

Caracterización de aislamientos nativos de *Beauveria bassiana* y su patogenicidad hacia *Hypothenemus hampei*, en Tabasco, México

Characterization of native isolates of *Beauveria bassiana* and its pathogenicity to *Hypothenemus hampei*, en Tabasco, Mexico

JOSÉ DEL CARMEN GERÓNIMO-TORRES^{1,2}, MAGDIEL TORRES-DE-LA-CRUZ^{1,3}, MANUEL PÉREZ-DE-LA CRUZ^{1,4}, ARACELY DE-LA-CRUZ-PÉREZ^{1,5}, CARLOS FREDY ORTIZ-GARCÍA⁶ y SILVIA CAPPELLO-GARCÍA^{1,7}

Resumen: Con la finalidad de contar en Tabasco, México con aislamientos nativos de *Beauveria bassiana* con potencial de control de *Hypothenemus hampei*, 12 cepas se aislaron y caracterizaron según variables fisiológicas y patológicas. El crecimiento micelial (CM), la velocidad de germinación y la producción de conidios (PdC) en agar-dextrosa de Sabouraud + 0,1% de extracto de levadura (ADS+EL), son las variables fisiológicas consideradas y evaluadas a 25, 30 y 35 °C. Además, se evaluó la PdC en arroz a 25 °C. Hubo diferencias ($P < 0,001$) en el CM de los aislamientos. La temperatura favorable para el CM fue de 25 a 30 °C. El tiempo requerido para la germinación del 50% de los conidios (TG₅₀) varió de 12,6 a 15,9 h. El TG₉₀ varió de 16,9 a 61,5 h. Los mejores TG₅₀ y TG₉₀ se obtuvieron a 25 y 30 °C. La temperatura óptima para la germinación fue 30 °C. Hubo diferencias ($P < 0,001$) en la PdC en medio ADS+EL, y la temperatura óptima para la PdC fue 25 °C. Así también, hubo diferencias ($P < 0,001$) en la PdC en arroz. La efectividad patológica de los aislamientos de *B. bassiana* sobre *H. hampei* fue del 100% a las 144 h. El tiempo para matar el 50% de la población (TL₅₀) varió de 71,8 a 104 h. Así también, el TL₉₀ varió de 91,8 a 132,8 h. Las cepas nativas BbTcf9, BbTcf5 y BbTcf1, fueron seleccionadas para su evaluación en condiciones de campo.

Palabras clave: Biocontrol. Broca del café. Hongos entomopatógenos.

Abstract: In order to obtain native isolates of *Beauveria bassiana* with potential to control *Hypothenemus hampei*, 12 strains were isolated and characterized according to physiological and pathogenicity variables. Mycelia growth (MG), germination rate and conidial production (CP) in Sabouraud dextrose agar media + 0.1% of yeast extract (SDA+YE), were assessed at 25, 30 and 35 °C. In addition, the conidial production on rice was evaluated at 25 °C. There were differences ($P < 0.001$) in the MG of the isolates. The favorable temperature for MG ranged between 25 and 30 °C. The time required to 50% of conidial germination (TG₅₀) ranged from 12.6 to 15.9 h, and the TG₉₀ ranged from 16.9 to 61.5 h. The best TG₅₀ and TG₉₀ were obtained at 25 and 30 °C. The optimum temperature for germination, of the majority of the isolates, was 30 °C. There were differences ($P < 0.001$) on the PdC in the SDA+YE media, and the optimum temperature for the production of conidia was 25 °C. Thus, there were differences ($P < 0.001$) in the production of conidia in rice. The pathogenic effectiveness of the isolates of *B. bassiana* on *H. hampei* was 100%, to the 144 h. Letal time to kill 50% of the population (TL₅₀) ranged from 71.8 to 104 h; as well as, the TL₉₀ ranged from 91.8 to 132.8 h. Native strains BbTcf9, BbTcf5 and BbTcf1 were selected for its evaluation under field conditions.

Key words: Biocontrol. Coffee berry borer. Entomopathogenic fungi.

Introducción

La producción de café (*Coffea arabica* L.) bajo sombra forma parte de los recursos agrícolas en Tabasco, México (Flores 2015). Este cultivo permite la generación de divisas, empleos, y es el modo de subsistencia de pequeños productores. Además, este agroecosistema provee servicios ambientales importantes y contribuye a conservar la biodiversidad (Escamilla *et al.* 2005; Perfecto y Armbrecht 2003). De acuerdo con AMECAFE (2008), la entidad cuenta con 1.006 ha, e involucra a 1.226 productores (Flores 2015). Actualmente este cultivo está tomando importancia como cultivo sustentable. La producción de café en Tabasco es afectada por diversas plagas en las que destaca *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytinae), conocida también como la broca del café. Para cumplir su ciclo de vida, este escolitido perfora el fruto y se alimenta de él (Dufour 2002; Vega *et al.* 2002; Rojas 2004). De esta manera, *H. hampei* causa

pérdidas de peso, depreciación del grano y baja calidad de la bebida por presencia de impurezas en los granos brocados (Waterhouse y Norris 1989; Damon 2000). El primer registro de *H. hampei* en plantaciones de café del estado de Tabasco data de 2004 (Ramírez Del Ángel *et al.* 2007), y actualmente es la principal plaga insectil en la producción de café en Tabasco, México.

Una de las alternativas de control sustentable de la broca del café es el control biológico mediante la utilización de hongos entomopatógenos (Barrera *et al.* 1990a, 1990b; Infante *et al.* 1994; Monzón 2001), entre los que sobresale *Beauveria bassiana* (Balsamo 1835) (Gupta *et al.* 2003; Bhattacharryya *et al.* 2008; Suárez 2009). Este hongo tiene una distribución amplia y diversos aislamientos han mostrado efectividad de control de *H. hampei* bajo condiciones de campo (Bustillo *et al.* 1999). Además, produce bajo impacto sobre el ambiente y la fauna benéfica (Burgess y Hussey 1971). Las características patológicas de *B. bassiana* contra *H. hampei*, su factibilidad

¹ División Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas Km. 0.5. C.P. 86039, Tabasco, México. ² Estudiante de maestría, jc.geronimo89@hotmail.com. ³ Ph. D., Profesor Investigador, magtorre@colpos.mx, autor para correspondencia. ⁴ Ph. D., Profesor Investigador, perezmandoc@hotmail.com. ⁵ Ph. D., Profesor Investigador, arace_lycp@hotmail.com. ⁶ Ph. D., Profesor Investigador. Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. Km 3.5 Carretera Cárdenas-Huimanguillo, H. Cárdenas, Tabasco, México. CP 86500, cfortizg@gmail.com.

de reproducción de manera artificial, así como la rentabilidad de su uso, hacen de él una alternativa viable en Tabasco; sin embargo, existe la tendencia a utilizar formulados con cepas exóticas de *B. bassiana*, las cuales pueden tener un comportamiento diferente al de su lugar de origen.

