

Capítulo 6

Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga

Chapter 6

Entomopathogenic fungi in insect pests biological control

Carlos Espinel Correal,¹ Lissette Aracelly Torres Torres,¹
Laura Fernanda Villamizar Rivero,³ Alex Enrique Bustillo Pardey,²
María Victoria Zuluaga Mogollón,¹ Alba Marina Cotes Prado¹

¹ Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

² Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenipalma)

³ AgResearch, Lincoln Research Centre

Contenido

Contexto histórico	338
Mecanismos de acción de hongos entomopatógenos	341
Ejemplos de desarrollo y uso de hongos entomopatógenos como bioinsecticidas a nivel internacional	343
<i>Beauveria bassiana</i> en el control de la broca del café, <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari), en Colombia	346
<i>Lecanicillium lecanii</i> en el control de las moscas blancas, <i>Bemisia tabaci</i> y <i>Trialeurodes vaporariorum</i> en Colombia	348
<i>Metarhizium anisopliae</i> para el control de la langosta llanera, <i>Rhammatocerus schistocercoides</i> , en Colombia	352
Producción comercial de bioplaguicidas para el control de insectos plaga en Colombia	354
Limitaciones para la producción y el uso de hongos entomopatógenos	356
Limitaciones de producción	356
Conclusiones y perspectivas	361
Agradecimientos	362
Referencias	363

Resumen

Los hongos entomopatógenos juegan un papel muy importante como agentes de control de muchas especies de artrópodos al comportarse de forma epizootica, que ocasiona la reducción de poblaciones naturales. Su rol en la regulación de estas poblaciones fue descubierto desde tiempos antiguos, y el estudio para aprovecharlos como agentes de control biológico a lo largo de la historia se mostrará en este capítulo, mediante la descripción de trabajos de algunos naturalistas y científicos acuciosos. De igual manera, se describe su mecanismo de acción y una visión de la producción comercial actual en Colombia, mostrando varios ejemplos del uso exitoso de entomopatógenos, entre ellos, dos casos liderados por AGROSAVIA (anteriormente Corpoica). Aunque se considera que es una estrategia que ha tenido éxito en varios escenarios, su producción y uso también presentan varios cuellos de botella, que son descritos en este capítulo y que se deben tener en cuenta para corregirlos o minimizarlos, con el fin de asegurar el éxito en una campaña de manejo del insecto blanco.

Palabras clave

Bioplaguicida, entomopatógeno, hongo

Abstract

Entomopathogenic fungi play an important role in natural biological control agents for many arthropods species for its behavior as epizootic that significantly decrease host populations. The role of fungi in regulating the insect population was noticed since ancient time and the study as biological control agents will be stated in this chapter, by description of works made by several diligent naturalists and scientific. Likewise, the mechanism of action is described and a view of current commercial production in Colombia, showing several examples of the successful use of entomopathogens, including two cases led by AGROSAVIA (previously Corpoica). Although the use of entomopathogenic fungus is considered as a strategy that has been successful in several scenarios, the production and use also presents several bottlenecks that are described in this chapter and that must be taken into account to correct or minimize them in order to ensure success in a campaign of management of the target insect.

Keywords

Biopesticide, entomopathogen, fungi

Contexto histórico

El comienzo del uso de hongos entomopatógenos no se remonta a los inicios de la era cristiana, como en el caso de la historia misma de la utilización del control biológico de insectos indeseables por medio de depredadores naturales. La observación inicial básica de las enfermedades en insectos comenzó con aquellos que proporcionaban un servicio al hombre, por lo cual las abejas y el gusano de seda fueron el centro de atención de naturalistas y filósofos desde el año 335 a. C. hasta el primer milenio de la era cristiana (Steinhaus, 1956).

El avance en el estudio de estos patógenos de insectos fue creciendo a partir de observaciones minuciosas, y luego con la ayuda de instrumentos ópticos apropiados. Sin embargo, aunque las enfermedades consideradas

como una condición anormal en los insectos fueron observadas en las abejas y gusanos de seda, el primer parásito microbiano no se encontró en estas especies.

Al respecto, se puede mencionar a René Antoine Ferchault de Réaumur (1683-1757), un abogado y físico francés, reconocido por ser el creador de la escala de temperaturas Réaumur, así como un estudioso de la entomología, que se destacó por su investigación minuciosa de varias características fisiológicas de los insectos, y dejó a la humanidad varios volúmenes, escritos entre 1734 y 1742, de su obra *Mémoires pour servir à l'histoire des insectes* (figura 6.1).

En 1726, concentró su atención en el hongo *Cordyceps sinensis*, a partir de un reporte de un sacerdote jesuita, que envió muestras de Pekín a Europa. Sin embargo, malinterpretó el crecimiento del cuerpo fructífero del hongo adherido a la larva de un noctuido (posiblemente *Agrotis*), considerándolo una raíz.

Posteriormente, Theodor Holmskjold (1731-1793), un botánico danés, discípulo de Carlos Linneo, hizo una descripción de *Cordyceps militaris* y reconoció el hongo como un entomógeno que provenía del cuerpo de un insecto. Por su parte, en 1887, Anton de Bary describió los detalles de la infección de orugas por ascosporas de *C. militaris* y la subsecuente historia de vida del parásito (Ainsworth, 1976).

Hay un caso interesante, que el monje franciscano Torrubia relata en 1749, acerca del hallazgo de “avispa vegetales” en cercanías de La Habana. Se refería a avispas infectadas con *Cordyceps*, de las que hizo una representación diagramática cuando se encontraban en el suelo, con un “árbol” creciéndoles en la base del abdomen (figura 6.2). Mencionó que los habitantes de la zona lo relacionaban con un arbusto espinoso que llamaban *gia*, aduciendo que las espinas eran los agujones de las avispas que se desarrollaban en los tallos que brotaban de su abdomen (Steinhaus, 1956).

En lo que respecta a estudios más sistemáticos, Agostino Bassi (1773-1856) hizo un aporte importante en el conocimiento de los hongos entomopatógenos, pues

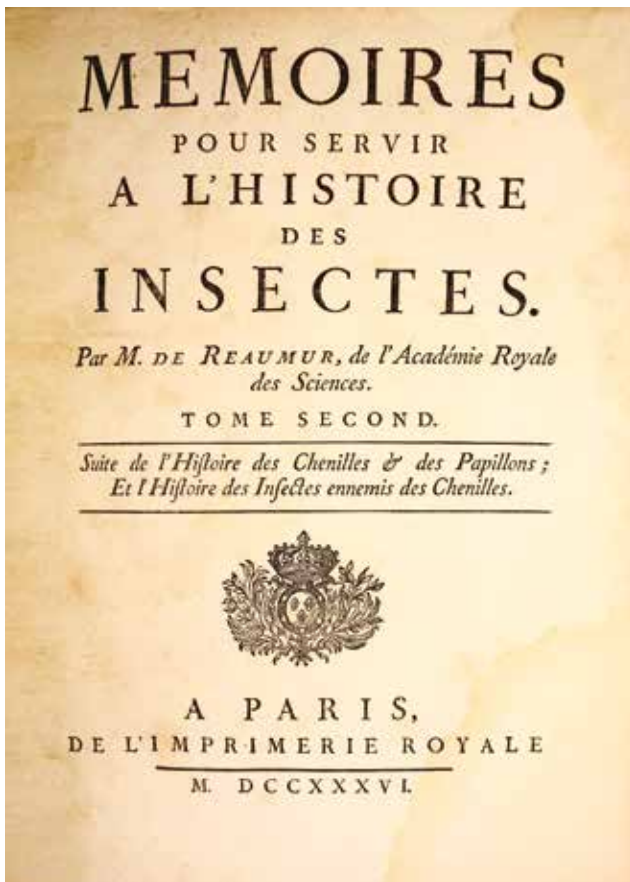


Figura 6.1. Facsimil de la portada del libro *Mémoires pour servir à l'histoire des insectes*.

Fuente: Ferchault de Réaumur (1734)

desarrolló la primera prueba experimental sobre un agente biológico que causa una enfermedad epidémica, al estudiar la afección de los gusanos de seda llamada *calcinaccio*, *mal del segno* o muscardina (en Francia), que fue un gran problema en Italia y Francia hacia el año 1800.

Durante 17 años exploró la hipótesis de que el agente causal fuera un “germen externo que entra desde afuera y crece”, que resultó cierta. Bassi lo identificó como un hongo parásito y publicó todo su estudio en el libro *Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, malattia che affligge i bachi de seta* (Bassi, 1835) (figura 6.3).

Bassi no solo transmitió este hongo al gusano de seda y a otras especies, sino que en el año 1835 afirmó que podía hacerlo cuando él quisiera. Se podría decir que esta declaración originó el control microbiano (Lord, 2005). Poco después, Giuseppe Balsamo Crivelli la identificó como *Botrytis paradoxa* y lo rebautizó *Botrytis bassiana*, en honor de Bassi.

Aunque los inicios de la idea de combatir los insectos plaga con enfermedades se remontan a los experimentos que Bassi y otros estudiosos hicieron desde principios del siglo XIX, aparentemente el primer documento al respecto, publicado de manera formal en lengua inglesa, solo apareció en 1873, cuando el entomólogo estadounidense John LeConte presentó en la XXII Conferencia de la Sociedad Americana para el Avance de la Ciencia un documento referido a “claves para la promoción de la entomología económica”, y sugirió nuevos sistemas de “confirmación” que podían ser empleados contra insectos perjudiciales. Estas claves se basaron en sus estudios acerca de la transmisión de enfermedades en gusanos de seda (Lord, 2005; Steinhaus, 1956).

En la segunda mitad del siglo XIX, en Estados Unidos se lideraron muchos trabajos relacionados con el control de insectos perjudiciales con levaduras, los cuales no tuvieron buenos resultados (Lord, 2005). Aproximadamente en la misma época, en Europa oriental (Rusia) se desarrolló de manera notable la idea de la patología de insectos aplicada.

En ese marco surgió la figura de Elie Metchnikoff (1845-1916), quien luego ganaría un premio Nobel por su trabajo en inmunidad fagocítica. Enfocó su preocupación en el “escarabajo de los granos”, *Anisoplia*



Figura 6.2. Reproducción de una lámina de la obra de José Torrubia, *Aparato para la historia natural española*, publicada en 1754. Representa avispas muertas con “árboles” (*Cordyceps*) saliendo de ellas.

Fuente: Steinhaus (1956)

austriaca Hbst., y en los grandes daños que causaba en los cultivos de cereales en Rusia. Le llamó particularmente la atención el aumento y la disminución de la población de esta plaga en diferentes años, y pensó que esta oscilación podría deberse a brotes de enfermedades entre los insectos.

En 1878, en la región de Odessa, Metchnikoff encontró tres tipos de enfermedades que estaban atacando este insecto, una causada por una bacteria, otra por un nematodo y una tercera por un hongo, al cual llamó *Entomophthora anisopliae*, que, luego de varios cambios, hoy es conocido como *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin.

El investigador estudió el hongo desde los puntos de vista micológico y patológico, y resultó muy notable el hecho de que apreció la gran importancia de epizootias

naturales en la reducción de las poblaciones de insectos, y que tuvo la visión del uso práctico de agentes causantes de enfermedades, en especial hongos, y lo probó experimentalmente (Steinhaus, 1956).

En consecuencia, sugirió la diseminación de la enfermedad por medio de la dispersión de los cuerpos de las larvas infectadas con el hongo o las esporas libres en el cultivo y en el suelo donde se habían encontrado estas larvas, y, para un mayor éxito del control, recomendó la producción de este hongo en varias localidades. Él consideraba que las epizootias naturales no eran suficientemente eficaces, y que la participación del hombre ayudaría a suprimir las plagas de manera efectiva.

En 1879, Metchnikoff encontró que el curculio de la remolacha, *Cleonus punctiventris* Germ., estaba siendo afectado por el hongo, estimó en un 40 % la infección en campo, y lo comprobó en pruebas de

laboratorio. También encontró métodos para propagar artificialmente el hongo y, con la ayuda del químico A. Werigo, descubrió que las esporas se podían producir en malta esterilizada.

Al parecer, fue el primero en darse cuenta de la importancia de la producción masiva de los hongos entomopatógenos por medios “artificiales”, pero no hay registros de las pruebas realizadas en campo, pues en 1884 dejó que su joven aprendiz Isaak Krassislsschik liderara y organizara una pequeña planta de producción en Smela.

Después de cuatro meses de producción, obtuvieron 55 kg de esporas de *Metarhizium*, que se mezclaron con arena fina y se esparcieron en cultivos cercanos a Kiev. Entre 10 y 15 días después, entre el 55 % y el 80 % de las larvas de *Cleonus* murieron a causa del hongo. Sin embargo, el trabajo no continuó, por varias razones, que iban desde la disminución de la producción de remolacha hasta inconsistencias en los resultados, tal vez por la ausencia de conocimiento sobre las variaciones en la virulencia y los factores básicos involucrados en la epizootia (Lord, 2005; Steinhaus, 1956).

También a finales del siglo XIX, en las planicies centrales de Estados Unidos, se llevó a cabo uno de los más grandes programas de control microbiano, mediante el tratamiento de la chinche *Blissus leucopterus* (Say.) con *Beauveria bassiana*. Francis Snow, de la Universidad de Kansas, logró establecer una estación experimental para producir y distribuir el hongo a los agricultores de manera gratuita. Distribuyó casi 50.000 paquetes en Kansas, y los estados vecinos lo imitaron. Inicialmente observaron reportes favorables, pero en los primeros años del siglo XX el programa terminó.

