

**EVALUACIÓN DE DOS AISLAMIENTOS DE *Beauveria bassiana* (B024 y B025)
PARA EL CONTROL DEL RASPADOR DEL FRUTO DE LA PALMA DE ACEITE
Imatidium neivai Bondar (Coleoptera: Chrysomelidae) BAJO CONDICIONES
DE LABORATORIO Y CAMPO**

ALIX JOHANNA HERRERA HERRERA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGIA
BUCARAMANGA
2006**

**EVALUACIÓN DE DOS AISLAMIENTOS DE *Beauveria bassiana* (B024 y B025)
PARA EL CONTROL DEL RASPADOR DEL FRUTO DE LA PALMA DE ACEITE
Imatidium neivai Bondar (Coleoptera: Chrysomelidae) BAJO CONDICIONES
DE LABORATORIO Y CAMPO.**

ALIX JOHANNA HERRERA HERRERA

**Trabajo de Grado para optar
al título de Biólogo**

Director.

EDGAR RICARDO BENITEZ SASTOQUE

Ingeniero Agrónomo.

**Centro de Investigación de la Palma de Aceite. CENIPALMA
Barrancabermeja**

Codirector

EDGAR IGNACIO BARRERA

Ingeniero Agrónomo

Palmas Oleaginosas BUCARELIA

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOLOGÍA

BUCARAMANGA

2006

A mis componentes principales, Mis Padres, Pedro F. Herrera y Alix Ma. Herrera

A mis componentes secundarios, Mis Hermanos, Pedrito Y Lizethcita.

La Utopía en el Horizonte... Me acerco dos pasos y ella se aleja dos pasos, camino diez pasos y ella se corre 10 pasos mas allá.... Por mucho que yo camine nunca la alcanzare!! Para que sirve, entonces, la Utopía ?? Para eso... PARA CAMINAR!!!!.

Anónimo

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Pedro Fidel Herrera y Alix Maria Herrera; por su apoyo, amor, paciencia, sabiduría, comprensión, cariño y enseñanzas brindadas en el transcurso de mi carrera y mi vida.

A mis brillantes hermanos, Pedro Gustavo Herrera y Lizeth Carolina Herrera por ser mi ejemplo a seguir.

A la Plantación Palmas Oleginosas Bucarelia, por la posibilidad y oportunidad que me brindaron para el desarrollo de este trabajo con ellos, por el apoyo financiero y logístico.

Al Ingeniero Edgar Ignacio Barrera González, codirector de este trabajo por la colaboración, enseñanzas y ayudas prestadas para la realización y satisfactoria entrega de este trabajo.

A Cenipalma, por vincularse en la realización de este proyecto.

Al Investigador, Edgar Ricardo Benítez Sastoque, Director de este trabajo por el tiempo dedicado y las enseñanzas brindadas, me hicieron mejorar cada vez más.

A los Investigadores, Carolina Valencia Cortes, Nilson Torres e Iván Ayala, por toda la colaboración brindada para el desarrollo del trabajo.

A mis amigos y compañeros de carrera, por el apoyo y compromiso.

A los profesores de la escuela de Biología.

CONTENIDO

	pág.
1. MARCO TEÓRICO	16
1.1 ANTECEDENTES	16
1.2 CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS ENTOMOPATOGENOS	19
1.2.1 Generalidades del hongo	19
1.2.2 Mecanismo de acción	20
2. MATERIALES Y METODOLOGÍA	23
2.1 ÁREA DE ESTUDIO	23
2.2 EVALUACIÓN EN LABORATORIO Y CAMPO	24
2.3 EVALUAR EL PORCENTAJE DE MORTALIDAD OCASIONADO POR LAS DOS CEPAS DE <i>Beauveria bassiana</i> SOBRE LARVAS Y ADULTOS DE <i>Imatidium neivai</i> EN CONDICIONES DE LABORATORIO Y SEMICONTROLADAS DE CAMPO.	24
2.3.1 Ensayos en Laboratorio	25
2.3.2 Ensayos de Campo	27
2.4 EVALUAR EN CONDICIONES SEMICOMERCIALES EL EFECTO DE LOS AISLAMIENTOS DE <i>B. bassiana</i> SELECCIONADOS SOBRE LAS POBLACIONES DE <i>Elaidobius kamerunicus</i> .	30
2.5. EVALUAR EL POTENCIAL DE EXTRACCIÓN DE ACEITE EN RACIMOS AFECTADOS POR DIVERSOS TIPOS DE DAÑO DE <i>I. neivai</i> SEGÚN LA ESCALA ESTABLECIDA.	31
2.5.1 Selección del área de muestreo	31
2.5.2 Análisis de Fruto	31
2.5.3 Análisis de Aceite (Técnica SOXHLET)	32
2.5.4 Análisis de Racimo	32
2.6 ANÁLISIS DE DATOS	33
3. RESULTADOS	35

3.1 Evaluación en laboratorio	35
3.2 EVALUACIÓN EN CAMPO	37
3.3 EFECTO SOBRE LAS POBLACIONES DE <i>E. kamerunicus</i>	37
3.4 EFECTO DEL DAÑO SOBRE EL POTENCIAL DE EXTRACCIÓN DE ACEITE.	38
DISCUSIÓN	47
CONCLUSIONES	51
RECOMENDACIONES	52
BIBLIOGRAFÍA	54

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Tratamientos establecidos para evaluación en laboratorio y campo.	24
Tabla 2. Análisis de varianza y contrastes ortogonales. Comparación de tratamientos para <i>I. neivai</i> .	35
Tabla 3. Impacto de <i>B. bassiana</i> en las poblaciones de <i>I. neivai</i> .	36
Tabla 4. Análisis de varianza y contrastes ortogonales. Comparación de tratamientos para <i>E. kamerunicus</i> .	37
Tabla 5. Ecuaciones de regresión de la pérdida de aceite por incrementos en el daño de frutos individuales para Deli x La Me y Deli x Avros siembras 1979 y 1996.	39
Tabla 6. Relación entre el nivel de daño de los racimos y la pérdida de aceite para la variedad Deli x La Me Siembra 1979.	40
Tabla 7. Relación entre el nivel de daño de los racimos y la pérdida de aceite para la variedad Deli x La Me siembra 1996.	41
Tabla 8. Relación entre el nivel de daño de los racimos y la pérdida de aceite para la variedad Deli x Avros Siembra 1996.	42
Tabla 9. Relación entre el nivel de daño de los racimos y la pérdida de aceite para la variedad Deli x Avros Siembra 1979.	43

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos.	20
Figura 2. Localización General del Área de estudio.	23
Figura 3. Frutos individualizados y parafinados junto con algodones humedecidos en cada uno de las unidades experimentales.	26
Figura 4. Montaje de las unidades experimentales en el cuarto de incubación. Disposición de los bloques aleatorizados.	27
Figura 5. Localización y organización de las unidades experimentales y los tratamientos en campo.	28
Figura 6. Arreglos pre - aplicación de los tratamientos sobre las unidades experimentales. Limpieza de los racimos.	29
Figura 7. Aplicación de los tratamientos y arreglos pos aplicación sobre las unidades experimentales. Cubrimiento y enumeración de los racimos.	29
Figura 8. Localización de lotes dentro de la plantación..	31
Figura 9. Categorías de calificación de daño dependiendo del área afectada.	32
Figura 10. Escala de Calificación de racimos para el daño por <i>Imatidium neivai</i> .	33
Figura 11. Diferentes etapas de Esporulación de <i>I. neivai</i> en cámaras húmedas en laboratorio.	36
Figura 12. Relación entre el daño en fruto y la pérdida de aceite por Variedad y Siembra.	38
Figura 13. Categoría de daño de racimo vs Pérdida Total de Aceite.	44
Figura 14. Promedio general de pérdida máxima de aceite por Variedad y Siembra.	45
Figura 15. Peso promedio de fruto para las variedades Deli x La Me y Deli x Avros en sus respectivos años de siembra, 1979 y 1996.	46

RESUMEN

TITULO: EVALUACIÓN DE DOS AISLAMIENTOS DE *Beauveria bassiana* (B024 y B025) PARA EL CONTROL DEL RASPADOR DEL FRUTO DE LA PALMA DE ACEITE *Imatidium neivai* Bondar (Coleoptera: Chrysomelidae) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO Y CAMPO.*

AUTOR: HERRERA HERRERA, Alix Johanna**

PALABRAS CLAVES: *Imatidium neivai*, hongos entomopatógenos, palma de aceite

DESCRIPCIÓN

Imatidium neivai (Bondar) (Coleóptera: Chrysomelidae) es particularmente un insecto plaga de los cultivos de palma aceitera, ampliamente distribuido en zonas palmeras de Colombia, Panamá, Venezuela, Ecuador, Brasil y Surinam (Aldana *et al.* 2003). Las tácticas de control actuales son basadas en productos químicos y se ha generado cierto interés sobre la resistencia construida en las poblaciones. Basados en estudios previos de laboratorio conducidos por CENIPALMA, Colombia, dos aislamientos (B024 y B025) del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuilleim (Deuteromycotina:Hyphomycetes) fueron seleccionados para ser probados nuevamente en condiciones de laboratorio y novedosamente en campo contra *I. neivai* en la zona central palmera de Colombia, con concentraciones de 1×10^8 conidias/ ml. Frutos y lotes seleccionados de palma fueron tratados con los aislamientos. Las tasas de mortalidad en laboratorio fueron 22,66% y 60% para B024 y B025, comparadas con el 1,33% y 0 % de los testigos, Tratado y Absoluto respectivamente. En Campo variaron entre 4% y 7% para B024 y B025 comparadas con el 2% y el 0% de los testigos, absoluto y tratado respectivamente. El curculionido *E. kamerunicus*, polinizador de la palma fue probado con las mismas dosis de conidias y no se observaron efectos significativos sobre ellos.

En relación al efecto sobre el potencial de extracción de aceite se estimaron pérdidas por racimo desde 0.79% en la variedad Deli x La Me Siembra 1979 hasta 7% Aceite/Mesocarpio seco en la variedad Deli x Avros Siembra 1979.

* Trabajo de Grado.

** Facultad de Ciencias. Escuela de Biología, Director: Edgar Ricardo Benítez Sastoque.

SUMMARY

TITLE: EVALUATION OF TWO ISOLATES OF *Beauveria bassiana* ON POPULATIONS OF *Imatidium neivai* Bondar (Coleóptera: Chrysomelidae: Hispinae) FRUIT SCRAPER OF OIL PALM UNDER LABORATORY AND FIELD CONDITIONS.*

AUTHOR: HERRERA HERRERA, Alix Johanna **

KEY WORDS: *Imatidium neivai*, entomopathogenic fungus , oil palm.

CONTENT

Imatidium neivai (Bondar) (Coleoptera: Chrysomelidae) is a particularly damaging pest of Oil Palm crops, widely distributed in palm zones in Colombia, Panamá, Venezuela, Ecuador, Brazil y Surinam (Aldana *et al.* 2003). Current control tactics are based in chemical products and there is some interest over resistance building in populations. Based on previous laboratory studies conducted in (CENIPALMA), The Centre of Investigation in Oil Palm, Colombia, two isolates (B024 y B025) of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuilleim (Deuteromycotina:Hyphomycetes) were select for laboratory and field-testing against *I. neivai* in central zone palm in Colombia, at a concentration of 1×10^8 conidias/ ml. Fruits and plots selected of oil palm were treated with isolates.

Mortality rates in laboratory were 22,66% and 60% for B024 y B025, compared with mortality of uninoculated fruit scraper which ranged in 1,33% and 0 (Treaty and absolute) respectively. In field varied between 4% and 7% for B024 and B025 compared with 2% and 0% for uninoculated insects (absolute and treaty). The Curculionid *E. kamerunicus*, were tested with the same doses of conidias and this important pollinator of the oil palm suffered no adverse significant effects.

A parallel evaluation was done to determine how this fruit scraper affects the potential of oil extraction as well. In relation to the effect on the potential of oil extraction, losses by cluster were estimated from 0.79% in the Deli x La Me 1979 to 7% Oil/Dry Mesocarp in the Deli x Avros 1979.

* Grade Work.

** Ciencias's Faculty. Biología's, Director's school: Edgar Ricardo Benítez Sastoque.

INTRODUCCIÓN

El raspador del fruto, *Imatidium neivai* Bondar (Coleóptera: Chrysomelidae: Hispinae) se ha convertido en uno de los principales insectos plaga del cultivo de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq). Este causa un daño directo en estado adulto y preferentemente en estado larval royendo la superficie de los frutos verdes localizados en la parte externa del racimo. La importancia económica del daño causado por el raspador radica en que al afectar los frutos, estos toman una apariencia corchosa y grisácea (Genty *et al* 1978) y en el lugar del raspado no hay formación ni producción de aceite: principal finalidad del cultivo. Según estudios realizados por Genty 1978 se determino que los porcentajes de pérdida de aceite generados por el daño pueden llegar al 7 u 8 %, además el daño impide una buena valoración del grado de madurez del racimo lo que conduce a malas cosechas y por tanto genera efectos secundarios de pérdidas. Debido a lo enunciado y dada la importancia que el insecto ha adquirido en el proceso productivo de la palma de aceite se han iniciado estudios para conocer la biología y buscar estrategias de control que puedan ser utilizadas en el insecto (Aldana *et al* 2003).