En la búsqueda de agentes de control biológico, una de las estrategias básicas es la exploración inicial de los enemigos naturales nativos, antes de introducir agentes exóticos (De Bach 1968). En este caso, las condiciones del agroecosistema café en Tabasco sugiere la existencia de aislamientos de *B. bassiana* con potencial de control biológico sobre *H. hampei*; sin embargo, aislamientos nativos de *B. bassiana* no han sido obtenidos ni evaluados en este agroecosistema. La variabilidad intraespecífica en los hongos entomopatógenos en cuanto a rango de hospederos, características fisiológicas y virulencia (Drumond y Heale 1988; Ayala *et al.* 2005) hace necesario la caracterización para seleccionar aislamientos con las mejores características como agentes de control (Díaz *et al.* 2009; Torres-de la Cruz, *et al.* 2013). Por lo anterior, en el presente estudio se aislaron y caracterizaron 12 aislamientos nativos del hongo *B. bassiana*, con la finalidad de seleccionar las cepas con las mejores características fisiológicas y patológicas para el control biológico de *H. hampei*.

Materiales y métodos

Obtención de aislamientos. Debido a que las plantaciones de café están distribuidas en los municipios de Teapa, Tuxtla y Huimanguillo, seis sitios de muestreo se establecieron en cada municipio. En cada parcela se recolectaron 100 cerezas brocadas. Las cerezas se disectaron para buscar adultos muertos con signos de infección fúngica, adultos muertos sin infección fúngica, y adultos vivos. Los insectos extraídos de las cerezas se desinfectaron superficialmente en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5% durante 5 min, y enjuagados con agua destilada estéril. Posteriormente, los insectos se colocaron individualmente en cámara húmeda (90% HR y 25 °C) durante 8 d para permitir la expresión de hongos sobre los cadáveres.

Aislamientos utilizados. Se utilizaron los aislamientos poliespóricos BbTcf1, BbTcf2, BbTcf3, BbTcf4, BbTcf5, BbTcf6, BbTcf7, BbTcf8, BbTcf9, BbTcf10, BbTcf11 y BbTcf12, oriundos del estado de Tabasco, México, obtenidos de la cutícula de *H. hampei*. Todos los aislamientos se multiplicaron en medio de cultivo agar-dextrosa de Sabouraud + 0,1% de extracto de levadura (ADS+EL) (Feng *et al.* 1990).

Caracterización morfológica y fisiológica. Los hongos que se desarrollaron sobre la superficie de *H. hampei*, y que mostraron características compatibles con el género *Beauveria*, se aislaron e identificaron a nivel de especie con base a las estructuras reproductivas, según Humber (1997) y Samson (1981). Los aislamientos se depositaron en la colección de hongos entomopatógenos de la División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, México.

En la caracterización fisiológica se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros:

1) **Crecimiento micelial.** A partir de cultivos *in vitro* de *B. bassiana* de 8 d de edad, un fragmento de 5 x 5 mm del borde de las colonias fue transferido al centro de una caja Petri

de 90 mm de diámetro, con el medio SDA + E.L. (López y Carbonell 1999). Las placas se incubaron en oscuridad a 25, 30, y 35 ± 1 °C. El crecimiento micelial (CM) se evaluó de acuerdo con Dimbi *et al.* (2004), registrándolo cada 2 d hasta el día que un aislamiento cubrió en su totalidad la caja, y las medidas del último día se consideraron para el análisis estadístico. Cinco repeticiones por aislamiento y temperatura se utilizaron. El efecto de la temperatura sobre el CM se evaluó mediante el porcentaje de inhibición e incremento del crecimiento radial al pasar de 25 a 30 °C, el cual se obtuvo con la fórmula: % inhibición/incremento = (crecimiento a 30 °C x 100/ crecimiento a 25 °C)-100 (Torres-de la Cruz *et al.* 2013).

2) **Producción de conidios en medio SDA.** A partir de colonias de 15 d de edad, un fragmento de 5 x 5 mm del borde de la colonia se colocó en cajas con medio SDA + E.L. Las cajas con el inóculo se incubaron a 25, 30 y 35 °C ± 1 °C, en oscuridad, durante 30 d. Posteriormente, los conidios se cosecharon de la superficie del cultivo, inundando la caja con agua destilada estéril + tween 80 (0.1%), y raspando la superficie con una espátula de acero inoxidable. Mediante un agitador magnético (Thermolyne®, Artur H. Thomas Co., Philadelphia, PA, EUA), la suspensión de conidios se homogenizó durante 10 min. La suspensión se filtró con gasa clínica para separar el micelio y posteriormente, con una cámara de Neubauer, se estimó el total de conidios producidos. El número de conidios ml⁻¹ se estimó mediante la fórmula propuesta por Lipa y Slizynski (1973): $C = (Cc) (4 \times 10^6) (Fd/80)$, donde: C = Número de conidios ml⁻¹; Cc = Número promedio de conidios contados en la cámara de Neubauer y, Fd = Factor de dilución. Se establecieron cinco repeticiones por aislamiento y temperatura. El efecto de la temperatura sobre la producción de conidios (PdC) en medio SDA se evaluó mediante el porcentaje de inhibición e incremento de la producción de conidios al pasar de 25 a 30 °C, y de 25 a 35 °C, los cuales se obtuvieron con las fórmulas: % Inhibición/incremento = (crecimiento a 30 °C x 100/ crecimiento a 25 °C)-100, y % Inhibición/incremento = (crecimiento a 35 °C x 100/ crecimiento a 25 °C)-100 (Torres-de la Cruz *et al.* 2013).

3) **Producción de conidios en arroz.** Para evaluar la capacidad de los aislamientos de *B. bassiana* para producir conidios en arroz, se utilizaron bolsas con 50 g de arroz, contenidos en bolsas de polipapel, se humedecieron con 12 ml de agua destilada y se esterilizaron durante 20 min a 121 °C (Porras y Leucona 2008). Posteriormente, las bolsas con arroz se inocularon con 5 ml de una suspensión de 1 x 10⁶ conidios ml⁻¹, y se incubaron durante 15 d a 25 ± 1 °C, y fotoperiodo 12:12. Se establecieron cinco repeticiones por aislamientos. Transcurrido los 15 d, los 50 g de arroz se suspendieron en 150 ml de agua destilada estéril + tween 80 (0,1%). La suspensión fue agitada durante 10 min y posteriormente filtrada con gasa clínica para separar los conidios del arroz y micelio. El conteo de conidios se realizó en cámara de Neubauer, y la PdC g⁻¹ se estimó mediante la fórmula de Lipa y Slizynski (1973) descrita en producción de conidios en medio SDA.