En las décadas siguientes, en el estado de Florida ocurrió algo similar a lo que se observó en las planicies centrales. Hubo una idea generalizada acerca del uso de los “hongos amigos”, debido a su ocurrencia generalizada en plagas como escamas (Coccidae) y moscas blancas (Aleyrodidae). No obstante, hubo opiniones diversas sobre el verdadero impacto que tuvieron los hongos, y los esfuerzos de intervención humana para lograr un mayor control fueron ocasionales.

La estación experimental de la Florida, así como empresas privadas, distribuyeron hongos para el control



Figura 6.3. Facsímil de la carátula del libro *Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, malattia che affligge i bachi da seta*.

Fuente: Bassi (1835)

de las moscas blancas. También se produjeron en el mercado de cítricos en California, pero en términos generales los resultados fueron pobres, lo que se atribuyó a la baja humedad del ambiente (Lord, 2005), una condición importante para la germinación de los hongos, como lo veremos más adelante.

En Colombia hay varios ejemplos del uso de hongos entomopatógenos en el control de insectos, como se demuestra en múltiples trabajos presentados en congresos y simposios. En este capítulo presentaremos algunos casos exitosos del uso de estos agentes de control, pues no solo se quedaron en evaluaciones iniciales de virulencia, sino que

fueron desarrollados hasta contar con un producto preparado para ser aplicado en campo.

Los hongos han sido los agentes preponderantes en los inicios del control microbiano. Es entendible, pues es la enfermedad más visible en insectos, y muchos de ellos se pueden producir masivamente. Sin embargo, han enfrentado grandes retos en cuanto a su eficacia, la comprensión de su dinámica y la factibilidad de su uso en los sistemas agrícolas para el control de plagas. Como todos los agentes de control biológico, requieren curiosidad, ingenio y conocimiento, para sortear los inconvenientes y desafíos con los que todo ser vivo se encuentra.

Mecanismos de acción de hongos entomopatógenos

La población de los insectos plaga puede estar regulada por la aparición frecuente de epizootias importantes, causadas por hongos. Por tal razón, estos últimos se utilizan como una herramienta de manejo de plagas, mediante el desarrollo de bioplaguicidas. En el mundo hay distribuidas más de 700 especies de hongos entomopatógenos; sin embargo, solo unos pocos se estudian en profundidad (Alatorre-Rosas, 2007).

La infección natural comienza cuando el insecto entra en contacto con el hongo al transitar por sustratos que este ha colonizado, como en el caso del suelo, el agua o las partes aéreas de las plantas. De esta manera, las unidades infectivas (conidios) se adhieren a la superficie de la cutícula del insecto, a través de fuerzas hidrófobas, debido a la presencia de proteínas ricas en cisteínas llamadas hidrofobinas.

Una vez que el hongo entra en contacto con el insecto, hay factores que determinan el éxito en la germinación, como el contenido de agua, iones, ácidos grasos y nutrientes en la superficie de este, así como su estado fisiológico (Shahid, Rao, Bakhsh, & Husnain, 2012). El tubo germinal empieza a crecer sobre la cutícula del insecto y penetra a través de orificios naturales, como partes bucales, membranas intersegmentales, espiráculos o sitios donde existe una alta humedad.

La penetración del hongo se da a través de la presión física y de la producción de enzimas ejercida por el apresorio. En la degradación de la cutícula inter-

vienen enzimas como proteinasas, quitinasas, lipasas y esterases (Ferron, 1978) (figura 6.4).

El proceso de infección de un hongo entomopatógeno, ilustrado en la figura 6.4, puede explicarse de la siguiente manera:

1. Un conidio se adhiere a la cutícula del insecto, germina y forma la estructura de infección: el apresorio.
2. Se produce la combinación de la acción enzimática que degrada la cutícula, la cual se rompe debido a la presión osmótica, mediada por la generación de altas concentraciones de glicerol, producto de la hidrólisis causada por las gotas de lípidos translocadas del conidio germinado.
3. En el hemocele, los cuerpos hifales producen blastosporas para colonizar el hospedero y aprovechar sus nutrientes, secretan proteínas efectoras y metabolitos secundarios para evadir la respuesta inmune, por lo que se contrarrestan los receptores del hospedero (proteínas de resistencia), y producen toxinas.
4. Debido a estas estrategias, el insecto muere, el hongo termina de colonizarlo, las hifas emergen del insecto y forman las células conidiógenas.
5. Dependiendo de las condiciones, estas últimas producen la esporulación sobre el hospedero.

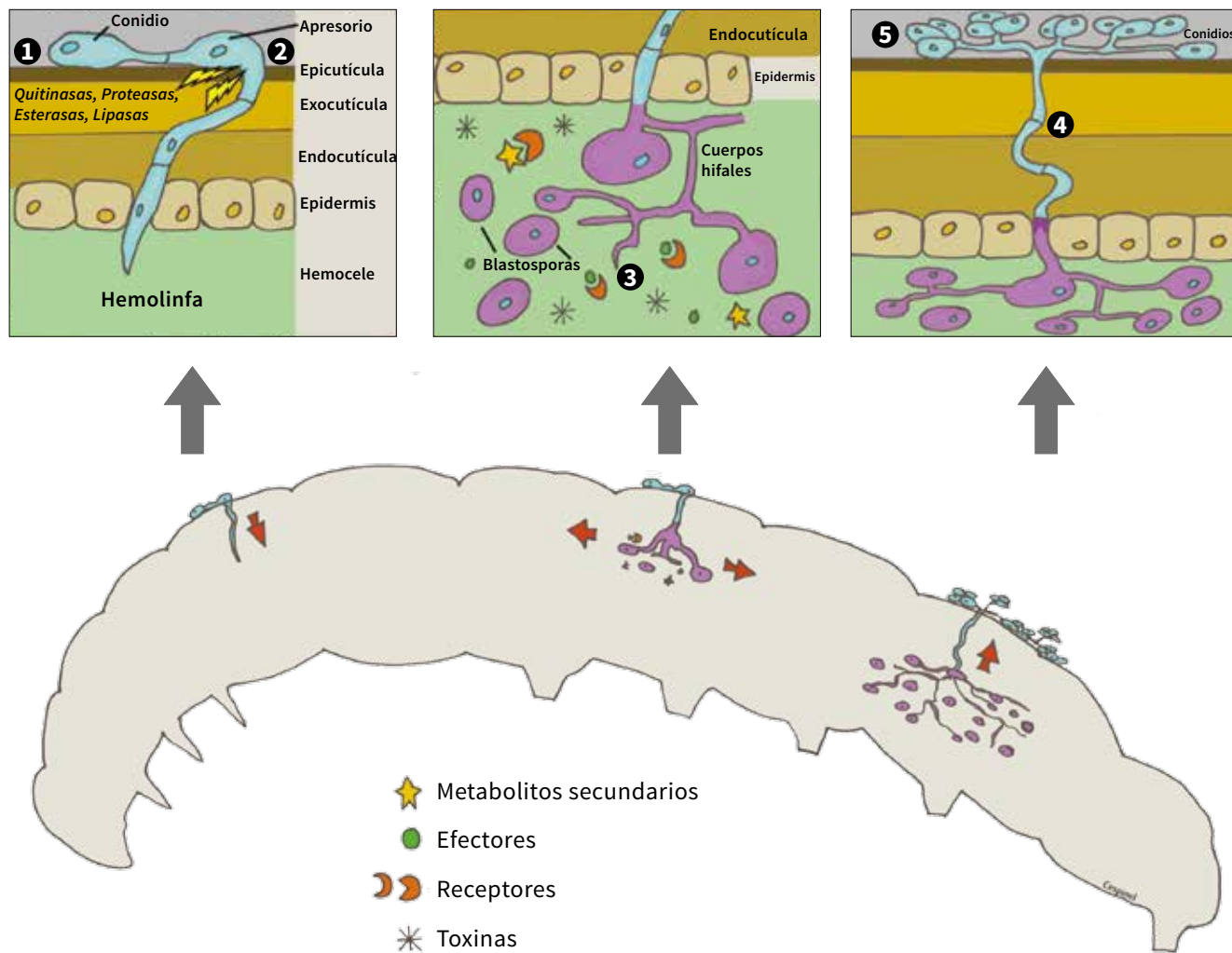


Figura 6.4. Esquema del proceso de infección de un hongo entomopatógeno.

Fuente: Elaboración propia basada en Wang y Wang (2017)

Según investigaciones bioquímicas, la formación del apresorio (hinchamiento en el extremo apical de los tubos germinales) es mediada por el Ca^{+2} intracelular y el adenosín monofosfato cíclico (AMPC). El mecanismo de acción de *M. anisopliae* ha sido ampliamente estudiado y ha podido ser atribuido a los demás hongos entomopatógenos.

Dichos estudios parecen indicar que la destrucción de la cutícula se inicia después del contacto con las estructuras del hongo, que lleva a cambios en el potencial de la membrana, posiblemente por la activación de un canal iónico mecanosensitivo, que resulta de una variación del gradiente de Ca^{+2} .

Por otra parte, se ha encontrado un notorio incremento en los niveles intracelulares de AMPC justo en el sitio de formación del apresorio (Clarkson, & Charnley, 1996).

Al mismo tiempo que esta estructura se forma, intervienen enzimas que degradan la cutícula, y que reaccionan ante los diversos compuestos de esta estructura de los insectos.

Entre tales enzimas hay diferentes proteasas, como la subtilisina (Pr1 A y B), la serina proteasa (Pr2), la enzima proteinasa 3 (Pr3), la cisteína proteasa (Pr4), la carboxipeptidasa (MeCPA), la metaloendoproteasa y la dipeptidil peptidasa, además de lipasas, esterases y quitinasas (poli N-acetil-b-D-glucosaminidasa y 1-4-b quitobiosidasa). La Pr1 producida por *M. anisopliae* ha sido ampliamente estudiada como modelo de patogenicidad (Alatorre-Rosas, 2007).

Una vez que el hongo penetra la epicutícula y la procutícula del insecto, llega a la hemolinfa y se

disemina a través de blastosporas y micelio. La muerte del insecto es causada por la combinación de tres factores: daño mecánico, desnutrición (el hongo consume azúcares y proteínas vitales del insecto) y la acción de metabolitos secundarios o toxinas (Gillespie, & Claydon, 1989).

Los hongos sintetizan metabolitos con acción tóxica. Algunas de las toxinas que intervienen en el proceso de infección se clasifican dentro de los depsipéptidos cíclicos. Hay toxinas que alteran el transporte de cationes a través de la membrana celular, como en el caso de la beauvericina, producida por *Lecanicillium* (*Verticillium*) *lecanii* y *B. bassiana*, además del basianolide, producido por este último hongo y por *Isaria fumosorosea* (*Paecilomyces fumosoroseus*). Además, en *B. bassiana* se encuentra la oosporeína, que tiene una actividad antimicrobiana que favorece el desarrollo del entomopatógeno.

A partir de *M. anisopliae* se han aislado dos grupos de toxinas: las destruxinas (depsipéptidos cíclicos) y las citocalasinas, cuya producción está relacionada con la toxicidad y virulencia entre aislamientos contra algunos insectos (Alatorre-Rosas, 2007; Kachaturians, 1991).

La salud del insecto se ve alterada mediante la acción de las toxinas que alteran los organelos celulares, lo que se manifiesta a través de parálisis celular y disfunción en el intestino medio y el tejido muscular. También se bloquea la reacción inmune del insecto, pues se impide la actividad fagocítica de los plasmacitos, lo cual favorece la rápida multiplicación del hongo (Kachaturians, 1991).

Luego de la muerte del huésped, y si las condiciones ambientales son favorables, las hifas emergen de este y ocurre la esporulación sobre su superficie (figura 6.5), que contribuye a la diseminación del hongo y la posterior infección de otros individuos (Alatorre-Rosas, 2007).

Ejemplos de desarrollo y uso de hongos entomopatógenos como bioinsecticidas a nivel internacional

Aunque la mayoría de los hongos entomopatógenos pertenecen a dos órdenes, Entomophthorales e Hypocreales (anteriormente Hyphomycetes) (Hajek, & St. Leger, 1994), los primeros son poco usados en el ámbito comercial.

