

Posterior a las liberaciones se instruye a los cafeteros sobre la recolección al cabo de 45-60 días de cerezas brocadas y parasitadas, las cuales se introducen en jaulas de exclusión para que emerjan las avispidas y se redistribuyan en el resto del cafetal.

2.2.6. CONCLUSIONES

El programa de introducción, desarrollo de métodos de producción masiva y evaluación de la eficacia en el uso de los parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta* ha sido exitoso. Se logró demostrar como se puede desarrollar un agente de control biológico para ser utilizado en un programa de manejo integrado. Colombia es el primer

país en lograr estos avances que a largo plazo beneficiarán su industria cafetera y permitirán un medio ambiente más sano ecológicamente. Durante 1995 se liberaron 250 millones de avispidas en cafetales infestados con broca con el concurso de la industria privada mostrándose así las bondades de estas asociaciones para poner en práctica los desarrollos de la investigación. Estos dos parasitoides se han establecido en todos los sitios donde se han liberado y se espera que jueguen un papel importante como reguladores naturales de las poblaciones de broca, especialmente en aquellos sitios donde se encuentren concentradas, es decir en “focos”.



2.3. EL DESARROLLO Y USO DE ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DE LA BROCA DEL CAFÉ

Los hongos entomopatógenos para el control de la broca del café son un componente fundamental en el desarrollo de un programa de manejo integrado que tenga por finalidad la preservación del medio ambiente y la racionalidad en el uso de insecticidas químicos. Los hongos *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, se considera que pueden jugar un papel muy importante en el control de *Hypothenemus hampei* bajo las condiciones de los ecosistemas cafeteros colombianos. Estos agroecosistemas son permanentes, debido al sombrío o autosombrío del café hay bastante protección da la radiación solar y la humedad relativa alcanza niveles óptimos para estos hongos durante ciertos momentos del día.

Estas consideraciones han hecho que se emprenda un vasto programa de investigación que comprende desde la obtención de aislamientos hasta la producción masiva y evaluación de su eficacia bajo diferentes condiciones ecológicas de campo, para

su inclusión dentro de un programa de manejo integrado de la broca (Figura 42).

2.3.1. Investigaciones con *Beauveria bassiana*

Con el fin de presentar un panorama del conocimiento mundial actual sobre este hongo, se presenta la siguiente revisión la cual se contrasta al final con información reciente desarrollada en Colombia para el caso de la broca del café.

Las especies de *Beauveria* causan enfermedades en insectos que se conocen como muscardinas blancas. El género se caracteriza por presentar micelio blanco, conidióforos sencillos, irregularmente agrupados o en grupos verticilados, en algunas especies hinchados en la base y adelgazándose hacia la porción que sostiene la conidia, el conidioforo presenta forma en zig-zag después de que varias conidias se producen. Las conidias son hialinas, redondea-

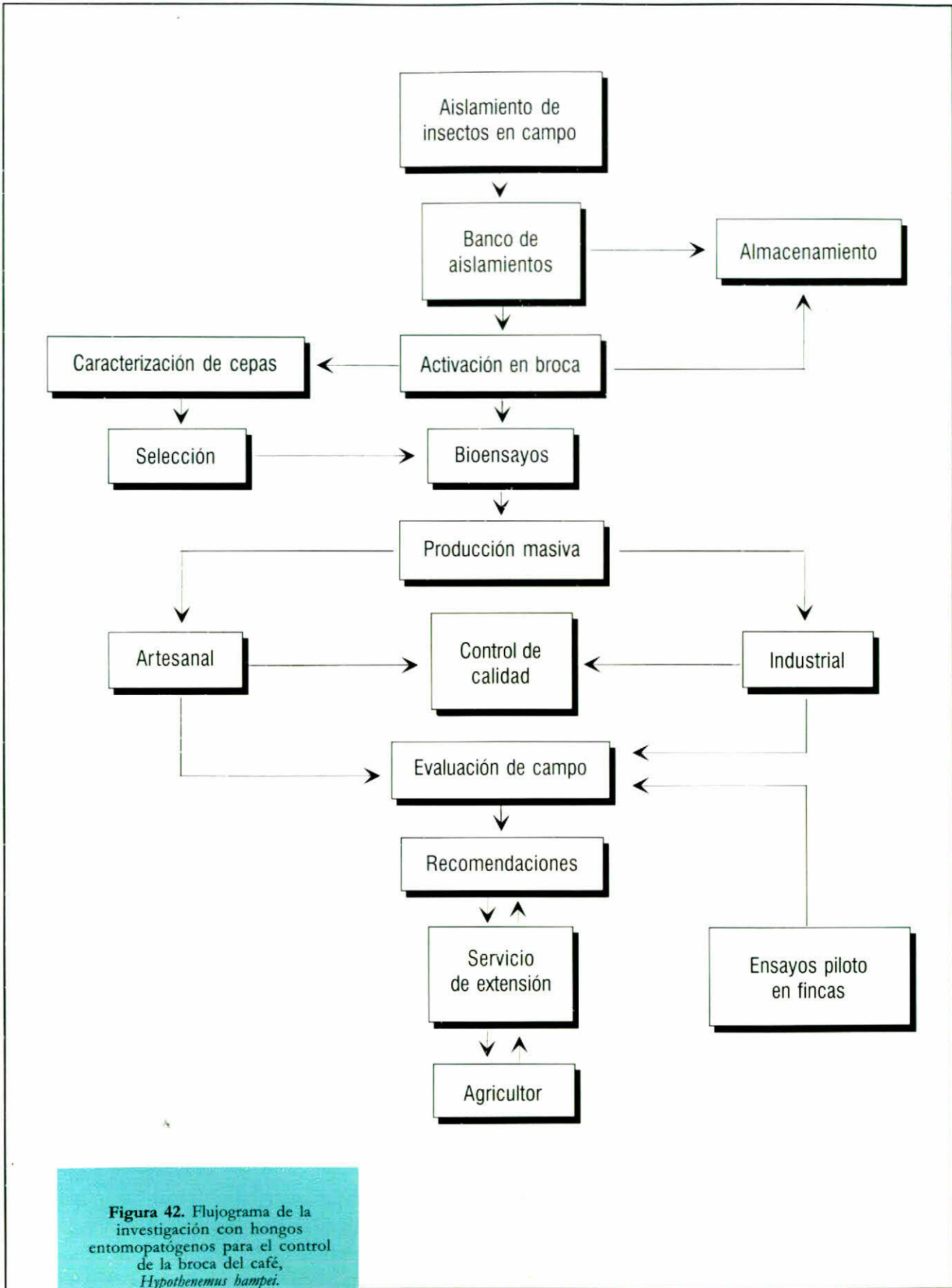


Figura 42. Flujograma de la investigación con hongos entomopatógenos para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*.

das a ovoides, unicelulares y emergen en pequeños esterigmas (Barnett y Hunter 1972). (Figura 43)

El género de *Beauveria* está compuesto por varias especies, sin embargo, las más frecuentemente aisladas y estudiadas son *B. bassiana* y *B. brongniartii* (De Lacroix) Siemszko. *B. bassiana* presenta por lo menos el 50% de las conidias redondeadas, mientras que *B. brongniartii* alrededor del 98% de las conidias son ovoides. Kuno *et al.* 1982, describieron dos nuevas especies encontradas en Suramérica. *B. velata* Samson y Evans, encontrada en larvas de Arctiidae alimentándose en plantas de cacao e inga en el Ecuador. Esta especie se caracteriza por tener conidias elipsoides verrugosas cubiertas por una capa gelatinosa. En medio de agar malta o avena cuando esporula es blanca o crema. El reverso, al principio, es incoloro pero luego cambia a amarillo. La otra especie *B. amorpha* Samson secundarios de colecciones de cacao, se caracteriza por presentar un synnemata muy largo sobre el cuerpo del insecto. Las colonias en agar malta o crema, inicialmente son de color blanco algodónoso, luego, con el tiempo, se vuelven polvosas y de color amarillo. El reverso de la colonia al principio es incoloro y más tarde se torna amarillo.

Mugnai *et al.* (1989) han demostrado que las características de los cultivos son bastante variables y no se pueden utilizar para la determinación de especies; la forma de la espora es la característica más útil para distinguir entre especies. Los datos bioquímicos obtenidos soportan la separación de *Beauveria* en seis especies basadas en conceptos puramente morfológicos.