Actualmente en las zonas palmeras, el control de *I. neivai* es primariamente realizado a través del uso de productos químicos convencionales con diferentes ingredientes activos como el Monocrotofos, un insecticida órganofosforado de amplio espectro y altamente toxico (www.proficol.com.co).

El control químico ha dado como resultado el desarrollo de poblaciones resistentes, dentro de estas podemos citar las moscas blancas, *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* (Faria & Wraight, 2001), y el escarabajo de la papa, *Leptinotarsa decemlineata* (Forgash, 1985; Roush *et al* 1990).

Teniendo en cuenta la habilidad de los insectos para desarrollar resistencias a los insecticidas y el impacto ambiental negativo (ambiente, animales y hombre) de estos, se ha fomentado el desarrollo de estrategias alternativas para el manejo de las plagas (Quesada-Moraga *et al* 2006), en las cuales el control microbial podría jugar un rol muy importante.

Múltiples estudios se han realizado para establecer este tipo de control sobre diversos insectos plagas; en coleópteros tales como, *Leptinotarsa decemlineata* (Wraight y Ramos 2005), *Lissorhoptrus oryzophilus* (Chen *et al* 2005), *Neochetina bruchi* (Chikwenhere y Vestergaard 2001), *Hypothenemus hampei* (Samuels *et al* 2002; Bustillo *et al* 2002), *Premnotrypes vorax* (Peña *et al* 2000), *Ips typographus* (Kreutz *et al* 2004), *Diabrotica spp* (Bruck *et al* 2001) ; Homópteros como *Bemisia tabaci* (Faria & Wraight, 2001), *Trialeurodes vaporariorum* (Hajek y Legar, 1994), *Aleurotrachelus socialis* (Sánchez y Belloti 1997), *Empoasca vitis* (Pu *et al* 2005); Hemípteros como *Lygus hesperus* (McGuire *et al* 2006), *Lygus lineolaris* (Leland y McGuire 2006), *Dalbulus maidis* (Ibarra-Aparicio *et al* 2005), *Leptopharsa heveae* (Tanzini 2002), Tisanopteros como *Frankliniella occidentales*(Al-mazra'awi *et al* 2006), Lepidópteros como *Dendrolimus punctatus* (Wang *et al* 2004), *Panolis flammea* (Hicks *et al* 2001), Ácaros como *Tetranychus evansi* (Wekesa *et al* 2006), plagas extendidas y generalizadas en cultivos como papa, yuca, algodón, pastos, café, maíz, hortalizas, caucho, te, jacintos además en plantaciones de pinos y abetos; pero los esfuerzos han sido escasos para evaluar y establecer los hongos entomopatógenos en el control de poblaciones plaga en el cultivo de la Palma de Aceite como una herramienta biológica eficaz; solo se presenta el trabajo de Valencia y Benítez 2005, en donde estudios en laboratorio revelaron a *B. bassiana* como un patógeno promisorio sobre el crisomélido *I. neivai*.

Humber en 1996 realizo recuperaciones de aislamientos de hongos en campo en coleópteros crisomélidos de la subfamilia Hispinae y reporto los géneros *Beauveria bassiana* y *Metarhizum anisopliae*. Para las otras subfamilias reporto

Verticillium lecanii y *Paecylomices*. Fueron encontrados otros tipos de hongos probablemente colonizadores facultativos o necrofiticos (e.g. *Fusarium sp*, *Alternaria alternata* y *Scopulariopsis sp*). En este grupo de patógenos no se presentan hongos cuyos rangos de hospederos sean parcial o completamente restringidos a los crisomélidos.

En Colombia, para la familia Chrysomelidae se han reportado hongos entomopatógenos del orden Entomophthorales, familia Entomophthoraceae en *Epitrix cucumeris* (Harris), *Epitrix hirtipennis* (Melsheimer) y *Epitrix fascista* (Coleoptera: Chrysomelidae: Alticinae) mientras que en el complejo *Cerotoma spp* y *Diabrotica spp* no se ha reportado ninguna clase de entomopatógenos (Vélez 1997).

Los cultivos en los que más se ha trabajado en investigación dirigida al uso de entomopatógenos en Colombia son el café, las hortalizas, las leguminosas, la papa, el maíz, el arroz y los pastos (Cotes 2001).

En este trabajo se implementara el control biológico con aplicaciones del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el contexto de un manejo integrado en el cultivo de la palma de aceite sobre el raspador del fruto, para optimizar las condiciones del cultivo y además lograr un manejo mas limpio de las poblaciones del insecto; conjuntamente con la mejora de las condiciones ambientales, de la fauna y el hombre.

El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* se encuentra ampliamente distribuido, y es muy bien conocido como agente de biocontrol para insectos plaga(Shi y Feng 2004), es patógeno del suelo (Butt et al. 2001) y presenta relevante importancia en los crisomélidos (Humber 1996). Varios aislamientos de *B. bassiana* están siendo o están cerca de ser comercializados, y muy poco se

sabe acerca de los riesgos potenciales que posee para los organismos no objetivo (Goettel et al.2001).

Con base en el hecho anterior, y que *B. bassiana* es el hongo entomopatógeno de mayor importancia atacando y causando mortalidad en la familia Chrysomelidae y ha sido ampliamente reportado y utilizado como controlador biológico de diferentes plagas en diversos cultivos tanto internacional como nacionalmente, y en cuyas evaluaciones ha demostrado buenos resultados, se plantea como hipótesis de trabajo que la implementación del control biológico con *B. bassiana*, en el contexto de un manejo integrado en el cultivo de la palma, generara resultados de control, en este caso mortalidades altas, sobre el raspador del fruto de la Palma de Aceite y paralelamente no afectara al polinizador de la palma, *Elaidobius kamerunicus*, organismo no objetivo.

Los objetivos de esta investigación fueron evaluar la efectividad del hongo entomopatógeno *B. bassiana* sobre el raspador del fruto de la palma de aceite *I. neivai* en condiciones de laboratorio, evaluar *B. bassiana* en condiciones de campo sobre el insecto, y paralelamente evaluar su efecto sobre el polinizador *E. kamerunicus*. También se validó la escala establecida por Cenipalma para la evaluación del potencial de extracción de aceite estableciendo comparaciones con los diferentes daños ocasionados al fruto por el raspador.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 ANTECEDENTES

Los insectos plaga han colonizado con éxito los agroecosistemas y las zonas naturales debido a diversas características, atributos y factores; además el comportamiento de estas especies ha sido una de las propiedades para que hayan persistido en su actividad (Vergara 2000).

Los insecticidas químicos son los productos más empleados en el control de insectos plaga, sin embargo, dentro de las diferentes estrategias de control este es uno de los de mayor riesgo, ya que como consecuencia de su utilización se puede dar la contaminación del medio, la aparición de plagas secundarias y efectos nocivos sobre la entomofauna benéfica y los enemigos naturales de estas plagas (Sáenz 2001), por tal razón su uso se debe hacer con mayor atención e incrementar el interés por todas las diferentes estrategias de control biológico existentes en la naturaleza (Cenipalma 1992).

El control biológico de insectos plagas, mediante la utilización de bioplaguicidas, es considerado como una de las alternativas más deseables y factibles en el manejo de las plagas en la agricultura, pues puede proveer un control adecuado de estas, de manera sostenible (Cotes 2001), este control se define como un método de regulación de las poblaciones de individuos indeseados, mediante la liberación deliberada y sistemática de sus enemigos naturales, tales como insectos benéficos (parásitos y depredadores); y agentes patógenos tales como hongos, bacterias, virus y nematodos (Sánchez 2001).

Según lo reportado por Calvache (2001), en el cultivo de Palma de Aceite (*Elaeis guineensis* Jacq) características de clima y manejo puede originar focos de

especies de insectos que adquieren la categoría de plaga y que se controlaran mediante técnicas que estén acordes con el principio básico del manejo de plagas en un cultivo perenne.

Este se ha enfocado hacia el fortalecimiento de los factores de mortalidad natural de los insectos incluyendo los entomopatógenos; aprovechando que el cultivo les ofrece condiciones ambientales inmejorables (estabilidad de su ecosistema) para su establecimiento,

El raspador del fruto *Imatidium neivai* Bondar (Coleoptera: Chrysomelidae: Hispinae) puede alcanzar una longitud de 5.5 mm, son de color rojizo, ovalados y aplanados.

Una vez se rompe la espata que cubre el racimo se desplazan hacia las espigas mas internas e inician su actividad reproductiva ovipositando. Vive en promedio 52 días según lo reportado en la plantación Promociones Agropecuarias Monterrey.

Este insecto se ha convertido en una de las principales plagas del cultivo de la Palma de Aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.), sin embargo, aun no se ha identificado ningún control específico. En Colombia se estima que hay 235.000 hectáreas sembradas con Palma de Aceite distribuyéndose en 4 zonas: Central, Norte, Occidental y Oriental (Fedepalma, 2004).

Puntualmente en Puerto Wilches, Zona Central; se considera una de las plagas de mayor importancia e interés en el cultivo por los daños directos e indirectos ocasionados que generan perdidas a los palmicultores por la disminución del potencial de extracción de aceite, en esta zona se han realizado algunos estimativos preliminares del tipo y la proporción del daño en los racimos y se encontró que el raspador puede inducir la perdida de 1 punto del potencial de extracción de aceite lo que significaría 9000 millones de pesos anuales.

(Cenipalma 2002).

Según Tanada y Kaya (1993), los primeros organismos que se encontraron causando enfermedad en los insectos fueron los hongos debido a su crecimiento macroscópico sobre la superficie de sus hospederos, lo cual los hacía fácilmente detectables; sin embargo, algunos hongos entomopatógenos producen un crecimiento superficial mínimo o ausente y la mayoría son patógenos obligados o facultativos, aunque también se presentan algunos simbióticos. Su crecimiento y desarrollo está limitado principalmente por las condiciones ambientales externas, en particular alta humedad y adecuada temperatura para la esporulación y germinación de esporas.

Se consideran como los agentes microbiales más promisorios para el control de insectos plaga, ya que a diferencia de los virus y las bacterias, estos emplean múltiples entradas, la mayoría a través del integumento del hospedero (Ferron, 1978; Carruthers and Soper, 1987; Tanada and Kaya, 1993). Por tanto pueden infectarlos no solo a través del intestino sino a través de los espiráculos (Bustillo 2001) y directamente a través de la penetración de la cutícula (Hajek y Legar, 1994); particularmente esta característica permite infectar insectos independiente de su actividad alimenticia (Bustillo 2001) y adicionalmente poseen múltiples mecanismos de acción que les confieren una alta capacidad para evitar que el hospedero desarrolle resistencia.

Los hongos entomopatógenos, en Colombia, han sido utilizados como controladores naturales de insectos plaga en varios tipos de cultivos, destacándose el café, la yuca y la papa, para el control de plagas tales como *Hypothenemus hampei* (Bernal *et al* 1999), *Trialeurodes vaporariorum* (González, *et al* 1995, Vargas *et al* 1995), y *Premnotrypes vorax* (Torres *et al* 1999) respectivamente.

Específicamente para la familia Chrysomelidae, son los agentes biocontroladores microbiales potencialmente mas útiles y que mayores efectos de mortalidad natural les causan (Humber 1996), esto se ha evidenciado en campo donde algunos raspadores han aparecido muertos por infección de hongos.

1.2 CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Los hongos entomopatógenos se encuentran clasificados en la división Eumycota y en las subdivisiones: Mastigomycotina, Zygomycotina, Ascomycotina, Basidiomycotina y Deuteromycotina (Tanada y Kaya 1993).