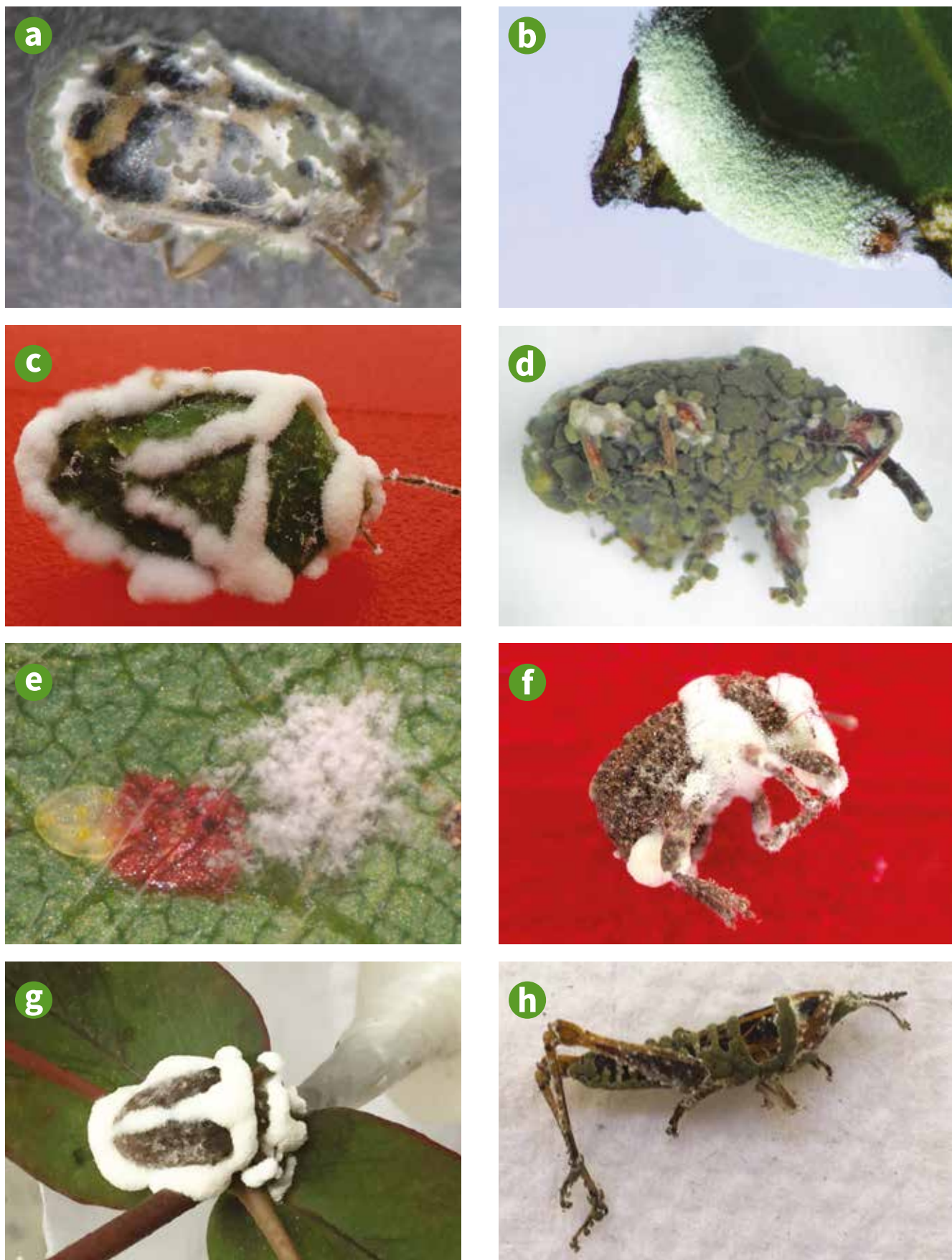
Dentro de los Entomophthorales se incluyen *Entomophaga*, *Entomophthora* y *Zoophthora* (Goettel, Inglis, & Wraight, 2000), que pueden producir zigosporas y azigosporas (esporas de reposo); son parásitos obligados con un limitado espectro de huéspedes, y su función principal es la de suprimir insectos a través de las epizootias. Su uso limitado puede atribuirse a que son difíciles de obtener masivamente, pues, en general, deben ser producidos en insectos huéspedes (Goettel et al., 2000).

La mayoría de los micoinsecticidas producidos a nivel mundial pertenecen a hongos Hypocreales, dentro de los que se encuentran *Beauveria* spp., *Metarhizium* spp., *Lecanicillium* spp. (anteriormente *Verticillium*) e *Isaria* spp. (antes *Paecilomyces*).

Como aparece en la tabla 6.1, en la cual se incluyen bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos registrados en Australia, Brasil, Canadá, la Unión Europea, Japón, Nueva Zelanda y Estados Unidos, se observa que se utilizan para controlar una amplia variedad de insectos plaga.

Aunque se piensa que cepas específicas de estos hongos exhiben una gama estrecha de huéspedes, se ha demostrado que las especies individuales, y en este caso, cepas particulares (tabla 6.1), son en realidad un complejo de especies polimórficas que exhiben una variada especificidad, lo que resulta en un amplio espectro de huéspedes (Fegan et al., 1993; Wang et al., 2005; Zimmermann, 2008).

B. bassiana es el entomopatógeno con mayor espectro de uso y del que se tiene un mayor número de productos comerciales a nivel mundial (De Faria, & Wraight, 2007). Los productos a base de *M. anisopliae* no están tan ampliamente disponibles en el mercado y tienen un menor rango de huéspedes, pero



Fotos: Carlos Espinel Correal

Figura 6.5. Infecciones características de hongos entomopatógenos. a. *M. anisopliae* sobre *Cerotoma tingomariana*; b. *Metarhizium (Nomuraea) rileyi* sobre *Spodoptera frugiperda*; c. *B. bassiana* sobre *Nezara* sp.; d. *Metarhizium robertsii* sobre *Anthonomus grandis*; e. Ninfa de *Bemisia tabaci*, individuo sano y esporulado por *L. lecanii*; f. *B. bassiana* sobre *Premnotrypes vorax*; g. *B. bassiana* sobre *Gonipterus platensis*; h. *M. anisopliae* sobre *Rhammatocerus schistocercoides*.

Tabla 6.1. Bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos para el control de insectos plaga registrados en diversos países

Microorganismo y cepa	País/región	Plagas blanco
<i>Beauveria bassiana</i> 147	EU ^c	<i>Rhynchophorus ferrugineus</i> e insectos de cuerpo blando
<i>Beauveria bassiana</i> 447	USA	Hormigas
<i>Beauveria bassiana</i> ANT 03	CA	Insectos de cuerpo blando
<i>Beauveria bassiana</i> ATCC 74040	EU, NZ (2013), USA	Arañas rojas, moscas blancas, trips y áfidos
<i>Beauveria bassiana</i> CG 716	BR	Moscas blancas, arañas rojas y escarabajos
<i>Beauveria bassiana</i> GHA	CA, EU, J	Moscas blancas, trips y áfidos
<i>Beauveria bassiana</i> HF 23	CA	Insectos de cuerpo blando
<i>Beauveria bassiana</i> IBCB 66	BR	Moscas blancas, arañas rojas y escarabajos
<i>Beauveria bassiana</i> IMI 389521	EU ^c	Escarabajos en granos almacenados
<i>Beauveria bassiana</i> k4b1	NZ (2005)	Trips
<i>Beauveria bassiana</i> k4b3	NZ (2009)	Insectos chupadores
<i>Beauveria bassiana</i> NPP 111B005	EU ^c	<i>Cosmopolites sordidus</i> y <i>Rhynchophorus ferrugineus</i>
<i>Beauveria bassiana</i> PL 63	BR	Moscas blancas, arañas rojas y escarabajos
<i>Beauveria brongniartii</i> NBL 851	J	<i>Anoplophora glabripennis</i>
<i>Isaria fumosorosea</i> Apopka 97 (antes <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>)	EU, J, USA	Moscas blancas, trips, áfidos y ácaros
<i>Isaria fumosorosea</i> Fe 9901	CA, EU	Moscas blancas
<i>Lecanicillium lecanii</i> (antes <i>Verticillium lecanii</i>) K4V1 + K4V2	NZ (2012)	Trips, moscas blancas, áfidos, pseudocóccidos, psílidos y <i>Scolypapa australis</i>
<i>Lecanicillium lecanii</i> K4V (antes <i>Verticillium lecanii</i>)	NZ (2012)	Moscas blancas, trips, áfidos y <i>Scolypapa australis</i>
<i>Lecanicillium muscarium</i> (antes <i>Verticillium lecanii</i>) Ve6	EU, J	Moscas blancas, trips
<i>Metarhizium anisopliae</i>	AUS	<i>Adoryphorus couloni</i>
<i>Metarhizium anisopliae</i>	AUS	<i>Dermolepida albohirtum</i>
<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acridum</i>	AUS	Langostas
<i>Metarhizium anisopliae</i> ESF 1	USA	Termitas
<i>Metarhizium anisopliae</i> IBCB 348	BR	Saltamontes
<i>Metarhizium anisopliae</i> PL 43	BR	Saltamontes
<i>Metarhizium anisopliae</i> SMZ 2000	J	Áfidos, trips, moscas blancas
<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> Bipesco 5/F52	CA, EU, USA	<i>Otiorhynchus sulcatus</i> y trips
<i>Paecilomyces tenuipes</i> T1	J	Moscas blancas, áfidos

AUS: Australia; BR: Brasil; CA: Canadá; EU: Unión Europea; J: Japón; NZ: Nueva Zelanda; USA: Estados Unidos; y c: Registro pendiente en EU.

Fuente: Adaptada de van Lenteren, Bolckmans, Köhl, Ravensberg y Urbaneja (2017)

las siete cepas citadas han sido usadas con éxito. *L. lecanii* (antes *Verticillium lecanii*), ha demostrado una amplia utilización para el control de varias especies de insectos.

Recientemente se han registrado productos a base de *I. fumosorosea* (antes *P. fumosoroseus*), de los que se cita el uso de dos cepas. Otros entomopatógenos mencionados como únicos productos y para pocas aplicaciones son *B. brongniartii* y *P. tenuipes*.

A pesar del importante potencial que han mostrado los hongos entomopatógenos, los desarrollos aún son incipientes a nivel comercial, si se tiene en cuenta que aún hay muchos géneros y especies inexplorados, o cuyos desarrollos han quedado en el ámbito del laboratorio.

Así mismo, la mayoría de los productos comerciales coinciden en las mismas plagas objetivo, y quedan todavía muchos insectos económicamente importantes que no cuentan con bioplaguicidas para su control.

Beauveria bassiana en el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari), en Colombia

Con la llegada en 1988 de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), a las zonas cafeteras de Colombia, las investigaciones del Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé) se encaminaron a desarrollar controladores biológicos basados en hongos entomopatógenos e insectos parasitoides (Bustillo, 1995).

Dado que en otros países en los que se encontraba este insecto se habían registrado infecciones con el hongo *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Bb), surgió la iniciativa de investigarlo, para determinar el papel que podría tener en el control de *H. hampei* en las condiciones de los ecosistemas cafeteros colombianos.

Estos agroecosistemas son permanentes y, debido al sombrío o autosombrío del café, hay bastante protección

de la radiación solar y, durante ciertos momentos del día, la humedad relativa alcanza niveles óptimos para que algunos hongos entomopatógenos se establezcan y puedan infectar insectos plaga. Otra situación que se tuvo en cuenta es el hábito de penetración del adulto de la broca en el fruto del café, que toma algún tiempo en el cual su cuerpo queda expuesto al ataque de controladores biológicos (figura 6.6a).

Estas consideraciones hicieron posible que se emprendiera un vasto programa de investigación, iniciado con la obtención de aislamientos de *B. bassiana* de diferentes partes del mundo y de Colombia, para seleccionarlos en función de su patogenicidad y virulencia, hasta llegar a la producción masiva y la evaluación de su eficacia en diferentes condiciones ecológicas de cafetales, para finalmente lograr un



Figura 6.6. Control biológico de la broca del café. a. Adulto de *H. hampei* penetrando un fruto maduro de café; b. Broca infectada por el hongo *B. bassiana* cuando penetraba un fruto de café; c. Frutos de café verdes infestados con *H. hampei* e infectados con *B. bassiana* (obsérvense las motas blancas).

Fotos: Luis Miguel Constantino y Alex Enrique Bustillo

insumo biológico e incluirlo dentro de un programa de manejo integrado de la broca del café (Bustillo et al., 1998).

En Cenicafé se desarrolló un bioensayo para seleccionar los aislamientos más patogénicos (González, Posada, & Bustillo, 1993). En condiciones de laboratorio, el ciclo de infección (desde la inoculación hasta la esporulación) de *Bb* sobre la broca fue de 8,2 días.

Además, se demostró la importancia de “reactivar la patogenicidad del hongo”, mediante pases del hongo sobre su hospedero, debido a que los cultivos sucesivos (por más de tres generaciones) pueden reducir su patogenicidad y aumentar la concentración letal (González et al., 1993). En los ensayos biológicos se encontró que las cepas de *B. bassiana* Bb9212 y Bb9205 produjeron una mortalidad más rápida en un tiempo promedio de $2,6 \pm 0,8$ y $4,2 \pm 1,1$ días, respectivamente.

Por otro lado, se estudió la producción promedio de conidios por broca muerta y se encontró que el aislamiento Bb9114 llegaba a producir hasta $8,8 \times 10^6$ conidios por adulto de broca (González, 1994) (figura 6.6b). En campo, esto equivaldría a una aplicación de $4,4 \times 10^{10}$ conidios/ha, lo que indicaría que en cada árbol en una hectárea (representada por 5.000 árboles de café) en promedio se encuentra una broca atacada y esporulada con el hongo.

Estos resultados fueron muy importantes, ya que motivaron la necesidad de seleccionar aislamientos que produjeran un alto número de conidios en el campo, para lograr que las infecciones secundarias permitieran mantener el inóculo infectivo en los cafetales.

Se investigaron dos sistemas de producción de *B. bassiana*. A nivel industrial (Morales, Cruz, Ocampo, Rivera, & Morales, 1991), la producción del hongo partió de cultivos puros, que sirvieron como inóculo para la obtención de blastosporas en fermentación líquida, las cuales se formularon como polvo.

A nivel artesanal, y con el fin de llevar este insumo biológico de forma oportuna al productor cafetero, Cenicafé desarrolló una metodología para que los caficultores pudieran producir el hongo en su finca (Antía, Posada, Bustillo, & González, 1992), mediante su cultivo en botellas con arroz y agua (Posada, & Bustillo, 1994).

Durante tres años, Cenicafé y el Servicio de Extensión de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia capacitaron aproximadamente a 20.000 agricultores en la producción del hongo, y en la actualidad muchos de ellos lo hacen a través de las cooperativas cafeteras. Además, el hongo denominado Cepa Cenicafé, con registro del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), se distribuyó de manera gratuita para el manejo de la plaga.

Con base en registros de Cenicafé, durante 1992 se utilizaron cinco toneladas de hongo, a una concentración de 1×10^8 conidios/g, con fines experimentales. En el año 1993, la producción de *B. bassiana* fue de 60 t, en 1994 se estimó en 100 t, y se incrementó de manera considerable en 1995 y 1996, hasta alcanzar cantidades de 200 y 300 t, respectivamente (Bustillo, 1995; Posada, 1993).