Para la caracterización y selección de razas se han evaluado diversas técnicas; el estudio de la conidiogénesis ha demostrado ser inadecuado para identificar razas. Otros autores han usado técnicas electroforéticas e inmunoelectroforéticas combina-

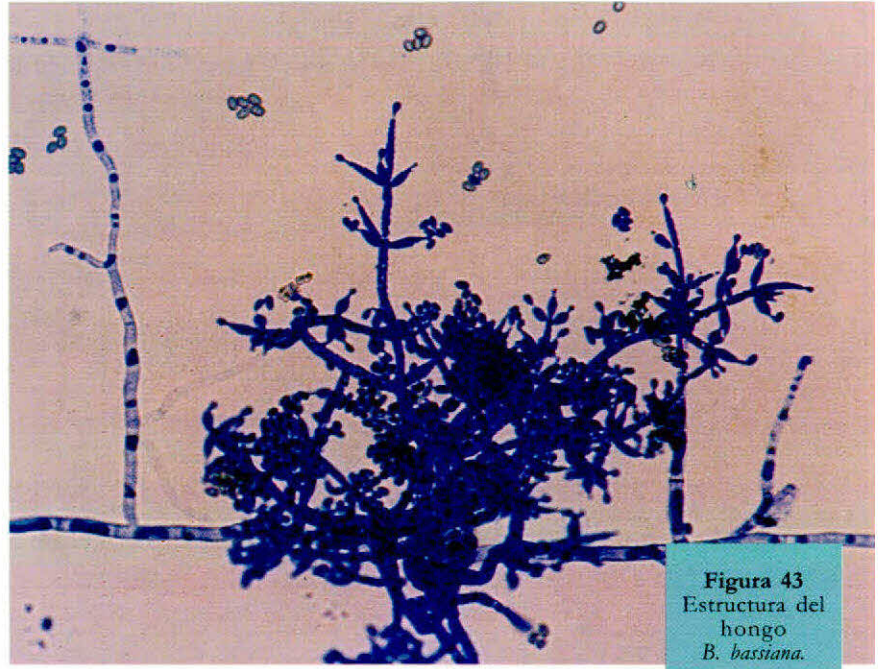


Figura 43
Estructura del
hongo
B. bassiana.

das con actividad enzimática y técnicas serológicas. La virulencia de varias razas de *B. brongniartii* se ha correlacionado con un arco de precipitación obtenido por inmunoelectroforesis. También se ha obtenido una conexión entre la virulencia y la actividad de la lipasa en esta especie (Ferron 1981).

En Rusia se ha desarrollado bastante investigación tratando de modificar artificialmente la virulencia por mutagénesis, hibridación o producción de heterokariones, sin embargo, las nuevas razas de *B. bassiana* originadas, no parecen ser mejores que las razas originales (Ferron 1981).

El rango de hospedantes de estas especies es amplio; en el mundo se han registrado en más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes. *B. bassiana* se ha encontrado en más de 60 especies de insectos en el mundo. En Colombia, aún cuando no se han desarrollado labores específicas para este fin (Bustillo 1995), hasta el momento se ha aislado de más de 30 especies pertenecientes la mayoría a lepidópteros y coleópteros; su presencia es más frecuente en cultivos de palma africana en donde ataca varios lepidópteros como: *Brassolis sophorae*, *Sibine* sp., *Opsiophanes* sp., *Stenoma cecropia* Meyrick, *Durrantia* sp., *Euprosterna* sp., y *Loxotoma elegans* Zeller. En arroz se ha encontrado en la zona de Urabá ata-

cando *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith y en cacao sobre *Monalonion dissimulatum* Distant. En maracuyá infesta ocasionalmente larvas de *Agraulis junio* Cramer; en lulo ataca adultos de *Leptinotarsa undecimlineata* Stal. y en plátano se encuentra sobre *Metamasius hemipterus* Oliver y *Cosmopolites sordidus* Germar. Recientemente se han obtenido aislamientos de este hongo de la broca *H. hampei* en zonas cafeteras de Colombia. Los insectos infectados por este hongo se reconocen por el crecimiento algodonoso blanco que a veces llega a cubrir todo el cuerpo. (Figura 44). A pesar de su aparente especificidad a insectos, a estos hongos se les considera parásitos facultativos no especializados pero bien adaptados a una existencia saprofítica (Evans 1982). Estos hongos se presentan por lo general en poblaciones de plagas hipógeas o en plagas que se presentan en localidades con temperaturas, humedad y otras condiciones similares a aquellas del suelo.

La esporulación de *B. bassiana* en *Blissus leucopterus* ocurre en presencia de humedades relativas del 75%, y se incrementa notablemente cuando la humedad es del 100% (Ramoska 1984). Su patogenicidad y habilidad para sobreponerse a los mecanismos de defensa de sus hospedantes se debe en gran parte a la producción de toxinas. Estas se han examinado en las especies más comunes, *B. bassiana*

y *B. brongniartii*. De acuerdo con las descripciones de los síntomas, varias razas obviamente producen compuestos tóxicos que rápidamente debilitan al hospedante después de la invasión de la hemolinfa. Los estudios *in vitro* indican que existen muchos compuestos tóxicos no identificados. El compuesto tóxico más estudiado ha sido el depsipéptido Beauvericin aislado de *B. bassiana*. Está relacionado químicamente con las enniatinas y su forma estructural es una secuencia cíclica repetida de tres moléculas de N-metil fenilalanina alternando con tres moléculas del ácido 2-hidroxiisovalérico; esta toxina es tóxica a larvas de mosquito, adultos de moscas caseras, crustáceos y bacterias; aparentemente es inócua a lepidópteros (Miller *et al.* 1983). El modo de acción presumiblemente envuelve la característica ionofórica de la molécula que permite el transporte catiónico a través de las membranas celulares, con la especificidad de los cationes siendo alterada con los cambios de los aniones presentes. No todos los aislamientos de *B. bassiana* producen beauvericin *in vitro*. Este compuesto también se ha aislado del micelio de *Paecilomyces fumosoroseus* (Roberts 1981).

En general la germinación de las conidias de *B. bassiana* ocurre en un período de 12 horas después de la inoculación. El hongo penetra a través del íntegro del insecto por acción mecánica y efectos enzimáticos, lo cual toma unas 12 horas. Después de 72 horas de la inoculación el insecto está totalmente colonizado. La duración de las diferentes fases de este ciclo depende de la especie atacada y las condiciones ambientales presentes durante la infección. La efectividad de *Beauveria* se afecta en parte por temperaturas y humedad en el macroclima, aunque condiciones de microclima pueden ser importantes, la luz solar y posiblemente la actividad biológica de otros organismos afectan la habilidad de *B. bassiana* para sobrevivir e iniciar infecciones. Las condiciones ambientales más favorables son: humedades relativas altas (>90%) y temperaturas entre 23 y 28°C. (Alves 1986).

B. bassiana y *B. brongniartii* aplicados con insecticidas químicos en dosis bajas, pueden actuar sinérgicamente para causar mortalidad en pobla-

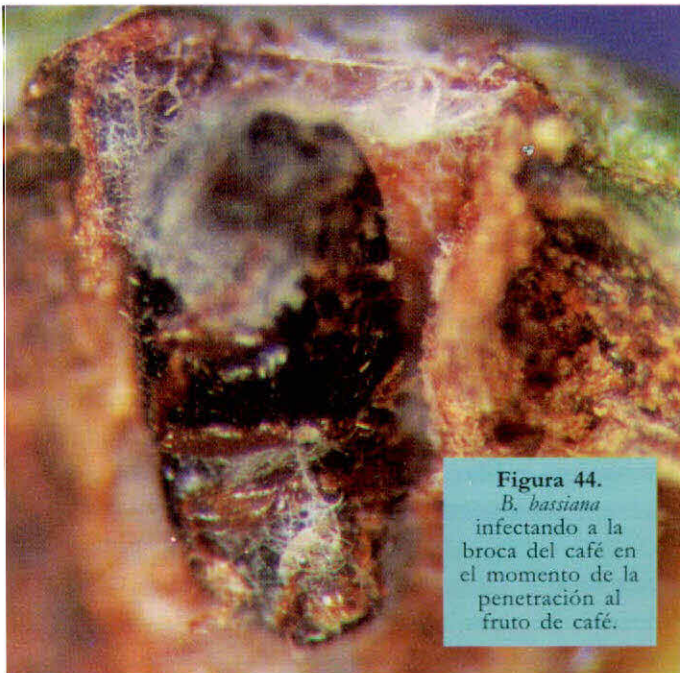


Figura 44.
B. bassiana
infectando a la
broca del café en
el momento de la
penetración al
fruto de café.

ciones de insectos susceptibles. Estas especies se consideran candidatos importantes en programas de manejo integrado de muchas plagas. *B. bassiana* se ha usado en forma comercial para el control de *Leptinotarsa decimlineata* Stal., en combinación con insecticidas por más de 15 años en Rusia. Actualmente se está tratando de emplearlo sin insecticidas usando dosis más altas. *B. bassiana* también se usa en Europa para el control de *Laspeyresia pomonella* plaga de manzanos (Ferron 1978). Recientemente en Brasil se está estudiando *B. bassiana* para utilizarlo en forma comercial en el control de plagas del fríjol y caupí, *Cerotoma* sp., *Diabrotica speciosa* (Germar) y *Chalcodermus aenus* Boheman (Daoust y Pereira 1986). El uso más extensivo de este patógeno ha sido en China en donde es producido por los mismos agricultores en unidades de producción muy sencillas en sus casas para el control de plagas del maíz y forestales (Hussey y Tinsley 1981). En este país se tratan anualmente un millón de hectáreas de maíz con *B. bassiana* para controlar *Ostrinia nubilalis* (Hubner).