4) **Velocidad de germinación.** A partir de cultivos de 19 d de edad se obtuvo una suspensión de 5 x 10⁶ conidios ml⁻¹, de la cual, 30 µl se sembraron en cajas Petri con medio SDA + E.L. Las cajas con los conidios se incubaron a 25, 30 y 35

$^{\circ}\text{C} \pm 1$ $^{\circ}\text{C}$. La germinación se registró a partir de la tercera hora, hasta la hora en que un aislamiento alcanzó el 90% de germinación. Cada lectura consistió de 100 conidios. Se consideraron conidios germinados cuando el tubo germinativo alcanzó la longitud de la mitad del conidio (Jackson *et al.* 1985). Se establecieron cuatro réplicas por aislamiento y hora de registro.

Caracterización patogénica

Adultos de *H. hampei* se obtuvieron a partir de cerezas infestadas en campo. Los insectos se sumergieron en una solución de 1×10^7 conidios ml^{-1} + tween 80 (0,1%) durante un minuto (Vélez-Arango *et al.* 2001). Doce aislamientos, más un tratamiento testigo se evaluaron. Los insectos del tratamiento testigo se sumergieron en agua destilada estéril + tween 80 (0,1%). Los adultos tratados se colocaron en cajas Petri, y 10 adultos de *H. hampei* conformaron una unidad experimental y se tuvieron cuatro repeticiones. El ensayo se mantuvo a 25 ± 1 $^{\circ}\text{C}$ y la humedad se mantuvo con agua destilada estéril en algodón. La mortalidad se registró diariamente y los “cadáveres” se colocaron en cámara húmeda con el fin de obtener esporulación. Con los datos de mortalidad diaria se estimó el tiempo letal 50 (TL₅₀) y el tiempo letal 90 (TL₉₀).

Análisis estadístico. Los datos del crecimiento micelial (CM), producción de conidios (PdC) en medio SDA, PdC en arroz, y mortalidad, se analizaron bajo un diseño experimental completamente al azar, con 12 tratamientos (cada uno de los aislamientos evaluados). Previo al análisis, los datos de CM, PdC en medio SDA y PdC en arroz, se transformaron a $\log(x + 1)$, y los datos de mortalidad se transformaron al arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción. Los datos se sometieron a prueba de separación de medias con la prueba de (Tukey $\alpha = 0,05\%$) mediante SAS® (1998). El tiempo en que ocurrió el 50 y el 90% de la germinación de los conidios (TG₅₀ y TG₉₀) y el 50 y 90 % de la mortalidad (TL₅₀ y TL₉₀) se estimó mediante regresión logística y el paquete estadístico SAS® (1998).

Resultados y discusión

Identificación de aislamientos. Los aislamientos presentaron colonias con micelios de aspecto algodonoso color blanco, con superficie semielevada, y formación de sinemas. Microscópicamente, los aislamientos mostraron conidióforos sencillos, agrupados irregularmente, hinchados en la base y adelgazándose hacia el raquis donde se sostiene el conidio, coincidiendo con lo descrito para el género *Beauveria* por Bustillos (2001) y Rodríguez y Del Pozo (2003). Los conidios observados son lisos, redondeados a ovoides coincidiendo con lo expuesto por Samson (1981) y Humber (1997) y midieron de $3,95\text{-}7,29 \times 1,38\text{-}2,83$ μm , y el raquis de $4,82\text{-}9,29 \times 1$ μm . El tamaño de las conidios de los 12 aislamientos osciló en $2,20\text{-}2,95 \times 1,96\text{-}2,39$ μm , medidas que concuerdan con Humber (1997). Al respecto, Glare y Inwood (1998), al comparar diversas cepas de especies de *Beauveria*, provenientes de diferentes países, concluyeron que las cepas con conidios esféricos y menores de 3 μm de diámetro pueden ser consideradas como *B. bassiana*.

Caracterización fisiológica

Efecto de la temperatura sobre el crecimiento micelial. A 25 $^{\circ}\text{C}$ se registraron diferencias significativas ($F = 28,39$; $df = 11$; $P < 0,001$) en el crecimiento micelial (CM) entre aislamientos (Tabla 1). El aislamiento con mayor CM fue BbTcf5 con $3,38 \pm 0,03$ cm, mientras que el aislamiento con menor CM fue BbTcf12 con $2,92 \pm 0,10$ cm. A 30 $^{\circ}\text{C}$ el análisis registró diferencias significativas ($F = 143,06$; $df = 11$; $P < 0,001$) en el CM (Tabla 1). A esta temperatura el CM mostró mayor variación entre aislamientos comparado con los obtenidos a 25 $^{\circ}\text{C}$. El aislamiento con mayor CM fue BbTcf6 con $3,49 \pm 0,01$ cm, y el de menor CM fue BbTcf4 $2,93 \pm 0,03$ cm. A esta temperatura, cinco de los 12 aislamientos presentaron un incremento en el CM, y seis mostraron una reducción en relación al CM obtenido a 25 $^{\circ}\text{C}$. La inhibición del CM fluctuó de 5% hasta 31,2 % al pasar de 25 a 30 $^{\circ}\text{C}$.

Tabla 1. Desarrollo micelial e inhibición o incremento de cepas poliespóricas de *Beauveria bassiana*.

Cepas	Desarrollo micelial (cm)			Inhibición (-) o Incremento (+) (%)	
	25 $^{\circ}\text{C}$	30 $^{\circ}\text{C}$	35 $^{\circ}\text{C}$	25-30 $^{\circ}\text{C}$	25-35 $^{\circ}\text{C}$
	Media [±] Dst	Media ± Dst	Media ± Dst		
BbTcf1	3,34 ± 0,02 de	3,35 ± 0,03 g	0 ± 0	+0,8	-100
BbTcf2	3,09 ± 0,05 b	3,44 ± 0,03 h	0 ± 0	+43,0	-100
BbTcf3	3,35 ± 0,05 de	3,30 ± 0,00 fg	0 ± 0	-5,0	-100
BbTcf4	3,29 ± 0,04 cde	2,93 ± 0,03 a	0 ± 0	-31,2	-100
BbTcf5	3,38 ± 0,03 e	3,22 ± 0,01 de	0 ± 0	-15,7	-100
BbTcf6	3,18 ± 0,07 bc	3,49 ± 0,00 h	0 ± 0	+37,3	-100
BbTcf7	3,11 ± 0,02 b	3,22 ± 0,03 de	0 ± 0	+11,6	-100
BbTcf8	3,35 ± 0,04 de	3,27 ± 0,02 ef	0 ± 0	-8,4	-100
BbTcf9	3,24 ± 0,07 cd	3,16 ± 0,05 cd	0 ± 0	-8,0	-100
BbTcf10	3,25 ± 0,05 cde	3,08 ± 0,03 b	0 ± 0	-16,7	-100
BbTcf11	3,09 ± 0,06 b	3,23 ± 0,01 e	0 ± 0	+15,0	-100
BbTcf12	2,92 ± 0,10 a	3,11 ± 0,01 bc	0 ± 0	+21,1	-100

[±] Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey $P \leq 0,05$).