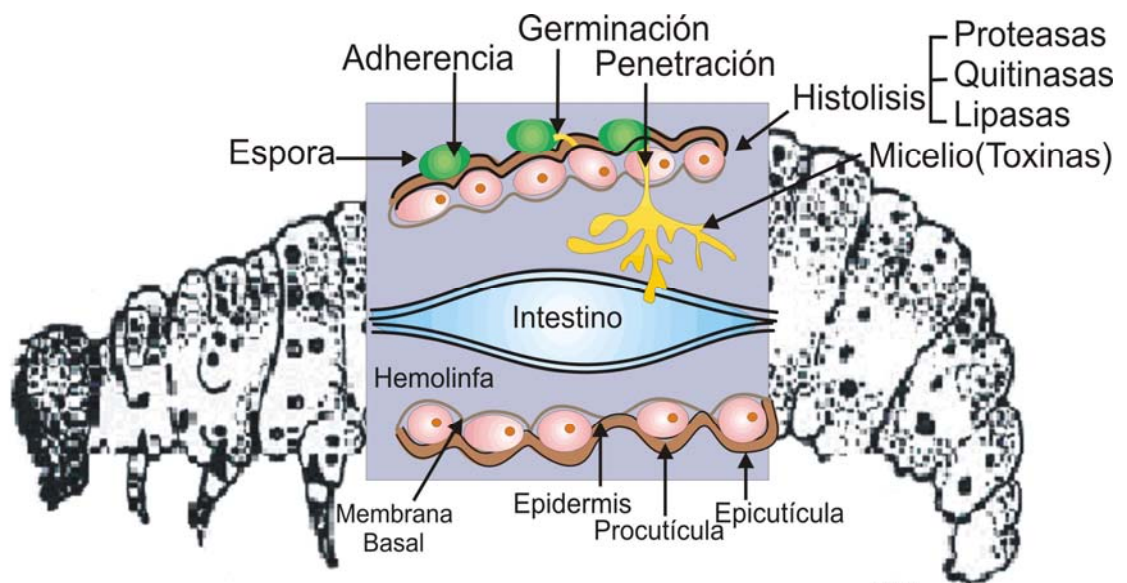
Los Deuteromycotina entomopatógenos son encontrados en dos clases, Hyphomycetes y Coleomycetes, muchos son patógenos altamente virulentos y han sido aplicados en el control de insectos plaga (Samson *et al.* 1988). Los hongos entomopatógenos infectan individuos en todos los órdenes de insectos, mayormente Hemiptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera y Orthoptera (David 1967 citado por Tanada y Kaya, 1993 Ferron *et al.* 1975). Los estados inmaduros (ninfas y larvas) son más a menudo infectados que los adultos, mientras que los estados de huevo y pupa no son frecuentemente infectados (Tanada y Kaya 1993). La especificidad del hospedero varía considerablemente, algunos hongos infectan un amplio rango de hospederos y otros están altamente restringidos a pocas o únicas especies.

1.2.1 Generalidades del hongo. *Beauveria bassiana* infecta cerca de 100 especies diferentes de insectos en varios ordenes, pero sus aislamientos tienen un alto grado de especificidad (Ferron *et al.* 1972 Fargues 1976). Este género está compuesto por varias especies: *B. bassiana*, *B. brongniartii* o *B. tenella*, *B. amorpha* y *B. velata*; sin embargo, las más frecuentemente estudiadas son *B. bassiana* (Bálsamo) Vuillemin y *B. brongniartii* (De Lacroix) Siemszko, además se caracteriza por presentar un micelio blanco, conidioforos sencillos, irregularmente

agrupados; conidias hialinas, redondeadas u ovoides y unicelulares (Bustillo 2001).

1.2.2 Mecanismo de acción. Dentro del mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos, el desarrollo de la micosis puede estar dividido en cuatro fases (Figura 1):

Figura 1. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos.



Fuente: Autor.

(1) Adhesión y Germinación de la espora en la cutícula del insecto: el primer contacto que hace la espora con la superficie del hospedero es por la cutícula. La germinación depende en gran parte de la humedad ambiental y de la temperatura, pero también por condiciones nutricionales y de luz (Tanada y Kaya 1993).

Pequeñas diferencias en los niveles de humedad relativa luego de la aplicación de las conidias pueden determinar el éxito o no del hongo en el control de los

insectos plaga (Guillespie 1988). Otros factores que interactúan en el resultado de la germinación son: el tiempo de duración, modo de germinación, agresividad del hongo, tipo de espora y susceptibilidad del hospedero (Samson *et al.* 1988).

(2) Penetración del integumento: la penetración de la cutícula del insecto ocurre como resultado de la degradación enzimática de esta y la presión mecánica por el tubo germinal (conidias germinadas) (Guillespie 1988). El modo de penetración depende de las propiedades de la cutícula, grosor, esclerotización y la presencia de sustancias antifúngicas y nutricionales (Charnley 1984).

(3) Replicación en el hemocele: Una vez el hongo atraviesa la cutícula debe vencer el sistema inmunológico del hospedero antes de entrar a la hemolinfa y desarrollarse dentro del insecto. Después de llegar al Hemocele, el crecimiento micelial se convierte en un crecimiento por gemación. Los hongos pueden evitar la defensa inmune del insecto por: desarrollo de protoplastos no reconocidos por los hemocitos del insecto, cuerpos hifales que se multiplican y se dispersan rápidamente (Samson *et al.* 1988) y por producción de micotoxinas (Tanada y Kaya 1993).

(4) Desarrollo del hongo: posterior al crecimiento del hongo, la micosis induce síntomas fisiológicos anormales como convulsiones, carencia de coordinación y comportamientos alterados. Ocurre una competencia entre el hongo y la flora intestinal, se producen sustancias antibacteriales y cambio de color del cadáver (Ferron 1978). La finalización de estas fases generalmente resulta en la muerte del insecto.

Recientemente, propágulos de *B. bassiana* fueron frecuentemente encontrados en las hojas de las plantas y este nuevo aspecto de *B. bassiana* ha generado preguntas de vías dispersivas en el follaje (Meyling y Eilenberg, 2006). Además las dispersiones realizadas por las corrientes de aire (Shimazu *et al.*, 2002) y la lluvia

desde la superficie del suelo (Bruck y Lewis, 2002b) a los insectos podría contribuir a la distribución de los hongos.

Las dispersiones de *B. bassiana* por la actividad de los insectos ha sido desarrollada y explotada para el manejo de plagas usando la estrategia de auto-diseminación (Meadow *et al.*, 2000; Dowd y Vega, 2003; Vickers *et al.*, 2004).

Los áfidos frecuentemente caen de las plantas escapando de sus depredadores y parasitoides y al regresar a la planta podrían potencialmente llevar hongos a sus plantas hospederas (Meyling *et al* 2006).

2. MATERIALES Y METODOLOGÍA

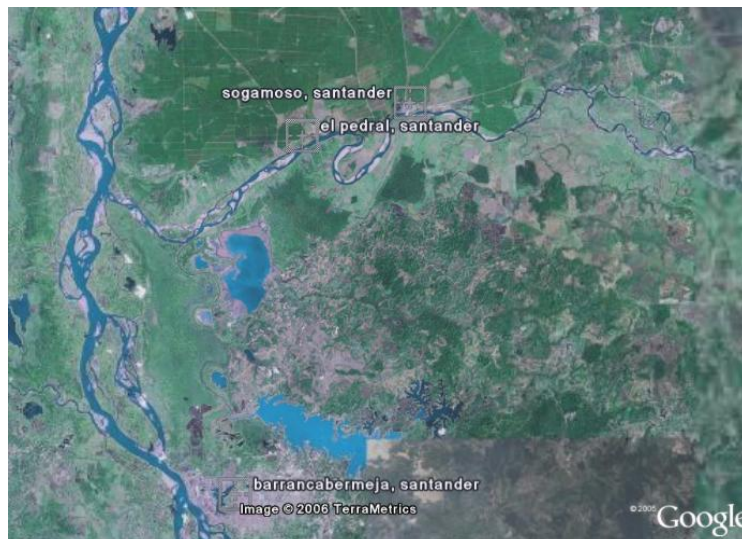
2.1 ÁREA DE ESTUDIO

Esta investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología y Entomología del Centro de Investigaciones en Palma de Aceite (CENIPALMA), Campo Experimental Palmar de la Vizcaína localizado en la carretera Troncal del Magdalena Medio a 32 Km. al sureste del municipio de Barrancabermeja, Departamento de Santander.

Los ensayos de campo y la colecta de insectos, fueron realizados en la Finca Buenavista la cual se encuentra ubicada en el costado oriental del Campo Experimental Palmar de la Vizcaína (Barrancabermeja).

Los análisis de racimos se realizaron en el Laboratorio de Control de Calidad de la Planta de Beneficio Primario (PBP) de la Plantación Palmas Oleaginosas Bucarelia y de la Plantación Palmas Monterrey, localizadas cerca al Corregimiento El Pedral, Municipio de Puerto Wilches, Departamento de Santander.

Figura 2. Localización General del Área de estudio.



Fuente: www.google.com

2.2 EVALUACIÓN EN LABORATORIO Y CAMPO

El material vegetal utilizado en el laboratorio para evaluar los aislamientos del hongo entomopatógeno (*Beauveria bassiana*) correspondió a frutos individuales depositados junto con algodones humedecidos en 20 frascos de vidrio de 3.5 L.

En campo correspondió a un racimo y una inflorescencia por palma.

2.3 EVALUAR EL PORCENTAJE DE MORTALIDAD OCASIONADO POR LAS DOS CEPAS DE *Beauveria bassiana* SOBRE LARVAS Y ADULTOS DE *Imatidium neivai* EN CONDICIONES DE LABORATORIO Y SEMICONTROLADAS DE CAMPO.

Para la realización de los ensayos, se utilizaron dos cepas de *B. bassiana* clasificadas como B024 y B025 las cuales fueron probadas preliminarmente por Valencia *et al.* (2004), registrando efectos significativos de control en condiciones de laboratorio con porcentajes del 60 y 50% respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos establecidos para evaluación en laboratorio y campo.

TRATAMIENTO		CARACTERÍSTICA
T1	Aislamiento 1	Cepa B024
T2	Aislamiento 2	Cepa B025
T3	Testigo tratado	Aplicación de Agua con Tween al 0.1%
T4	Testigo absoluto	Ningún tipo de tratamiento

Fuente: Autor.

2.3.1 Ensayos en Laboratorio

- **Producción de Hongos entomopatógenos.** En la fase de laboratorio se realizó la producción masiva de los aislamientos de hongos entomopatógenos, específicamente las cepas B024 y B025 de *Beauveria bassiana*. Como medio de cultivo se utilizó Saboureaud Dextrosa Agar, este se elaboró agregando a 1 L de agua destilada 65 g de Agar, se agitó y se llevo a esterilización en autoclave a 121 °C y 15 PSI durante 35 minutos. Los medios fueron servidos en cajas de petri y tubos de ensayo, en cámara de flujo laminar con todas las condiciones de asepsia.

La producción del hongo en arroz, el cual fue el vehículo para su aplicación en campo, se realizó en bolsas plásticas a las cuales se les adiciono 200 g de arroz y 40 mL de una solución de agua destilada con ácido láctico; este último para disminuir el pH y así controlar el crecimiento de bacterias. Las bolsas fueron llevadas a esterilización en autoclave a 121 °C y 15 PSI durante 35 minutos. Una vez las bolsas se encontraron a temperatura ambiente se inocularon con trozos de Saboureaud Dextrosa Agar colonizados con cada uno de los aislamientos, y fueron incubadas a 27°C durante 6 días aproximadamente.

- **Obtención de inóculos.** La preparación de las suspensiones utilizadas para la infección de los insectos se obtuvieron a partir de la multiplicación de los aislamientos anteriores. Las conidias se cosecharon adicionando agua destilada y tween una vez esporularon y se removió el hongo con asa. La Cámara de Neubauer y el microscopio permitieron realizar el conteo de conidias para calcular la concentración de la solución madre y por diluciones se obtuvo la concentración necesaria para la aplicación.

- **Colección y desinfección de insectos.** Las capturas manuales de individuos de *I. neivai* se llevaron a cabo sacudiendo los racimos cortados o extrayendo los insectos directamente de las espiguillas que conforman el racimo en la palma, en la Finca Buenavista.

Los insectos colectados en campo se trasladaron al laboratorio y se realizó la desinfección sumergiéndolos en una solución de Hipoclorito de Sodio al 1 % durante 1 minuto y enjuagándolos con agua destilada por 1 minuto.

- **Montaje de Unidades experimentales.** Venticuatro (24) horas después de la desinfección con Hipoclorito de sodio al 1%, se infectaron los insectos impregnándolos con una suspensión de 1×10^8 conidias. mL⁻¹ durante 30 segundos; ya infectados fueron colocados en recipientes de vidrio (30 individuos / frasco) junto con algodones humedecidos con agua y frutos individualizados y parafinados como alimento, constituyendo una unidad experimental (Figura 3) y llevados al cuarto de incubación donde permanecieron durante el periodo de evaluación que fue realizado a los 4, 8, 12,16 y 20 días en los cuales se registro el número de individuos muertos en cada una de las unidades experimentales. La asignación de los tratamientos se realizo bajo un diseño completamente al azar con cinco repeticiones (Figura 4).