En otros estudios se ha demostrado que es posible inducir epizootias artificiales del hongo en una población de insectos. Ferron (1983) hizo un tratamiento al suelo con *B. brongniartii* en dosis de 10×10^9 conidias/m² para el control del Scarabaeidae *Melolontha melolontha* y logró desarrollar una micosis el año siguiente, la automultiplicación del hongo en los cadáveres del insecto y así asegurar la estabilidad de la infectividad del suelo para la próxima generación de la plaga.

En relación con las dosis de *B. bassiana* bajo condiciones de campo, la literatura indica que los rusos recomiendan 2-4 Kg de Boverin/ha (Boverin contiene 1×10^9 conidias de *B. bassiana*/gramo y esto equivale a $1,2 - 2,4 \times 10^{13}$ conidias/ha) para el control de *L. decemlineata*. Para insectos del suelo como *Melolontha melolontha* se utiliza una dosis de 5×10^{14}

conidias/ha de *B. brongniartii* y para otros insectos pequeños de corta vida del suelo se requiere más inóculo ($10^{16} - 10^{17}$ conidias/ha). Cuando las dosis son bajas la enfermedad se desarrolla lentamente y es posible que no se presenten epizootias (Ferron 1978, 1981).



Figura 45.
Aspersión
del hongo
Beauveria bassiana
con equipos
comerciales.

B. bassiana se puede aplicar en el campo usando máquinas de aspersión convencionales o equipos nebulizadores motorizados (Figura 45); también se puede aplicar usando aspersoras de ultra bajo volumen. Recientemente se han evaluado formulaciones en aceite obteniéndose una mayor dispersión de las conidias, mejor supervivencia y efectividad contra el insecto. (Prior *et al.* 1988, Moore y Prior 1988). Un factor importante en la eficiencia del hongo es la cobertura, por lo cual el equipo que se utilice debe estar bien calibrado para obtener un cubrimiento apropiado.

Las especies de *Beauveria* se desarrollan fácilmente en medios de cultivo como PDA y Sabouraud, sin embargo, se han desarrollado otros medios y técnicas de propagación. *B. bassiana* se produce comercialmente bajo el nombre de Boverin en la Unión Soviética y es ahí donde más se ha adelantado la tecnología para la producción masiva de especies de *Beauveria*. La producción masiva de blastosporas

Tabla 24. Medio líquido para la producción masiva de blastosporas de *Beauveria brongniartii* en un fermentador (Blachere *et al.* 1973).

Líquido fermentado de maíz	20 g	Fe SO ₄ 7 H ₂ O	0,023 g
Sucrosa	30 g	ZnSO ₄	0,020 g
KH ₂ PO ₄	2,3 g	K ₂ SO ₄	0,174 g
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O	3,8 g	CaCl ₂ 2 H ₂ O	0,174 g
Mg SO ₄ 7 H ₂ O	0,12 g	Agua hasta completar	1.000 ml

en cultivos sumergidos se desarrolló hace unos 20 años, pero actualmente se ha abandonado por las dificultades de almacenar este tipo de esporas (Ferron 1981).

Un medio patentado en Francia para la producción de blastosporas aparece en la Tabla 24. En este medio nutritivo se producen aproximadamente 10⁹ blastosporas/ml después de 12 horas. Estas se colectan por centrifugación y la pasta resultante se seca a bajas temperaturas por ventilación seca después de mezclarla con polvo en sílica, materiales osmóticos activos (p.e., sucrosa y glutamato de sodio), agentes antioxidantes (p.e ascorbato de sodio) y una mezcla de parafina líquida y polioxyetileno glyceril oleato. Esta preparación se almacena al vacío o en nitrógeno líquido. Las blastosporas en estas preparaciones secadas a 40°C permanecieron viables después de ocho meses (Blachere *et al.* 1973).

Actualmente se utiliza una técnica en dos fases para la producción masiva de conidias aéreas de *B. bassiana* en la Unión Soviética. Primero la biomasa se produce como un micelio en un fermentador, luego éste se cultiva en la superficie de medios nutritivos colocados en bandejas para la esporulación. Una planta piloto en Krasnodar produce anualmente 22 toneladas de Boverin (conidias de *B. bassiana* más una materia inerte, estandarizado a 6 x 10⁹ conidias/gramo) (Ferron 1981).

En el Brasil se produce masivamente el hongo *Metarhizium anisopliae* con el nombre comercial de

Metaquino. La técnica es muy similar a la usada para *B. bassiana*, la diferencia está en que no usan las bandejas para el crecimiento del hongo en la superficie, sino contienen granos de arroz como sustrato alimenticio. Un laboratorio localizado en Recife, Pernambuco, produce 100 Kg de metaquino diariamente, con un contenido de 2 x 10⁹ conidias/gramo de granos de arroz triturados como sustrato (Alves 1986).

En Inglaterra y Dinamarca, algunas compañías comerciales han preparado formulaciones en polvo del hongo para la venta; sin embargo, investigadores franceses están ensayando una preparación granular de *B. bassiana*, la cual ha mostrado superioridad en el control de *O. nubilalis* que usando las formulaciones comerciales (Riba, 1986). Existe también la posibilidad en el futuro de producir formulaciones con base en aceites que permitirían una mejor dispersión de las conidias y posiblemente, una mejor acción contra el insecto (Prior *et al.* 1988).

Moore y Prior (1988), Cenicafé (1990), indican que la broca del café es atacada por varios hongos; sin embargo, bajo condiciones de campo sólo se ha encontrado atacada por *B. bassiana*. Recientemente en reconocimientos efectuados en diversas zonas de Colombia se han detectado los hongos *Hirsutella eleutheratorum* (Posada *et al.* 1993), *Fusarium oxisporum* en frutos brocados en las ramas y *M. anisopliae* de brocas provenientes de frutos en el suelo.

B. bassiana se ha encontrado infectando *H. hampei* prácticamente en todos los países a donde ha llegado este insecto. La incidencia del hongo varía de un país a otro y aunque estas diferencias pueden deberse a factores climáticos, es también posible suponer que la broca está mejor adaptada al hongo en África, pero sucumbe a razas exóticas que encuentra cuando llega a un nuevo sitio (Moore y Prior 1988). Jiménez (1992) comprobó que existen diferencias en virulencia entre razas de *B. bassiana* hacia la broca del café. De 46 aislamientos sólo 5 causaron altas mortalidades bajo condiciones de laboratorio.

Los intentos de control biológico de la broca del café usando *B. bassiana* han sido muy pocos y se han caracterizado por la poca continuidad después de ensayos iniciales. Carneiro (1984) en el Brasil después de aplicar el hongo en dosis de 10^{10} - 10^{12} esporas/ha encontró un bajo porcentaje de control. Lo anterior, indica, se debió a condiciones ambientales no propicias.

Fernández *et al.* (1985) aplicaron *B. bassiana* a un cafeto que tenía una infestación del 10% de broca, usando una dosis de 300 ml de una suspensión de 1×10^9 esporas/ml; al cabo de 10 días se observó una mortalidad de 91%. Tronconi *et al.* (1986) en Honduras, usaron un aislamiento de este hongo obtenido directamente de broca, el cual asperjaron en el campo a una concentración de 2×10^7 esporas / ml y después de 36 días encontró mortalidades hasta del 66,2%.

Investigaciones en Colombia. *Beauveria bassiana* (Bb) se encuentra naturalmente infectando la broca en casi todas las regiones de Colombia donde la broca ha hecho su aparición; hasta el momento se cuenta con un cepario de 92 aislamientos de *B. bassiana* provenientes de diferentes localidades y condiciones agroecológicas. Este material está siendo sometido a caracterización para conocer la relación existente entre ellos, sus fuentes de variación en cuanto a patogenicidad, producción de esporas, adaptación o tolerancia a factores abióticos. Del total de aislamientos 18 son foráneos, suministrados por institutos como IIBC (Instituto Internacional de Control Biológico) y de países vecinos como Brasil, Ecua-

dor y Guatemala y aproximadamente la mitad han mostrado actividad contra la broca del café.

