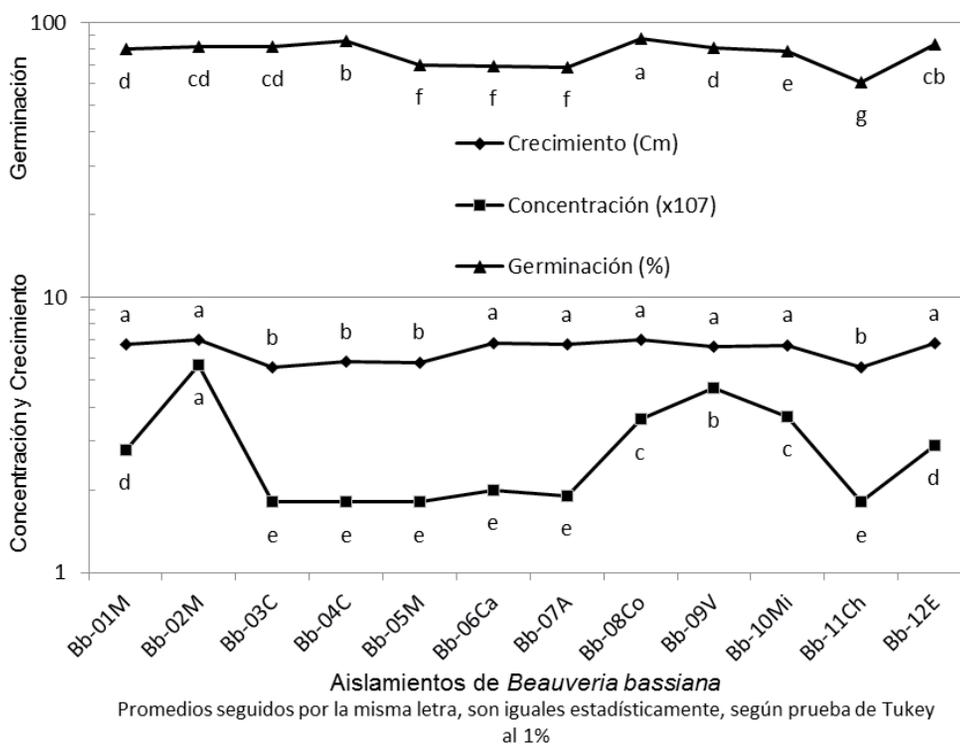
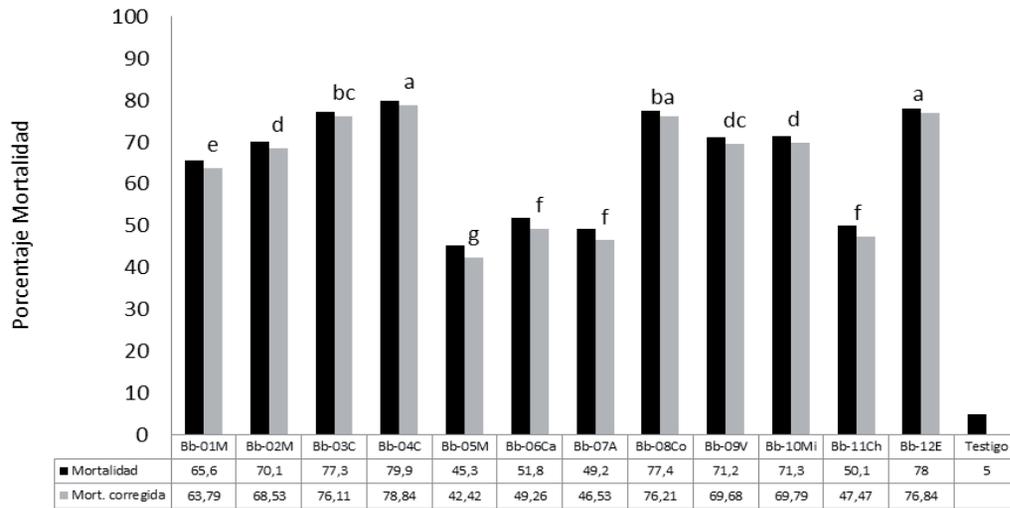


Figura 2. Promedio del porcentaje de germinación, crecimiento en PDA y concentración de 12 aislamientos de *Beauveria bassiana*



Promedio de mortalidad con letras diferentes en las columnas, presentan diferencias significativas, según prueba de medias Tukey al 1%.