Figura 3. Frutos individualizados y parafinados junto con algodones humedecidos en cada uno de las unidades experimentales.



Fuente: Autor.

Figura 4. Montaje de las unidades experimentales en el cuarto de incubación. Disposición de los bloques aleatorizados.



Fuente: Autor.

Los insectos muertos se llevaron a cámara húmeda y se registró el número de individuos esporulados y el tiempo en el cual se observaron los signos de esporulación. Adicionalmente, se supervisó la temperatura y la humedad relativa del lugar.

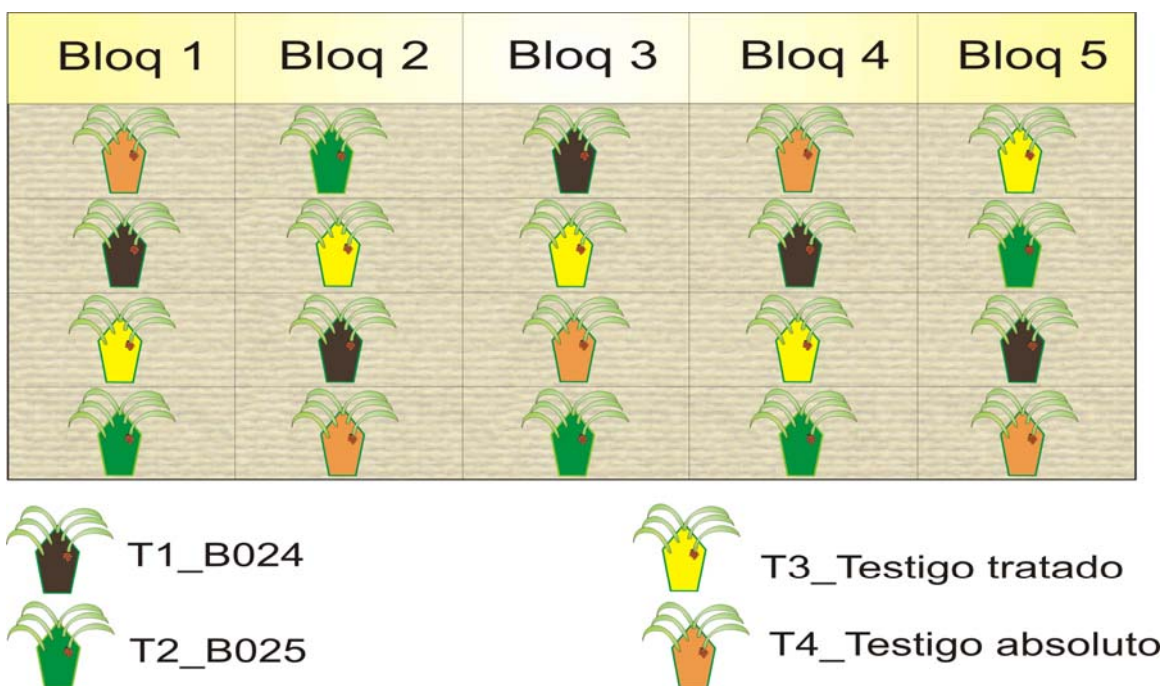
2.3.2 Ensayos de Campo. La totalidad de la fase de campo se desarrolló en la Finca Buenavista. La selección de área de muestreo se hizo aleatoriamente dentro de la finca y se seleccionaron racimos verdes e inflorescencias en antésis, las cuales fueron utilizadas como unidades experimentales para la aplicación de los tratamientos.

Montaje de unidades experimentales. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento, para un total de 20

unidades experimentales. Los tratamientos utilizados fueron los mismos presentados en la Tabla 1.

La unidad experimental correspondió a un racimo inmaduro por palma (Figura 5).

Figura 5. Localización y organización de las unidades experimentales y los tratamientos en campo.



Fuente: Autor.

Los racimos fueron limpiados y despejados para la aplicación de los tratamientos (Figura 6). En cada uno de los racimos seleccionados se colocaron 20 individuos adultos de *I. neivai* para tener la certeza de la presencia del insecto en el racimo y se asperjo una dosis de 200 mL de una suspensión de 10^8 conidias. mL⁻¹. con bomba manual.

Los racimos se embolsaron con mallas de tul. (Figura 7).

Figura 6. Arreglos pre - aplicación de los tratamientos sobre las unidades experimentales. Limpieza de los racimos.



Fuente: Autor.

Figura 7. Aplicación de los tratamientos y arreglos pos aplicación sobre las unidades experimentales. Cubrimiento y enumeración de los racimos.



Fuente: Autor.

Al cabo de 14 días de la aspersion de los tratamientos se realizaron las lecturas de mortalidad, el racimo fue cortado, llevado al laboratorio, despigado y se realizó el

conteo de individuos (larvas, pupas y adultos) vivos y muertos. Los individuos muertos se llevaron a cámara húmeda en el laboratorio para verificar la esporulación del hongo sobre la superficie del cuerpo del insecto y así comprobar que la muerte de este fue causada por acción del hongo. Como prueba de comparación de tratamientos se utilizó la técnica de contrastes ortogonales, evaluando las siguientes hipótesis:

Z1: Testigos vs. otros tratamientos

Z2: Entre testigos

Z3: Entre aislamientos.

2.4 EVALUAR EN CONDICIONES SEMICOMERCIALES EL EFECTO DE LOS AISLAMIENTOS DE *B. bassiana* SELECCIONADOS SOBRE LAS POBLACIONES DE *Elaidobius kamerunicus*.

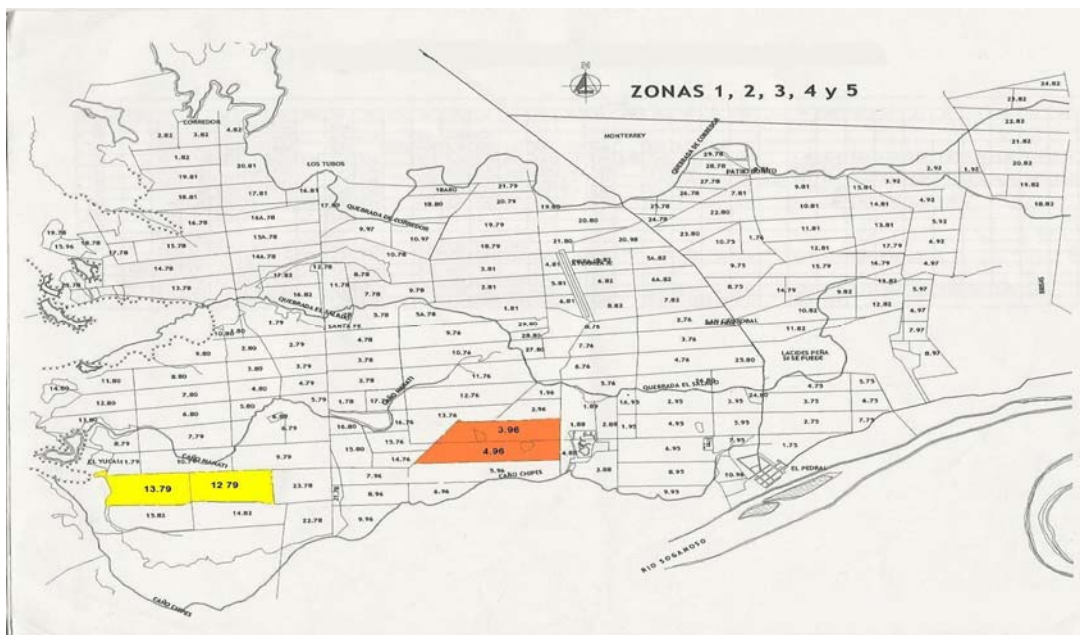
De la misma forma que para la evaluación del efecto de los tratamientos sobre *I. neivai* en campo, se utilizó un diseño en bloques al azar con cinco repeticiones. Se seleccionaron inflorescencias en antésis que mostraron la presencia del polinizador y se asperjaron con los tratamientos. Posteriormente se embolsaron con mallas de tul y al cabo de 14 días fueron cortadas y llevadas al laboratorio para el registro del número de adultos de *E. kamerunicus* vivos y muertos. Por medio de un succionador se separaron los individuos vivos de los muertos en cada uno de los tratamientos y se llevaron a frascos individuales debidamente rotulados para su posterior conteo. Estos frascos fueron pesados previamente para luego poder establecer el verdadero peso de los individuos almacenados en cada uno de ellos y a partir de este peso se extrapó el número de individuos por frasco.

Para la comparación de los porcentajes de mortalidad se utilizaron las técnicas de contrastes ortogonales utilizadas para la evaluación de los tratamientos sobre *I. neivai*.

2.5. EVALUAR EL POTENCIAL DE EXTRACCIÓN DE ACEITE EN RACIMOS AFECTADOS POR DIVERSOS TIPOS DE DAÑO DE *I. neivai* SEGÚN LA ESCALA ESTABLECIDA.

2.5.1 Selección del área de muestreo. Tanto para el análisis de fruto como de racimo se seleccionaron 4 lotes pertenecientes a la plantación Palmas Oleaginosas BUCARELIA. Se tuvieron en cuenta como criterios de selección, dos variedades Deli x La Me y Deli x Avros y además dos Siembras 1979 y 1996, cada una de estas ejemplificada con sus respectivos lotes, 12 y 13 para la primera siembra y 3 y 4 para la segunda (Figura 8).

Figura 8. Localización de lotes dentro de la plantación. (Siembras 79 _amarillo, Siembras 96_naranja).



Fuente: Autor.

2.5.2 Análisis de Fruto. Se escogieron 20 frutos para cada una de las categorías de daño que se presentan en la (Figura 9), para las Variedades Deli x La Me y Deli x Avros en las Siembras 1979 (lotes 12 y 13) y 1996 (lotes 3 y 4). Se separaron en

cinco repeticiones en grupos de cuatro frutos que se asignaron como una muestra. Todos los frutos fueron cortados en tajadas finas longitudinales que aseguraron un secado uniforme evitando la quema de las muestras. Se colocó una muestra por cápsula (es decir, cuatro frutos tajados por cápsula) y su peso se registró antes de ingresarlo al horno microondas. Las muestras se colocaron durante 18 minutos a una potencia de 5, y se obtuvo el porcentaje de humedad por diferencia de pesos.

Figura 9. Categorías de calificación de daño dependiendo del área afectada.



Fuente: Edgar Barrera.

2.5.3 Análisis de Aceite (Técnica SOXHLET). Para la estimación (extracción) del contenido de aceite se utilizaron las muestras del horno microondas de la metodología anterior y se les aplicó la Técnica SOXHLET. Con base en estos resultados se llevó a cabo un análisis de regresión de la escala de daño evaluada contra el porcentaje de aceite en mesocarpio seco.

2.5.4 Análisis de Racimo. Para evaluar la escala de daño por variedad y siembra, se tomaron cinco racimos maduros en las variedades y siembras seleccionadas: **Deli x La Me** (Siembra 1979 y 1996) y **Deli x Avros** (Siembra 1979 y 1996) cada uno de los cuales representaba una de las categorías de daño, propuestas por Cenipalma, (Figura10). Se despigaron y separaron la totalidad de los frutos externos, para la clasificación en las diferentes escalas de daño.

Con las ecuaciones de regresión de pérdida de aceite del paso anterior se procedió a estimar la pérdida total y real de aceite teniendo en cuenta que el 50% del aceite total proviene de los frutos externos y el restante 50% de los frutos medios e internos.

Figura 10. Escala de Calificación de racimos para el daño por *Imatidium neivai*.



Daño 1



Daño 2



Daño 3



Daño 4



Daño 5

Fuente: Cenipalma.

2.6 ANÁLISIS DE DATOS

Para el análisis de la información se realizó preliminarmente una exploración de los datos con estadística descriptiva.

Las variables de porcentaje de mortalidad en campo y laboratorio fueron transformadas por medio de la función $y = \sqrt{x+0.5}$.

Para los valores obtenidos de mortalidad de *Elaidobius kamerunicus* no fue necesaria dicha transformación pues los residuales del modelo cumplieron con los supuestos de distribución normal e independiente.

Para la evaluación de datos de laboratorio y campo para *I. neivai* y los datos de campo de *E. kamerunicus*, se utilizó análisis de varianza y técnicas de contrastes ortogonales para establecer diferencias significativas entre las mortalidades de las cepas y los controles.

Para el efecto del daño sobre el potencial de extracción de aceite se estimaron las líneas de regresión entre la escala de daño ocasionado por *I. neivai* y su correspondiente pérdida de aceite. A partir de las ecuaciones estimadas se calculó el total de aceite por categoría de daño, el total de aceite sin daño, las pérdidas de aceite de los frutos externos y las pérdidas de aceite totales del racimo.