Se desarrolló una técnica de bioensayo para seleccionar los aislamientos más patogénicos (González *et al.*, 1993). El ciclo de vida de Bb sobre la broca bajo condiciones de laboratorio, se completa en promedio en 8,2 días desde la inoculación del insecto con el hongo hasta el desprendimiento de las esporas. Estos resultados pueden variar de acuerdo con el aislamiento que se use y las condiciones de temperatura del laboratorio. Se ha demostrado también la importancia de pasar el hongo Bb a través de insectos, inoculándolo en ellos y luego reaislándolo, para reactivar su patogenicidad. Cuando se cultiva el hongo en medios artificiales por tres o más generaciones su patogenicidad se reduce considerablemente y el tiempo promedio para causar mortalidad en la mitad de la población se incrementa, en comparación con el hongo activado sobre broca (González *et al.*, 1993).

En estas evaluaciones se determinó la virulencia de los aislamientos contra la broca. El Bb 9212 y Bb9205 matan la broca más rápido, en un tiempo promedio de mortalidad de $2,63 \pm 0,79$ y $4,16 \pm 1,14$ días, respectivamente, comparados con otros 10 aislamientos en el que el Bb 9023 tardó $5,80 \pm 0,81$ días (Tabla 25).

Se estudió la producción promedio de esporas por broca muertas (Tabla 26) y se encontró que el aislamiento Bb9114 llega a producir hasta $8,8 \times 10^6$ esporas (e) por adulto de broca (González 1994). Esto equivale a una aplicación $4,4 \times 10^{10}$ e/ha en la cual en cada árbol de una hectárea de 5000 se encuentre una broca en promedio atacada y esporulada con el hongo. Estos resultados también son importantes porque indican la oportunidad de seleccionar aislamientos que al producir un alto número de esporas en el campo van a causar una infección secundaria, manteniendo el inóculo necesario para infectar nuevamente la población de broca.

Dos enfoques se han investigado para la producción de Bb, **industrial** y **artesanal**. **Industrial-**

Tabla 25. Tiempo promedio de mortalidad de la broca del café causado por *Beauveria bassiana* (González 1994).

Aislamiento	Hospedante	Origen	Mortalidad		Tiempo promedio de mortalidad	
			X	± D.E.	X	± D.E.
9002	<i>Hypothenemus hampei</i>	Colombia (Nariño)	83,3	38,6	4,94	1,19
9013	?	Filipinas	78,3	39,9	4,30	1,29
9015	<i>Nilaparvata lugens</i>	China	49,99	17,6	5,40	0,84
9021	<i>Hypothenemus hampei</i>	Ecuador	91,66	6,3	4,62	1,36
9022	<i>Nephotettix cincticeps</i>	Ecuador	61,66	17,5	5,22	0,56
9023	<i>Leptocorisa</i> sp.	Filipinas	61,66	26,3	5,82	0,81
9028	<i>Cosmopolites sordidus</i>	Colombia	76,66	8,6	5,26	1,03
9204	<i>Antaeotricha</i> sp	Colombia (Santander)	90,00	11,5	4,35	1,30
9205	<i>Hypothenemus hampei</i>	Colombia (Valle)	90,0	06,6	4,16	1,41
9212	<i>Hypothenemus hampei</i>	Colombia (Risaralda)	86,66	10,8	2,63	0,79
9218	<i>Cosmopolites sordidus</i>	?	81,66	14,7	5,07	1,81
9301	<i>Rhynchophorus palmarum</i>	Colombia (Caldas)	93,33	0,0	4,23	1,32

D.E. = Desviación estándar.

Tabla 26. Producción promedio de esporas de *Beauveria bassiana* por adultos muertos de la broca del café (González 1994)

Aislamiento	Hospedante	Origen	Producción promedio de esporas	
			X	± D. E.
Bb 9002	<i>Hypothenemus hampei</i>	Colombia (Nariño)	4,70 x 10 ⁶	0,85
Bb 9114	<i>Hypothenemus hampei</i>	Colombia (Huila)	8,88 x 10 ⁶	0,78
Bb 9116	<i>Hypothenemus hampei</i>	Colombia (Quindío)	3,52 x 10 ⁶	0,73
Bb 9201	<i>Hypothenemus hampei</i>	Colombia (Caldas)	2,50 x 10 ⁶	0,62
Bb 9106	<i>Perileucoptera coffeella</i>	Colombia (Quindío)	5,70 x 10 ⁶	0,62
Bb 9112	<i>Cargolia arana</i>	Colombia (Caldas)	7,80 x 10 ⁶	0,65
Bb 9205	<i>Diatraea saccharalis</i>	Colombia (Valle)	2,50 x 10 ⁶	0,50

D.E. = Desviación estándar.

mente la producción de Bb (Morales *et al.*, 1991) se inicia con cultivos puros obtenidos de broca en platos de petri en medio SDA, luego este inóculo se utiliza para el crecimiento del hongo en frascos que contienen un medio líquido nutritivo aséptico, bajo condiciones de fermentación y agitación a 110 rpm durante 72 horas; este cultivo produce blastosporas que sirven para inocular bandejas con un sustrato líquido químicamente definido para la producción de esporas aéreas. Después de 15-20 días (dependiendo de la temperatura) el hongo está listo para ser cosechado, homogeneizado, formulado y seco en forma de polvo. Esta tecnología ha sido trans-

ferida a productores particulares para que se encarguen de la producción industrial del hongo y en la actualidad existen cinco compañías en Colombia con licencia del ICA, que suministran hongo formulado para el control de la broca.

También se estudió una metodología **artesanal** para producir el hongo en las fincas (Antía *et al.*, 1992). La metodología es muy sencilla: el sustrato está compuesto por arroz y agua que se introduce en botellas desechables de vidrio, que se taponan con algodón absorbente (Figura 46) y se someten a un proceso de esterilización al «baño de maría» (Figura

ra 47); la producción de esporas en estas botellas es de 4×10^{11} esporas/100 g de sustrato a 25°C y después de un tiempo de desarrollo de 24 días (Figura 48). Una vez que el hongo completa su desarrollo está listo para ser usado por el agricultor. La producción de una botella es suficiente para asperjar 100 árboles con una dosis de 5×10^8 esporas/árbol. Durante los tres últimos años Cenicafé y el Servicio de Extensión de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia han entrenado en esta técnica, más de 20.000 agricultores, muchos de los cuales están produciendo el hongo eficientemente.

Cenicafé ha puesto a disposición del cafetero una Unidad de Producción Masiva del hongo *B. bassiana*, producido en forma artesanal en la cual semanalmente se reciben grupos de cafeteros e interesados para ser entrenados en la metodología. Además, se suministra gratuitamente el hongo denominado Cepa Cenicafé para su reproducción; en los últimos tres años se han producido 60 toneladas de esta Cepa, la cual se ha distribuido a los cafeteros (Tabla 27). Al hongo producido en esta forma se le hace control de calidad (Tabla 28), para asegurar que esté libre de contaminantes, que presente la concentración apropiada y una viabilidad del 100%, patogenicidad sobre broca en laboratorio superior al 80%, y esté contituido por una cepa del hongo recién activada y de mejor comportamiento en el campo. Lo anterior asegura al caficultor colombiano la producción de un hongo de excelente calidad para el control de la broca.

La producción artesanal ha tenido un rápido desarrollo por lo simplificado y barato del sistema que permite al cafetero la producción del hongo en la finca y disponer así de este insumo en el momento necesario (Posada y Bustillo 1994)

Basados en registros de Cenicafé, durante 1992 se utilizaron cinco toneladas de hongo a una concentración de 1×10^8 esporas/gramo con fines experimentales. Para 1993 la producción de hongo *Bb* fue de 60 toneladas para el control de la broca del café (Posada 1993), para 1994 se estimó en 100 toneladas (Bustillo 1995a) y en 1995 fue de 200Ton (Tabla 29). Contribuyen con la producción artesanal o intermedia va-



Figura 46. Producción artesanal de *B. bassiana*. Se usa agua, arroz y botellas de vidrio.

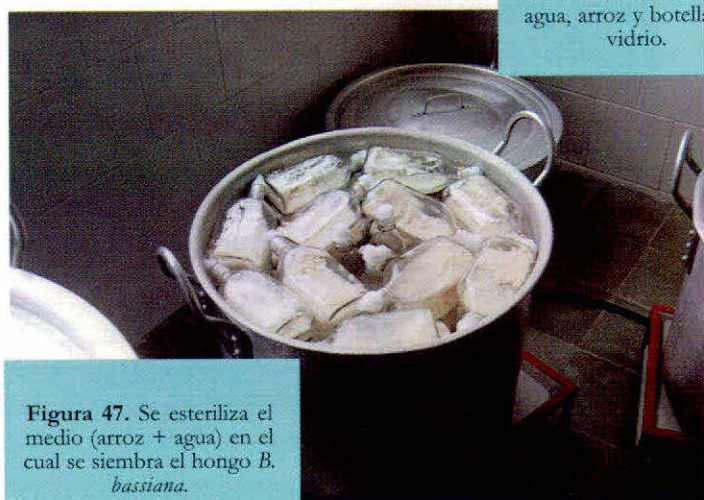


Figura 47. Se esteriliza el medio (arroz + agua) en el cual se siembra el hongo *B. bassiana*.



