

# Producción de esporas de *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin sobre polvos de arroz, sorgo y maíz

## *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin esporas production on powders of rice, sorghum and corn

Paddy L. Villalba M., Horacio Grillo Ravelo y Rene Cupull S.

Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 6, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

E-mail: hgrillo@uclv.edu.cu; renece@uclv.edu.cu

**RESUMEN.** La producción de hongos entomopatógenos para el control de insectos plagas, se viene desarrollando en muchos países con varias técnicas de formulación. En Cuba se destaca la producción artesanal de *Beauveria bassiana* sobre sustrato sólido de cabecilla de arroz fundamentalmente en magentas. Actualmente esto representa un problema por la limitada accesibilidad de los componentes, así como el aspecto económico, que repercute en la comercialización y disponibilidad del producto. La finalidad de este trabajo fue determinar la esporulación de *Beauveria bassiana* en sustratos en polvos de arroz, sorgo, y maíz en bolsas de polipropileno, a una temperatura de 30 °C, utilizando un soporte de viruta y serrín. La esporulación se determinó a los 4 días de crecimiento contando las esporas en la cámara de Neubauer, según el método de French. Se calculó la integral térmica para los 4 días de cosecha. El análisis de varianza factorial indicó que existen diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en la producción de esporas en los sustratos sólidos y las cantidades aplicadas. Los sustratos en polvos de arroz y maíz presentaron las mayores concentraciones sobre un soporte de serrín, con 1,6 g de polvo de sustrato, alcanzando títulos de  $3,4 \times 10^{10}$  y  $3 \times 10^{10}$ , respectivamente, sin embargo se seleccionó como el mejor al sustrato en polvo de arroz, por ser el producto destinado a la producción de este hongo. La integral térmica para los 4 días fue de 100 °C. Se incrementó significativamente la productividad del hongo con respecto al método tradicional de producción (cabecilla de arroz).

**Palabras clave:** *Beauveria bassiana*, producción, sustrato sólido.

**ABSTRACT.** The production of entomopathogenic fungi for the control of insects pests, one comes developing in several countries existing several formulation techniques. In Cuba he/she stands out the handmade production of *Beauveria bassiana* it has more than enough solid substrate of leaders of rice fundamentally in magentas. At the moment this represents a problem for the limited accessibility of the components, as well as the economic aspect that rebounds in the commercialization and readiness of the product. The purpose of this work was to determine the sporulation of *Beauveria bassiana* in substrates in powders of rice, sorghum and corn in polypropylene bags, to a temperature of 30°C, using a chip support and saw dust. The sporulation was determined at 4 days of growth counting the spores in the camera of Neubauer, according to the method of French. The thermal integral was calculated for the 4 days of crop. The analysis of factorial variance determined that significant differences exist ( $P > 0,05$ ) in the production of spores in the solid substrates and the applied quantities. The substrates in powders of rice and corn presented the biggest concentrations on a saw dust support, to an applied quantity of 1,6 g of substrate powder, reaching holding of  $3,4 \times 10^{10}$  and  $3 \times 10^{10}$  respectively, it was selected as the best the powdered substrate of rice, to be the product dedicated to the production of this fungus. The thermal integral for the 4 days was of 100 °C. The productivity of the fungus increases significantly with regard to the traditional method of production (leaders of rice).

**Key words:** *Beauveria bassiana*, production, solid substrate.

## INTRODUCCIÓN

La utilización de los hongos entomopatógenos en la agricultura como un método de control biológico ha ido en aumento en los últimos años, debido al gran potencial que tienen en el manejo de plagas

(Téllez, Cruz, Mercado, Asaff y Arana, 2009). Hoy día existen en el mercado mundial insecticidas biológicos a base de hongos, bacterias y virus. No obstante de los aproximadamente 100 géneros y

800 especies de hongos entomopatógenos que han mostrado actividad contra diferentes insectos (Thacker, 2002), solo pocos son utilizados comercialmente como agentes de control, siendo los más utilizados *Beauveria* (Zurek y Keddie, 2000; Mulock y Chandler, 2000; Leite, Batista, Almeida y Alves, 2003) y *Metarhizium*. (Ferron, Fargues y Riba, 1991; Leite *et al.*, 2003)