Tabla 2. Tiempo de germinación del 50% de los conidios (TG₅₀) de aislamientos de *Beauveria bassiana* evaluados a 25, 30 y 35 °C.

Cepas	TG ₅₀ (h)					
	25 °C		30 °C		35 °C	
	Media	RV ^z	Media	RV	Media	RV
BbTcf1	15,3	(14,3-17,1)	13,8	(12,9-15,1)	18,0	(16,0-23,9)
BbTcf2	15,9	(15,1-16,9)	14,8	(13,9-16,1)	23,0	(19,0-34,5)
BbTcf3	15,5	(14,3-17,4)	15,2	(13,9-17,2)	35,4	(23,6-123,4)
BbTcf4	15,5	(14,3-17,7)	14,5	(13,7-15,7)	26,0	(20,2-47,6)
BbTcf5	14,1	(13,7-14,6)	12,7	(12,3-13,2)	17,1	(16,0-18,8)
BbTcf6	15,6	(14,9-16,6)	14,9	(14,0-16,0)	22,6	(18,6-35,1)
BbTcf7	15,2	(14,6-16,1)	15,2	(14,6-15,9)	15,5	(14,1-1933,5)
BbTcf8	14,8	(14,3-15,5)	14,5	(14,0-15,1)	27,9	(18,3-960,9)
BbTcf9	12,6	(12,4-12,8)	10,7	(10,3-11,1)	16,2	(15,3-17,4)
BbTcf10	15,0	(14,4-15,7)	16,3	(15,4-17,4)	16,2	(14,8-22,4)
BbTcf11	13,5	(13,0-14,3)	13,6	(13,2-14,0)	17,7	(15,6-27,1)
BbTcf12	13,5	(12,8-14,5)	12,7	(12,2-13,6)	15,7	(14,5-19,7)

^zRV = Rango de variación.

Cuando los aislamientos se incubaron a 35 °C, el CM fue inhibido al 100% en todas las cepas, por lo que 35 °C resultó una temperatura que impide el CM del hongo. Así, el rango de temperatura, para el crecimiento óptimo de la mayoría de las cepas nativas de *B. bassiana* fue de 25 a 30 °C. Estos resultados concuerdan con Studdert y Kaya (1990) quienes reportaron un rango de temperatura óptima para el crecimiento de *B. bassiana* de 26 a 29 °C. Así también, Hegedus y Khachatourians (1994) reportaron que a 30 °C se limita el CM de *B. bassiana*. Por otro lado, Ortiz-Catón *et al.* (2011) mencionan que la mayor velocidad de desarrollo de las cepas de hongos entomopatógenos se obtiene de 20 a 28°C. En este estudio, el mejor CM se obtuvo a 30 °C, lo cual puede ser explicado por el origen tropical de los aislamientos. Al res-

pecto, Fargues *et al.* (1992) reportaron aislamientos de regiones tropicales más termotolerantes que aislamientos de clima templado. Una relación entre la tolerancia térmica y el clima de origen ha sido mostrada para otras especies de Hyphomycetes incluyendo *B. brongniartii*, *Metarhizium flavoviride* var. *acridum*, *Paecilomyces fumosoroseus* y *Nomuraea rileyi* (Fargues *et al.* 1992; Vidal *et al.* 1997). De acuerdo con Ekesi *et al.* (1999), el CM es una característica importante en la selección y producción de hongos entomopatógenos y su respuesta a la temperatura está definida por la región de origen del aislamiento y por aspectos genéticos (Vidal *et al.* 1997; Cortez 2010).

Velocidad de germinación. Con base al TG₅₀, se observó variabilidad en la velocidad de germinación de los aisla-

Tabla 3. Tiempo de germinación del 90 % de los conidios (TG₉₀) de aislamientos de *Beauveria bassiana* evaluados a 25, 30 y 35 °C.

Cepas	TG ₉₀ (h)					
	25 °C		25 °C		25 °C	
	Media	RV ^z	Media	RV	Media	RV
BbTcf1	23,0	(19,9-28,8)	23,0	(19,9-28,8)	23,0	(19,9-28,8)
BbTcf2	26,8	(24,2-30,6)	26,8	(24,2-30,6)	26,8	(24,2-30,6)
BbTcf3	28,8	(24,2-37,1)	28,8	(24,2-37,1)	28,8	(24,2-37,1)
BbTcf4	29,1	(24,6-37,0)	29,1	(24,6-37,0)	29,1	(24,6-37,0)
BbTcf5	20,3	(19,1-22,0)	20,3	(19,1-22,0)	20,3	(19,1-22,0)
BbTcf6	25,1	(22,9-28,4)	25,1	(22,9-28,4)	25,1	(22,9-28,4)
BbTcf7	20,7	(19,1-23,0)	20,7	(19,1-23,0)	20,7	(19,1-23,0)
BbTcf8	21,0	(19,6-23,1)	21,0	(19,6-23,1)	21,0	(19,6-23,1)
BbTcf9	16,9	(16,3-17,7)	16,9	(16,3-17,7)	16,9	(16,3-17,7)
BbTcf10	21,3	(19,7-23,5)	21,3	(19,7-23,5)	21,3	(19,7-23,5)
BbTcf11	21,7	(19,7-24,8)	21,7	(19,7-24,8)	21,7	(19,7-24,8)
BbTcf12	20,2	(18,1-23,9)	20,2	(18,1-23,9)	20,2	(18,1-23,9)

^zRV = Rango de variación.

Tabla 4. Producción de conidios de *Beauveria bassiana* cultivados en arroz y medio ADS + EL.