Figura 48. Se observa la esporulación sobre el arroz.

Tabla 27. Producción de cepa Cenicafé *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, en la unidad de producción.

Año	No. Botellas	Kg	Eficiencia (%)
1993	34.602	3.460,2	82,57
1994	195.545	19.554,5	97,73
1995	369.653	36.965,3	97,4

Tabla 28. Control de calidad de *Beauveria bassiana* (Bb 9205) y *M. anisopliae* (Ma 9236)

Cepa	No. Controles	Concentración esporas/gr	Viabilidad% \bar{X}	Pureza% \bar{X}	Patogenicidad% \bar{X}
Bb9205	11	$3,11 \times 10^8$	85,09	99,92	88,00
Ma9236	11	$3,18 \times 10^9$	93,46	99,80	80,47

Tabla 29. Producción del hongo *Beauveria bassiana* en Colombia

Toneladas del hongo <i>Beauveria bassiana</i>					
Año	Cepa Cenicafé	Producción finca	Producción comercial	Total	Información
1992	0,5	-	2,0	2,5	Cenicafé
1993	3,8	35,9	14,4	54,1	Cenicafé
1994	20,0	40,0	40,0	100,0	Cenicafé
1995	35,0	60,0	105,0	200,0	Cenicafé

rias unidades auspiciadas por los Comités Departamentales o las Cooperativas Cafeteras en los departamentos de Quindío y Valle del Cauca.

Una vez asegurada la producción del hongo por diferentes industrias que emplearon tecnologías muy distintas, se requirió desarrollar un sistema de pruebas de calidad de las formulaciones para asegurar a los cafeteros que el insumo que estaban comprando si reunía los estándares de calidad (Vélez *et al.* 1995). Este protocolo ha servido de base para la reglamentación de la producción de entomopatógenos en el país por parte del ICA.

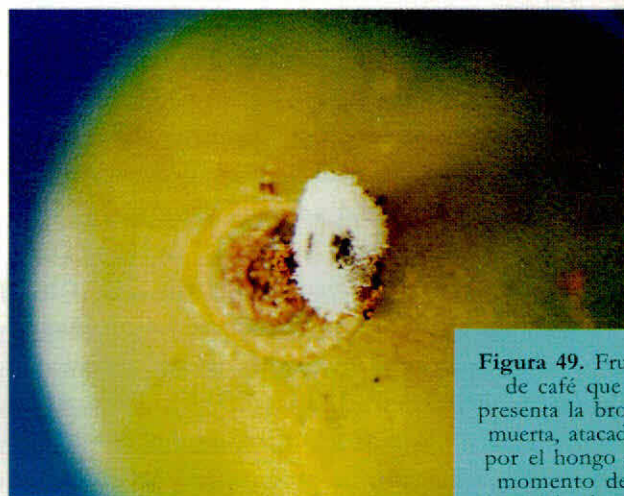


Figura 49. Fruto de café que presenta la broca muerta, atacada por el hongo al momento de iniciar la penetración.

Las formulaciones de *B. bassiana* se han evaluado bajo condiciones de campo y en todos los casos el hongo se ha establecido en las poblaciones de broca (Figura 49). *Bb* sólo es efectivo cuando la broca entra en contacto con las esporas, al tratar de entrar al fruto, si el insecto ya entró es difícil que el hongo lo pueda afectar.

2.3.2. Investigaciones con *Metarhizium anisopliae*

El hongo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin puede constituirse en un factor importante para el control de la broca del café. Recientemente fue aislado de adultos de la broca provenientes de frutos colectados del suelo en un cafetal de la localidad de Amalfi en Antioquia, lo que constituye el primer registro sobre la broca en cafetales donde no se han realizado aspersiones del hongo (Figura 50).

M. anisopliae se ha registrado atacando una amplia variedad de insectos considerados como plagas en cultivos de importancia comercial; se ha encontrado en más de 200 especies de insectos pertenecientes a siete órdenes, de los cuales los coleópteros son los más comúnmente atacados (Veen 1968). El hongo se caracteriza por presentar conidióforos que forman capas de esporas, las cuales se producen en cadenas basipétalas compactas en columnas de forma ovoide a cilíndrica y unicelulares; se encuentra en forma saprofitica en el suelo y como parásito en insectos (Barnett y Hunter 1972). En Colombia su presencia se ha comprobado en 22 especies de insectos, especialmente en el grupo de las chizas de la familia Scarabaeidae (Bustillo 1995, Hernández y Rodríguez 1992). *M. anisopliae* tiene una gran afinidad por insectos del suelo (Zimmerman 1992). Este hongo se ha producido en sustrato de arroz mediante un procedimiento artesanal en Brasil (Alves 1986), Venezuela (Probioagro 1991) y Costa Rica, para el control de cercópidos, plagas de la caña de azúcar. El efecto



Figura 50. Broca del café atacada por *M. anisopliae*.

de *M. anisopliae* sobre *H. hampei* solo se ha estudiado bajo condiciones de laboratorio en Brasil (D'Antonio y Paula 1979, Lecuona *et al.* 1986); sin embargo, estos estudios no han tenido continuidad.

En Colombia se evaluaron 14 aislamientos del hongo *M. anisopliae* por su patogenicidad sobre adultos de la broca del café bajo condiciones de laboratorio ($25 \pm 3^\circ\text{C}$, 90% H.R.) usando una concentración de 1×10^7 conidias/ml (Bernal *et al.* 1994). Todos los aislamientos fueron patogénicos a la broca pero su virulencia fue variable. La mortalidad varió de 32,5% para el aislamiento *Ma* 9211, hasta 95,0% para el *Ma* 9101, el tiempo promedio de mortalidad de la broca con los diferentes aislamientos fue también variable, siendo como mínimo de 3,4 días para *Ma* 9101 y el mayor de 5,7 días para *Ma* 9107. Para las pruebas de campo en cafetales se utilizaron los aislamientos *Ma* 9108, *Ma* 9003 y *Ma* 9101 que en el estudio anterior produjeron niveles de mortalidad superiores al 84%. Se evaluaron dosis de $1,5 \times 10^8$ conidias/rama de 50 frutos. La mortalidad varió de 31,1% para el *Ma* 9108 a 43,1% para el *Ma* 9101, aunque el análisis no detectó diferencias significativas ($P = 0,05$) entre los aislamientos. En este estudio se registra por primera vez el efecto de *M. anisopliae* sobre poblaciones

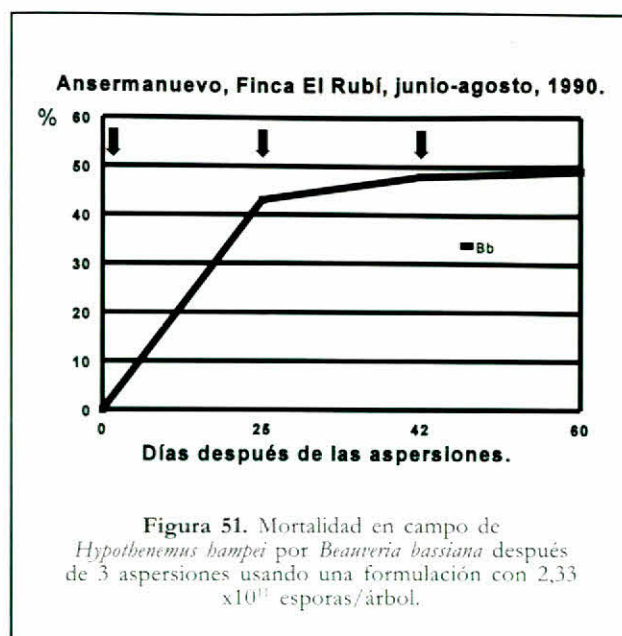
de broca bajo condiciones de campo y la importancia de seleccionar los aislamientos de hongos antes de considerarlos en un programa de control biológico.

2.3.3. Metodología para las investigaciones con *Beauveria bassiana*. En la presente sección se relacionan los trabajos más relevantes sobre la eficacia del hongo *B. bassiana* bajo condiciones de campo llevados a cabo en los últimos años, evaluaciones que han servido no solo para aprender sobre el comportamiento del hongo en el campo (Bustillo *et al.* 1991) sino para probar los avances en las formulaciones del hongo.