El hongo *Beauveria bassiana* es utilizado exitosamente en muchas regiones del mundo, como parte de las estrategias del manejo integrado de plagas, por sus características patogénicas para controlar insectos, por su factibilidad de reproducción en forma artificial y la rentabilidad de su uso (Esperanza, Gerding y France, 2008), ambientalmente favorable y sin efectos tóxicos. (Baeteman, 1997)

La producción de hongos entomopatógenos para el control de insectos plagas, se viene desarrollando en varios países como China, Cuba, Brasil, Perú, Colombia, Costa Rica, Guatemala, Venezuela y otros (Hussey y Tinsley, 1981; Batista, Bastos y Saad, 1988; Antía, Posada, Bustillo y González, 1992), existiendo varias técnicas de formulación. En *B. bassiana* se destacan la producción artesanal y la industrial, donde la mayoría de las producciones mundiales son tecnologías simples que exigen insumos bajos (Jones y Burges, 1997). En la artesanal se utilizan materiales y sustratos sólidos como maíz, frijol y papa, entre otros (Posada, Osorio y Velásquez, 2002). En Colombia es un método muy empleado para la producción de *B. bassiana* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari), (Antía *et al.*, 1992; Posada y Bustillo, 1994; Bustillo y Posada, 1996; Posada, 2008). Sin embargo, el método semi-artesanal es el más usado a nivel mundial para la producción de conidios con un sistema bifásico, que se basa en el desarrollo del inóculo en cultivo líquido agitado (de forma rápida) o líquido estático (más lento), que luego pasa al soporte sólido; optimizándose siempre el cultivo de la fase líquida para promover un rápido crecimiento del aislado, y obtener así estructuras infectivas de alta calidad y a menor tiempo como cuando la fase líquida se hace por cultivo líquido agitado. (Elósegui, 2006)

En Cuba la producción artesanal se viene desarrollando desde la creación de una red de

laboratorios denominados Centros de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE), brindando servicios al estado, cooperativas y pequeños agricultores, con el fin de suplir la demanda de insecticidas de síntesis debido al bloqueo comercial que experimenta el país. La producción de muchas especies de hongos en estos laboratorios, se lleva a cabo utilizando fermentadores y sustratos de arroz, y fundamentalmente este último se utiliza como medio de cultivo sólido de cabecillas de arroz en la reproducción de *Beauveria bassiana* en magentas. Actualmente esto representa un serio problema para el país, por la limitada accesibilidad de los componentes, así como el aspecto económico, que repercute en la comercialización y disponibilidad del producto, siendo a su vez pocos los estudios realizados en la producción del hongo sobre diferentes sustratos como otras alternativas de producción.

Por lo antes expuesto, el objetivo del trabajo fue evaluar los diferentes medios de cultivo sólido para la producción de *Beauveria bassiana*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en los laboratorios de Sanidad Vegetal del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, municipio de Santa Clara, Cuba. La investigación se llevó a cabo entre los años 2009-2010.

### Aislamiento

Se utilizó el aislamiento de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Curculionidae) conocido como Bcafe-18 de *Beauveria bassiana*, contenida en un tubo de ensayo de Agar nutriente PDA (Agar papa dextrosa). Esta fue obtenida del laboratorio de Sanidad Vegetal del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP).

### Producción de blastosporas

Se partió de la preparación del medio de cultivo colocado en dos matraces Erlenmeyer (hasta un 30 % del volumen del matraz), conteniendo una mezcla de: 15 g de miel de final, 1,5 g de levadura y 500 mL de agua. La mezcla se ajustó a un pH de 6 y se

homogenizó con una varilla por unos segundos. Posteriormente a los erlenmeyer se les puso un tapón de algodón para luego ser esterilizada en la autoclave a una temperatura de 121°C por 20 minutos. Se dejó enfriar la mezcla y se inoculó con un cultivo puro, que fue aislado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Curculionidae) conocido como Bcafe-18 de *Beauveria bassiana*, contenida en un tubo de ensayo de Agar nutriente PDA (Agar papa dextrosa). Todo el proceso se llevó a cabo en una cámara de flujo laminar con la disposición de un asa de siembra, mechero y alcohol para evitar cualquier contaminación. Por último se dejaron los erlenmeyers en una zaranda de agitación mecánica de transmisión magnética por 24 horas, obteniéndose una mezcla homogénea cuya concentración se determinó en un hematocímetro o cámara de Neubauer. (French y Hebert, 1988)

### Preparación y esterilización de soportes, sustrato y las bolsas plásticas

Para la producción masiva del hongo se usaron 30 bolsas plásticas esterilizables de polipropileno de

color blanco semitransparente, las cuales se construyen para tales pruebas, y la dimensión de las mismas es de 10,7 x 14,5 cm en relación con la cantidad de sustrato que se va a utilizar.