Cepa	Producción de conidios x 10 ⁷						Inhibición (-) o incremento (+) (%)			
	Arroz		ADS + EL. 25 °C		ADS + EL. 30 °C		25-30 °C		25-35 z °C	
	Media ^a ± Dst	b	Media ± Dst		Media ± Dst					
BbTcf1	311,70 ± 21,40	b	5,95 ± 0,8	cd	1,58 ± 0,2	b	-73,3		-100	
BbTcf2	327,00 ± 28,39	bc	5,76 ± 0,4	cd	2,68 ± 0,7	c	-53,4		-100	
BbTcf3	479,25 ± 12,67	ef	5,40 ± 0,7	c	0,22 ± 0,4	a	-95,7		-100	
BbTcf4	220,57 ± 4,64	a	5,85 ± 0,4	cd	0,25 ± 0,9	a	-95,6		-100	
BbTcf5	358,87 ± 23,31	c	1,19 ± 0,2	a	0,33 ± 0,3	a	-71,9		-100	
BbTcf6	294,45 ± 8,40	b	6,31 ± 0,6	cd	4,04 ± 0,4	d	-35,9		-100	
BbTcf7	401,17 ± 14,50	d	11,37 ± 0,3	e	0,54 ± 0,1	a	-95,2		-100	
BbTcf8	243,97 ± 18,10	a	7,52 ± 0,7	d	0,32 ± 0,1	a	-95,6		-100	
BbTcf9	485,47 ± 6,82	f	4,88 ± 0,1	c	0,47 ± 0,3	a	-90,3		-100	
BbTcf10	317,70 ± 6,14	b	2,58 ± 0,6	b	0,41 ± 0,3	a	-83,7		-100	
BbTcf11	243,52 ± 7,90	a	19,31 ± 0,2	f	5,52 ± 0,1	f	-71,4		-100	
BbTcf12	449,55 ± 8,80	e	24,44 ± 0,2	f	4,92 ± 0,1	e	-79,8		-100	

^a Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey P ≤ 0,05).

^b ADS + EL = agar-dextrosa de Sabouraud + 0.1% de extracto de levadura.

^c A 35°C y en medio ADS + EL no hubo producción de conidios.

mientos nativos de *B. bassiana*, el cual fue influenciado por la temperatura y el aislamiento. A 25 °C, la mayor y menor velocidad de germinación fue para los aislamientos BbTcf9 y BbTcf2 con tiempos promedios de 12,6 h y 15,9 h, respectivamente (Tabla 2). Resultados similares obtenidos por Berlanga-Padilla y Hernandez-Velazquez (2002) revelan que *B. bassiana* alcanza el 50% de germinación dentro de las primeras 15 h. A 30 °C, la mayor velocidad de germinación fue obtenida por la cepa BbTcf9, con un TG₅₀ de 10,7 h. La cepa BbTcf10 presentó el valor más alto de TG₅₀ con 16,3 h (Tabla 2). A esta temperatura, nueve de 12 aislamientos mejoraron su TG₅₀, respecto al obtenido a 25 °C. Los aislamientos BbTcf7 y BbTcf7 no mostraron cambios en su TG₅₀.

Respecto al TG₉₀, a 25 °C, los mejores aislamientos son BbTcf12 y BbTcf5 con tiempos promedios de 20,2 h y 20,3

h, respectivamente (Tabla 3). Estos resultados son similares a lo de García *et al.* (2006), quienes obtuvieron un 95% de germinación a las 20 h. A 30 °C, la mayor velocidad de germinación fue obtenida por la cepa BbTcf9, con un TG₉₀ de 14,2 h. Este tiempo de germinación superó a lo reportado por Berlanga-Padilla y Hernandez-Velazquez (2002) en aislamientos de *B. bassiana* con TG₉₀ de 20 h a 27 °C. La cepa BbTcf3 presentó el valor más alto de TG₉₀ con 28,9 h (Tabla 2). De acuerdo con Vélez *et al.* (1997), uno de los parámetros de calidad de los bioplaguicidas es que presenten una germinación del 90 % dentro de las 24 h de incubación.

A 35 °C, el aislamiento BbTcf7 registró el mejor TG₅₀ y TG₉₀ con 15.5 h y 17.0 h. El aislamiento más sensible a 35 °C fue BbTcf3 cuyo TG₅₀ se prolongó hasta las 35.4 h. Las cepas menos afectadas por esta temperatura son BbTcf7

Tabla 5. Mortalidad y tiempo letal del 50 y 90 % (TL₅₀ y TL₉₀) de aislamientos de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*.

Cepa	Mortalidad (%)	TL ₅₀ (h)		TL ₉₀ (h)	
		Media	RV ^z	Media	RV
BbTcf1	100	88,1	(86,6-89,6)	110,3	(107,7-113,4)
BbTcf2	100	103,6	(99,3-108,3)	125,3	(118,1-138,7)
BbTcf3	100	96,4	(88,6-103,8)	115,3	(106,4-142,8)
BbTcf4	100	104,0	(102,8-105,3)	119,6	(117,4-122,3)
BbTcf5	100	71,8	(60,5-81,2)	91,8	(81,2-132,9)
BbTcf6	100	94,7	(89,3-100,6)	132,8	(121,3-154,0)
BbTcf7	100	85,4	(81,3-89,4)	102,3	(96,9-111,1)
BbTcf8	100	98,7	(89,8-107,8)	120,9	(109,9-157,7)
BbTcf9	100	92,2	(90,5-93,8)	120,1	(116,8-124,1)
BbTcf10	100	91,7	(78,9-104,2)	116,8	(103,1-176,0)
BbTcf11	100	91,3	(82,6-99,4)	113,1	(103,0-141,1)
BbTcf12	100	100,6	(98,8-102,4)	131,2	(127,2-136,2)

^zRV = Rango de variación.

y BbTcf9, cuyo TG₅₀ respectivo, no se vio fuertemente modificado. Aunque todos los aislamientos nativos de *B. bassiana* germinaron en el rango de 25 a 35 °C, la mejor temperatura para la germinación de la mayoría de los aislamientos fue 30 °C, lo cual difiere con lo reportado por Godoy *et al.* (2007), los cuales reportan 25 °C como la temperatura óptima. Al respecto, Alean-Carreño (2003) y Tanada y Kaya (1993) señalan que la germinación de las esporas depende de temperatura, la humedad ambiental y en menor grado a las condiciones de luz. Milner *et al.* (1991) mencionan que la germinación de los conidios también puede ser influenciada por el medio de cultivo en el cual se evalúa dicho parámetro.

Producción de conidios en medio SDA + E.L. El análisis estadístico mostró diferencias significativas ($F = 212,79$; $df = 11$; $P < 0,001$) en la PdC en medio SDA+EL, a 25 °C (Tabla 4). A esta temperatura, los aislamientos con mayor producción son BbTcf11 y BbTcf12 con $19,3 \times 10^7$ y $19,3 \times 10^7$ conidios, respectivamente. El aislamiento con menor PdC fue BbTcf5 con $1,9 \times 10^7$ conidios. A 30 °C, el análisis estadístico mostró diferencias significativas ($F = 281,39$; $df = 11$; $P < 0,001$) (Tabla 4). Al igual que a 25 °C, las cepas BbTcf12 y BbTcf11 mostraron la mayor PdC, con $4,92 \times 10^7$ y $5 \times 52 \times 10^7$ conidios, respectivamente. La cepa con menor PdC fue BbTcf8 con $0,22 \times 10^7$ conidios. Estos resultados son similares a los reportados por Godoy *et al.* (2007) con aislamientos de *B. bassiana* a 25 y 30 °C. Cuando los aislamientos se sometieron a 35 °C, no hubo crecimiento ni producción de conidios. Por lo anterior, el rango de temperatura para esporulación fue de 25 a 30 °C; sin embargo, la temperatura óptima fue 25 °C. Estos resultados difieren con Rosas (1995) y Barajas-Ontiveros *et al.* (2009) quienes reportan mayor esporulación de *B. bassiana* a 30 °C.