2.3.3.1. Estudios preliminares de campo

Con el fin de determinar la viabilidad del uso de *Beauveria bassiana* (Bb) en el campo una vez conocido sus efectos sobre la broca en condiciones de laboratorio, se llevaron a cabo experimentos en fincas en donde inicialmente se detectó la broca en Colombia (Ansermanuevo en el Valle del Cauca y Garzón en el Huila). El hongo utilizado fue el aislamiento Bb 9002 aislado inicialmente de la broca en Ancuya, Nariño (Vélez y Benavides 1990) y producido bajo un proceso similar al de Samsinakova y Kalalova (1981) en el cual, la producción se hace en dos fases: la primera bajo fermentación para la producción de blastosporas y luego en bandejas en superficie utilizando sustratos definidos en base a fuentes de nitrógeno y carbohidratos (Morales *et al.* 1991).

Estos estudios se realizaron en 1990, en las fincas relacionadas en las Figuras 51 y 52 utilizando formulaciones en líquido del hongo en altas concentraciones. En el primer estudio realizado en Ansermanuevo se escogió un lote de 35 árboles los que se asperjaron con Bb en dosis de $2,37 \times 10^{10}$ esporas/árbol a los 0, 25 y 42 días de iniciado el experimento. En el otro estudio que se llevó a cabo en Garzón la variación consistió en evaluar el efecto de aspersiones espaciadas cada 15 días usando una dosis de $1,6-1,7 \times 10^{10}$ esporas/árbol. En esta finca las evaluaciones se pudieron extender por 119 días a pesar de las limitaciones para combatir los



focos incipientes de broca. La época del año para realizar estos estudios no fue la más apropiada debido al verano imperante; sin embargo, se trataba de determinar si este patógeno se podía establecer en el ecosistema cafetero y si era viable un programa de largo alcance con el hongo.

Resultados y discusión. El efecto del hongo *B. bassiana* en el campo es evidente; se presenta y actúa como un enemigo natural permanente. Las epizootias, cuando ocurren, permiten apreciar el efecto del hongo notoriamente. Estas no se generalizan debido a la variabilidad agroecológica de la zona cafetera y por su ocurrencia esporádica no permiten esperar a que el hongo por si solo mantenga el cultivo del café libre de broca

En el primer estudio (Figura 51) se logró una infección de Bb en la broca del 48,1% en promedio, después de las tres aspersiones. En el otro estudio (Figura 52) se muestra el efecto del hongo sobre la broca durante un período de 119 días de evaluaciones después de realizar seis aspersiones. La infección por Bb se incrementó hasta alcanzar un promedio de 69,0% de infección; las condiciones de humedad en la zona de Ansermanuevo fueron más bajas que en Garzón, lo cual podría explicar en parte la diferencia de los resultados. En términos generales estos estudios mostraron que se po-

día inducir una infección por *Bb* y que los niveles se incrementan a medida que se hacen más aspersiones.

2.3.3.2. Epizootiología

Para complementar los estudios de la sección anterior se decidió iniciar observaciones sobre la evolución de la infección de *Bb* en un lote de un cafetal de una hectárea en una finca infestada con broca, en Ansermanuevo (Valle del Cauca) y ubicado a 1000 msnm, con una densidad de 10.000 árboles por hectárea (Bustillo *et al.* 1991). Para tener total control del procedimiento experimental se alquiló durante un año este lote al caficultor; se inició la infestación de broca en la parte central de la parcela en junio de 1990 y en esa época se asperjó con una formulación en polvo mojable de *Bb* en la dosis de 1×10^8 esporas/árbol. Después de seis meses la broca estaba distribuida en todo el campo así como el hongo; por tanto, se evaluó mensualmente la infestación de broca y la infección por el hongo sobre 300 ramas tomadas aleatoriamente entre enero y agosto de 1991 en todo el lote. La unidad de muestreo fue una rama productiva sobre la cual se contaron todas las cerezas: las cerezas infestadas y aquellas con infección del hongo. Los datos de infección del hongo se presentaron no como proporción del total de frutos infestados con broca como normalmente se hace, sino como proporción del total de frutos muestreados, lo cual da una información más real de población para este estudio de epizootiología.

Resultados y discusión. Los resultados se muestran en la Figura 52. En el lote en estudio que fue colonizado por la broca a mediados de 1990 se pudo observar que a medida que se dispersó la broca espacial y temporalmente, asimismo se fue diseminando el hongo *B. bassiana* que mostró una alta incidencia hacia finales del año. El seguimiento que se hizo muestra cómo una proporción apreciable de la población de frutos infestados con broca fue infectada por el hongo, alcanzando niveles a veces superiores al 75%. Es posible que estas evaluaciones visuales del hongo subestimen su acción ya que se ha visto que muchos individuos mueren

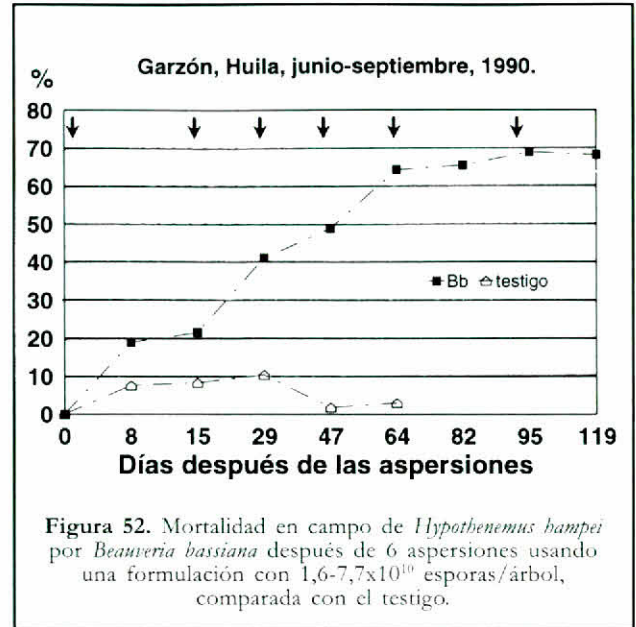


Figura 52. Mortalidad en campo de *Hypothenemus hampei* por *Beauveria bassiana* después de 6 aspersiones usando una formulación con $1,6-7,7 \times 10^{10}$ esporas/árbol, comparada con el testigo.

pero el hongo no esporula sobre su cuerpo debido a condiciones adversas de humedad del ambiente.

La tendencia de las poblaciones observada en la Figura 53, indica que el *Bb* tiene buena capacidad de dispersión, se establece en los cafetales, es capaz de ejercer un control sobre las poblaciones de broca el cual es variable y depende tanto de condiciones de densidad de la plaga, como de las ambienta-

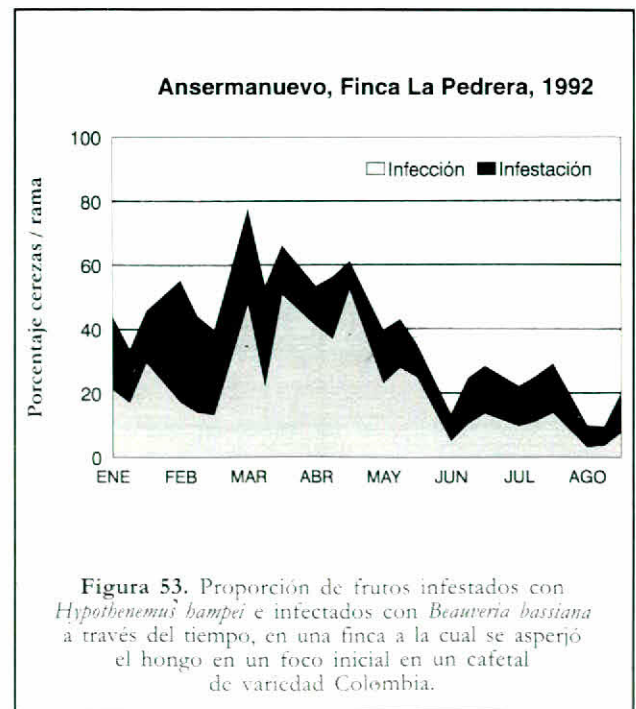


Figura 53. Proporción de frutos infestados con *Hypothenemus hampei* e infectados con *Beauveria bassiana* a través del tiempo, en una finca a la cual se asperjó el hongo en un foco inicial en un cafetal de variedad Colombia.

les de humedad y radiación (Vélez y Montoya 1993). Una conclusión importante preliminar de este estudio es que a pesar de las altas infecciones del hongo los niveles de infestación por broca, a pesar de haberse reducido considerablemente, son aún bastante altos y causan daño económico, por tanto, se requiere complementarlo con otras medidas de control dentro de un esquema MIB.