A estas bolsas se añadieron independientemente cantidades de sustrato en polvo de: arroz, sorgo y maíz, el cual fue anteriormente homogenizado en un frasco con una capacidad de 100 cc de madera blanca de viruta (restos de madera cepillada), y serrín (restos de madera cortada) (ver tabla 1). A cada bolsa se añadieron 23 mL de agua corriente de un acueducto limpio. Luego se sellaron las bolsas y seguidamente se perforaron en el centro dejando un orificio de 0,15 cm que se marcó con un crayón (orificio que sirve para la esterilización e inoculación), para luego ser esterilizadas situando las bolsas sobre un soporte de cartón o tela dentro de la autoclave, para evitar de esta forma que el calor de la misma dañe las bolsas deformándolas luego de ser esterilizadas a una temperatura de 121°C por 20 minutos, las bolsas se dejaron enfriar unas 2 horas para luego ser inoculadas.

**Tabla 1. Cantidades independientes de sustrato en polvo añadidas sobre un soporte de viruta y serrín en cada bolsa.**

No.	Soportes (100 cc)	Sustratos (g)		
		Arroz	Maíz	Sorgo
1	Viruta	0,2	0,2	0,2
2		0,4	0,4	0,4
3		0,8	0,8	0,8
4		1,6	1,6	1,6
5		3,2	3,2	3,2
6	Serrín	0,2	0,2	0,2
7		0,4	0,4	0,4
8		0,8	0,8	0,8
9		1,6	1,6	1,6
10		3,2	3,2	3,2
Total 30 bolsas.				

### Inoculación

Para la siembra o inoculación del hongo se usó una jeringa estéril para realizar la inyección en las bolsas por el orificio marcado con crayón, según la metodología seguida por Hernández y Carrillo (1997), donde se aplicaron 2 mL de una concentración  $3 \times 10^8$  blastosporas. Se debe tener en cuenta que para

cada inoculación, la aguja de la jeringa se flameó en el mechero cuidando de enfriarla unos pocos segundos cerca de la llama antes de proceder a la siguiente siembra o inoculación. Todo lo anterior se hizo para eliminar los microorganismos contaminantes. Posteriormente el orificio dejado para la inoculación fue sellado utilizando para ello cinta *masking tape* y, por último se incubaron a 30 °C por 4 días.

**Conteo de las concentraciones obtenidas en los diferentes sustratos.**

Se prepararon suspensiones de esporas, realizando el siguiente proceso para cada una de las bolsas. Se abrió la bolsa con un corte lateral y se vertió su contenido (sustrato y soporte) en un erlenmeyer de 1500 mL, al que se le añadió un litro de agua y 1 mL de tenso-activo, y posteriormente se dejó agitando por 5 min para homogenizar la solución. Luego la solución se escurrió en un frasco por unos segundos, usando para ello una malla de tela para tener la primera extracción, y de éste se tomó un mL para una cámara de Neubauer y se realizaron los conteos de esporas en 5 campos de la cámara, para los dos puntos de

conteo, y del total obtenido en los dos puntos se sacó un promedio de esporas/mL y el total de esporas (Leite *et al.*, 2003). Al sustrato que quedó en el erlenmeyer después de ser escurrido se le añadió 1L de agua y un mL de tenso-activo, y se repitió el mismo proceso anterior dos veces hasta obtener tres extracciones. Al final se sumaron las concentraciones obtenidas en las tres extracciones, constituyendo las esporas totales por bolsa.

**Análisis estadístico**

Se realizó un Análisis de Varianza, pruebas de Duncan, utilizando para ello el paquete estadístico Statgraphics, versión 5.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La producción de hongos entomopatógenos se basa en la multiplicación masiva del hongo y sus estructuras reproductivas en un sustrato natural como matriz de esporulación, el cual proporciona un soporte físico a la conidia aérea.

De la combinación de viruta + sustrato en polvo para el desarrollo del hongo, se observa que resulta significativamente mejor la cantidad

suministrada de 1,6 g de sustrato en polvo de arroz y sorgo, alcanzando una concentración de esporas totales por bolsa de  $2,3 \times 10^{10}$  y  $2,1 \times 10^{10}$ , respectivamente. Así también se encuentra mostrando las mayores concentraciones al sustrato polvo de arroz, para las cantidades de 0,2; 0,4 y 1,6, que refleja el óptimo aprovechamiento que hace el hongo de este sustrato (figura 1).