3. RESULTADOS

3.1 EVALUACIÓN EN LABORATORIO

Las poblaciones de insectos adultos de *I. neivai* permanecieron constantes en los controles o testigos. Hubo un efecto significativo de los tratamientos con hongos T1 y T2 ($F_{1, 8} = 17.7$, $P < 0.05$) con mortalidades de 22,66% y 60% respectivamente, comparado con el 1.33% y 0% para T3 y T4 (testigos) donde no se presentaron diferencias estadísticamente significativas, como se muestra en la Tabla 2.

A los 8 días después de las aplicaciones fue donde se presentaron los valores más altos de mortalidad; las poblaciones de *I. neivai* disminuyeron significativamente en los tratamientos T1 y T2 (Tabla 3).

Tabla 2. Análisis de varianza y contrastes ortogonales. Comparación de tratamientos para *I. neivai*.

Mortalidad Adultos		
Variable	d.f	F (P>F)
T1 - T2	1	17.7(0.0007)
T3 - T4	1	0(1NS)
T1 – T2 vs T3-T4	2	41.09 (<0.00001)

* Significativo con $P=0.05$
NS No significativo.

Fuente: Autor.

Tabla 3. Impacto de *B. bassiana* en las poblaciones de *I. neivai*.

Tratamientos	Numero promedio de Adultos de <i>I. neivai</i> . Media (\pm SD)				
	Días después de la aplicación				
	4	8	12	16	20
T1	1,4 (1,497)	2.6 (2.2)	2.2 (1.7)	0.4 (0.5)	0.2 (0.4)
T2	1.2 (0.98)	11 (4.7)	4.4 (1.5)	1 (0.9)	0.4 (0.5)

Fuente: Autor.

Además, los montajes de las cámaras húmedas de los insectos muertos en cada uno de los días de las evaluaciones mostraron que la mayoría de estos esporularon, corroborando el efecto y la actividad de infección de las cepas utilizadas, como se muestra en la figura 11.

Figura 11. Diferentes etapas de Esporulación de *I. neivai* en cámaras húmedas en laboratorio.



Fuente: Autor.

3.2 EVALUACIÓN EN CAMPO

Con las poblaciones de *I. neivai* en campo no se obtuvieron diferencias significativas con ninguno de los tratamientos ($F_{3, 16} = 0.76$, $P > 0.05$). El mayor porcentaje de mortalidad de insectos ocurrió en T2 con 7%.

Sin embargo, en los tratamientos donde se aplicó T1 y T2 parte de la mortalidad presentada fue atribuible a *B. bassiana*, ya que algunos de los individuos muertos presentaron esporulación en campo (dentro de espigas). El resto de los individuos evaluados por su avanzado estado de descomposición no fue posible trasladarlos a cámaras húmedas para comprobar su esporulación.

3.3 EFECTO SOBRE LAS POBLACIONES DE *E. kamerunicus*

El polinizador fue probado en campo. Se encontraron diferencias significativas entre los testigos y los tratamientos con *B. bassiana* ($F_{3,16} = 8.48$, $P < 0.05$).

Por otra parte, no hubo efectos significativos en los tratamientos con hongos T1 y T2 ($F_{1, 8} = 2.32$, $P > 0.05$) con mortalidades entre el 40% y 60%, y los testigos T3 y T4 ($F_{1, 8} = 4.13$, $P > 0.05$) cuyos valores de mortalidad oscilaron entre el 60% y 80%, como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Análisis de varianza y contrastes ortogonales. Comparación de tratamientos para *E. kamerunicus*.

Mortalidad <i>E. kamerunicus</i>		
Variable	d.f	F (P>F)
T1 - T2	1	2.32 (0.1470 NS)
T3 - T4	1	4.13 (0.0591 NS)
T1 - T2 vs T3-T4	1	8.48 (0.0102)

* Significativo con $P=0.05$
NS No significativo.

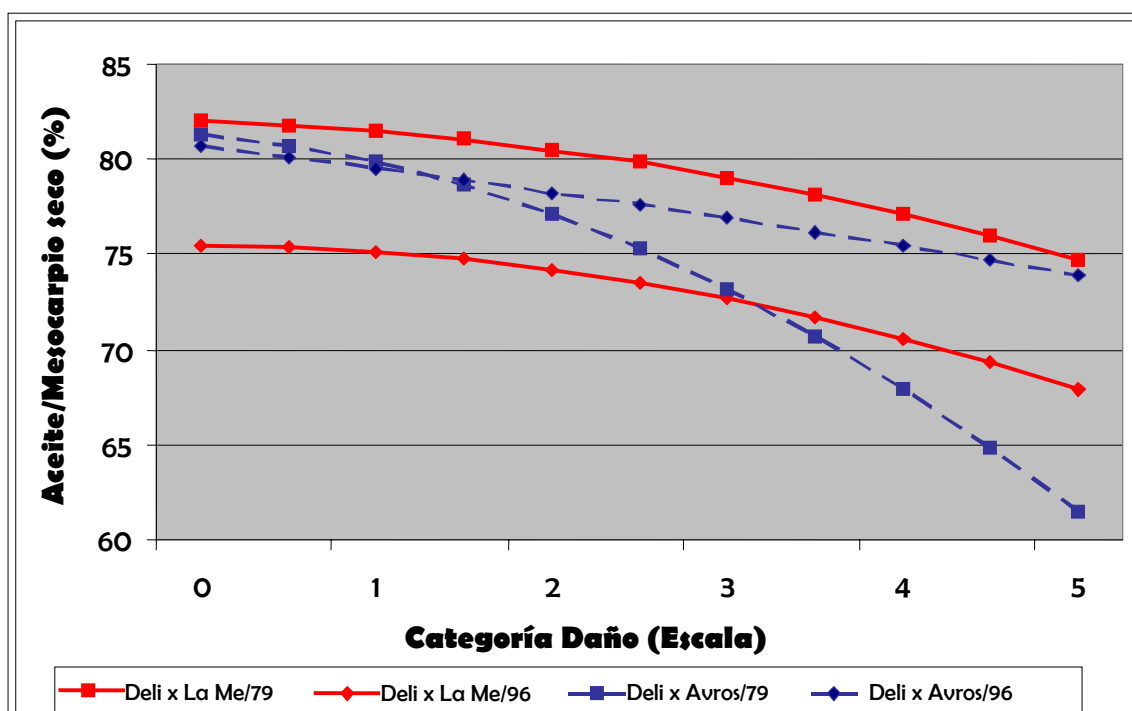
Fuente: Autor.

Aunque hubo diferencias entre los testigos y los entomopatógenos, estas se atribuyen a factores diferentes al uso de estos ya que los contrastes ortogonales demuestran que la mortalidad reportada para los testigos T3 y T4 es estadísticamente igual a T1 y T2, según se observa en la Tabla 4.

3.4 EFECTO DEL DAÑO SOBRE EL POTENCIAL DE EXTRACCIÓN DE ACEITE.

Como primera evaluación se estimaron las líneas de regresión entre la escala de daño ocasionado por *I. neivai* y su correspondiente pérdida de aceite, como se muestra en la Figura 12, tabla 5.

Figura 12. Relación entre el daño en fruto y la pérdida de aceite por Variedad y Siembra.



Fuente: Autor.

Tabla 5. Ecuaciones de regresión de la pérdida de aceite por incrementos en el daño de frutos individuales para Deli x La Me y Deli x Avros siembras 1979 y 1996.

Variedad	Siembra	Ecuación	R ² (%)
Deli x La Me	79	$pf = 81 \cdot 97 - \left(0 \cdot 27 * Cat\right) - \left(0 \cdot 24 * Cat^2\right)$	76.96
	96	$pf = 75 \cdot 50 - \left(0 \cdot 07 * Cat\right) - \left(0 \cdot 29 * Cat^2\right)$	83.08
Deli x Avros	79	$pf = 81 \cdot 34 + \left(0 \cdot 87 * Cat\right) - \left(0 \cdot 62 * Cat^2\right)$	83.41
	96	$pf = 80 \cdot 73 - \left(1 \cdot 16 * Cat\right) + \left(0 \cdot 04 * Cat^2\right)$	76.69

Fuente: Autor.

A partir de estos resultados se crearon las tablas 6 a 9, donde se muestran los resultados de los análisis de racimo hechos a cada una de las siembras y variedades para cada escala de daño de racimo. En cada tabla se presenta el número de frutos que pertenecen a las categorías de daño mostrados en la Figura 9 y su producción potencial de aceite asumiendo que no es afectada por el raspador *I. neivai*.

En la columna siguiente, el peso de los frutos sanos es transformado por las ecuaciones estimadas en el paso anterior, y donde por cada aumento en una unidad de la escala de daño se pierde una cantidad determinada de aceite. Además, del cálculo hecho para todos los frutos despigados para cada nivel de daño se obtiene el total general, tanto de producción potencial como de producción real, luego de aplicada la transformación de la línea de regresión. Seguidamente este valor, interpretado como el total de los frutos externos se asume como la mitad de la producción del racimo (50%) y en consecuencia se divide por dos para saber cual será la pérdida total del racimo.

De este análisis se observa que como mínimo en los 20 racimos evaluados se obtiene una pérdida potencial de aceite de 0.79% Aceite/Mesocarpio seco en el racimo calificado con el valor de 1 en la variedad Deli x La Me, y un valor máximo de 7%, en el racimo calificado 5 en la variedad Deli x Avros. Los valores de pérdida total por racimo se muestran en las Figuras 13 y 14.

Tabla 6. Relación entre el nivel de daño de los racimos y la pérdida de aceite para la variedad Deli x La Me Siembra 1979.

NIVEL DE DAÑO		No. Frutos	TOTAL ACEITE POR CATEGORÍA DE DAÑO (g)	TOTAL ACEITE SIN DAÑO (g)	PÉRDIDA ACEITE FRUTOS EXTERNOS	PÉRDIDA ACEITE TOTAL RACIMO
RACIMO	FRUTO					
	0	50	204	204	1.56%	0.79%
	1	60	243	245		
	2	25	100	102		
	3	17	67	69		
	4	10	38	41		
	5	6	22	24		
	TOTAL	168	674	685		
	0	18	73	73	2.80%	1.42%
	1	54	219	220		
	2	58	232	236		
	3	42	165	171		
	4	33	126	135		
	5	11	41	45		
	TOTAL	216	856	880		
	0	10	41	41	3.18%	1.61%
	1	45	182	183		
	2	36	144	147		
	3	40	157	163		
	4	20	77	82		
	5	18	67	73		
	TOTAL	169	668	689		
	0	3	12	12	5.49%	2.82%
	1	30	122	122		
	2	32	128	130		
	3	50	196	204		
	4	58	222	236		
	5	78	289	318		
	TOTAL	251	970	1023		
	0	0	0	0	8.05%	4.19%
	1	0	0	0		
	2	16	64	65		
	3	20	79	82		
	4	57	218	232		
	5	164	609	668		
	TOTAL	257	970	1048		
PROMEDIO GENERAL					4.22%	2.17%

Fuente: Autor.

Tabla 7. Relación entre el nivel de daño de los racimos y la pérdida de aceite para la variedad Deli x La Me siembra 1996.

NIVEL DE DAÑO		No. Frutos	TOTAL ACEITE POR CATEGORÍA DE DAÑO (g)	TOTAL ACEITE SIN DAÑO (g)	PÉRDIDA ACEITE FRUTOS EXTERNOS	PÉRDIDA ACEITE TOTAL RACIMO
RACIMO	FRUTO					
	0	34	133	133	2%	1%
	1	74	287	289		
	2	40	153	156		
	3	27	101	105		
	4	28	102	109		
	5	4	14	16		
	TOTAL	207	791	808		
	0	0	0	0	3%	2%
	1	28	109	109		
	2	90	345	351		
	3	70	263	273		
	4	24	88	94		
	5	14	49	55		
	TOTAL	226	854	882		
	0	2	8	8	4%	2%
	1	28	109	109		
	2	54	207	211		
	3	108	406	421		
	4	33	120	129		
	5	12	42	47		
	TOTAL	237	892	925		
	0	2	8	8	6%	3%
	1	4	16	16		
	2	10	38	39		
	3	60	225	234		
	4	70	255	273		
	5	48	168	187		
		194	711	757		
	0	0	0	0	9%	4%
	1	0	0	0		
	2	5	19	20		
	3	20	75	78		
	4	100	365	390		
	5	112	393	437		
	TOTAL	237	852	925		
PROMEDIO GENERAL					5%	2%

Fuente: Autor.

Tabla 8. Relación entre el nivel de daño de los racimos y la pérdida de aceite para la variedad Deli x Avros Siembra 1996.