2.3.3.3. Evaluación de diferentes concentraciones del hongo *B. bassiana* asperjado sobre frutos para el control de *H. hampei*, en condiciones de laboratorio

Debido al desarrollo de nuevas formulaciones de Bb más eficientes y que reúnen mejores condiciones de calidad, se iniciaron investigaciones previas de laboratorio para asemejar condiciones de campo y así inferir sobre posibles dosis a evaluar en cafetales infestados con broca. En el presente estudio, Flórez *et al* (1993), evaluaron la mortalidad de *H. hampei* cuando se asperjaron frutos con diferentes concentraciones de *B. bassiana* en laboratorio. Se utilizó el equipo a ultra bajo volumen Microulva operado a 5000 rpm y con pases de 30 segundos sobre muestras de frutos, para lo cual se evaluaron tres concentraciones de 1×10^8 , 1×10^7 y 1×10^6 e/ml; el volumen promedio aplicado fue de 1,7 ul/fruto equivalente a $1,7 \times 10^5$, $1,7 \times 10^4$ y $1,7 \times 10^3$, esporas / fruto.

Resultados y discusión. La mortalidad de *H. hampei* expuesta a diferentes dosis de *B. bassiana* se inició a partir del primer día y se prolongó hasta el octavo día, presentándose la mortalidad diaria más alta (23,3%) en el quinto día, cuando se aplicó el hongo en una concentración de 1×10^8 esporas/ml, seguida en efectividad con las concentraciones 1×10^6 , 1×10^7 el segundo y tercer día, respectivamente, después de que las brocas perforaron los frutos.

La mayor mortalidad (73,3%) (Tabla 30) se obtuvo con el tratamiento de 1×10^8 esporas/ml (=170.000 esporas/fruto), seguido por el de 1×10^7 esporas/ml (=17.000 esporas/fruto) (46,4%) y la menor mortalidad (43,3%) con la concentración

1×10^6 esporas/ml (= 1.700 esporas/fruto). Estos resultados demuestran que un aumento en el número de esporas asperjado por fruto proporciona un incremento en la mortalidad de *H. hampei*.

No se presentaron diferencias estadísticas entre las concentraciones 1×10^7 y 1×10^6 . Esto pudo haber ocurrido debido a que la diferencia entre el número de esporas/fruto no fue muy grande (17.000 y 1.700, respectivamente). Entre las concentraciones 1×10^7 , 1×10^6 y la concentración 1×10^8 se presentaron diferencias estadísticas al 5% según la prueba de Tukey. Esta diferencia se debió a la mayor cantidad de esporas (170.000) aplicadas por fruto con la concentración de 1×10^8 e/ml (Tabla 30). González *et al.* (1993) utilizaron la metodología de inmersión de brocas en diferentes concentraciones de *B. bassiana* y obtuvieron mortalidades hasta del 88,8% cuando se emplearon concentraciones de 1×10^7 e/ml. Por tal razón, la metodología de aspersión se ajusta más a las condiciones de campo, lo cual permite establecer una idea de la mortalidad de *H. hampei* a través de bioensayos de laboratorio con diferente número de esporas.

De los tratamientos evaluados solo se obtuvo el TL_{50} , el número de días necesarios para matar un 50% de la población de broca, con la concentración 1×10^8 el cual tuvo una duración de 4,69 días. Por los resultados obtenidos se confirmó que la concentración 1×10^8 esporas/ml ofreció las mejores características, presentando la mayor mortalidad y el menor TL_{50} . De ahí que dicha concentración sea tenida en cuenta como punto de referencia para posteriores trabajos de campo.

2.3.3.4. Evaluación de concentraciones y equipos de aspersión en el control de la broca bajo condiciones de campo.

El estudio de Flórez *et al.* (1994), consideró la evaluación de tres concentraciones y tres equipos de aspersión sobre poblaciones de broca a través de infestaciones artificiales de brocas adultas en frutos maduros en cafetales. El experimento se desarrolló en parcelas experimentales de 50 árboles conformadas por cinco árboles centrales rodeados de

dos surcos como borde, y con el uso de mangas entomológicas se evaluaron dosis de 1×10^{11} , 1×10^{10} y 1×10^9 con los equipos de aspersión Motax, presión previa retenida y semiestacionario. El equipo Motax es un prototipo de aspersora de motor de espalda que opera a bajo volumen 60 L/ha.

Resultados y discusión. En los resultados se encontraron mortalidades altas causadas por *B. bassiana* sobre la población de broca expuesta al cabo de 35 días de la aspersión (Tabla 31). En el análisis de varianza no se encontró interacción entre equipo por dosis, tampoco entre dosis, ni entre equipos; es decir, no se detectaron diferencias estadísticas entre los equipos y las dosis evaluadas. Los niveles de infección más altos (90,6%) se alcanzaron con el equipo Motax en la dosis de 1×10^{11} esporas/árbol; en términos generales la infección

por el hongo se incrementó en la medida que se incrementó la dosis.

La presencia en el testigo de una alta mortalidad por el hongo a pesar de haberse empleado las mangas entomológicas indica que pudo ocurrir contaminación en la aplicación de los tratamientos.

2.2.5. DISCUSIÓN GENERAL DE LOS RESULTADOS

Los resultados de campo de los experimentos para el control de la broca con *B. bassiana* realizados tanto en Colombia como en otros países (Sponagel 1994, Lacayo 1993) muestran resultados muy variables, lo cual se le puede atribuir a diferentes causas como: la calidad del bioinsecticida, equipos apropiados de aspersión, calibración de estos equipos y de los opera-

TABLA 30. Mortalidad de *H. hampei* causada por *B. bassiana* después de nueve días de realizada la aspersión sobre frutos en laboratorio (Flórez et al. 1993).

DOSIS			PORCENTAJE MORTALIDAD	
Esporas/ml	Esporas/fruto	No. BROCAS	Hongo	Otras causas
1×10^8	170.000	40	73,3a	13,3
1×10^7	17.000	40	46,4b	16,6
1×10^6	1.700	40	43,3b	16,6
TESTIGO	--	40	0,0c	13,3

CV= 23.23, Tukey 5%

TABLA 31. Mortalidad promedio de la broca del café por *Beauveria bassiana* usando diferentes equipos y dosis (35 días después de la aspersión) (Flórez et al. 1994).

Equipo	Dosis Esporas / árbol	Promedio de Infección (%)
Motax	1×10^{11}	90,6
	1×10^{10}	69,5
	1×10^9	82,8
Presión previa retenida (PPR)	1×10^{11}	84,6
	1×10^{10}	86,1
	1×10^9	73,9
Semiestacionaria	1×10^{11}	85,8
	1×10^{10}	77,1
	1×10^9	72,8
Testigo	0×10^0	33,6

rios, topografía de las fincas, la dinámica de la plaga y el momento oportuno de las aspersiones para dirigir las al estado susceptible de la plaga al ataque del hongo. Además de estos factores, las condiciones ambientales son muy importantes, especialmente la humedad y la radiación solar. Esta última reduce la viabilidad de las conidias de *Bb* en el campo, a medida que se incrementa el tiempo de la exposición solar (Vélez y Montoya 1993).

Igualmente se concluye que se hace necesario el empleo de dosis altas, lo cual plantea la necesidad de contar con formulaciones que se puedan asperjar con los equipos convencionales y con la tecnología de tamaño controlado de gota, que básicamente usa equipos de bajo y ultra bajo volumen sin que se presenten problemas de taponamiento. En Colombia, para las aplicaciones de agroquímicos en bajo volumen en el cultivo del café, se desarrolló el equipo Motax en Cenicafé con la cooperación de la compañía Inglesa Micron.

Castro (1995) en evaluaciones de campo del equipo Motax, que produce gotas menores de 100 μm^2 , obtuvo cubrimientos entre 79 y 179 gotas / cm^2 utilizando tarjetas de papel kromacote colocadas alrededor de los frutos en las ramas. En esta investigación también se determinó el volumen de aplicación por hectárea entre 56 y 69 litros y el rendimiento de aplicación por día fue de 7142 árboles plantados en la distancia de 1 x 1,4 m. Estos resultados son muy importantes no sólo para mejorar la eficiencia física y biológica de las aspersiones, sino para reducir los costos de las aspersiones ya que se pueden realizar las labores en menor tiempo y utilizando un menor consumo de agua que con los equipos convencionales. Sin embargo, con 50 o 70 L / ha las formulaciones que emplean altas proporciones de material inerte en la mezcla con esporas, el problema de bloqueo de las mangueras y las boquillas es mayor que en los equipos convencionales. Igualmente, se han detectado problemas empleando esporas provenientes del lavado del arroz donde han sido obtenidas, cuando se quiere emplear altas dosis, porque al lavar el arroz utilizando incluso filtros finos, pasa fécula que posteriormente se hidrata y se sedimenta causando igualmente bloqueo del equipo.