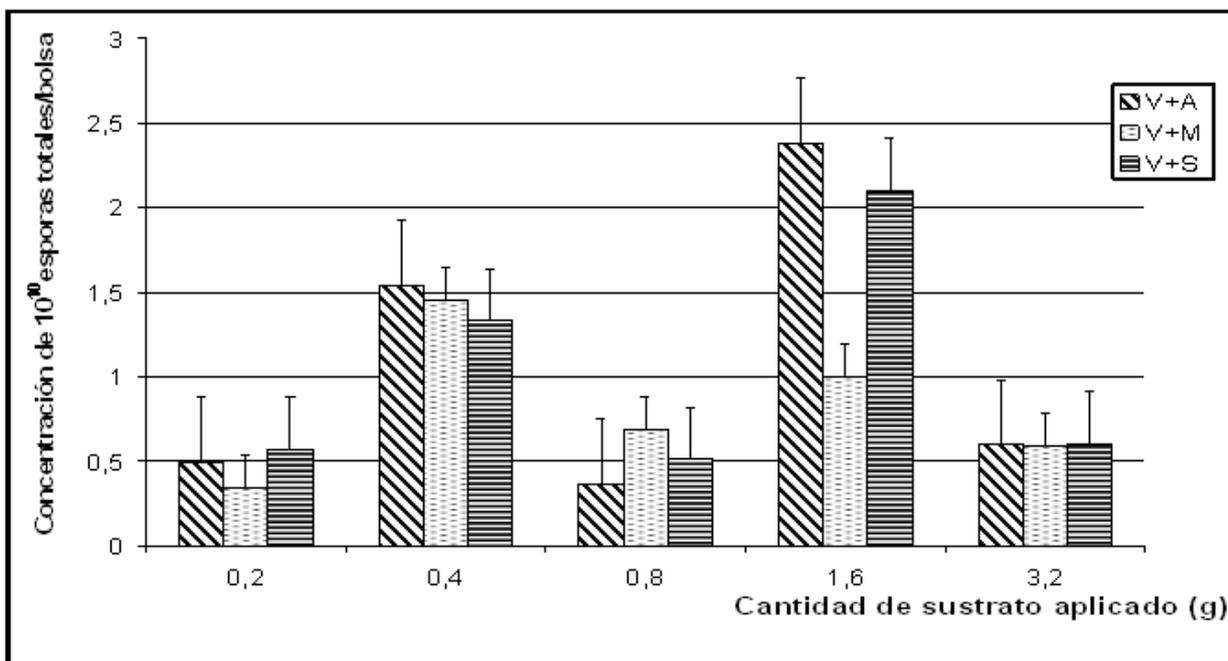


Figura 1. Concentración de esporas totales/ bolsa para sustrato de arroz, sorgo y maíz, sobre un soporte de viruta. Con una diferencia significativa para la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan (pd<sup>0,05</sup>)

Se observa una diferencia significativa en la concentración de esporas totales por bolsa obtenidas a diferentes cantidades, destacándose una mayor concentración a cantidades de 1,6g y 0,4 g, para los tres sustratos sobre un soporte de serrín, alcanzando los mayores títulos de  $3,4 \times 10^{10}$ ,  $3 \times 10^{10}$  y  $2,8 \times 10^{10}$ ,  $2,7 \times 10^{10}$  el polvo de maíz y arroz, respectivamente. Así también se observa que los

tres sustratos muestran el mismo comportamiento a cantidades de 3,2 g, con un decrecimiento en la misma, lo cual se debe a que una mayor cantidad del sustrato no logra distribuirse uniformemente en el soporte, por las partículas que se encuentran y se aglutinan, reduciendo la superficie aprovechable por el hongo. Hecho que se suscita en el momento de la esterilización en la autoclave (figura 2).