De acuerdo con Milner *et al.* (1991), la selección de las cepas con mayor productividad de conidios puede permitir que en condiciones de campo se produzca inóculo secundario que se disperse de manera natural dentro de la plantación; así también, cepas con alta productividad de conidios es una característica importante para la producción de agentes de biocontrol a escala comercial; sin embargo, la producción de conidios depende, entre otros factores, del sustrato de crecimiento (Vélez *et al.* 2000; Godoy *et al.* 2007).

Producción de conidios en arroz. El análisis estadístico mostró diferencias significativas ($F = 178,83$; $df = 11$; $P < 0,001$) en la PdC en arroz (Tabla 4). Las cepas que tuvieron la mayor PdC en arroz son BbTcf9, BbTcf3, BbTcf12 con $485,47 \times 10^7$, $479,25 \times 10^7$ y $449,55 \times 10^7$ esporas/g de arroz, respectivamente. Los aislamientos que mostraron mayor PdC en arroz no son necesariamente los que mostraron mayor PdC en medio SDA, excepto el aislamiento BbTcf12, el cual fue uno de los que mostró mejor PdC en medio SDA a 25 y 30 °C. De acuerdo con Marín y Bustillo (2002) y Cova *et al.* (2009), el arroz destaca entre los sustratos más utilizados para la reproducción de *B. bassiana* a nivel comercial. La selección de aislamientos con buen potencial genético en cuanto a producción de conidios, es un aspecto básico para la producción a escala comercial de hongos entomopatógenos (Badilla 1996).

Caracterización patogénica. Todos los aislamientos mostraron patogenicidad hacia *H. hampei*, y alcanzaron el 100% de mortalidad a las 144 h (Tabla 5). Todos los insectos del trata-

miento testigo permanecieron vivos durante los días que duró la evaluación. Al respecto, Cárdenas *et al.* (2007) reportaron porcentajes de mortalidad de *H. hampei* de 73,3 a 100%, a las 192 h de evaluación, por acción de *B. bassiana*. Al evaluar el TL₅₀, se encontró variabilidad entre aislamientos en cuanto al tiempo requerido para matar al 50% de la población tratada. El aislamiento que requirió el menor TL₅₀ fue BbTcf5 con 71,8 h. El aislamiento con mayor TG₅₀ fue BbTcf4 con 104 h (Tabla 5). Estos resultados difieren con Suárez y Mejía (2012), quienes reportaron aislamientos de *B. bassiana* con TL₅₀ sobre *H. hampei* de 168 h, utilizando una concentración 1×10^9 conidios/ml. En cuanto al TL₉₀, la cepa BbTcf5 alcanzó el mejor TL₉₀, con un promedio de 91,8 h. El aislamiento BbTcf6 obtuvo el mayor TL₉₀ con 132,8 h (Tabla 5). Bastidas *et al.* (2009) obtuvieron porcentajes y tiempos similares para alcanzar el 90% de la mortalidad de *H. hampei*, con 106,32 y 129,6 h, respectivamente. De acuerdo con Tanada y Kaya (1993), la virulencia de cepas de hongos entomopatógenos es una característica relevante en la selección de aislamientos con fines de control biológico, debido a que se presentan diferencias importantes en la virulencia entre aislamientos de una misma especie.

Conclusiones

Los aislamientos de *B. bassiana* obtenidos de las plantaciones de café en Tabasco, México, mostraron variabilidad intraespecífica en cuanto a desarrollo micelial, producción conidial, velocidad de germinación y patogenicidad. El rango de temperatura favorable para el CM de los aislamientos fue de 25 y 30 °C. La temperatura óptima para la producción de conidios fue 25 °C. Las cepas evaluadas no fueron termotolerantes a 35 °C en cuanto al crecimiento micelial. Con base en las características evaluadas, se seleccionaron los aislamientos BbTcf9, BbTcf5, y BbTcf1 para ser evaluados sobre *H. hampei* bajo condiciones de campo. La variabilidad encontrada en las características evaluadas, demuestra la importancia de la caracterización de aislamientos nativos y manifiesta el potencial del hongo estudiado para el desarrollo de bioinsecticidas contra *H. hampei*.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Programa de Fomento a la Investigación 2012: UJAT-2012-IB-02.

Literatura citada

- ALEAN-CARREÑO, I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Tesis Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 107 p.
- AMECAFÉ. 2008. Padrón Nacional de Cafetaleros. Reportes y estadísticas. Asociación Mexicana de Cadenas Productivas de Café. Disponible en: <http://www.spcafe.org.mx>. [Fecha revisión: 28 junio 2015].
- AYALA, Z. M. A.; MIER, T.; ROBLES, S. J.; TORIELLO, C. 2005. Variabilidad intraespecífica del crecimiento de *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) por efecto de la temperatura. Revista Mexicana de Micología 20 (1): 93-97.
- BADILLA, F. F. 1996. Manejo integrado de jobotos *Phyllophaga* spp. (Scarabaeidae) en el cultivo de la caña de azúcar en Cos-