Figura. 3. Mortalidad obtenida y corregida (Fórmula Schneider-Orelli) de adultos de broca (*Hyphotenemus hampei*) utilizando 12 aislamientos de *Beauveria bassiana*, con una concentración de 1×10^7 esporas/mL, a 27 ± 1 °C y 65 %HR, a los 10 días de evaluación en condiciones de laboratorio.

mm., aunque en este trabajo fue medido el crecimiento diametral, al comparar es similar el resultado. Por otra parte, Malpartida-Zeballos y col., (2013) encontraron en su investigación que el crecimiento de las colonias de *B. bassiana* cepa ENASA, fue expansivo, homogéneo; y un promedio de crecimiento radial de 35 mm (3,5 cm), muy similar a estos resultados.

Se observaron diferencias en el porcentaje de mortalidad causado por los diferentes aislamientos evaluados ($P < 0,05$). Los resultados de mortalidad en cada tratamiento se corrigieron con el tratamiento testigo con 5%, mediante la utilización de la fórmula de Schneider-Orelli (Fig. 3).

Los aislamientos Bb-04C, Bb-12E, Bb-08Co y Bb-03C fueron responsables de la mayor mortalidad en *H. hampei* en este estudio, con un porcentaje de mortalidad corregida de 78,84%, 76,84%, 76,21% y 76,11% respectivamente, evaluados a los 10 días después de la aplicación del hongo *B. bassiana*. Así mismo, Bb-08Co, Bb-12E presentaron los mejores promedios en el porcentaje de germinación.

A diferencia de estos resultados en cuanto al tiempo de efectividad, Cupull-Santana y col (2012), cuando evaluaron cepas de *Beauveria bassiana* provenientes de *H. hampei*, a concentración de 1×10^7 con/mL encontraron que hay variabilidad entre ellas en cuanto a la efectividad para causar la muerte de insectos en menor tiempo después de su aplicación, y la cepa Bb-18-2 mostró una mortalidad de 98% a partir de las 72 horas después de su inoculación, con un porcentaje de 21% por encima de las demás. Asimismo, Morales de León y col (2014), utilizando una concentración de $3,5 \times 10^9$ con/g. tuvo un porcentaje de mortalidad en broca del café a los 5 días después de la solución fúngica.

Los aislamientos de hongos entomopatógenos de la misma especie pueden presentar diferencias biológicas y ecológicas cuando se utiliza para controlar el mismo insecto. Por lo tanto, en el estudio de un agente controlador biológico eficaz debe realizarse una cuidadosa evaluación y selección basada en la virulencia contra ciertos insectos, evaluando la producción de conidios

y la patogenicidad de los aislamientos para alcanzar un alto porcentaje de mortalidad (Neves y Hisose, 2005; Pin Dalvi y col, 2011). Existen muchos estudios de aislamientos de *B. bassiana* como controlador biológico de insectos con resultados muy prometedores por ser responsables de porcentajes altos de mortalidad (Liu y col., 2003; Quesada-Moraga y col., 2006).

Conclusiones

La caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* es fundamental para comenzar un programa de control no contaminante al ambiente. El conocimiento de su morfología, fisiología y patogenicidad de cada aislamiento, nos permite conocer la eficiencia de cada uno de ellos, en los diferentes insectos-plagas.