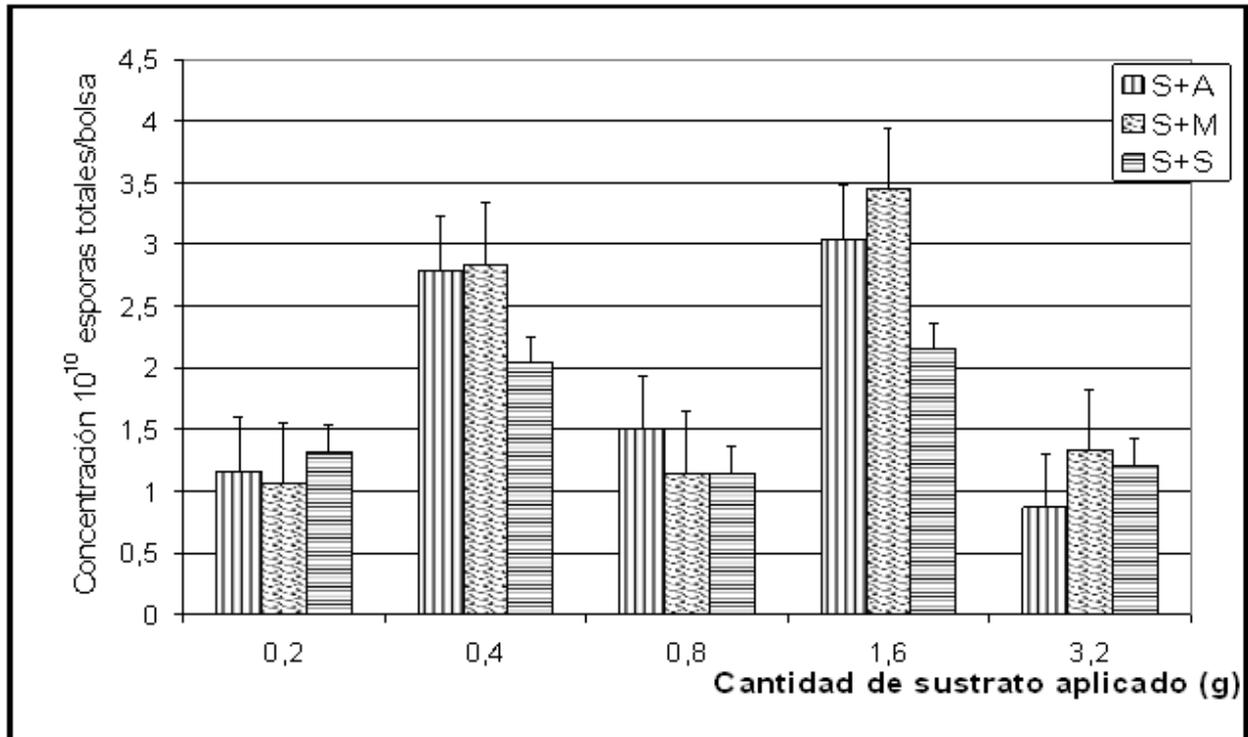


Figura 2. Concentración de esporas totales/ bolsa para sustrato de arroz, sorgo y maíz, sobre un soporte de serrín. Con una diferencia significativa para la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0,05$ )

Los resultados obtenidos sobre la cantidad de sustrato que beneficia el desarrollo del hongo, indican que la producción de esporas es significativamente mayor a una cantidad de 1,6 g, lo cual se debe a que esta concentración proporciona los nutrientes necesarios para obtener los títulos de esporas adecuados. Asimismo Elósegui (2006), señala un amplio rango de sustratos sólidos y soportes disponibles para su uso en la producción de *B. bassiana*, con una cierta cantidad de nutrientes que son suministrados por cada sustrato en particular, por lo que la calidad y cantidad del producto difiere entre todos los sustratos empleados.

En las concentraciones de esporas por bolsa a una dosis de 1,6 g se observa una diferencia significativa, tanto para los soportes de serrín como de viruta con los tres sustratos (figura 3).

En la combinación de soportes y sustratos en polvo, se encuentra una mejor respuesta en el rendimiento de

esporas utilizando un soporte de serrín, donde la producción con los sustratos de polvo de arroz y maíz fue 1,5 y 3,5 veces superior, respectivamente, debido posiblemente a: su mayor intercambio de oxígeno en el medio, la mejor distribución de los nutrientes y la suspensión del hongo en la masa del sustrato.