NIVEL DE DAÑO		No. Frutos	TOTAL ACEITE POR CATEGORÍA DE DAÑO (g)	TOTAL ACEITE SIN DAÑO (g)	PÉRDIDA ACEITE FRUTOS EXTERNOS	PÉRDIDA ACEITE TOTAL RACIMO
RACIMO	FRUTO					
	0	37	318	318	2%	1%
	1	72	611	619		
	2	67	561	576		
	3	40	331	344		
	4	6	49	52		
	5	0	0	0		
	TOTAL	222	1870	1910		
	0	0	0	0	4%	2%
	1	15	127	129		
	2	56	469	482		
	3	83	687	714		
	4	17	139	146		
	5	2	16	17		
	TOTAL	173	1438	1488		
	0	0	0	0	3%	2%
	1	34	288	293		
	2	69	578	594		
	3	112	926	964		
	4	22	180	189		
	5	1	8	9		
	TOTAL	238	1981	2048		
	0	0	0	0	4%	2%
	1	22	187	189		
	2	42	352	361		
	3	71	587	611		
	4	33	270	284		
	5	8	65	69		
	TOTAL	176	1460	1514		
	0	0	0	0	6%	3%
	1	0	0	0		
	2	3	25	26		
	3	12	99	103		
	4	43	352	370		
	5	100	809	860		
	TOTAL	158	1285	1359		
PROMEDIO GENERAL					4%	2%

Fuente: Autor.

Tabla 9. Relación entre el nivel de daño de los racimos y la pérdida de aceite para la variedad Deli x Avros Siembra 1979.

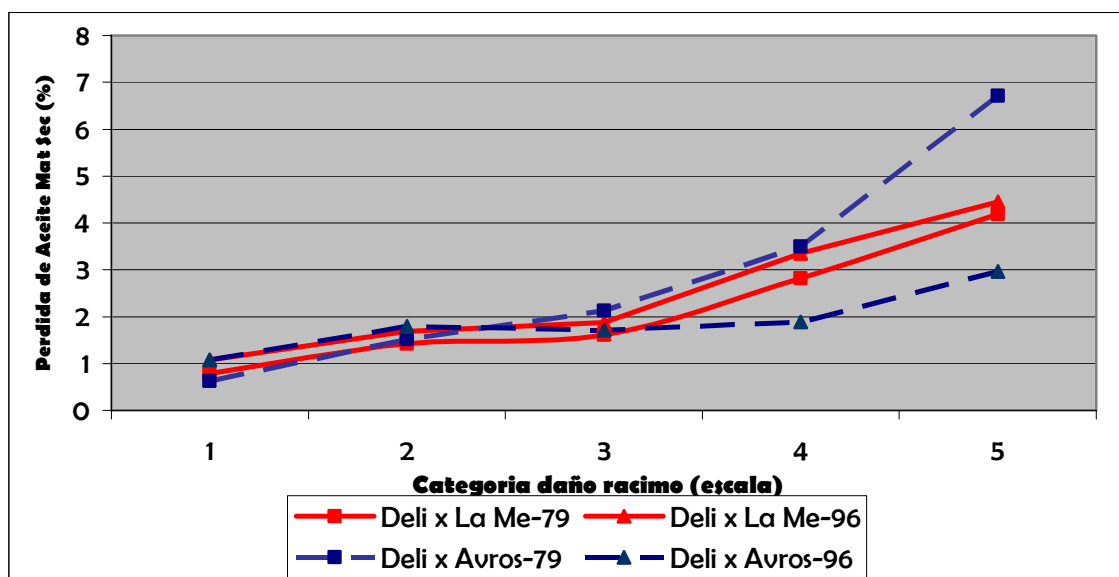
NIVEL DE DAÑO		No. Frutos	TOTAL ACEITE POR CATEGORÍA DE DAÑO (g)	TOTAL ACEITE SIN DAÑO (g)	PÉRDIDA ACEITE FRUTOS EXTERNOS	PÉRDIDA ACEITE TOTAL RACIMO
RACIMO	FRUTO					
	0	100	738	738	1%	1%
	1	38	281	281		
	2	20	146	148		
	3	18	128	133		
	4	10	68	74		
	5	6	38	44		
	TOTAL	192	1400	1417		
	0	5	37	37	3%	2%
	1	33	244	244		
	2	28	205	207		
	3	25	178	185		
	4	18	122	133		
	5	6	38	44		
	TOTAL	115	824	849		
	0	31	229	229	4%	2%
	1	40	296	295		
	2	34	249	251		
	3	43	306	317		
	4	32	218	236		
	5	30	191	221		
	TOTAL	210	1488	1550		
	0	0	0	0	7%	3%
	1	16	118	118		
	2	22	161	162		
	3	38	270	281		
	4	29	197	214		
	5	38	242	281		
	TOTAL	143	989	1056		
	0	0	0	0	13%	7%
	1	0	0	0		
	2	5	37	37		
	3	10	71	74		
	4	74	503	546		
	5	145	924	1070		
	TOTAL	234	1534	1727		
PROMEDIO GENERAL					6%	3%

Fuente: Autor.

Para las dos variedades y para las dos siembras, se muestra que el nivel de daño del racimo esta directamente relacionado con la pérdida de aceite en los frutos externos y subsecuentemente con la pérdida de aceite total del racimo.

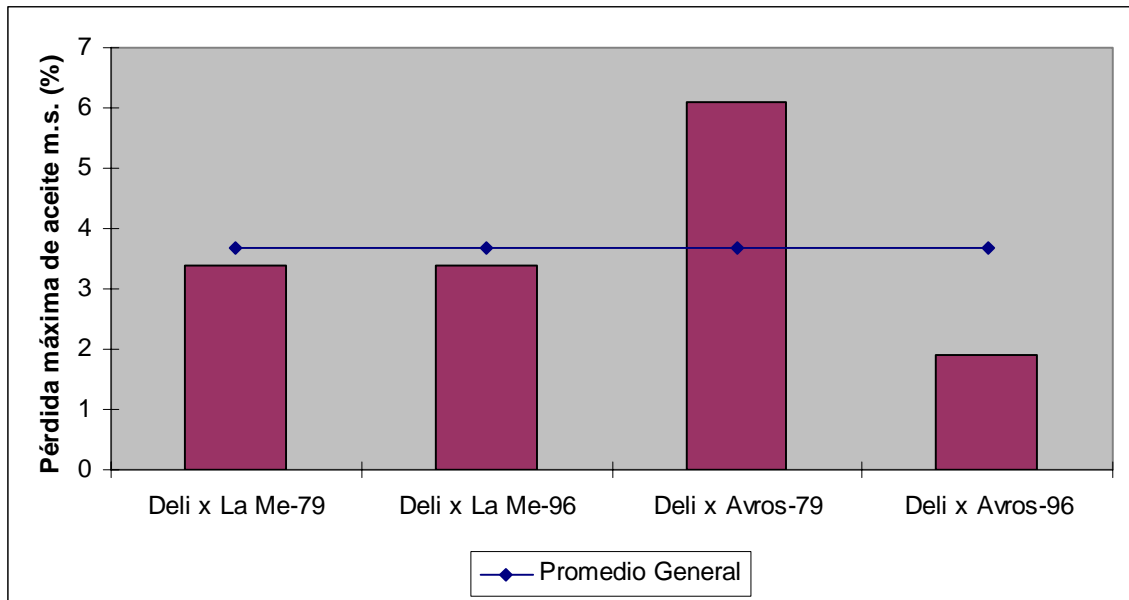
Esto se observo claramente y en mayor medida en la Variedad Deli x Avros Siembra 1979 donde se alcanza un 7% en la pérdida de aceite total del racimo en la máxima categoría de daño o Categoría 5 (Figura 13, Tabla 9).

Figura 13. Categoría de daño de racimo vs Pérdida Total de Aceite.



Fuente: Autor.

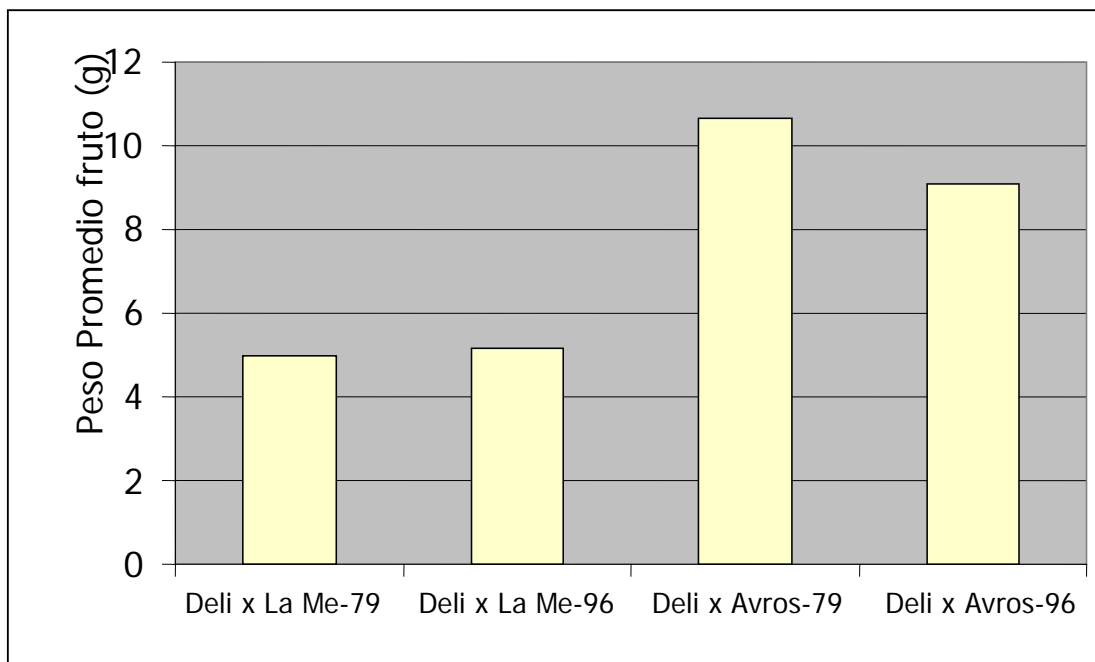
Figura 14. Promedio general de pérdida máxima de aceite por Variedad y Siembra.



Fuente: Autor.

La variedad Deli x Avros siembra 1996 y la variedad Deli x La Me siembras 1979 y 1996, se encuentran por debajo de la línea promedio general establecida para pérdidas máximas de aceite en las variedades y siembras, siendo la máxima pérdida observada en Deli x Avros 1979 oscilando entre 6 y 7% estando por encima de la línea promedio general de pérdidas como se observa en la Figura 14.

Figura 15. Peso promedio de fruto para las variedades Deli x La Me y Deli x Avros en sus respectivos años de siembra, 1979 y 1996.



Fuente: Autor.

En la figura 15, se observan los pesos promedios de los frutos para ambas variedades y siembras. Sobresale notoriamente la Variedad Deli x Avros en su Siembra 1979 con el mayor peso promedio de frutos seguida por la misma variedad en la siembra 1996. Los menores pesos promedios de fruto se observaron en la Variedad Deli x La Me en sus dos siembras.

DISCUSIÓN

EVALUACIÓN EN LABORATORIO Y CAMPO

Los resultados de este estudio mostraron que *B. bassiana* presenta un buen potencial para ser usado como agente de control biológico contra *I. neivai*.

En el laboratorio, el aislamiento B024 presento una actividad reducida comparado con las evaluaciones hechas para este mismo aislamiento por Valencia *et al* 2005. Los porcentajes de mortalidad obtenidos para ambos aislamientos demuestran que, el aislamiento B025 fue mas efectivo con 60%; Ibarra- Aparicio *et al* 2005, y Todorova *et al* 2002 encontraron resultados similares a este para Hemípteros oscilando entre el 40 y el 77%, porcentajes superiores al 92% para el control de coleópteros fueron reportados por Kreutz *et al* 2004 y Chikwenhere y Vestergaard 2001 para las familias *Scolytidae* y *Curculionidae* respectivamente.

El ambiente controlado de Temperatura y Humedad que brindo el laboratorio permitió una mejor actividad de los hongos sobre los insectos como lo planteo Tanada y Kaya 1993. Además las condiciones reducidas, cerradas y aisladas de cada una de las unidades experimentales (frascos) aportaron una larga permanencia y duración del producto manteniéndolo alejado del variable cambio externo. Holder 2005 hallo diferencias en las propiedades de las células superficiales del hongo *B. bassiana* que conllevaban a cualidades de adhesión diferentes lo cual podría sugerir una posible explicación de porque las diferencias de actividad entre los dos diferentes aislamientos utilizados del hongo, ya que con esta importante cualidad, se podrían diseñar y tomar decisiones racionales para probar la eficiencia y la posibilidad de especificidad de los hongos en especies blanco. Las aplicaciones directas en el laboratorio; en este caso por inmersión de los insectos en la suspensión de conidias, fueron mas efectivas que las

aspersiones en campo, resultados similares reporto Alcalá de Marcano *et al* 1999 en su investigación sobre el gusano de la papa. El contacto directo y prolongado del hongo con el insecto (inmersiones), características y sensibilidad del insecto al producto y el tipo de aislamiento aplicado podrían generar esa especificidad necesaria para generar mayor efectividad y precisión de la actividad de los hongos.