Una parte importante de la implementación del programa de control de *H. hampei* con *B. bassiana* fue el desarrollo de protocolos para el control de calidad de las formulaciones del hongo (Vélez et al., 1997), lo cual condujo a que el ICA reglamentara la producción de entomopatógenos en el país y, posteriormente, a que el Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (Icontec) estableciera normas técnicas nacionales sobre la producción, uso y control de calidad en los laboratorios comerciales que se dedican a esta actividad.

Varias formulaciones de *B. bassiana* se evaluaron en condiciones de campo, y en todos los casos el hongo se estableció en las poblaciones del insecto. No obstante, este entomopatógeno solo es efectivo cuando el insecto se infecta al tratar de penetrar la cereza, pero, una vez que el insecto está en el interior, la posibilidad de infección se reduce de forma significativa. El efecto del hongo se aprecia notoriamente cuando ocurren epizootias (figura 6.6c).

Los resultados de los experimentos de campo para el control de la broca con *B. bassiana*, realizados tanto en Colombia como en otros países (Barrios, & Mejía, 1996; Lacayo, Barrios, Jiménez, & Sandino, 1994; Sponagel, 1994), pueden ser muy variables, tal vez debido a diversos factores.

Entre ellos se encuentran la calidad del bioinsecticida que se haya utilizado, la calibración de los equipos

y de los operarios, la topografía de las fincas, la dinámica de la plaga y el momento de las aspersiones. Además de estos, la humedad y la radiación solar son definitivos, ya que esta última reduce la viabilidad de los conidios de *B. bassiana* en el campo a medida que se incrementa el tiempo de la exposición solar (Vélez, & Montoya, 1993).

Los estudios con hongos entomopatógenos para el control de *H. hampei* han sido muy fructíferos. Durante los primeros cinco años que siguieron a la detección de la broca en las zonas cafeteras, se logró aplicar el

hongo en los sitios donde se manifestó el brote inicial. *B. bassiana* se convirtió en agente de control natural, y en 1995 se llegó a estimar que, en promedio, el 45 % de la población de broca fue infectada por este hongo (Bustillo, 1995).

Los resultados de este programa lograron que se despertara el interés por realizar trabajos similares en otros cultivos y con otros hongos, aprovechando los conocimientos y las experiencias derivadas de estas investigaciones, así como los obtenidos por la industria privada.

***Lecanicillium lecanii* en el control de las moscas blancas *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* en Colombia**

De las más de 1.100 especies de moscas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae) identificadas en el mundo, en el caso del trópico solo un número limitado se consideran causantes de daño económico. Entre ellas se destacan *T. vaporariorum* (Westwood, 1856) y *B. tabaci* (Gennadius, 1889), por su importancia en diversos cultivos de hortalizas (Anderson, & Morales, 2005).

El daño se relaciona principalmente con la extracción de savia y la excreción de sustancias azucaradas, que favorecen el crecimiento del hongo *Capnodium* sp., el cual afecta la fotosíntesis y demerita la calidad del producto (Rodríguez, Bueno, Cardona, & Morales, 2012). Además, *B. tabaci* es vector de *Begomovirus* (Geminiviridae: Begomovirus), que puede llegar a causar pérdidas totales en cultivos de hortalizas (Anderson, & Morales, 2005).

De acuerdo con Perring (citado por Rodríguez et al., 2012), el biotipo B de *B. tabaci* tiene un mayor espectro de hospedantes y una densidad de población más alta, ocasiona la inducción de desórdenes fisiológicos, como la maduración desigual de frutos de tomate y el plateado de las hojas en cucurbitáceas, y cuenta con una mejor capacidad para adquirir resistencia a insecticidas con variados modos de acción, como los reportados por la Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD) (2009, citada por Rodríguez et al., 2012).

De igual forma, causa elevados niveles de resistencia a los insecticidas convencionales organofosforados, carbamatos y piretroides mencionados por Cardona et al. (2001), muchos de los cuales constituyen la alternativa más utilizada por los agricultores y en ocasiones la única, lo que conlleva riesgos ambientales y de salud humana.

Selección de cepas de hongos entomopatógenos con potencial para el control de moscas blancas *B. tabaci* y *T. vaporariorum*, y desarrollo de una formulación a base de un agente microbiano

Hacia finales de la década de los noventa, tras los resultados del estudio de López y García (2000), en el que se encontró una mayor incidencia de mosca blanca en los departamentos de Tolima, Huila, Santander y Córdoba, y el reporte efectuado por Quintero (citado por Rodríguez et al., 2012), en el que confirmó

la presencia del biotipo B de *B. tabaci* en Colombia, la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica) inició una investigación con el fin de disminuir la incidencia de la plaga y el uso de productos contaminantes utilizados para su control.

Se seleccionaron dos aislamientos nativos de *L. lecanii*, provenientes de cultivos de fríjol y habichuela del Sumapaz, pues presentaron los mayores niveles de infección, superiores al 80 %, y fueron codificados como C17 y C26 (este último fue posteriormente codificado como V1026) (García, & López-Ávila, 2006).

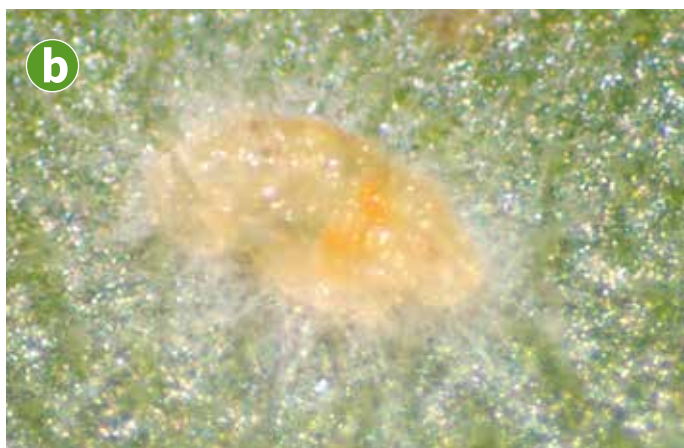
Con el fin de buscar un mayor rango de potenciales biocontroladores, Espinel, Torres, González y Cotes (2006) evaluaron 15 aislamientos nativos, colectados en diferentes zonas agroecológicas del país, y pertenecientes a los géneros *Beauveria* e *Isaria*, así como ocho de *L. lecanii* (V1026), *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *M. rileyi*, conservados en el banco de germoplasma.

A los seleccionados en un primer ensayo se les determinó la concentración letal media, y se encontraron sus respectivos valores: V1026 de *L. lecanii* ($5,0 \times 10^6$ conidios/ml⁻¹), Bv056 de *B. bassiana*

($3,5 \times 10^6$ conidios/ml⁻¹) y Pc007 de *I. fumosorosea* ($2,4 \times 10^5$ conidios/ml⁻¹).

Luego de un análisis de las características biológicas y tecnológicas del aislamiento V1026, Corpoica decidió desarrollar un bioplaguicida formulado como granulado dispersable (wg) con protectores solares y de secado, adherentes y diluentes (Santos, Uribe, Zuluaga, & Villamizar, 2012) (figuras 6.7a y b).

Con el fin de evaluar la estabilidad del producto formulado en relación con la actividad biocontroladora en condiciones de laboratorio, se llevó a cabo un ensayo de almacenamiento durante tres y seis meses, a tres temperaturas (8 °C, 18 °C y 28 °C). Se encontró que la eficacia del bioplaguicida se mantuvo por encima del 80 % hasta por seis meses de almacenamiento a 8 °C, mientras que a 18 °C esta disminuyó. Así mismo, cuando el bioplaguicida se mantuvo a 28 °C durante tres meses, su eficacia se redujo (Corpoica, 2011).



Fotos: Carlos Espinel Correal

Figura 6.7. Bioplaguicida Lecabiol® para el manejo de poblaciones de *B. tabaci* y *T. vaporariorum*. a. Ninfa de *B. tabaci* infectada con *L. lecanii*. b. Ninfa de *T. vaporariorum* infectada con *L. lecanii*, principio activo de Lecabiol®; c. Aplicación de Lecabiol® para el control de *B. tabaci* en soya.

Evaluación del bioplaguicida a base de *L. lecanii* en condiciones de campo

El mayor reto del bioplaguicida fue someter su efectividad en diferentes condiciones de sistemas de cultivos y ante las dos principales plagas de moscas blancas en Colombia. Por esta razón, con el propósito de evaluar técnicas de aplicación del producto formulado a base de *L. lecanii* para el control de *T. vaporariorum* en cultivos de habichuela en Arbeláez (Cundinamarca), se establecieron ensayos en los que se determinaron el sistema de aplicación, el porcentaje de infección de ninfas y el rendimiento del cultivo (Jiménez, García, Villamizar, & Cotes, 2006).

La mejor calidad de aplicación del producto se presentó cuando se obtuvo una cobertura de 70 gotas/cm² en el envés de las hojas, con la utilización de aspersores de espalda de presión constante. El mayor porcentaje de infección de ninfas (78 %) se obtuvo en los tratamientos con la formulación a base de *L. lecanii*, en contraste con el manejo convencional y el testigo absoluto, en los que hubo una infección en ninfas por debajo del 5 %. En relación con la producción, el mayor rendimiento, de 11,6 t/ha⁻¹, se obtuvo en la parcela en la que se aplicó el bioproducto, frente a 7,0 t/ha⁻¹ con el tratamiento convencional, y 5,1 t/ha⁻¹ en el testigo absoluto (Jiménez et al., 2006).

El producto formulado fue evaluado para el control de *T. vaporariorum* en cultivos de tomate en invernadero en el municipio de Pasca (Cundinamarca) (Garzón, Villamizar, Cotes, García, & López-Ávila, 2006). Los tratamientos consistieron en: 1) manejo convencional; 2) aplicación del bioplaguicida a base de *L. lecanii* e insecticida químico (Acetamiprid), según los niveles de población de ninfas; 3) aplicación cada 15 días, a partir de la aparición de huevos y adultos, y 4) tratamiento con manejo integrado de plagas (MIP), con la incorporación del bioproducto.

El mayor porcentaje de infección de ninfas se presentó en el tratamiento con frecuencia quincenal de aplicación después de la aparición de adultos y huevos (68,1 %); seguido del obtenido con la aplicación del bioplaguicida y el insecticida químico (36,6 %); el MIP (25 %), y el tratamiento convencional (1,3 %).

Estos resultados concuerdan con la producción obtenida al final del ciclo, en los que la más importante se

logró en el tratamiento con aplicación quincenal de *L. lecanii* (68,01 t/ha⁻¹), seguida de la que consistió en el bioplaguicida y el insecticida químico (67,84 t/ha⁻¹), el MIP (67,26 t/ha⁻¹) y, por último, el tratamiento convencional (64,43 t/ha⁻¹) (Garzón et al., 2006).

Con el propósito de evaluar la eficacia del bioplaguicida a base de *L. lecanii* sobre *B. tabaci* en cultivos de melón, se estableció un ensayo en el municipio de El Espinal (Tolima), para el que se contó con una parcela denominada MIP, en la que se incorporaron aplicaciones del bioproducto, y otra con el manejo convencional del agricultor.

En la parcela MIP, la producción fue de 29,4 t/ha⁻¹, con un índice beneficio/costo de 1,9, frente al tratamiento convencional, cuya producción fue de 25 t/ha⁻¹, con un índice de beneficio/costo de 1,6 (Espinel, Lozano, Cotes, & López-Ávila, 2006).

La afectación de *B. tabaci* en el algodón se debe principalmente a la acumulación de sustancias azucaradas (miel de rocío) secretadas por el insecto sobre las diferentes estructuras de la planta. Lo anterior favorece el crecimiento del hongo *Capnodium*, causante de la fumagina, que deteriora la calidad de la fibra, por lo que causa pegajosidad y acarrea pérdidas cuantiosas para los productores, a causa del rechazo inmediato de estas fibras por parte de la industria (desmotadoras) (Rivera, & Zuluaga, 2012).

Por tal razón, se establecieron ensayos en cultivos de algodón en Cereté (Córdoba) y en El Espinal (Tolima), así como en cultivos de berenjena en Cereté, dado su potencial para exportación y por constituir una alternativa para aliviar la saturación de mercados con otros productos (Espinel, Zuluaga, Jiménez, & Gómez, 2012).

Con el fin de determinar la frecuencia de aplicación de la formulación a base de *L. lecanii* en los cultivos en mención, se establecieron ensayos con medidas repetidas en el tiempo, cuyos tratamientos consistieron en la aplicación semanal del producto en la dosis recomendada (500 g/ha) y en aplicaciones tras el registro de un 40 % de infestación en la población de adultos y ninfas de mosca blanca (Corpoica, 2011).

Como resultado, se encontró que, en términos generales, en los seis ensayos establecidos en cultivos de algodón en el interior del país y en la costa atlántica,

Tabla 6.2. Frecuencias de aplicación de *L. lecanii* en cultivos de algodón y berenjena en la costa Caribe y en el interior de Colombia

Cultivo	Región	Repetición en el tiempo	Variables	<i>L. lecanii</i> semanal	<i>L. lecanii</i> con nivel de <i>B. tabaci</i>
Algodón	Costa atlántica	I	N.º de aplicaciones	11	5
			Producción t/ha	2,30	1,70
			Beneficio/costo	2,2	1,8
		II	N.º de aplicaciones	9	4
			Producción t/ha	4,20	4,30
			Beneficio/costo	3,0	3,6
	Interior del país	I	N.º de aplicaciones	14	0
			Producción t/ha	2,90	3,40
			Beneficio/costo	1,7	2,2
		II	N.º de aplicaciones	8	0
			Producción t/ha	3,05	4,04
			Beneficio/costo	1,4	2,3
Berenjena	Costa atlántica	I	N.º de aplicaciones	15	6
			Producción t/ha	48,80	51,80
			Beneficio/costo	1,6	1,9
		II	N.º de aplicaciones	13	6
			Producción t/ha	41,70	47,70
			Beneficio/costo	1,8	2,1

Fuente: Espinel et al. (2012)

así como en los de berenjena, tanto la producción como el índice beneficio/costo fueron superiores en las parcelas en las que se aplicó el producto a base de *L. lecanii* tras el registro del nivel de moscas blancas, a excepción del ciclo I de algodón en la costa atlántica (tabla 6.2) (Corpoica, 2011).