El sustrato de polvo de arroz alcanzó los mejores resultados en un soporte de viruta y serrín, siendo una alternativa de uso muy eficaz para la reproducción del hongo sobre ambos soportes (figura 3). Jenkins, Heviefio, Langewald, Cherry y Lomer (1998) señalan que debido a la combinación de factores, incluyendo balance nutricional, costos, amplia disponibilidad en el mundo, características físicas como grano pequeño, propiedades de hidratación e integridad estructural después de ser colonizado por el hongo, el arroz es el sustrato más utilizado. De igual forma en Cuba este sustrato es el que se destina para la producción local del hongo como cabecilla de arroz, pero sin embargo solo se obtienen

títulos de  $1,37 \times 10^9$  esporas/g de sustrato (según la metodología seguida en el trabajo en el conteo de esporas), donde para cubrir la aplicación de este

hongo en una hectárea se necesitan 86,39 g de polvo de arroz, mientras que para el caso del CREE se necesitan 729,92 g de cabecilla de arroz.

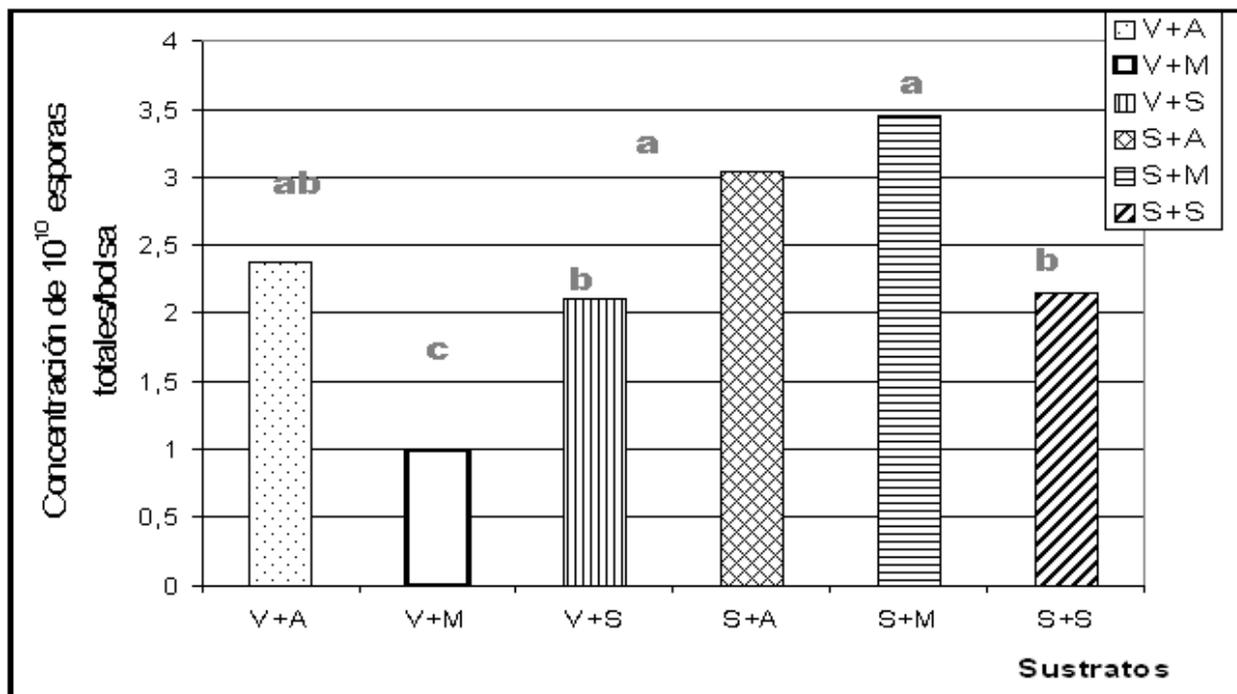


Figura 3. Concentración representativa de esporas totales/ bolsa para sustrato en polvo de arroz, sorgo, y maíz a 1,6 g. Con una diferencia significativa para la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0,05$ )

Teniendo en cuenta los factores antes mencionados, se seleccionó al arroz para incrementar la producción de *Beauveria bassiana*, coincidiendo con Marín y Bustillo (2002); Pariona, Castellanos y León (2007); Castillo, Meneses, Santander, Gonzáles, Cásares y Márquez (2008) y Cova, Scorza, García, Cánasales, Guedez, Maffey y Medina (2009), que destacan la utilización del sustrato sólido de arroz en la producción de *Beauveria sp.*, donde los resultados encontrados varían según la metodología seguida por estos autores.