En campo los porcentajes de mortalidad fueron bajos comparados con los del laboratorio, concordando en parte con lo encontrado por Noma y Strickler 1999 y Mc Guire 2006, los cuales reportaron en sus trabajos evaluaciones en campo con *B. bassiana* que causaron relativamente altos niveles de infección pero muy poca reducción de la población.

Factores ambientales externos como la temperatura y la humedad, son fundamentales en la esporulación y germinación de las esporas, limitando su crecimiento y desarrollo (Tanada y Kaya 1993); las conidias asperjadas están sujetas a estas variables climáticas, por ejemplo: altas temperaturas pueden afectar su germinación (Luz y Fargues 1997), crecimiento vegetativo (Ouedraogo *et al* 1997), tasa de infección (Xu *et al* 2002) y tiempo de muerte (Inglis *et al* 2001). La alta estabilidad ambiental de las conidias aéreas, usualmente producidas como ingredientes activos de varias formulaciones, es un prerrequisito para aumentar la persistencia en el campo y prolongar la vida útil al momento de desarrollar una formulación (Faria y Wright 2001; Pu *et al* 2005), por esta razón al lograr una producción de conidias aéreas mas tolerantes a cambios de temperatura (estrés) se amplificara la persistencia y la efectividad de *B. bassiana* en el campo contra insectos plaga como bien lo sugieren Ying y Feng 2004 y Rangel *et al* 2005, en especial por las altas temperaturas presentadas en las zonas palmeras de Colombia.

Según lo reportado por CENICAFE, Centro Nacional de Investigación en Café,

2000, experiencias en las aplicaciones realizadas en campo sugieren que el equipo de aspersión utilizado (bombas y volúmenes) y el tamaño de gota escogido para las aplicaciones juegan un papel importante en la aspersión y llegada del producto (sea químico o microbio) a su destino final.

Los bajos porcentajes de mortalidad podrían atribuirse, en este orden de ideas, a factores diferentes a las propiedades intrínsecas del hongo; pudiendo ocurrir que *B. bassiana* i) no logro penetrar al interior del racimo (bomba manual), donde habitualmente se localiza *I. neivai* (huevos, larvas, pupas y adultos) debido a la composición apretada de las espigas ii) Las aplicaciones no fueron suficientes para impregnar el racimo (tamaño de gota) y iii) Sus hábitos nocturnos (Aldana, *et al* 2003) hacen del interior del racimo un lugar optimo para su permanencia, crecimiento y proliferación.

B. bassiana es conocido por tener cerca de 200 especies hospederas (Li 1988). Goettel *et al* 1990, elaboro una lista de los insectos no objetivos que eran sensibles a *B. bassiana* incluyendo varias especies de Coleópteros.

Los resultados de esta investigación mostraron que el coleóptero curculionido polinizador de la palma no fue sensible a las dosis de los aislamientos de *B. bassiana* aplicados, Hicks *et al* 2001 y Traugott *et al* 2005, encontraron resultados similares para dos especies de carábidos no objetivos, de la plaga del pino *Panolis flammea* y de *Melolontha melolontha* respectivamente, donde tampoco se presento riesgo sobre estas especies. Esto ha sugerido que la virulencia de *B. bassiana* varia con los aislamientos y que estos aislamientos son mas sensibles a su hospedero original y no ha insectos distantemente relacionados (Xu, 1988), este pudo ser el caso aquí ya que no hubo diferencias significativas ni entre testigos ni entre tratamientos.

Los testigos T3 y T4 presentaron las mortalidades más altas, los insectos tratados

con hongos sobrevivieron más que los insectos testigos o controles. *E. kamerunicus* es un insecto muy frágil y demasiado influenciado por sus condiciones ambientales (Kevan *et al* 1986, Syed *et al* 1982) por tanto, el solo hecho de permanecer encerrados en las mallas de tul o de ser asperjados por algún tipo de líquido les genera mortalidad.

En lo relacionado al potencial de extracción de aceite, se observa que al aumentar la categoría de daño se aumenta proporcionalmente la pérdida de aceite; lo cual repercute directamente en la producción de aceite de las empresas palmicultoras.

La variedad y siembra que presento mayor daño y mayor peso promedio de frutos fue Deli x Avros 1979. Esta variedad se caracteriza por presentar un tamaño de fruto grande y más carnoso, siendo sus racimos por lo tanto más grandes.

Estas altas pérdidas de aceite se pueden explicar en parte por lo mencionado anteriormente, el insecto adulto consume con mayor intensidad los frutos más externos del racimo (Aldana *et al* 2003) que además son los de mayor tamaño y por tanto mayor superficie para raspar, perjudicando máximamente a esta siembra.

Además al pertenecer a las siembras antiguas es posible que la plaga se encuentre establecida causando mayores daños en los racimos (Bernal *et al* 1999).

CONCLUSIONES

El aislamiento B025 de *B. bassiana* fue el aislamiento mas promisorio en laboratorio por presentar el mayor porcentaje de mortalidad de *I. neivai* con 60%.

El aislamiento B025 de *B. bassiana* fue el aislamiento que presento el mayor porcentaje de mortalidad en campo con 7%.

El hongo entomopatógeno *B. bassiana* no presento efectos significativos sobre el polinizador *E.kamerunicus*.

Por medio de los análisis realizados al potencial de extracción de aceite se comprueba que las perdidas existentes y reales generadas por *I. neivai* son altamente significativas para las plantaciones.

RECOMENDACIONES

- Evaluar ampliamente la patogenicidad de los diferentes aislamientos de *B. bassiana* en diversas condiciones, iniciando en laboratorio y con los aislamientos referenciados en el Centro de Investigación en Palma de Aceite, CENIPALMA con el fin de establecer los aislamientos mas promisorios-efectivos para el control de las poblaciones de *I. neivai*.
- Seleccionar la cepa o aislamiento más altamente virulento para llevarlo y aplicarlo posteriormente en el campo.
- Iniciar evaluaciones con otros tipos de Hongos entomopatógenos, tal es el caso de *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium* y *Paecilomyces* que podrían ser promisorios para el Manejo Integrado de la plaga, como se ha reportado en otros insectos plaga en otros cultivos.
- Realizar evaluaciones preliminares del Polinizador en laboratorio. Se hace indispensable conocer más acerca de la biología y el desarrollo de este insecto, ya que demostró su alta fragilidad en condiciones de campo.
- Rediseñar los ensayos en campo (mejorar y ampliar las metodologías) tanto para *I. neivai* como su polinizador *E. kamerunicus*, evaluando a profundidad factores ambientales de las plantaciones, lotes y racimos; e intrínsecos de los insectos.
- Mejorar los métodos de aplicación de los hongos en campo (aspersiones y equipos) realizando ensayos preliminares y constatando con evidencias experimentales y prácticas realizadas en otros tipos de cultivos, extrapolando

ese conocimiento a aplicaciones en palma.

- Revisar los tiempos de permanencia de los insectos, especialmente en las evaluaciones con el polinizador, en los experimentos en campo.
- Plantear el diseño y uso de trampas especiales para la captura de los insectos, en este caso se podría estudiar el uso de feromonas. El Método de autodiseminación podría ser efectivo para extender el patógeno. Las trampas se inocularan con *B. bassiana* y al momento en que los insectos ingresen a estas, se contaminaran. Posteriormente se liberaran con el objetivo de introducir el patógeno en la población plaga tal como lo propone Kreutz *et al* 2000 y Kreutz *et al* 2004.
- Iniciar el empleo de métodos sanos y efectivos para el tratamiento y manejo de las poblaciones de esta importante plaga del cultivo de la Palma de Aceite.

BIBLIOGRAFÍA

ALCALÁ DE MARCANO, D., Marcano, A., MORALES, M.,. 1999. Patogenicidad de *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* sobre adultos del picudo de la batata *Cylas formicarius elegantulus* Summers (Curculionidae). Rev. Fac. Agron. (LUZ). 1999, 16: 52-63

ALDANA, J.; CATAÑO, J.; CALVACHE, H. 2003. Avances en el conocimiento de la biología y del control de *Imatidium neivai* Bondar, raspador de los frutos de la Palma de Aceite. Ceniavances (Colombia) N° 107. P 1-4.

AL-MAZRA'AWI, M.; Shipp L.; BROADBENT B.; KEVAN. P. 2006. Biological control of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) and *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) by *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) vectored *Beauveria bassiana* in greenhouse sweet pepper. Biological Control 37 89–97

BELLOTTI, A. 2002. Arthropod Pests. En: Cassava Biology, production and utilization. illocks, R.;Thresh,J.; Bellotti, A. CABI Publishing. London. United Kingdom.

BERNAL, M., BUSTILLO, A., CHÁVEZ, B., BENAVIDES, P., 1999. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre poblaciones de *Hypothenemus hampei* (Coleóptera: Scolytidae) que emergen de frutos en el suelo. EN: Revista Sociedad Colombiana de Entomología. Vol 26. 11- 16.

BRUCK, D.J., LEWIS, L.C., 2002b. Rainfall and crop residue effects on soil dispersion and *Beauveria bassiana* spread to corn. Appl. Soil Ecol. 20, 183–190

BRUCK, D., Lewis, L., 2001. Adult *Diabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) Infection at Emergence with Indigenous *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal of Invertebrate Pathology* **77**, 288–289.

BUSTILLO, A. 2001. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. En: Seminario Uso de Entomopatógenos en Colombia. Sociedad Colombiana de Entomología. Bogota D.C. Pg. 30-53.

BUSTILLO, A.; Cárdenas, R.; Posada F. 2002. Natural Enemies and Competitors of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleóptera: Scolytidae) in Colombia. SCIENTIFIC NOTE. *Neotropical Entomology* **31(4):635-639**.

BUTT, T.M., Jackson, C.W. and Magan, N. (2001) *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential*. Oxon: CABI Publishing.

CALVACHE, H. Entomopatógenos en el control de plagas de la palma de aceite. En: Seminario Uso de Entomopatógenos en Colombia. Sociedad Colombiana de Entomología. Bogota D.C. Pg. 54-56.

CARRUTHERS, R. I.; Soper, R. S., 1987: Fungal diseases, In: *Epizootiology of Insect Diseases*, Ed. by Fuxa, J. R.; Tanada, Y., NewYork: Wiley.

Centro de Investigación en Palma de Aceite- Cenipalma. 1992. *Control Microbiano de Insectos*. Editorial Kimpres Ltda. Santa fe de Bogota.

CHEN, Hong., CHEN Zhongmei., ZHOU Yongshu, 2005. Rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae) in mainland China: Invasion, spread and control. *Crop Protection*. **24**, 695–702.

CHIKWENHERE G., VESTERGAARD S. 2001. Potential Effects of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin on *Neochetina bruchi* Hustache (Coleoptera: Curculionidae), a Biological Control Agent of Water Hyacinth. Biol. Control. 21, 105-110.

COTES, A. 2001. Estado del desarrollo de los plaguicidas microbianos en Colombia en relación con la situación Internacional. En: Seminario Uso de entomopatógenos en Colombia. Sociedad Colombiana de Entomología. U.N. de Colombia. Bogota D.C. Octubre 12.

DOWD, P.F., Vega, F.E., 2003. Autodissemination of *Beauveria bassiana* by sap beetles (Coleoptera: Nitidulidae) to overwintering sites. Biocontrol Sci. Technol. 13, 65–75.

DUQUE, H., CHAVES, B., 2000. Estudio sobre adopción del manejo integrado de la Broca del Café. Cenicafé Centro Nacional de Investigación de Café. Federación Nacional de Cafeteros. Trabajo realizado convenio Federación – DFID-CABI Bioscience.

ESPINEL, R. 1975. Rentabilidad de la investigación entomológica asimilada a ejemplos en los cultivos de climas calidos. EN: Sociedad Colombiana de Entomología, 3º. Medellín, Junio 25-27. SOCOLEN Bogota D.C.

FARGUES, J. 1976. Specificite des champignons entomopathogenes imparfaits (Hyphomycetes) pour les larves de coleopteres (Sacarabaeidae et Chrysomelidae). Entomophaga. (21): 313- 323.

FARIA, M., WRAIGHT, S.P., 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. Crop Protect. 20, 767-778.