Con la frecuencia de aplicación seleccionada para *L. lecanii* en parcelas semicomerciales de berenjena en Córdoba y de algodón en Tolima y Córdoba, se realizó un ensayo en el que se estableció una parcela de manejo integrado del cultivo (MIC)

con la incorporación del bioplaguicida, y otra con manejo convencional.

En las evaluaciones de la población de mosca blanca se observaron niveles significativamente mayores de insectos en las parcelas con manejo convencional a los de las MIC. Se podría atribuir este efecto al bioproducto y a la implementación de buenas prácticas agrícolas en el cultivo, que, además de presentar una mayor producción y un índice beneficio/costo superior (tabla 6.3), tuvo una disminución de los daños directos e indirectos ocasionados por la acción del insecto.

Tabla 6.3. Evaluación de parcelas MIC y convencionales en cultivos de algodón y berenjena en la costa Caribe y en el interior del país

Cultivo	Región	Repetición en el tiempo	Variables	MIC	Convencional
Algodón	Costa atlántica	I	Producción t/ha	2,52	2,50
			Beneficio/costo	3,50	2,90
	Interior del país	I	Producción t/ha	1,50	1,70
			Beneficio/costo	1,40	1,30
		II	Producción t/ha	1,92	1,89
			Beneficio/costo	1,86	1,72
Berenjena	Costa atlántica	I	Producción t/ha	19,50	12,10
			Beneficio/costo	2,70	2,10
		II	Producción t/ha	19,90	21,20
			Beneficio/costo	3,20	3,5

Fuente: Espinel et al. (2012)

Esta reducción se evidenció, en el algodón con tratamiento MIC, en la presencia ligera-baja de fumagina —en contraste con el manejo convencional, en la que fue fuerte-baja—, una mayor resistencia de fibra (30 libras de resistencia/pulgada²) —frente a 26— y una coloración deseable de la fibra, aspectos que determinan su calidad (Corpoica, 2011).

Registro del bioproducto Lecabiol, agente microbiano a base de *L. lecanii*

Con base en los resultados obtenidos en las evaluaciones del bioproducto a base de *L. lecanii* para el control de moscas blancas, así como su efecto inocuo

para el medioambiente (aire, agua, fauna benéfica y mamíferos, entre otros), en enero de 2014 se inició el proceso para acceder al registro del bioproducto para uso agrícola como agente microbiano ante el ICA, y con ese fin se dio cumplimiento a lo dispuesto en la Resolución ICA 00698 del 4 de febrero de 2011.

El 26 de abril de 2016 se obtuvo el Registro del ICA 00004565 del bioinsumo Lecabiol®, para el control de la mosca blanca *B. tabaci* en el cultivo de algodón, el cual se encuentra a disposición del sector productivo (Corpoica, 2016), y recientemente se realizaron las pruebas de eficacia con el fin de ampliar el registro para los cultivos de soya (figura 6.7c), tomate, pimentón, berenjena, uchuva, tomate de árbol y ají. Se obtuvo el registro para estos cultivos bajo la Resolución del ICA 00017959 del 21 de diciembre de 2017.

Metarhizium anisopliae para el control de la langosta llanera, *Rhammatocerus schistocercoides*, en Colombia

Durante 1994 y 1995, en los llanos orientales de Colombia se registró un incremento alarmante de la población de un acrido identificado como *R.*

schistocercoides (Rehn, 1906), el cual también está presente en el estado de Apure (Venezuela) y la región de Mato Grosso (Brasil).

El insecto invadió principalmente los departamentos del Meta, Vichada, Casanare y Arauca, llegó hasta el piedemonte y causó daños considerables a pastos nativos (*Trachypogon vestitus*, *Trachypogon plumosus*, *Paspalum* spp., *Axonopus* spp. y *Andropogon* spp.) en las praderas de pastos mejorados dedicados a la ganadería (*Brachiaria* spp.), y a algunos cultivos de importancia económica, como el arroz (Ebratt, Espinel, Gómez et al., 2000).

Debido a la poca o escasa información sobre este insecto en el país, como primera medida se adelantaron estudios sobre su biología, comportamiento y distribución (Ebratt, Espinel, Gómez et al., 2000; Ebratt, Espinel, & Cotes, 1998, 2000). Teniendo en cuenta el riesgo real y potencial para la agricultura de los llanos orientales, en paralelo con el estudio biológico del insecto, Corpoica comenzó el desarrollo de un bioplaguicida a base de aislamientos nativos de *Metarhizium* spp.

La experiencia mundial en el control de acrididos con este hongo es muy alta. Se han aislado más de 20 cepas de *Metarhizium flavoviridae* y de *M. anisopliae* var. *acridum*, y han sido evaluadas usando técnicas de aspersión de ultrabajo volumen (ULV) en varios continentes (Bateman et al., 1994; Moore, Reed, Le Patourel, Abraham, & Prior, 1992; Prior, 1995). En Brasil, se hicieron pruebas de *M. flavoviridae* contra *R. schistoceroides* en campo, y se logró un 54 % de mortalidad a los 21 días (Magalhães, Faria, & Guerra, 1996).

Como primer aspecto para el desarrollo del bioplaguicida, en Corpoica se seleccionaron dos aislamientos de *M. anisopliae*, por su alta actividad biocontroladora en laboratorio (100 %) y su alta virulencia, con una dosis letal de 5 y 7 conidios por insecto (Espinel, Ebratt, & Cotes, 1998).

Mientras tanto, se fue avanzando en el desarrollo tecnológico del bioplaguicida, teniendo en cuenta factores como la producción masiva, la preformulación de prototipos y la formulación de los conidios de los aislamientos con diversos excipientes, entre ellos, filtros solares para proteger al biocontrolador de los efectos nocivos de la radiación ultravioleta del sol (Ebratt, Espinel, Gómez et al., 2000; Gómez, Villamizar, & Cotes, 1997).

Los aislamientos seleccionados y formulados se evaluaron en condiciones semicontroladas de campo en la Orinoquia colombiana, sobre ninfas y estados ninfales iniciales de la langosta (tercer a quinto instar), y se tomaron como control los conidios sin formular. Los tratamientos se aplicaron con una bomba ULV en el interior de jaulas de muselina instaladas en campo abierto, donde se encontraban recluidos los insectos en estado adulto.

El mejor resultado se dio con el aislamiento formulado, el cual obtuvo un 68 % de eficacia, en contraste con el mismo aislamiento sin formular, que tan solo consiguió el 28 %. La mortalidad obtenida con la formulación fue alta, teniendo en cuenta las condiciones ambientales en las que se realizó la prueba, pues se hizo en verano (35 °C y 56 % de humedad relativa en promedio).

Por consiguiente, la formulación favoreció la protección de los conidios ante factores ambientales adversos. Al ser aplicada sobre estados ninfales, la eficacia fue superior y obtuvo un 81,5 % con los conidios formulados (Ebratt, Espinel, Gómez et al., 2000; Espinel et al., 1998).

Una vez establecidos los niveles de control en las condiciones semicontroladas de campo, se llevó a cabo la evaluación en campo abierto sobre enjambres de langostas y, aprovechando el conocimiento adquirido sobre su biología y comportamiento, se estableció que el blanco donde se aplicaría sería un enjambre de ninfas en sus primeros estadios.

Para tal fin se utilizaron dos tipos de equipos de aplicación, una bomba ULV y una convencional de espalda, así como dos formas de atacar el enjambre, una, perturbándolo en aplicación en "Z", y otra, sin perturbarlo, aplicando el bioplaguicida paralelo al enjambre y aprovechando la deriva del viento. El mejor resultado se dio con equipo ULV sin perturbar el enjambre, con el 63,2 % de eficacia, mientras que, con el otro método, fue de 51 % (Ebratt, Espinel, Gomez et al., 2000).

Durante los cinco años del proyecto, se estudiaron muchos otros aspectos, como el impacto del bioplaguicida en organismos que no eran blanco (depredadores y parasitoides) y en la entomofauna propia de la región, en los inductores de virulencia del hongo, y muchos más aspectos tecnológicos del bioproducto.

En términos generales, fue un gran aprendizaje para el laboratorio, y aunque en la actualidad este insecto no está causando un riesgo marcado, su comportamiento gregario e invasivo podría ocasionar de nuevo un fenómeno de infestación, como el ocurrido entre 1994

y 1998, afectando en mayor proporción los cultivos de la altillanura, teniendo en cuenta que hoy en día hay allí grandes extensiones de diferentes cultivos que no estaban presentes anteriormente y que podrían ser fuente de alimentación de esta voraz plaga.

Producción comercial de bioplaguicidas para el control de insectos plaga en Colombia

Colombia tiene una larga tradición en el uso del control microbiano de plagas, si se tiene en cuenta que en los años setenta se utilizó un baculovirus importado de Estados Unidos para controlar *Trichoplusia ni* (Hübner) y *Heliothis* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivos de algodón (Moscardi, 1999). Posteriormente, el Centro Nacional de Investigación del Café (Cenicafé) promovió la producción de *Beauveria bassiana* (Bals.).

Esto favoreció de manera significativa el trabajo en torno al control microbiano y alentó a muchas empresas e institutos de investigación a dedicar esfuerzos para el desarrollo de bioplaguicidas (Cadena, 2005), como en el caso de Corpoica, que en 1994 inició investigaciones y desarrollos que iban desde la búsqueda de microorganismos de biocontrol eficaces hasta la evaluación en campo de productos formulados, acompañada de demostraciones de campo o de invernadero.

Estas tecnologías desarrolladas localmente han hecho que Colombia se destaque en Sudamérica por sus capacidades de desarrollo, producción y comercialización de bioplaguicidas. En la actualidad hay 47 empresas (registradas y no registradas) que venden entomopatógenos para múltiples aplicaciones. Los hongos individuales, y en mezcla con otros microorganismos, son los más producidos, en contraste con bacterias y baculovirus (ICA, 2016, 2017).

Sin embargo, *B. bassiana* y *B. brongniartii* son las especies más producidas por la mayoría de las empresas. Otros hongos ampliamente producidos, aunque en la mayoría de los casos sin registro de venta, son *I. fumosorosea*, *Purpureocillium lilacinum*, *L. lecanii* y *M. anisopliae*. El grupo que menos se produce y que, al igual que en el caso anterior, casi nunca cuenta con registro, está representado por *M. (Nomuraea) rileyi*, *Entomophthora virulenta*, *Hirsutella thompsonii* y *Akanthomyces* sp. (tabla 6.4).

Tabla 6.4. Bioplaguicidas producidos en Colombia para el control de insectos

Hongo biocontrolador	Plaga, según el producto	Compañía y departamento
<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill.	Áfidos, broca del café, escarabajos comedores de hojas, hormigas cortadoras, ácaros, trips, coleópteros polífagos, moscas blancas, chinches, insectos escama y lepidópteros	Registrados: Bio-Crop s. A. s. (Val), Bioecológicos Ltda. (Cun), Bioprotección s. A. s. (Cal), Core Biotechnology s. A. s. (Val), Inproarroz s. A. (Cas), Laverlam s. A. (Val), Mycos International s. A. s. (Cun), Soluciones Microbianas del Trópico Ltda. (Cal)
		No registrados: 21

(Continúa)

(Continuación tabla 6.4)

Hongo biocontrolador	Plaga, según el producto	Compañía y departamento
<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill. + <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) Sorokin + <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Thom) (vendido como <i>Paecilomyces lilacinus</i>)	Broca del café y hemípteros	Registrado: Orius Biotecnología Ltda. (Met)
<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill. + <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) Sorokin + <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	Broca del café y moscas de la fruta	Registrado: Safer Agrobiológicos s. A. s. (Ant)
<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill. + <i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Copitarsia</i> sp.	Registrado: Natural Control Ltda. (Ant)
<i>Beauveria brongniartii</i> (Saccardo) Petch	Larvas de escarabajos, insectos escama y moscas blancas	Registrado: Sanitex s. A. s. No registrados: 2
<i>Entomophthora virulenta</i> I. M. Hall & P. H. Dunn	Áfidos, ácaros, trips y moscas blancas	No registrados: Agroproductiva s. A. (Val), Bionova Ltda. (Val), Laverlam s. A. (Val)
<i>Hirsutella thompsonii</i> Fisher + <i>Akanthomyces</i> sp.	Varias especies de ácaros	No registrado: 1
<i>Isaria fumosorosea</i> Wize (también referenciado como <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>)	Ácaros, minadores de hojas, trips y moscas blancas	Registrados: Bio-Crop s. A. s. (Val), Mycros International s. A. s. (Cun) No registrados: 9
<i>Lecanicillium lecanii</i> R. Zare & W. Gams	Áfidos, insectos escama, trips y moscas blancas	Registrados: Corpoica (Cun), Natural Control s. A. (Ant) No registrados: 12
<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) Sorokin	Larvas de escarabajos, hormigas cortadoras de hojas, larvas de mosquitos, gorgojos y cercópodos	Registrados: Bioprotección s. A. s. (Cal), Inproarroz s. A. (Met), Live Systems Technology s. A. (Cun), Sanitex s. A. s. (Cas), Soluciones Microbianas del Trópico Ltda. (Cal) No registrados: 19
<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) Sorokin + <i>Paenibacillus popilliae</i> (Dutky) (también referenciado como <i>Bacillus popilliae</i>)	Gusanos blancos	Registrados: Natural Control s. A. (Ant)
<i>Metarhizium</i> sp.	Larvas de escarabajos, hormigas cortadoras de hojas, larvas de mosquitos, gorgojos y cercópodos	No registrados: 2

(Continúa)

(Continuación tabla 6.4)

Hongo biocontrolador	Plaga, según el producto	Compañía y departamento
<i>Metarhizium rileyi</i> (Farlow) Kepler S. A. Rehner & Humber (también referenciado como <i>Nomuraea rileyi</i> [Farl.] Samson)	Orugas	No registrados: 2
<i>Purpureocillium lilacinum</i> (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones & Samson (incluye productos vendidos como <i>Paecilomyces lilacinus</i>)	Escarabajos y perlas de tierra	Registrados: Bio-Crop S. A. S. (Val), Core Biotechnology S. A. S. (Val), Innovak Colombia Ltda. (Cun), Live Systems Technology S. A. (Cun), Mycros International S. A. S. (Cun), Natural Control S. A. (Ant), Soluciones Microbianas del Trópico Ltda. (Cal)
		No registrados: 21

Ant: Antioquia; Boy: Boyacá; Cal: Caldas; Cas: Casanare; Cau: Cauca; Cun: Cundinamarca; Mag: Magdalena; Met: Meta; Tol: Tolima; Val: Valle del Cauca.