El resto de los productos ensayados pueden ser utilizados, aunque los rendimientos obtenidos son bajos, con excepción del maíz que resultó mayor en combinación con el soporte de serrín; puede justificarse su utilización si la disponibilidad del sustrato es grande y proporciona volúmenes necesarios para obtener títulos de esporas adecuados, coincidiendo con Elósegui (2006) que plantea que la elección de los sustratos sobre los que se realizará la inoculación, previa esterilización, depende de la disponibilidad local y costo de estos así como de las características del aislado a reproducir. Aunque el arroz resulta el mejor sustrato,

su utilización está condicionada por ser un producto de importación destinado a la alimentación humana. La temperatura se tomó en consideración para calcular la integral térmica que por primera vez se aplica en Cuba, que consiste en una sumatoria de temperaturas hasta el momento óptimo de cosecha.

El resultado obtenido se muestra a continuación:

Donde:  $\sum = n (T - T_0)$

$\sum$  = sumatoria de temperaturas

n = número de días

T = temperatura media diaria encontrada en el local

$T_0$  = Temperatura límite inferior de crecimiento para el hongo, considerada como el cero biológico de 5 °C.

Teniendo en cuenta que  $n = 4$  y  $T = 30$ , donde el cálculo será el siguiente:

$$\sum = 4 (30 - 5) = 100 \text{ } ^\circ\text{C}$$

La integral térmica encontrada a los 4 días, resulta ser también un indicador de la cosecha de las bolsas, si se realiza la producción de este hongo en un local que

presente otras temperaturas, donde no es necesario regular el ambiente, porque el operador puede realizar fácilmente esta sumatoria de temperaturas del local en el que se va a trabajar, y encontrar la integral térmica hasta coincidir con la obtenida de 100 °C, y así realizando una operación matemática encontrar el momento óptimo, en días, de cosecha del hongo según sus condiciones. Lo cual muestra su ventaja en el ahorro de energía y equipos, donde Zapata y Arias (2003) señalan que la producción tradicional de este hongo basada en sistemas de bandejas, localizadas en grandes salones con humedad y temperatura controladas, es inestable y de elevado costo operacional, además de tener algunas limitaciones operacionales.

## CONCLUSIONES

De los diferentes sustratos evaluados sobre un soporte de viruta y serrín, se seleccionó como el mejor al sustrato en polvo de arroz combinado con un soporte de serrín, para iniciar la producción de *B. bassiana*, con una integral térmica de 100 °C a los 4 días de cosecha.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Antía O. P.; J. Posada; E. Bustillo y T. González: "Producción en finca del hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café", *Cenicafé, Avances técnicos* No. 182: 12, (1992).
2. Baeteman R.: "The development of a mycoinsecticide for the control of locust and grasshoppers, *Outlook on Agriculture*. 26:13-18, 1997.
3. Batista F. A.; P. Bastos y C. Saad: "Produção de fungos entomopatogénicos a nível de propriedade agrícola", *O. Biológico*, 54 (7/12): 55-57, Brasil, 1988.
4. Bustillo A. E. y J. Posada : "El uso de entomopatógenos en el control de la broca del café en Colombia, "Manejo Integrado de Plagas, 42: 1-13, Costa Rica, 1996.
5. Castillo A.; H. Meneses; G. Santander; E. Gonzáles y otros: Producción artesanal de *Beauveria bassiana*, Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Instituto de Química y Tecnología, Laboratorio de Bioensayos para moscas de la fruta (LAMOFRU), Venezuela, Publicación divulgativa, Segunda Edición S: 03, N: 03. Disponible en: <http://www.agr.ucv.ve/descargas/lamofru/>