Este estudio demuestra que los aislamientos nativos de *B. bassiana* son altamente virulentos en adultos de *Hypothenemus hampei*, lo que sugiere que el uso de este hongo puede ser eficaz en el control de poblaciones de brocas en la zona. Es una alternativa de control en la agricultura ecológica y eficaz en un programa de Manejo Integrado de Plagas para el control ecológico y seguro de la broca del café.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad de Los Andes por el financiamiento de este trabajo a través del proyecto: **NURR-C-523-10-01-B**

Bibliografía

- Arias Z. Aislamiento y patogenicidad del hongo nativo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., controlador biológico de la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferrari. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad de El Salvador. Facultad de Ciencias Agronómicas. Departamento de Protección Vegetal. San Salvador, El Salvador, C. A. 2007. 52 p.
- Baker P. Biological Control of the Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei*). CABI Bioscience, UK. 1998. <http://www.newagri.co.uk/986/focuson/focuson2.html>. Revisado el 12 de diciembre de 2014.
- Balakrishnan M, Screedharan K y Krisnamoorthy P. Occurrence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on certain coffee pest in



Figura. 1. A. Adulto de *Hypothenemus hampei* (Broca). B. Emergencia de micelio y conidias de *Beauveria bassiana* en un adulto de *Hypothenemus hampei*, a los 20 días después de la infección.

- India. Journal of Coffee Research. 1994, 24: 33-35.
- Barrera J. F., Gómez J., Infante F., Castillo A., de la Rosa W. Control biológico de la broca del café con parasitoides. CIES. IICA-PROMECAFE. Folleto Técnico No. 1. 1990.
- Barrera, J. F. Tres plagas del café en Chiapas: La broca del café: Una plaga que llegó para quedarse. El Colegio de la Frontera Sur, Tapachula, 2002, p. 17-20.
- Bustillo A y Posada F. El desarrollo y uso de entomopatógenos en el control de la broca del café. In Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, SOCOLEN. Memorias. Cartagena, 1998. p. 232-253.
- Bustillo A. El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. FNC - Cenicafé, Chinchiná, Colombia. Boletín Técnico No. 24. 2002, 40 p.
- Ciba- Geigy. Manual de ensayos de campo. 1973 .215 p.
- Costa J, Da Silva R, de Araujo P y García A. Ocurrencia de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em broca do café (*Hypothenemus hampei* Ferrari) no Estado de Rondania, Brasil, Acta Amazonica 2002,32: 517-519.
- Cupull-Santana R, Ortíz-Arbolaez A, Delgado-Pérez Y. Método para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Centro Agrícola. 2012, 39(1):59-62.
- Damon A. A review of the biology and control of the berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Bull Entomol Res. 2000, 90: 453- 465.
- Dufour B, Barrera J y Decazy B. La broca de los frutos del cafeto: ¿La lucha biológica como solución? En: Desafíos de la caficultura en Centroamérica. B. Bertrand & B. Rapidel (eds.). San José, Costa Rica. CIRAD, IICA, 1999. p. 293-325.
- Fernández S. 2005. Trampas artesanales con alcoholes: una estrategia fácil de utilizar para el control de broca del café. Revista Digital Ceniap Hoy Número 8 mayo-agosto, 2005, Maracay, Venezuela. www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n8/.
- Glare T y Inwood A. Morphological and genetic characterisation of *Beauveria* spp. from New Zealand. Mycological Research. 1998, 102 (2):250-256.
- González M, Posada F, Bustillo A. Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. Revista Cenicafé, 1993, 44 (3): 93-102.
- Hajeky A y Leger R. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Annual Review of Entomology. 1994, 39:293-322.
- Hokkanen H y Pimentel D. New approach for selecting biological control agents. Canadian Entomologist. 1984, 116:1109-1121.
- INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS (INIA). 2001. Tecnologías al servicio del agro venezolano. 40 años de investigación agrícola 1961-2001. Compilado. Publicación especial N° 1. Maracay, Venezuela. 120 p.
- Klein-Koch C, Espinoza O, Tardazo A, Cisneros P y Delgado D. actores naturales y de control biológico de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferr.). Sanidad Vegetal. 1988, 3: 5-30.
- Lazo, A. R. Susceptibilidad de la broca del fruto del cafeto *Hypothenemus hampei* al hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* y su tolerancia al oxiclورو de cobre. Turrialba (Costa Rica), Centro Agrónomo. CATIE. 1990, 61 p.
- Liu H, Skinner M, Brownbridge M y Parker B. Characterization of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates for management of tarnished

- plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *J. Invertebrate Pathol.* 2003, 82:139-147.
- Luna-Rodríguez J y Lecuona R. Selección de cepas de hongos entomopatógenos nativos para el control de la tucura *Rhammatocerus pictus* (Bruner) (Orthoptera:Acrididae) RIA. *Revista de Investigaciones Agropecuarias.* 2002, 31: 67-83.
- Malpartida-Zevallos J, Narrea-Cango M y Dale-Larraburre W. Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., sobre el gusano defoliador del maracuyá *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en laboratorio. *Ecología Aplicada.* 2013, 12(2):75-81.
- Moore D y Prior C. Present status of biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. In: *Proceedings of Brighton Crop Protection Conference. Pests and diseases.* 1988, 3:1119-1123.
- Morales de León A, Jarquín-Galvez R, Gomez-Ruiz J, Díaz-Gómez O, y Marín-Sánchez J. Evaluación de un formulado de aceite vegetal de *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio para el control de la broca del café. *Fitosanidad*, 2014, 18(1): 5-14.
- Neves P y Hirose E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico de broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera:Scolytidae). *Neotropical Entomology.* 2005, 34(1):077-082.
- Pin Dalvi L, Pratissoli D, Polanezyk R, Santos-Andrade G. Selection of native isolates of *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Hypocreales) for the control of the coffee borer beetle *Hypothenemus hampei* (Scolytinae) in Brazil. *Biological Lett.* 2011, 48 (1):39-46.
- Posada-Florez F, Villalba D y Bustillo A. Los insecticidas y el hongo *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. *Cenicafé.* 2004, 55(2):136-149.
- Prior C. Discovery and characterisation of fungal pathogens for locust and grasshopper control. In *Biological Control of Locusts and grasshoppers.* International Institute of Biological Control. Lomer, CJ; Prior, C. Ed. Redwood Press, Melksham,UK. 1992, p.230-238.
- Quesada-Moraga E, Maranhao E, Valverde-Garcia P y Santiago-Alvarez C. Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements and toxicogenic activity. *Biologic. Control.* 2006, 36: 274-287.
- Ramírez G y Mora M. Boletín informativo: la broca del fruto del café nos amenaza. San José, Costa Rica: [ICAFE] Instituto del café de Costa Rica, 2001. p. 70.
- Rojas M. Manejo sostenible de la broca (*Hypothenemus hampei*) mediante poda sistemática del cafeto en costa Rica. *Agronomía Costarricense.* 2012, 36(2):71-79.
- Safavi S. Isolation, identification and pathogenicity assessment of a new isolate of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Journal of Plant Protection Research*, 2010, 50(2): 158–163.
- Talaei-Hassanloui R, Kharazi-Pakdel A, Goettel M y Mozaffari J. Variation in virulence of *Beauveria bassiana* isolates and its relatedness to some morphological characteristics. *Biocontrol Science and Technology.* 2006, 16(5):525-534.
- Thakur R, Rajak R, Sandhu S. Biochemical and molecular characteristics of indigenous strains of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* of Central India. *Biocontrol Science and Technology.* 2005, 15(7):733-744.
- Vélez P, Posada F, Marn P, González M, Osorio E y Bustillo A. Técnicas para el control de calidad de formulaciones

de hongos entomopatógenos. Boletín Técnico CENICAFE. 1997, No. 17.

Wegbe K, Cilas C, Decazy B, Alauzet C y Dufour B. Estimation of production losses caused by the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) and calculation of an economic damage threshold in Togolese coffee plots. Journal Economic. Entomologic. 2003, 96: 1473-1478.