Fuente: Basado en ICA (2016, 2017)

Cabe señalar que estas cifras excluyen tanto a los laboratorios privados pertenecientes a las empresas que producen biocontroladores para su propio uso como a las empresas creadas recientemente.

Limitaciones para la producción y el uso de hongos entomopatógenos

Limitaciones de producción

La estructura fúngica que por lo general se utiliza como ingrediente activo de los bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos es el conidio. Estos propágulos asexuales son de naturaleza aérea y, por lo tanto, su principal y más eficiente sistema de producción masiva es la fermentación en estado sólido (SSF) o fermentaciones bifásicas, en las que se cultiva el hongo en un medio líquido, para producir un inóculo abundante y metabólicamente activo; más adelante, este cultivo se inocula en el sustrato sólido, para promover la conidiación (Jaronski, & Jackson, 2012).

El rendimiento de la fermentación en estado sólido depende de diversos factores bióticos y abióticos, como la composición del sustrato, el pH, la actividad del

agua (Aw), la humedad, la aireación, la temperatura y la luz, entre otros, los cuales también determinan características de los conidios obtenidos, como germinación, virulencia y tolerancia a condiciones ambientales, a la radiación ultravioleta y al envejecimiento en almacenamiento (Jackson, Dunlap, & Jaronski, 2010; Lacey et al., 2015; Santos, De Brito-Brandão, & Rivero, 2017).

Una de las principales limitaciones para la producción de conidios utilizando este tipo de fermentación es el sustrato, ya que la mayoría de ellos son productos o residuos agrícolas, como el arroz, la cebada, el trigo, la lenteja, el frijol y la caña de azúcar, entre otros (Jaronski, & Jackson, 2012; Pandey, 1992; Prabhakar, Krishnaiah, Janaun, & Bono, 2005), cuya composición nutricional es imposible de controlar entre los diversos lotes de producción.

Asimismo, como la principal fuente de carbono de estos sustratos naturales es el almidón, que hace parte de la estructura, cuando el microorganismo crece, el medio sólido se degrada y cambian las características físicas del soporte. En la mayoría de los casos estos cambios reducen la capacidad de transferir calor y masa (Barrios, & Mejía, 1996; Manpreet, Sawraj, Sachin, Pankaj, & Banerjee, 2005).

También es importante considerar que estos materiales tienen un alto valor como fuente alimenticia, por lo que su uso para producción de hongos compete con su aprovechamiento como fuente de alimentación humana o animal. En la actualidad, las investigaciones se han encaminado al uso de soportes inertes en el medio de cultivo, que contienen los nutrientes disueltos en una solución líquida. Además, el uso de estos soportes permite un mejor control del proceso, así como mayores reproducibilidad y facilidad para el modelamiento que las que se logran con los soportes naturales (Cruz, 2014).

Otro problema de la fermentación en estado sólido es su escalamiento a nivel industrial, debido a la necesidad de manejar grandes volúmenes de sustrato para la producción y de residuos después de la recuperación de los conidios. De igual forma, se presentan problemas para controlar el proceso, relacionados con el control de la temperatura y la humedad (gradientes), debido a la actividad metabólica del microorganismo (Mitchell, Von Meien, & Krieger, 2003), así como en la transferencia de oxígeno (Bellon-Maurel, Orliaca, & Christen, 2003; Cruz, 2014; Dos Santos, Da Rosa, Dal'Boit, Mitchell, & Krieger, 2004).

Además, los procesos de fermentación sólida requieren tiempos prolongados, que pueden oscilar entre 7 y 14 días, para lograr una adecuada colonización del sustrato y su posterior esporulación (Cruz, 2014; Jaronski & Jackson, 2012; Santos et al., 2017). Así mismo, en la recuperación de los conidios se presentan dificultades para manipular el sustrato esporulado, evitar las emisiones de polvos (conidios), y minimizar las pérdidas en los procesos de separación, ya sea de modo seco o húmedo.

Con miras a superar estas limitaciones, se han enfocado diferentes esfuerzos en el desarrollo de medios de cultivo y condiciones para la producción de conidios en cultivo sumergido o fermentación

líquida (Leland, Mullins, Vaughan, & Warren, 2005; Vega, Jackson, Mercadier, & Poprawski, 2003; Zhang, & Xia, 2008), o para la producción y utilización de estructuras fúngicas alternativas que tal vez se puedan producir más fácilmente en cultivo sumergido, como las blastosporas o los microesclerocios (Lacey et al., 2015), que se describen en detalle en el capítulo 21 de este libro, titulado “Nuevas estrategias en el control biológico de insectos”.

Limitaciones ambientales

Los factores que más influyen en el desarrollo y la patogenicidad de los hongos entomopatógenos, así como en el desarrollo de la enfermedad a nivel epizoótico, son la temperatura, la humedad relativa y la radiación ultravioleta.

Temperatura

La fluctuación de la temperatura ambiental es una de las principales limitaciones para el establecimiento de los hongos entomopatógenos en condiciones de campo, debido a que puede afectar negativamente su viabilidad y eficacia (De Crecy, Jaronski, Lyons, Lyons, & Keyhani, 2009).

Por lo general, la temperatura adecuada para la germinación y el crecimiento de la mayoría de los hongos entomopatógenos está entre 20 °C y 28 °C, con un óptimo de 25 °C, y depende en muchos casos de la procedencia del aislamiento, por lo que aquellos que tienen un origen tropical crecen mejor a temperaturas más altas (cerca de los 30 °C), en comparación con algunos aislamientos de plagas del suelo, que pueden crecer mejor a temperaturas inferiores a los 10 °C (Fargues, Maniania, Delmas, & Smits, 1992).

Sin embargo, la temperatura óptima para el crecimiento no es necesariamente la adecuada para la germinación de los conidios y el desarrollo de la enfermedad en los insectos (Ortiz-Catón et al., 2011), ya que durante la infección se combinan los efectos de la temperatura en el crecimiento del patógeno y en el desarrollo del insecto.

Por ejemplo, cuando las temperaturas son elevadas, se reduce el tiempo entre mudas o duración de los estadios larvales, lo que puede evitar la penetración del tegumento (Ferron, 1978). Pero, cuando son bajas, también se puede afectar el desarrollo de la infección, ya que los conidios requieren más tiempo para germinar e iniciar el proceso de penetración de la cutícula (Ortiz-Catón et al., 2011), lo que los deja expuestos por más tiempo a las condiciones ambientales adversas, que pueden causar su muerte antes de que se inicie la infección del hospedero.

Además de la penetración, las velocidades de invasión del cuerpo del insecto, de muerte y de esporulación del cadáver también se ven directamente afectadas

por la temperatura, mientras esta no llegue a valores extremos que causen la muerte del hongo.

La temperatura también es un factor crítico durante el almacenamiento y la comercialización de bioplaguicidas formulados a base de hongos, pues determina su vida útil. La estabilidad en el almacenamiento depende de una combinación de factores, como la especie fúngica, las características propias de la cepa, la formulación y el empaque, pero la temperatura y sus fluctuaciones son determinantes en la calidad del producto, como se evidencia en la tabla 6.5, donde se presentan algunos ejemplos de productos comerciales y las recomendaciones para almacenarlos.

Tabla 6.5. Vida útil y recomendaciones de almacenamiento de algunos bioplaguicidas comerciales a base de hongos entomopatógenos

Empresa	País / región	Nombre / formulación	Microorganismo	Vida útil / temperatura	Referencia
BioWorks Inc.	EE. UU.	Mycotrol WPO	<i>Beauveria bassiana</i> GH4	12 meses / ambiente	BioWorks Inc. (2017)
BioWorks Inc.	EE. UU.	Botanigard 22WP	<i>Beauveria bassiana</i> GH4	12 meses / ambiente	BioWorks Inc. (2017)
BioWorks Inc.	EE. UU.	BotaniGard ES	<i>Beauveria bassiana</i> GH4	8 meses / ambiente	BioWorks Inc. (2017)
Certis	EE. UU.	PFR-97	<i>Isaria fumosorosea</i> Apopka strain 97	12 meses / refrigeración	Certis U. S. A. (2015)
BASF	Senegal	Green Muscle EC	<i>Metarhizium anisopliae</i>	3 años / refrigeración	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2002)
				2 años / 10 a 20 °C	
				1 año / 30 °C	
Koppert	Brasil	Metarril WP	<i>Metarhizium anisopliae</i>	1 mes / 40 °C	Koppert do Brasil Holding (2017b)
				30 días / 24 a 26 °C	
				180 días / 0 a 4 °C	
				12 meses / -4 °C	

(Continúa)

(Continuación tabla 6.5)

Empresa	País / región	Nombre / formulación	Microorganismo	Vida útil / temperatura	Referencia
Koppert	Europa	Mycotal wg	<i>Lecanicillium muscarium</i>	6 meses / 4 a 8 °C	Koppert Biological Systems (2014, 2017)
Koppert	Brasil	Boveril wp®	<i>Beauveria bassiana</i>	30 días / 24 a 26 °C 180 días / 0 a 4 °C 12 meses / -4 °C	Koppert do Brasil Holding (2017a)

Fuente: Elaboración propia

Claramente se observa que la vida útil disminuye a medida que aumenta la temperatura de almacenamiento, lo que ha sido demostrado para diferentes especies fúngicas (Alves, Bateman, Gunn, Prior, & Leather, 2002; Hedgecock, Moore, Higgins, & Prior, 1995; Kim, Je, Woo, & Park, 2011; Mariño, Villamizar, Espinel, & Cotes, 2004; Zárate, Cotes, & Villamizar, 2010).

Es probable que este comportamiento se deba a que el metabolismo del microorganismo se encuentra más activo a temperaturas elevadas, lo que causa consumo de nutrientes y oxígeno, así como producción y almacenamiento de metabolitos tóxicos, que afectan la viabilidad de los microorganismos, y pueden llegar a causar su muerte.

Por el contrario, a temperaturas de refrigeración, el metabolismo celular disminuye, se previene la formación de metabolitos tóxicos y se evita el agotamiento de nutrientes, lo que extiende la vida del microorganismo en almacenamiento (Sabaratnam, & Traquair, 2002).

Radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta (UV) del sol afecta la persistencia de los conidios de los hongos en campo (Smits, & Sinoquet, 2004), y se clasifica según la longitud de onda, en UVC, de 100 a 280 nm; en UVB, de 280 a 320 nm y en UVA, de 320 a 400 nm. La radiación UVC es absorbida por el ozono y el oxígeno

de la estratosfera, por lo cual las radiaciones B y A son las que atraviesan la atmósfera, alcanzan la superficie terrestre y afectan a los seres vivos, como en el caso de los efectos negativos que causan a los microorganismos (Ribera, & Paradelo, 1997).

Dentro de los daños que puede ocasionar la radiación ultravioleta está la producción de fotoproductos, principalmente a nivel del ADN, que forman dímeros de bases pirimidínicas adyacentes sobre la misma cadena de ADN (Nicholson, Schuerger, & Setlow, 2005). También se pueden generar peroxidaciones lipídicas cuando reaccionan con los ácidos grasos de los fosfolípidos, lo que afecta la fluidez de la membrana celular (Grijalba, Villamizar, & Cotes, 2009). Además, la radiación UV puede causar estrés oxidativo, que ocasiona retraso en el crecimiento, mutaciones o muerte celular de los hongos (Rangel, Fernandes, Braga, & Roberts, 2011).

El efecto de la radiación ultravioleta en la viabilidad y, por lo tanto, en la persistencia de los hongos entomopatógenos en el ambiente ha sido ampliamente estudiado. Por ejemplo, Tobar, Vélez y Montoya (1996) evaluaron la tolerancia de varias cepas de *B. bassiana* frente a la luz UV y seleccionaron el aislamiento Bb9218, que mantuvo la viabilidad después de 60 minutos de irradiación, y presentó además una alta virulencia contra *H. hampei*. Lo contrario ocurrió con una cepa de *M. anisopliae*, en la que los conidios expuestos a la radiación solar disminuyeron su viabilidad a la mitad después de dos horas de exposición (Moore, Higgins, & Lomer, 1996).

En otro trabajo se estudió el efecto de las radiaciones visible, UVB y UVA en la cepa de *B. bassiana* Bb9205. Después de irradiar durante 15 y 20 minutos, con una dosis de 4,38 W/m² de luz UVB (longitud principal: 312 nm) y de 0,009 W/m² para la UVA (longitud principal: 365 nm), la viabilidad del hongo fue afectada de manera drástica, con valores de supervivencia del 54,3 % y el 35,1 % respectivamente (Valdés-Gutiérrez, Escobar-López, Córdoba-Castro, & Góngora-Botero, 2014).