- [bassianaaproducarteresanal.pdf](#) (Consultado: 27 de agosto de 2009)
6. Cova L.J.; V. Scorza; E. García; M. Cásales y otros: Patogenicidad *in vitro* de *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch en *Musca domestica* (L.) como posible estrategia de control biológico en áreas ganaderas, Instituto de Investigaciones Experimentales "José Witremundo Torrealba" Universidad de Los Andes, Trujillo, Trujillo. Venezuela. *Zootecnia Trop.* 27(2): 113-120, octubre de 2009.
  7. Elósegui O.: Métodos artesanales de producción de bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), Ciudad de La Habana, Cuba, 61pp., 2006.
  8. Esperanza S. M.; M. Gerding y A. France: Entomopatógenos BIOINIA: Un Producto de la Investigación. Plagas y Enfermedades. *Inia Tierra Adentro*, Chile, pp. 1-3. Disponible en: <http://www.inia.cl/medios/quilamapu/pdf/tadentro/TA81SOA208.pdf> Consultado: 27 de agosto de 2009)
  9. Ferron P. and J. Fargues; G. Riba: Fungi as microbial insecticides against pest, p. 733, Handbook of applied mycology, Marcel Dekker, Inc., New York, USA, pp. 733, 1991.
  10. French E. end T. Hebert: Métodos de Investigación de fitopatología. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Costa Rica, p. 289, 1988.
  11. Hernández V.M y M. Carrillo: Producción masiva en sustrato sólido y formulación de hongos entomopatógenos, en II Curso-Taller de Producción masiva de agentes de control microbiano, Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria, Dirección General de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, Tecomán, Col., pp. 31-40, 1997.
  12. Hussey Y. W. and W. Tinsley: Impressions of insect pathology in the people's Republic of China. In: BURGES, H. D. (Ed). Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. New York, Academic Press. pp. 785-795, 1981.
  13. Jenkins E. N.; G. Heviefo; J. Langewald; J. Cherry and J. Lomer: "Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides", *Biocontrol New and information* Vol. 19, No. 1 2IN-31N, 1998.

14. Jones K.A. and D. Burges: Product stability: from experimental preparation to commercial reality, in Evans HF 1997. *Microbial Insecticides: Novelty or Necessity?* 163-171. BCPC Symposium proceedings # 68, 1997.
15. Leite L.; A. Batista; E. Almeida y S. Alves: Produção de fungos entomopatogênicos. Editorial Alexandre de Sene Pinto, 2003. Ribeirão Preto, Brasil, p. 92, 2003.
16. Marín P. y E. Bustillo: Producción artesanal de hongos entomopatógenos para el control de insectos plagas, en: Memorias Curso Internacional Teórico-Práctico, Sección I, Entomopatógenos de la broca del café, *Cenicafé*, Chinchiná, marzo 11 al 15 de 2002. pp., 125-131, 2002.
17. Mulock B. and L. Chandler: "Field-cage studies of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliaceae) for the suppression of adult western corn rootworm, *Diabrotica virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae)", *Biocontrol Sci. Technol.* 10:51-60, 2000.
18. Pariona N.; P. Castellanos y E. León: Capacidad entomocida de cepas nativas de *Beauveria* sp. sobre *Schistocerca piceifrons peruviana* (Lynch Arribalzaga, 1903), Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM, Venezuela, Apartado 110058, Lima 11, Perú. *Rev. peru. biol.* 14(2): 253-257, diciembre. Version Online ISSN 1727-9933. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/Bvrevistas/biologia/v14n2/pdf/a12v14n2.pdf> (Consultado: 27 de agosto de 2009)
19. Posada F. F.J: "Production of *Beauveria bassiana* fungal spores on rice to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia", *Journal of Insect Science* 8:41, available online: [insectscience.org/8.41](http://insectscience.org/8.41), 2008.
20. Posada F. F.J.; E. Osorio y T. Velásquez: Evaluación de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre la broca del café empleando el método de aspersión foliar", *Revista Colombiana de Entomología*, 28(2), diciembre de 2002.
21. Posada F. J. y E. Bustillo: "El hongo *Beauveria bassiana* y su impacto en la caficultura colombiana", *Agricultura Tropical*, 31 (3): 97-106, 1994.
22. Téllez A. J.; R. Cruz; F. Mercado; T. Asaff y C. Arana: Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos, Universidad Politécnica de Pachuca, *Revista Mexicana de Micología*. 30: 73-80, octubre de 2009.
23. Thacker J.R.M.: An introduction to arthropod pest control.: J.R.M. Thacker (ed). Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido, pp.343, 2002.
24. Zapata A.D. Z. y Z. Arias: Evaluación de un biorreactor de lecho empacado para el desarrollo del hongo *Beauveria bassiana*, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia, *Revista Colombiana d Biotecnología*. V, número 001: 65-72, Julio. ISSN(Versión en línea): 1909-8758, 2003.
25. Zurek L. and A. Keddie: "*Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin -a promising microbial control agent of the satin moth (Lepidoptera: *Lymantriidae*)", *Biocontrol Sci. Technol.* 10:641-644, 2000.

Recibido: 12/03/2009

Aceptado: 17/06/2009