Las investigaciones en control biológico con hongos contra la broca del café son recientes y plantean un gran reto. Además de los muchos limitantes señalados como responsables de la variabilidad de los resultados, hay que agregar el hábito de ataque de la broca que la deja poco tiempo expuesta y su tamaño tan pequeño que hace difícil hacer blanco en ella. En el área de la tecnología de aspersiones y en el desarrollo de formulaciones más estables, se requiere aún de mucha investigación para ampliar resultados en el campo de los bioinsecticidas.

2.2.6. CONCLUSIONES

Los estudios con entomopatógenos han sido muy fructíferos; se logró desarrollar a la vez un método de producción artesanal e industrial del hongo *Beauveria bassiana* lo que permitió adelantar evaluaciones sobre su eficacia en el campo y colocar el hongo a disponibilidad del agricultor, al desarrollar una tecnología básica de producción en las fincas cafeteras. Actualmente, el hongo se ha utilizado en casi toda la zona cafetera infestada con broca, convirtiéndose *B. bassiana* en un factor de mortalidad natural; durante 1995 se estimó que, en promedio, el 45% de la población total de broca fue infestada por este hongo. El programa de introducción en la zona cafetera utilizó durante 1995, 200 toneladas de hongo de una concentración promedio de 3×10^8 esporas/gramo. Los resultados de estas investigaciones han hecho que se despierte el interés por realizar trabajos similares en otros cultivos y con otras especies fúngicas, aprovechando los conocimientos y experiencias derivadas de estas investigaciones y adquiridas por la industria privada que ha participado en estas actividades.

Se están adelantando estudios para determinar la eficacia de *M. anisopliae* en el control de la broca que emerge de los frutos que caen al suelo; algunos resultados preliminares indican que 4 días después del zoqueo se encontró una mortalidad máxima del 62% en adultos de broca capturados en trampas con atrayentes con base en alcohol, pero esta mortalidad se redujo considerablemente con el transcurso del tiempo (Bernal *et al.* 1995).

2.4. EVALUACIÓN DE EQUIPOS DE ASPERSIÓN PARA EL CONTROL DE LA BROCA CON *Beauveria bassiana*

Hasta el momento se han utilizado diferentes equipos de aspersión en la aplicación de productos químicos y del entomopatógeno de mayor ocurrencia sobre la broca, el hongo *Beauveria bassiana*; (Figura 54.) las aspersiones con estos equipos requieren de altos volúmenes de aplicación (200-400 L / ha) y para ello se emplean boquillas que producen gotas de tamaño muy variables, lo cual conlleva a pérdidas por deriva y escurrimiento, de tal manera que la eficiencia de estas aspersiones se reduce.

Una buena aspersión debe proporcionar un óptimo cubrimiento, en este caso, de la plaga, lo cual se puede lograr con un equipo de aspersión que permita depositar el mayor número de conidias sobre los frutos, minimizando las pérdida por deriva, goteo y degradación del producto. Por esta razón, se hace necesario conducir investigaciones tendientes a optimizar los equipos de aspersión, que por tradición han sido herramienta básica del pequeño caficultor y al mismo tiempo, poder recomendar el uso de equipos de alto rendimiento y eficiencia para caficultores tecnificados.

La acción de formulaciones de entomopatógenos para el control de insectos plagas en el campo está influenciada por cuatro aspectos: la **actividad biológica** de la formulación; el **momento oportuno** de la aspersión en relación con el desarrollo del insecto; el **cubrimiento** que se logre en la planta con la formulación utilizada y la **estabilidad de la formulación** cuando se expone a condiciones ambientales limitantes de temperatura, humedad relativa y luz solar, resultando la estabilidad, el factor que más afecta la persistencia del entomopatógeno en el campo (Bustillo 1990).

B. bassiana se puede asperjar en el campo usando aspersoras convencionales o nebulizadoras; también se pueden usar equipos de bajo volumen. Recientemente se han comparado formulaciones en agua y aceite, obteniéndose mayor dispersión de las conidias, sobrevivencia y eficacia contra *Pantorhythes plutus* con la formulación en aceite (Prior *et al.*1988)

Usando una técnica colorimétrica en el laboratorio fue posible evaluar el cubrimiento sobre frutos de café, utilizando diferentes sistemas y equipos de aplicación. Se observó un mejor cubrimiento de los frutos de la parte media del árbol, tanto con los equipos de alto volumen como con el de bajo volumen, pero con éste último, el cubrimiento fue más homogéneo (Flórez *et al.* 1992). Se encontró que los colorantes vegetales utilizados en esta técnica, en contacto con las esporas de *B. bassiana*, son inócuos, por tanto, se pueden utilizar sin problema. Lo anterior permite concluir que son muy pocos los trabajos sobre la eficiencia de insecticidas biológicos, como *B. bassiana*, usando diferentes equipos



Figura 54. La aplicación de los entomopatógenos se hace con equipos convencionales de aspersión.

y sistemas de aspersión para el control de la broca del café. El objetivo general de esta investigación fue el de evaluar diferentes equipos y sistemas de aspersión para el control de *H. hampei* con el hongo *B. bassiana* en el campo, estableciendo el volumen recuperado por árbol y la eficacia del hongo.

Metodología. El estudio se llevó a cabo en la Finca la Esperanza, ubicada en el municipio de Palestina (Caldas), a 1410 m de altura. El experimento se realizó en parcelas de variedad Colombia de tres años de edad, a una distancia de siembra de 1,0m x 1,5m y con pendiente del 5%. Con el fin de estudiar la eficiencia de los equipos evaluados mediante el sistema de alto y bajo volumen, se realizó una prueba física y, como complemento de este trabajo, se llevó a cabo una prueba biológica para determinar el valor de la infección causada por el hongo *B. bassiana* sobre adultos de *H. hampei*.

2.4.1. Prueba física

Debido a la compatibilidad que presentó el hongo *B. bassiana* con colorantes vegetales *in vitro*, fue posible realizar aspersiones en el campo de dicha mezcla para evaluar el volumen aplicado por fruto, mediante la técnica colorimétrica y la infección causada por *B. bassiana* sobre adultos de broca. Se realizaron aspersiones de la mezcla en la relación: 20 g /L de colorante de origen vegetal y *B. bassiana* 1×10^{10} esporas / árbol (6×10^{13} esporas / ha) adicionando 0,7 % de aceite emulsionable (Carrier). Se utilizaron tres equipos de aspersión, dos de alto volumen y el prototipo de bajo volumen; el volumen de aplicación se calibró con base en la edad del cultivo (Tabla 32).

La aspersión con el prototipo Motax y el equipo de Presión Previa Retenida fue dirigida a todo el árbol, asperjando dos medias caras por pasada; el equipo Semiestacionario asperjó dos surcos por pasada sobre la copa de los árboles. El efecto de los tratamientos se evaluó bajo un diseño completamente aleatorio con la variable volumen recuperado por árbol, es cual se estimó con base en el volumen observado por fruto (Tabla 33).

La unidad experimental la conformaron 50 árboles (5 surcos x 10 árboles) y la aspersión se realizó sobre 5 árboles centrales, de los cuales se evaluó el árbol ubicado en la mitad.

El número de unidades experimentales fue de 10 por tratamiento de acuerdo con la estimación para la varianza en estudios preliminares, con un nivel de significancia del 5% y una diferencia máxima aceptable de 7 ml / árbol, para una confiabilidad en los resultados del 93%. Por cada unidad experimental se evaluaron dos ramas de la zona productiva (estrato alto y medio del árbol) y de cada rama se retiraron 20 frutos (10 de la parte interna y 10 de la parte externa).

Estos frutos se depositaron en bolsas plásticas por separado, se trasladaron al laboratorio donde se sumergieron para lavarlos, en 5 ml de agua destilada agitándose constantemente durante 30 segundos; posteriormente se filtró el contenido de la bolsa, recolectándose la muestra filtrada en beakers para ser depositada en la celda del espectrofotómetro (Perkin-Elmer Lambda 3B). Finalmente se realizó la lectura de la absorbancia a una longitud de onda de 629 nm y se determinó el volumen aplicado por fruto, mediante la técnica colorimétrica.

Resultados y discusión. Para la variable volumen recuperado por árbol los resultados aparecen en la Tabla 34. El análisis de varianza mostró efecto del equipo al nivel del 5%, de tal manera que la diferencia en la proporción de volumen real que llegó a los frutos fue mayor (28,8%) para el prototipo Motax (bajo volumen); con respecto a los equipos de alto volumen; el Semiestacionario obtuvo un 13,9% y con el equipo de presión previa retenida se encontró un 10,5%, de acuerdo con la prueba Tukey al 5%.

Estos resultados indicaron que un incremento en el volumen de aspersión / árbol / ha no implica un mejor cubrimiento de los frutos. Por esta razón el sistema de aspersión a bajo volumen resultó ser más eficiente (Prototipo Motax); este está constituido por un disco rotativo unido a un ventilador que