La tolerancia de los hongos a la luz ultravioleta está relacionada con las condiciones del sitio geográfico de su aislamiento, la morfología de sus colonias (Cagáñ, & Švercel, 2001), la producción de pigmentos de absorción (Saxena et al., 2002) y el desarrollo de mecanismos enzimáticos de reparación de los daños en el ADN (Rangel, Braga, Anderson, & Roberts, 2005). Ante esta problemática, el uso de protectores solares en la formulación de microorganismos es la estrategia más utilizada para protegerlos de la luz UV y mejorar su persistencia en condiciones de campo.

En este sentido, se han desarrollado diferentes formulaciones y evaluado diferentes compuestos para fotoestabilizar los conidios de los hongos entomopatógenos. Por ejemplo, Grijalba et al. (2009) evaluaron la estabilidad de conidios, formulados y sin formular, de *Isaria* sp. y de *B. bassiana*, expuestos a la luz solar durante seis horas. En esta investigación se confirmó la importancia del desarrollo de formulaciones que incluyan antioxidantes, filtros y pantallas solares, pues se evidenció una mayor pérdida en la capacidad de germinación de los conidios sin formular en comparación con los formulados.

En el estudio realizado por Villamizar, Grijalba, Zuluaga, Gómez y Cotes (2009), evaluaron el efecto de la luz UVC en la germinación del aislamiento V1026 de *L. lecanii*, formulado como un polvo mojable para el control de la mosca blanca *B. tabaci*, encontraron que la germinación de los conidios no formulados disminuyó en un 69,7 % después de seis horas de

irradiación (4,5-6,0 kWh/m²), mientras que en los formulados se redujo su germinación solo en un 37,4 %, y concluyeron que dicha formulación, que incluía filtros solares, fotoestabilizó eficientemente al hongo.

En un trabajo posterior con este mismo aislamiento de *L. lecanii*, formulado como un granulado dispersable, se determinó su desempeño utilizando un simulador solar, y los resultados confirmaron que los conidios sin formular fueron más susceptibles que los formulados, ya que llegaron a una inactivación del 59 % después de 90 minutos de exposición, frente a una del 37 % de los formulados (Peña, 2011).

Otra estrategia para superar esta limitación en campo es aumentar la tolerancia de los hongos entomopatógenos a la luz UV, mediante la implementación de condiciones de estrés en los procesos de fermentación, promoviendo la acumulación de polioles o solutos compatibles en el interior celular o la activación de mecanismos de reparación (Magan, 2007), una herramienta viable y económica que podría establecerse en los sistemas de fermentación para producir propágulos más resistentes a las condiciones ambientales.

Por ejemplo, en el trabajo de Brancini, Rangel y Braga (2016), se obtuvieron conidios de *M. anisopliae* var. *acridum* más tolerantes a la radiación UVB cuando se realizó una irradiación por dos horas con luz UVA durante el proceso de crecimiento del micelio. Finalmente, también se ha trabajado en la generación de mutantes que tengan una mayor tolerancia a la temperatura y la radiación UV, así como una patogenicidad superior.

Es el caso del trabajo de Zhao et al. (2016), quienes indujeron mutaciones en un aislamiento de *M. anisopliae* mediante la irradiación de conidios durante 20, 40 y 60 minutos, y encontraron que uno de los mutantes fue más tolerante a la luz UV y la temperatura, y además presentó una mayor velocidad de crecimiento y esporulación.

Conclusiones y perspectivas

El uso de hongos entomopatógenos como agentes de control biológico tiene una larga tradición, que comenzó con las observaciones de naturalistas y científicos curiosos, y ha llegado a su aprovechamiento mediante el uso de formulaciones a base de estos hongos (bioinsecticidas), los cuales ocupan un nicho en el mercado mundial de productos biológicos (Olson, 2015).

Como vimos, a pesar de las limitaciones tecnológicas y ambientales, la estrategia del uso del aislamiento o mezclas de aislamientos de hongos entomopatógenos como principio activo, con el fin de lograr la mortalidad de un artrópodo blanco, continúa en varios países con resultados variables.

Es claro que se deben tener en cuenta diferentes aspectos clave antes de aventurarse a incluir el control microbiano con patógenos de insectos. Por obvias razones, se debe considerar el conocimiento del insecto blanco, del microorganismo y del agroecosistema, pero también, y no menos importante, el diseño de las parcelas experimentales, el tipo de formulación, el sistema de aplicación y el efecto en insectos no blanco.

El control microbiano puede ser efectivo y servir como una alternativa real para los insecticidas químicos de amplio espectro. Sin embargo, al involucrar su uso a escalas mayores en campo y asegurar su éxito, es indispensable considerar el incremento de la virulencia del entomopatógeno, su velocidad para matar al insecto plaga y su tolerancia frente a condiciones ambientales retardoras (radiación UV y condiciones secas, entre otras).

Así mismo, desde el punto de vista tecnológico, es necesario tener presente la eficiencia en la producción masiva y el mejoramiento en materia de formulaciones que permitan una aplicación más fácil, un incremento en la persistencia en el ambiente y una vida útil más larga.

De igual forma, ya en el campo, se debe entender cómo encaja en un sistema integrado, así como su interacción con el ambiente y con otros componentes del manejo integrado de plagas (MIP) y el manejo integrado del cultivo (MIC).

Por último, es necesario conocer cuál es su valor real y su ventaja medioambiental al ser incluido en el agroecosistema, además de un punto clave, de gran importancia, que consiste en que el agricultor y la población en general acepten esta herramienta.

Ahora bien, gracias a la gran variedad de herramientas moleculares y tecnologías con las que se cuenta actualmente, se han reclasificado varias especies de hongos según su filogenia. De acuerdo con los resultados de trabajos a nivel mundial, ya no se debería considerar este grupo de hongos solo como patógenos de diversas clases de artrópodos, sino con un rango de acción más amplio, desde el punto de vista de su función ecológica. Algunas especies pueden ejercer roles adicionales a su objetivo como biocontroladores, pues podrían comportarse como supresores de patógenos de plantas o de nematodos parasíticos, o incluso ser promotores de crecimiento.

Por tal razón, todo el conocimiento producido se debería encaminar a llenar los vacíos de información en los temas mencionados y, además, a buscar nuevas estrategias de control, aprovechando los avances tecnológicos y de conocimiento que se generan a ritmo acelerado.

Agradecimientos

Los autores manifiestan sus agradecimientos a los investigadores de diversos centros de investigación de AGROSAVIA, que han participado en varias etapas de desarrollo de los bioproductos, y en especial a todo el grupo de trabajo de control biológico del C. I. Tibaitatá.

Agradecemos muy especialmente a Aristóbulo López-Ávila, Javier García, Everth Ebratt, Nora Jiménez, María Denis Lozano, Iván Pastrana, Buenaventura Monje, Elsa Judith Guevara, Guillermo León y Martha Gómez, por su contribución en el desarrollo de los proyectos y sus aportes valiosos para lograr el éxito de los bioproductos a base de hongos entomopatógenos.

Referencias

- Ainsworth, G. C. (1976). *Introduction to the history of mycology*. Londres, Reino Unido: Cambridge University Press.
- Alatorre-Rosas, R. (2007). Hongos entomopatógenos. En L. A. Rodríguez-del-Bosque & H. Arredondo-Bernal (Eds.), *Teoría y aplicación del control biológico* (pp. 127-143). Ciudad de México, México: Sociedad Mexicana de Control Biológico.
- Alves, R. T., Bateman, R. P., Gunn, J., Prior, C., & Leather, S. R. (2002). Effects of different formulations on viability and medium-term storage of *Metarhizium anisopliae* conidia. *Neotropical Entomology*, 31(1), 91-99.
- Anderson, P., & Morales, F. (2005). *Whitefly and Whitefly-borne Viruses in the Tropics: Building a Knowledge Base for Global Action*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- Antía, O. P., Posada, F. J., Bustillo, A. E., & González, M. T. (1992). *Producción en finca del hongo Beauveria bassiana para el control de la broca del café* (Avances técnicos N.º 182). Chinchiná, Colombia: Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).
- Barrios, G. J., & Mejía, A. (1996). Production of secondary metabolites by solid-state fermentation. *Biotechnology Annual Review*, 2, 85-121.
- Bassi, A. (1835). *Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, malattia che affligge i bachi de seta*. Recuperado de https://archive.org/details/bub_gb_0lt4GksHzmAC
- Bateman, R., Batt, D., Carey, M., Douro-Kpindou, O., Godonou, I., Jenkins, N. E., ... Paraíso, A. (1994). Progress with the development of *Metarhizium flavoviridae* for control of locusts and grasshoppers. *Bulletin OILB SROP (France)*, 17(3), 23.
- Bellon-Maurel, V., Orliaca, O., & Christen, P. (2003). Sensors and measurements in solid state fermentation: a review. *Process Biochemistry*, 38(6), 881-889.
- BioWorks Inc. (2017). *Product shelf life*. Recuperado de <http://www.bioworksinc.com/products/shared/product-shelf-life.pdf>
- Brancini, G., Rangel, D., & Braga, G. (2016). Exposure of *Metarhizium acridum* mycelium to light induces tolerance to UV-B radiation. *FEMS Microbiology Letters*, 363(6), fnw036. doi:10.1093/femsle/fnw036
- Bustillo, A. E. (1995). El uso del hongo *Beauveria bassiana* como un componente en un programa de manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen), *Memorias del xxxii Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen)* (pp. 79-85). Bogotá, Colombia: Socolen.
- Bustillo, A. E., Cárdenas, R., Villalba, D., Benavides, P., Orozco, J., & Posada, F. J. (1998). *Manejo integrado de la broca del café, Hypothenemus hampei (Ferrari) en Colombia*. Chinchiná, Colombia: Cenicafé.
- Cadena, G. (2005). Desarrollos científicos de Cenicafé en la última década. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 1(30), 89-100.
- Cagáñ, L., & Švercel, M. (2001). The influence of ultraviolet light on pathogenicity of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) vuillemin to the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* HBN. (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Central European Agriculture*, 2(3), 229-234.
- Cardona, M. C., Rendón, F., García, G. J., López-Ávila, A., Bueno, M. J. M., & Ramírez, J. D. (2001). Resistencia a insecticidas en *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología*, 27(1-2), 33-38.
- Certis U. S. A. (2015). *Safety Data Sheet (SDS)*. Recuperado de http://www.certisusa.com/pdf-sds/sds_PFR-97.pdf.
- Clarkson, J. M., & Charnley, A. K. (1996). New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. *Trends in Microbiology*, 4(5), 197-203.
- Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica). (2011). *Evaluación y validación de bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos para el manejo de mosca blanca Bemisia tabaci en algodón, tabaco y berenjena en Tolima, Córdoba y Huila* (Informe técnico). Bogotá, Colombia: Corpoica.

- Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica). (2016). Registro N.º 00004565. Bogotá, Colombia: ICA
- Cruz, M. (2014). *Desarrollo de un proceso de fermentación sólida para el hongo Trichoderma asperellum th204 en un fermentador de lecho fijo* (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- De Crecy, E., Jaronski, S., Lyons, B., Lyons, T. J., & Keyhani, N. O. (2009). Directed evolution of a filamentous fungus for thermotolerance. *BMC Biotechnology*, 9(1), 74. doi:10.1186/1472-6750-9-74.
- De Faria, M. R., & Wraight, S. P. (2007). Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control*, 43(3), 237-256.
- Dos Santos, M. M., Da Rosa, A. S., Dal'Boit, S., Mitchell, D. A., & Krieger, N. (2004). Thermal denaturation: is solid-state fermentation really a good technology for the production of enzymes? *Bioresource Technology*, 93(3), 261-268.
- Ebratt, E., Espinel, C., & Cotes, A. (1998). Observaciones sobre el comportamiento, biología y ecología de *Rhammatocerus schistocercoides* (Orthoptera: Acrididae) en la altillanura colombiana. *Revista Colombiana de Entomología*, 24(3-4), 75-81.
- Ebratt, E., Espinel, C., & Cotes, A. (2000). Estudio de la teoría de fases en *Rhammatocerus schistocercoides* (Orthoptera: Acrididae) en los llanos orientales de Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 26(3-4), 83-88.
- Ebratt, E. E., Espinel, C., Gómez, M. I., Villamizar, L. F., Cotes, A. M., Gutiérrez, J. C. ... León, G. (2000). *La langosta llanera en Colombia* (Boletín técnico). Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Espinel, C., Ebratt, E., & Cotes, A. (1998). Evaluación de cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* para el control biológico de *Rhammatocerus schistocercoides* (Orthoptera: Acrididae). *Revista Colombiana de Entomología*, 24(1-2), 1-5.
- Espinel, C., Lozano, M. D., Cotes, A. M., & López-Ávila, A. (2006). Eficacia de los productos bajo condiciones de campo. En C. Espinel, M. D. Lozano, A. M. Cotes & A. López-Ávila (Eds.), *Desarrollo de un bioplaguicida para el control de la mosca blanca Bemisia tabaci* (Boletín técnico). Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Espinel, C., Torres, L., González, V., & Cotes, A. M. (2006). *Selección de hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca Bemisia tabaci*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Espinel, C., Zuluaga, M. V., Jiménez, N., & Gómez, M. (2012). Uso del bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* para el control de *Bemisia tabaci* en el cultivo de berenjena. En M. Gómez, L. Villamizar, C. Espinel, E. Varón, N. Jiménez, M. V. Zuluaga & A. López (Eds.), *Uso de Lecanicillium lecanii para el control de la mosca blanca Bemisia tabaci en algodón y berenjena* (pp. 45-58). Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Fargues, J., Maniania, N. K., Delmas, J. C., & Smits, D. (1992). Influence de la température sur la croissance *in vitro* d'hyphomycètes entomopathogènes. *Agronomie*, 12(7), 557-564.
- Fegan, M., Manners, J., Maclean, D., Irwin, J., Samuels, K., Holdom, D., & Li, D. (1993). Random amplified polymorphic DNA markers reveal a high degree of genetic diversity in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *Microbiology*, 139(9), 2075-2081.
- Ferchault de Réaumur, R.-A. (1734). *Mémoires pour servir à l'histoire des insectes*. Recuperado de <http://fondosdigitales.us.es/fondos/libros/6742/16/memoires-pour-servir-lhistoire-des-insectes-par-m-de-reaumur-tome-second-suite-de-lhistoire-des-chenilles-des-papillons-et-lhistoire-des-insectes-envenis-des-chenilles/>.
- Ferron, P. (1978). Biological control of insect pest by entomogenous fungi. *Annual Review of Entomology*, 23(1), 409-442.
- García, J., & López-Ávila, A. (2006). Evaluación de cepas nativas de *Lecanicillium lecanii* (Zimm). Viegas en el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). En A. Cotes, A. López-Ávila, L. Villamizar, A. Díaz, C. Espinel, L. Torres & J. García (Eds.), *Resumen de investigaciones en el control biológico de las moscas blancas Bemisia tabaci y Trialeurodes vaporariorum*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Garzón, I., Villamizar, L., Cotes, A., García, J., & López-Ávila, A. (2006). Evaluación de *Lecanicillium lecanii* para el control de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) en tomate. En A. Cotes, A. López-Ávila, L. Villamizar, A. Díaz, C. Espinel, L. Torres & J. García (Eds.), *Resumen de investigaciones en el control biológico de las moscas blancas Bemisia tabaci y Trialeurodes vaporariorum*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Gillespie, A. T., & Claydon, N. (1989). The use of entomogenous fungi for pest control and the role of toxins in pathogenesis. *Pest Management Science*, 27(2), 123-130.
- Goettel, M. S., Inglis, G. D., & Wraight, S. P. (2000). Fungi. En L. A. Lacey & H. K. Kaya (Eds.), *Field manual of techniques in invertebrate pathology* (pp. 223-248). Dordrecht, Holanda: Springer.