Fedepalma. Anuario Estadístico, 2002. La agroindustria de la palma de aceite en Colombia y el mundo 1997 – 2001.

FERRON, P. 1978. Biological control of insect pest by entomopathogenous fungi. En: Annual review of Entomology .(United States). (23): 409-442.

FORGASH, A. J., 1985: Insecticide resistance in the Colorado potato beetle. In: Proceedings of the Symposium on the Colorado Potato Beetle, 18th International Congress of Entomology. Ed. by Ferro, D. N.; St. Voss, R. H. Massachusetts Agricultural Experimental Station (Amherst) Research Bulletin No. 704. MA, USA, 33–52.

GENTY, Ph.; R de CHENON, D; Morin, J., 1978. Las Plagas de la Palma de Aceite en América Latina. Oleagineux 33 (7): 326 – 420.

GOETTEL, M., POPRASKI, T., VANDENBERG, J., Li, Z., Roberts, D., 1990. Safety to non target invertebrates of fungal biocontrol agents. In: Laird, M., Lacey, L., Davidson, E. Safety Of Microbial Insecticides. CRC Press. Boca Raton, pp. 209-231.

GOETTEL, M.S., HAJEK, A.E., SIEGEL, J.P. and EVANS, H.C. 2001. Safety of fungal biocontrol agents. In Fungi as Biocontrol Agents Progress, Problems and Potential ed. Butt, T.M., Jackson, C.W. and Magan, N. pp. 347–376. Oxon: CABI Publishing.

GONZÁLEZ, J., LÓPEZ-ÁVILA A., 1995. Evaluación de cepas nativas de *Verticillium lecanii* (Zimm.)Viegas en el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum*. EN: Revista Colombiana de Entomología. 25-30.

GUILLESPIE, A. 1988. Use of fungi to control pest of agricultural importance. In: Burge, M. (Ed) Fungi in biological control systems. Manchester University Press, Manchester, England. 269 p.

HADEN, D., 2005. Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria* (Cordyceps) *bassiana* to substrata. Applied and environmental microbiology. 71. 9, 5260 -5266.

HAJEK, A.E. and St Leger, R.J. (1994) Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Annual Review of Entomology 39, 293–322.

HICKS, B., WATT, A., COSENS D. 2001. The potential of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) as a biological control agent against the pine beauty moth, *Panolis flamea* (Lepidoptera: Noctuidae). Forest ecology and managements. 149, 275 -281.

HOLDER, D., 2005. Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria* (Cordyceps) *bassiana* to Substrata. Applied and environmental microbiology. 71, 9., 5260 – 5266.

HUMBER, R. 1996. Fungal pathogens of the Chrysomelidae and prospects for their use in biological control. In: Biology of Chrysomelidae (P. H. Jolivet, M. L. Cox and T. H. Hsiao, eds.), Vol. 4: in press. SPB Academic Publishing bv, Amsterdam.

IBARRA-APARICIO, G., MOYA-RAYGOZA, G., BERLANGA-PADILLA, A., 2005. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*) (DeLong y Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae). *Folia Entomol. Mex.*, 44(1): 1-6.

INGLIS, G., GOETTEL, M., Butt, T., STRASSER, H., 2001. Use of Hyphomycetous fungi for managing of insects pest. In: Butt, T., Jackson, C., Magan, N. (Eds.), Fungi as Biocontrol Agents progress, Problems and Potential. CABI publishing, Wallingford, UK, pp.23-70.

KEVAN, P., HUSSEIN, M., HUSSEY, N., WAHID, M., 1986. Modelling the use of *Elaeidobius kamerunicus* for pollination of Oil Palm. Planter Kuala Lumpur, 62, 89-99.

KREUTZ, J.; ZIMMERMANN, G.; MAROHN, H.; VAUPEL, O.; MOSBACHER, G., 2000: Preliminary investigations on the use of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and other control methods against the bark beetle, *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae) in the field. IOBC/WPRS-Bulletin 23, 167–173.

KREUTZ J., VAUPEL O., ZIMMERMANN G. 2004. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the spruce bark beetle, *Ips typographus* , in the laboratory under various conditions. J. Appl. Ent 128(6).

LELAND, J.E., McGUIRE, M.R., Effects of different *Beauveria bassiana* isolates on field populations of *Lygus lineolaris* in Pigweed (*Amaranthus spp*), Biological Control (2006), doi: 10.1016/j.biocontrol.2006.08.005.

LI, Z., 1988. A list of insect hosts of *Beauveria bassiana*. Study and application of entomogenous fungi in China. Vol 1. Academic Periodical Press. Beijing, 241-255.

LUZ, C., FARGUES, J. (1997). Temperature and moisture requirements for conidial germination of an isolate of *Beauveria bassiana*, pathogenic to *Rhodnius prolixus*. Mycopathologia. 138, 117–125.

MEADOW, R., VANDENBERG, J.D., SHELTON, A.M., 2000. Exchange of inoculum of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hyphomycetes) between adult flies of the cabbage maggot *Delia radicum* L. (Diptera: Anthomyiidae). *Biocontrol Sci. Technol.* 10, 479–485.

MEYLING, N.V., EILENBERG, J., 2006. Isolation and characterisation of *Beauveria bassiana* isolates from phylloplanes of hedgerow vegetation. *Mycol. Res.* 110, 188–195.

MEYLING, N.V., PELL J. K., EILENBERG, J., 2006. Dispersal of *Beauveria bassiana* by the activity of nettle insects. *Journal of Invertebrated pathology*. Article in Press.

MCGUIRE, M., LELAND, J., DARA, S., PARK, Y., ULLOA, M., 2006. Effect of different isolates of *Beauveria bassiana* on field populations of *Lygus hesperus*. *Biol. Control* 38 , 390–396.

NOMA,T., STRICKLER, K., 1999. Factors affecting *Beauveria bassiana* for control of *Lygus* bug (Hemiptera: Miridae) in alfalfa seed fields. *J. Agric. Urban. Entomol.* 16, 215-233.

OUEDRAOGO, A., FARGUES, J., GOETTEL, M.S. and LOMER, C.J. (1997) Effect of temperature on vegetative growth among isolates of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride*. *Mycopathologia* 137, 37–43.

PEÑA, V., BOLAÑOS, M., YÉPES B., MENA J., INSUASTY J. 2000. Hongos entomopatógenos para el manejo del gusano blanco (*Premnotrypes vorax*) de la papa . Corpoica.

PELCZAR, M., REID, R., CHAN, E., 1997. Microbiología. Cuarta Edición. Mexico: Mc Graw Hill. 826 pag.

PU, X.Y., FENG, M.G. and SHI, C.H. (2005) Impact of three application methods on the field efficacy of a *Beauveria bassiana*-based mycoinsecticide against the false-eye leafhopper, *Empoasca vitis* (Homoptera: Cicadellidae) in Tea canopy. Crop Prot 24, 167–175.

QUESADA-MORAGA E. , MARANHAO E., VALVERDE-GARCIA P., Santiago-Alvarez C. 2006. 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. Biol. Control 36, 274–287.

RANGEL, D.E.N., BRAGA, G.U.L., ANDERSON, A.J. and ROBERTS, D.W. (2005) Variability in conidial thermotolerance of *Metarhizium anisopliae* isolates from different geographic origins. J Invert Pathol 88, 116–125.

ROUSH, R. T.; HOY, C. W.; FERRO, D. N.; TINGEY, W. M., 1990: Insecticide resistance in the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): Influence of crop rotation and insecticide use. J. Econ. Entomol. 83, 315–319.

SÁENZ, A. 2001. Los nematodos entomopatógenos: Generalidades e implementación en el manejo integrado de plagas. En: Seminario Uso de Entomopatógenos en Colombia. Sociedad Colombiana de Entomología. Bogota D.C. Pg. 16-24.

SAMSON, R., Evans, H., Latge, J. 1988. Atlas of Entomopathogenic Fungi. Springer– Verlag, Berlin. 300 p.

SAMUELS, R., Pereira R. Gava C. 2002. Infection of the Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) by Brazilian Isolates of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) .*Biocontrol Science and Technology*. 12, 631± 635.

SÁNCHEZ, D., BELLOTI, A., 1997. Evaluación de la patogenicidad de Hongos Hyphomycetes sobre la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis*. Informe Final convenio corporativo CIAT- COLCIENCIAS. CIAT Palmira. Colombia. 21 pag.

SHI, W.B. and FENG, M.G., 2004. Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. *Biol Control* 30, 165–173.

SHIMAZU, M., SATO, H., MAEHARA, N., 2002. Density of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in forest air and soil. *Appl. Entomol. Zool.* 37, 19–26.

SYED, R., LAW, I., CORLEY, R., 1982. Insect pollination of oil palm: Introduction, establishment and pollinating efficiency of *Elaeidobius kamerunicus* in Malaysia. *Planter Kuala Lumpur*. 58, 547-561.

TANADA, Y.; KAYA, H. 1993. *Insect Pathology*. Academy Press. San Diego, California. (USA)

TANZINI, M., 2002. Controle do percevejo de renda da Seringueira (*Leptopharsa heveae*) com fungos entomopatogenicos. Tesis de Doctorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, PIRACICABA, Estado de Sao Paulo. Brasil.

TODOROVA, S., CLOUTIER, C., COTE, J, CODERRE, D., 2002. Pathogenicity of six isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuilleim (Deuteromycotina, Hyphomycetes) to *Perillus bioculatus* (F) (Hem., Pentatomidae). J. Appl. Ent. 126, 182-185.

TORRES, L., COTES, A., 1999. Actividad biocontroladora de hongos entomopatogenos contra *Premnotrypes vorax* (Coleoptera: Curculionidae) mediante su utilizacion individual o combinada. EN: Revista Sociedad Colombiana de Entomología. Vol 25. 121- 129.

TRAUGOTT, M., WEISSTEINER, S., STRASSER, H., 2005. Effects of the entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii* on the non- target predator *Poecilus versicolor* (Coleoptera: Carabidae). Biological control. 33, 107-112.

Valencia, C., Benítez, E. 2005. Evaluación del efecto de 4 aislamientos de hongos entomopatógenos en el control de *Imatidium neivai*. Ceniavances .

VARGAS, M., RODRÍGUEZ, D., SANABRIA, J., LÓPEZ-ÁVILA A., 1995. Ensayo de diferentes dosis de *Aschersonia aleyrodis* Webber y parasitismo de *Encarsia formosa* Gahan en ninfas de tercer y cuarto instar de la mosca blanca de los invernaderos. EN: Revista Sociedad Colombiana de Entomología. Vol 21 N 3, 159-170.

VÉLEZ. 1997. Plagas Agrícolas de Impacto Económico en Colombia: Bionomía y Manejo Integrado. Ciencia y Tecnología. Editorial Universidad de Antioquia.

VERGARA A., 2000. Retos y Posibilidades Del Control Etológico En Colombia. Universidad Nacional. Fac de Ciencias Agropecuarias. Pg 11.

VICKERS, R.A., FURLONG, M.J., WHITE, A., PELL, J.K., 2004. Initiation of fungal epizootics in diamondback moth populations within a large Weld cage: proof of concept for auto-dissemination. *Entomol. Exp. Appl.* 111, 7–17.

WANG C., FAN M., LI Z., BUTT T. 2004. Molecular monitoring and evaluation of the application of the insect-pathogenic fungus *Beauveria bassiana* in southeast China. *Journal of Applied Microbiology* 2004, 96, 861–870.

WEKESA V., KNAPP M., MANIANIA N., BOGA H. 2006. Effects of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on mortality, fecundity and egg fertility of *Tetranychus evansi*. *J. Appl. Entomol.* 130(3), 155–159.

WRAIGHT S.P.; RAMOS M.E. 2005. Synergistic interaction between *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis tenebrionis* based biopesticides applied against field populations of Colorado potato beetle larvae. *Journal of Invertebrate Pathology.* 90 , 139–150.

XU, Q., 1988. Some problems about study and application of *Beauveria bassiana* against agricultural and forest pests in China. In: Li , Y., Li, Z., Liang, Z., Wu, J., Wu, Z., Xu, Q., Study and application of entomogenous fungi in China. Vol.1. Academic Periodical Press, Beijing, pp. 1-9.

XU, S.T., FENG, M.G. and YING, S.H. (2002) Time-specific infection rate of *Beauveria bassiana* on *Myzus persicae* after topical inoculation of conidial suspension. *Chin J Appl Ecol* 13, 701–704.

YAÑEZ, E., GARCÍA, J. 2000. Metodología alterna para el análisis de racimo de palma de aceite, Palmas, vol 21, Número especial tomo 1.

YING, S.H. and Feng, M.G. (2004) Relationship between thermotolerance and hydrophobin-like proteins in aerial conidia of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* as fungal biocontrol agents. J Appl Microbiol 97, 323–331.