- ta Rica. Biología y control de *Phyllophaga* spp. CATIE Serie Técnica, Informe Técnico no. 277. Turrialba, Costa Rica. 132 p.
- BARAJAS-ONTIVEROS, C. G.; MORALES-ROMANO, M. D.; DEL POZO-NUÑEZ, E. M.; RODRÍGUEZ-AGUILAR, M. L.; NUÑEZ-LÓPEZ, J. J. 2009. Condiciones para el desarrollo de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control biológico de chapulín frijolero. *Tecnociencia Chihuahua* 3 (1): 33-39
- BARRERA, J. F.; BAKER, P. S.; SCHWARZ, A.; VALENZUELA, J. E. 1990a. Introducción de dos especies de parasitoides africanos a México para el control biológico de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Folia Entomológica Mexicana* 79 (1): 245-247.
- BARRERA, J. F.; INFANTE, F.; CASTILLO, A.; GÓMEZ, J. 1990b. Control biológico de la broca del café con parasitoides. Folleto técnico No. 1. CIES-IICA/PROMECAFÉ. Tapachula, Chiapas. México. 80 p.
- BASTIDAS, A.; VELÁSQUEZ, E.; MARÍN, P.; BENAVIDES, P.; BUSTILLO, E.; OROZCO, F. 2009. Evaluación de preformulados de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, para el control de la broca del café. *Agronomía* 17 (1): 44-61.
- BERLANGA-PADILLA, A. M.; HERNÁNDEZ-VELÁZQUEZ, V. M. 2002. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento y la virulencia de *Metarhizium anisopliae*, *M. a.* var *acridum* y *Beauveria bassiana* en *Schistocerca piceifrons piceifrons*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 63 (1): 51-55.
- BHATTACHARYYA, B.; BARUAH, A.; PURNIMA, D.; BHUYAN, U. 2008. Field efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Moniliales) against white grubs in Assam. *Journal of Biological Control* 22 (1): 81-64.
- BURGESS, H. D.; HUSSEY, N. W. 1971. *Microbial control of insects and mites*, Academic Press, New York, 861 p.
- BUSTILLO, P. A. E.; BERNAL, U. M. G.; BENAVIDES, M. P. 1999. Dynamics of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* infecting *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytinae) populations emerging from fallen coffee berries. *Florida Entomologist* 82 (4): 493-498.
- BUSTILLO, A. 2001. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. pp. 30-53. En: Seminario sobre uso de entomopatógenos en Colombia. SOCOLEN. Bogotá, Colombia. Octubre 12 de 2001.
- CÁRDENAS, R. A. B.; VILLALBA, G. D. A.; BUSTILLO, P. A. E.; MONTOYA, R. E. C.; GÓNGORA, B. C. E. 2007. Eficacia de mezclas de cepas del hongo *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. *Cenicafé* 58 (4): 293-303.
- CORTEZ, M. H. 2010. Evaluación de aislamientos de hongos entomopatógenos y su virulencia hacia *Bactericera cockerelli*, según su origen. *Fitopatología Colombiana* 34 (1): 17-21.
- COVA, L. J.; SCORZA, V.; GARCÍA, E.; CAÑIZALEZ, M.; GUEDEZ, C.; MAFFEY, M.; MEDINA, M. 2009. 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, Venezuela. *Zootecnia Tropical* 27 (2): 113-120.
- DAMON, A. 2000. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Bulletin of Entomological Research* 90 (6): 453-465.
- DE BACH, P. 1968. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Ed. Continental, México. 949 p.
- DIAZ, B. M.; OGGERIN, M.; LOPEZ, L. C. C.; RUBIO, V.; FERRES, A. 2009. Characterization and virulence of *Lecanicillium lecanii* against different aphid species. *BioControl* 54 (6): 825-835.
- DIMBI, S. N.; MANIANIA, N. K.; LUX, S. A.; MUEKE, J. M. 2004. Effect of constant temperatures on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* to three species of African tephritid fruit flies. *BioControl* 49 (1): 83-94.
- DRUMMOND, J.; HEALE, J. B. 1988. Genetic studies on the inheritance of pathogenicity in *Verticillium lecanii* against *Trialeurodes vaporariorum*. *Journal of Invertebrate Pathology* 52 (1): 57-65.
- DUFOUR, B. 2002. Importance du piégeage pour la lutte intégrée contre le scolyte du café, *Hypothenemus hampei* (Ferr.). p. 109-113. En: Dafour, B. (Ed.) Lutte Intégrée. Ed. Cirad. 116 p.
- EKESI, S.; MANIANIA, N. K.; AMPONG, N. K. 1999. Effect of temperature on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Megalurothrips sjostedti*. *Biocontrol Science and Technology* 9 (2): 177-185.
- ESCAMILLA, P.; RUIZ, R.; DÍAZ, P.; LANDEROS, S.; PLATAS, R.; ZAMARRIPA, C.; GONZÁLEZ, H. 2005. El agroecosistema café orgánico en México. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 76 (1): 5-16.
- FARGUES, J.; MANIANIA, N. K.; DELMAS, J. C.; SMITH, N. 1992. Influence de la température sur la croissance *in vitro* d'Hyphomycetes entomopathogènes. *Agronomie* 12 (1): 557-564.
- FENG, M. G.; JOHNSON, J. B.; KISH, L. P. 1990. Survey of entomopathogenic fungi of irrigated grain crops in Southwestern Idaho. *Environmental Entomology* 19 (5):1534-1542.
- FLORES, F. 2015. La producción de café en México: ventana de oportunidad para el sector agrícola de Chiapas. *Espacio I+D. Innovación más Desarrollo* 4 (7): 174-194.
- GARCÍA, M. X.; VILLAMIZAR, L. F.; TORRES, L. A.; COTES A. M. 2006. Efecto de subcultivos sucesivos de *Beauveria bassiana* sobre sus características y actividad contra *Premnotrypes vorax*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 77 (1): 50-56.
- GLARE, T. R.; INWOOD, A. J. 1998. Morphological and genetic characterization of *Beauveria* spp. from New Zealand. *Mycological Research* 102 (2): 250-256.
- GODOY, J. C.; VALERA, R. E.; GUÉDEZ, C.; CAÑIZALEZ, L. M.; CASTILLO, C. E. 2007. Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *B. bassiana*. *Revista de la Facultad de Agronomía* 24 (3): 415-425.
- GUPTA, L.; SHARMA, S.; YADAV, S. 2003. Effect of moisture regimes on efficacy of *Metarhizium anisopliae* against white grub. *Indian Journal of Entomology* 65(1): 38-42.
- HEGEDUS, D. D.; KHACHATOURIANS G. G. 1994. Isolation and characterization of conidial lethal mutants of *Beauveria bassiana*. *Canadian Journal of Microbiology* 40 (1): 766-776.
- HUMBER, R. A. 1997. Fungi: Identification. pp. 153-185. En: Lacey, L. (Ed.) *Manual of techniques in insect pathology*. Academic Press. San Diego, EEUU. 409 p.
- INFANTE, F.; MURPHY, S. T.; BARRERA, J. F.; GÓMEZ, J.; DE LA ROSA, W.; DAMON, A. 1994. Cría de *Phymastichus coffea* parasitoides de la broca del café, y algunas notas sobre su historia de vida. *Southwestern Entomologist* 19 (1): 313-315.
- JACKSON, C. W.; HEALE J. B.; HALL R. A. 1985. Traits associated with virulence to the aphid *Macrosiphoniella sanborni* in eighteen isolates of *Verticillium lecanii*. *Annals of Applied Biology* 106 (1): 39-48.
- LIPA, J. J.; SLIZYNZKI, K. 1973. Wskazówki metodyczne i terminologia do wyznaczania średniej dawki śmiertelnej (LD₅₀) w patologii owadów i toksykologii. *Prace Naukowe Instytutu Ochrony Roslin Poznań* 15 (1): 59-83.
- LÓPEZ, L. L.; CARBONELL, T. 1999. Characterization of Spanish strains of *Verticillium lecanii*. *Revista Iberoamericana de Micología* 16 (3): 136-142.
- MARÍN, P.; BUSTILLO, E. 2002. Producción artesanal de hongos entomopatógenos para el control de insectos plagas. pp. 125-131. En: Memorias Curso Internacional Teórico-Práctico. Sección I. Entomopatógenos de la broca del café. Cenicafé, Chinichíná, 11 al 15 de marzo del 2002.
- MILNER, R. J.; HUPPATZ, R. J.; SWARIS, S. C. 1991. A new method for assessment of germination of *Metarhizium* conidia. *Journal of Invertebrate Pathology* 57 (1): 121-123.

- MONZON, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos. Manejo Integrado de Plagas. (Costa Rica) 63 (1): 95-103.
- ORTIZ-CATÓN, M.; ALATORRE-ROSAS, R.; ORTEGA-ARENAS, L.; ORTIZ-CATÓN, A.; ALVARADO-CASILLAS, S.; IBARRA-SANCHEZ, L. S.; SANTILLAN-ORTEGA, V. 2011. Hongos entomopatógenos para el control de mosquitos blancos (*Bemisia tabaci* Gennadius, *Bemisia argentifolii* Bellows y *Trialeurodes vaporariorum* Westwood). *Naturaleza y Desarrollo* 9 (2): 5-14.
- PERFECTO, I.; ARMBRECHT, I. 2003. The coffee agroecosystem in the Neotropics: Combining ecological and economic goals. pp. 159-194. En: Vandermeer, J. H. (Ed.). *Tropical Agroecosystems*. Ed. CRC Press LLC. EE. UU. 280 p.
- PORRAS, L.; LECUONA, R. 2008. Estudios de laboratorio para el control de *Ceratitits capitata* (Wiedmann) (Diptera: Tephritidae) (Mosca del Mediterráneo) con *Beauveria bassiana*. *Agronomía Costarricense* 32 (2): 119-128.
- RAMÍREZ DEL ÁNGEL, M.; GONZÁLEZ, C.; BELLO, R.; ROMERO, B. 2007. Campaña nacional contra la broca del café en México: La Boca del Café en América Tropical, Hallazgos y Enfoques. Sociedad Mexicana de Entomología y El Colegio de la Frontera Sur. México. pp. 73-81.
- RODRÍGUEZ, A.; DEL POZO, E. 2003. Aislamiento de hongos entomopatógenos y evaluaron su virulencia sobre *Trialeurodes vaporariorum* (West). *Agrociencia* 7 (2): 71-78.
- ROJAS, J. 2004. Green coffee storage. p. 733-750. En: Wintgens, J. N. (Ed.). *Coffee: growing, processing, sustainable production: a guidebook for growers processors traders and researchers*. Ed. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Alemania. 983 p.
- ROSAS, A. J. 1995. Hongos entomopatógenos para el control de plagas insectiles. Pp. 85-99. En: *Memorias del V Curso Nacional de Control Biológico*. Sociedad Mexicana de Control Biológico.
- SAMSON, R. A. 1981. Identification: Entomopathogenic Deuteromycetes. pp. 93-105. En: Burges, H. D. (Ed.). *Microbial control of pests and plant diseases*. Ed. Academic Press, Londres. 949 p.
- SAS INSTITUTE. 1998. *SAS User's guide: Statistics*. Release 6.03. Ed. SAS Institute INC. Cary, NC. EE UU. 1028 p.
- STUDDERT, J. P.; KAYA, H. K. 1990. Water potential, temperature, and soil type on the formation of *Beauveria bassiana* soil colonies. *Journal of Invertebrate Pathology* 56 (3): 380-386.
- SUÁREZ, G. H. D. 2009. Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) sobre *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae) plaga de maíz almacenado. *Revista Intropica* 4 (1): 45-51.
- SUÁREZ, G. H. D.; MEJÍA, J. 2012. Manejo de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) con *Beauveria bassiana* en ca-fetales de Pueblo Bello (Cesar). *Revista Colombiana de Microbiología Tropical* 2 (2): 41-50
- TANADA, Y., KAYA, H. 1993. *Insect Pathology*. Ed. Academic Press, Inc. New York. 666 p.
- TORRES-DE LA CRUZ, M.; CORTEZ-MADRIGAL, H.; ORTIZ-GARCÍA, C. F.; CAPPELLO-GARCÍA, S.; DE LA CRUZ-PÉREZ, A. 2013. Caracterización de aislamientos nativos de *Metarhizium anisopliae* su patogenicidad hacia *Aeneolamia postica*, en Tabasco, México. *Revista Colombiana de Entomología* 39 (1): 40-46.
- VEGA, F.; BENAVIDES, P.; STUART, J. J.; O'NEIL, S. 2002. *Wolbachia* infection in the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Annals Entomological Society of America* 95 (3): 374-378.
- VÉLEZ, A. P. E.; POSADA, F. F. J.; MARÍN, P.; GONZÁLEZ, G. M. T.; OSORIO, V. E.; BUSTILLO, P. A. E. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. *Boletín Técnico Cenicafé* 17 (1): 1-37.
- VÉLEZ, P.; GONZÁLEZ, G.; VALDERRAMA, F.; ESTRADA, V.; BUSTILLO, P.; MONTOYA, R. 2000. Caracterización morfológica, fisiológica y molecular de aislamientos de *Beauveria bassiana*. *Cenicafé* 51(3): 196-206.
- VÉLEZ-ARANGO, P.; ESTRADA-VALENCIA, M.; GONZÁLEZ-GARCÍA, M. T.; VALDERRAMA-FONSECA, A. M.; BUSTILLO-PARDEY, A. E. 2001. Caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café. *Manejo Integrado de Plagas* 62 (1): 38-53
- VIDAL, C.; FARGUES, J.; LACEY, L. A. 1997. Intraspecific variability of *Paecilomyces fumosoroseus*: Effect of temperature on vegetative growth. *Journal of Invertebrate Pathology* 70 (1): 18-26.
- WATERHOUSE, D. F.; NORRIS, K. R. 1989. *BIOLOGICAL CONTROL: PACIFIC PROSPECTS*. ED. Australian Centre for International Agricultural Research, Australia. 118 P.

Recibido: 11-sep- 2015 • Aceptado: 5-abr-2016

Citación sugerida:

GERÓNIMO-TORRES, J. D. C.; TORRES-DE-LA-CRUZ, M.; PÉREZ-DE-LA CRUZ, M.; DE-LA-CRUZ-PÉREZ, A.; ORTIZ-GARCÍA, C. F.; CAPPELLO-GARCÍA, S. 2016. Caracterización de aislamientos nativos de *Beauveria bassiana* y su patogenicidad hacia *Hypothenemus hampei*, en Tabasco, México. *Revista Colombiana de Entomología* 42 (1): 28-35. Enero-Junio 2016. ISSN 0120-0488.