- Gómez, M., Villamizar, L., & Cotes, A. M. (1997). Producción masiva y preformulación de *Metarhizium* spp. para el control biológico de la langosta llanera. *Revista Colombiana de Entomología*, 23(3-4), 119-124.
- González, G. (1994). *Evaluación de la patogenicidad de diferentes aislamientos de Beauveria bassiana de la colección de entomopatógenos* (Informe anual de labores). Chinchiná, Colombia: Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).
- González, M. T., Posada, F. J., & Bustillo, A. E. (1993). Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. *Revista Cenicafé*, 44(3), 93-102.
- Grijalba, E., Villamizar, L., & Cotes, A. (2009). Evaluación de la estabilidad de *Paecilomyces* sp. y *Beauveria bassiana* frente a la radiación ultravioleta. *Revista Colombiana de Entomología*, 35(1), 1-6.
- Hajek, A., & St. Leger, R. (1994). Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*, 39(1), 293-322.
- Hedgecock, S., Moore, D., Higgins, P. M., & Prior, C. (1995). Influence of moisture content on temperature tolerance and storage of *Metarhizium flavoviride* conidia in an oil formulation. *Biocontrol Science and Technology*, 5(3), 371-378.
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2016). *Listado de productos bioinsumos registrados*. Recuperado de <https://www.ica.gov.co/Areas/Agricola/Servicios/Fertilizantes-y-Bio-insumos-Agricolas/Listado-de-Bioinsumos/2009/PRODUCTOS-BIOINSUMOS-MAYO-13-DE-2008.aspx>.
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2017). *Listado de empresas de bioinsumos registradas, diciembre de 2017*. Recuperado de <http://www.ica.gov.co/Areas/Agricola/Servicios/Fertilizantes-y-Bio-insumos-Agricolas/Listado-de-Bioinsumos/2009/EMPRESAS-REGISTRADAS-BIOINSUMOS-JULIO-8-DE-2008.aspx>.
- Jackson, M. A., Dunlap, C. A., & Jaronski, S. T. (2010). Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. *BioControl*, 55(1), 129-145.
- Jaronski, S., & Jackson, M. A. (2012). Mass production of entomopathogenic hypocreales. En L. A. Lacey (Ed.), *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (pp. 255-284). Nueva York, EE. UU.: Academic Press.
- Jiménez, L., García, J., Villamizar, L., & Cotes, A. M. (2006). Evaluación de técnicas de aplicación de un bioplaguicida para el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) en habichuela. En A. Cotes, A. López-Ávila, L. Villamizar, A. Díaz, C. Espinel, L. Torres & J. García (Eds.), *Resumen de investigaciones en el control biológico de las moscas blancas Bemisia tabaci y Trialeurodes vaporariorum*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Kachatourians, G. (1991). Physiology and genetics of entomopathogenic fungi. En D. K. Arora, L. Ajello & K. G. Mukerji (Eds.), *Handbook of Applied Microbiology: Humans, animals and insects* (Vol. 2, pp. 548-611). Nueva York, EE. UU.: CRC Press.
- Kim, J. S., Je, Y. H., Woo, E. O., & Park, J. S. (2011). Persistence of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) SFP-198 conidia in corn oil-based suspension. *Mycopathologia*, 171(1), 67-75.
- Koppert Biological Systems. (2014). *Material safety data sheet. Mycotal*. Recuperado de https://www.koppert.com/fileadmin/Koppert/MSD/EN/MYCOTAL_MSDS_EN__04Dec2013.versie_4.3.pdf.
- Koppert Biological Systems. (2017). *Mycotal*. Recuperado de <https://www.koppert.es/plagas/moscas-blancas/productos-contra/mycotal/>.
- Koppert do Brasil Holding. (2017a). *Boveril®*. Recuperado de <http://koppert.com.br/assets/fichas/boveril.pdf>.
- Koppert do Brasil Holding. (2017b). *Metarril®*. Recuperado de <http://koppert.com.br/produtos/metarril/>.
- Lacayo, L., Barrios, M., Jiménez, C., & Sandino, V. (1994). *El uso de hongos entomopatógenos para el manejo de la broca del café (Hypothenemus hampei) en Nicaragua*. Documento presentado en Reunión Informativa sobre Avances de Investigación. Managua, Nicaragua.
- Lacey, L., Grzywacz, D., Shapiro-Ilan, D., Frutos, R., Brownbridge, M., & Goettel, M. (2015). Insect pathogens as biological control agents: back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology*, 132, 1-41.
- Leland, J. E., Mullins, D. E., Vaughan, L. J., & Warren, H. L. (2005). Effects of media composition on submerged culture spores of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*. Part 2: Effects of media osmolality on cell wall characteristics, carbohydrate concentrations, drying stability, and pathogenicity. *Biocontrol Science and Technology*, 15(4), 393-409.
- López, A., & García, J. (2000). *Manejo integrado sostenible de moscas blancas como plaga y vectores de virus en los trópicos: Reconocimiento, diagnóstico y caracterización de especies de mosca blanca como plagas en el trópico alto de América Latina* (Informe final del convenio entre la Agencia Danesa de Desarrollo Internacional [Danida], Corpoica y CIAT). Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Lord, J. C. (2005). From Metchnikoff to Monsanto and beyond: the path of microbial control. *Journal of Invertebrate Pathology*, 89(1), 19-29.
- Magalhães, B., Faria, M., & Guerra, W. (1996). *Desenvolvimento de bioinsecticidas para o controle de*

- gafanhotos no Brasil*. Documentos presentados en la Reunión Técnica Regional sobre Biología y Control de la Langosta *Rhammatocerus schistocercoides*. Cuiabá, Brasil.
- Magan, N. (2007). Fungi in extreme environments. En C. Kubicek & I. S. Druzhinina (Eds.), *Environmental and Microbial Relationships. The Mycota* (vol. 4, pp. 85-103). Berlín, Alemania: Springer-Verlag.
- Manpreet, S., Sawraj, S., Sachin, D., Pankaj, S., & Banerjee, U. (2005). Influence of process parameters on the production of metabolites in solid-state fermentation. *Malaysian Journal of Microbiology*, 2(1), 1-9.
- Mariño, P., Villamizar, L., Espinel, C., & Cotes, A. (2004). Caracterización de prototipos de bioplaguicidas granulados a base de *Metarhizium anisopliae* para el control de *Ancognatha scarabaeoides* (Coleoptera: Melolonthidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 30(1), 43-49.
- Mitchell, D. A., Von Meien, O. F., & Krieger, N. (2003). Recent developments in modeling of solid-state fermentation: heat and mass transfer in bioreactors. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2-3), 137-147.
- Moore, D., Higgins, P., & Lomer, C. (1996). Effects of simulated and natural sunlight on the germination of conidia of *Metarhizium flavoviride* Gams and Rozsypal and interactions with temperature. *Biocontrol Science and Technology*, 6(1), 63-76.
- Moore, D., Reed, M., Le Patourel, G., Abraham, Y., & Prior, C. (1992). Reduction of feeding by the desert locust, *Schistocerca gregaria*, after infection with *Metarhizium flavoviride*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 60(3), 304-307.
- Morales, E., Cruz, F., Ocampo, A., Rivera, G., & Morales, B. (1991). *Una aplicación de la biotecnología para el control de la broca del café*. Documento presentado en Colloque Scientifique International sur le Café. París, Francia.
- Moscardi, F. (1999). Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 44(1), 257-289. doi:10.1146/annurev.ento.44.1.257.
- Nicholson, W. L., Schuerger, A. C., & Setlow, P. (2005). The solar uv environment and bacterial spore uv resistance: considerations for Earth-to-Mars transport by natural processes and human spaceflight. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 571(1-2), 249-264.
- Olson, S. (2015). An analysis of the biopesticide market now and where it is going. *Outlooks on Pest Management*, 26(5), 203-206. doi:10.1564/v26_oct_04.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2002). *Expert Consultation and Risk Assessment on the Importation and Large-Scale Use of Mycopesticides against Locusts*. Recuperado de <http://www.fao.org/ag/locusts/oldsite/PDFs/meetings/MycopestE.pdf>.
- Ortiz-Catón, M., Alatorre-Rosas, R., Valdivia-Bernal, R., Ortiz-Catón, A., Medina-Torres, R., & Alejo-Santiago, G. (2011). Efecto de la temperatura y humedad relativa sobre el desarrollo de los hongos entomopatógenos. *Revista BioCiencias*, 1(2), 42-53.
- Pandey, A. (1992). Recent process developments in solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, 27(2), 109-117.
- Peña, Z. P. (2011). Fotoestabilidad de dos formulaciones de bioplaguicidas a base de *Lecanicillium lecanii* V1026 y *Trichoderma koningiopsis* Th003 (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Posada, F., & Bustillo, A. (1994). El hongo *Beauveria bassiana* y su impacto en la caficultura colombiana. *Agricultura Tropical*, 31(3), 97-106.
- Posada, F. J. (1993). Control biológico de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) con hongos. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen), *Memorias Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen)*. Cali, Colombia: Socolen.
- Prabhakar, A., Krishnaiah, K., Janaun, J., & Bono, A. (2005). An overview of engineering aspects of solid state fermentation. *Malaysian Journal of Microbiology*, 1(2), 10-16.
- Prior, C. (1995). Advances in mycopesticide formulation and application. En R. Hall (Ed.), *The Biological Control of Crop Pests in the Caribbean: Report of a Workshop Held in Roseau, Dominica* (pp. 17-22). Londres, Reino Unido: Commonwealth Secretariat.
- Rangel, D. E., Braga, G. U., Anderson, A. J., & Roberts, D. W. (2005). Variability in conidial thermotolerance of *Metarhizium anisopliae* isolates from different geographic origins. *Journal of Invertebrate Pathology*, 88(2), 116-125.
- Rangel, D. E., Fernandes, É. K., Braga, G. U., & Roberts, D. W. (2011). Visible light during mycelial growth and conidiation of *Metarhizium robertsii* produces conidia with increased stress tolerance. *FEMS Microbiology Letters*, 315(2), 81-86.
- Ribera, M., & Paradelo, C. (1997). El sol y la piel. Fotoprotección y filtros solares. *Medicina Integral*, 30(2), 64-71.
- Rivera, H. F., & Zuluaga, M. V. (2012). Uso del bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* para el control de *Bemisia tabaci* en el cultivo de algodón. En M. Gómez, L. Villamizar, C. Espinel, E. Varón, N. Jiménez, M. V. Zuluaga & A. López-Ávila (Eds.), *Uso de Lecanicillium lecanii para el control de la mosca blanca Bemisia tabaci en algodón y berenjena*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Rodríguez, I. V., Bueno, J. M., Cardona, C. M., & Morales, H. M. (2012). Biotipo B de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae): plaga de pimentón en el Valle del Cauca, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 38(1), 14.

- Sabaratham, S., & Traquair, J. A. (2002). Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of *Rhizoctonia* damping-off in tomato transplants. *Biological Control*, 23(3), 245-253.
- Santos, A. M., De Brito-Brandão, P. F., & Rivero, L. F. V. (2017). Efecto del estrés térmico y la radiación ultravioleta durante la producción masiva de *Nomuraea rileyi*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(1), 82-91.
- Santos, A. M., Uribe, L. A., Zuluaga, M. V., & Villamizar, L. F. (2012). Estabilidad de un bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* formulado como un granulado dispersable (wg). En M. Gómez, L. Villamizar, C. Espinel, E. Varón, N. Jiménez, M. V. Zuluaga ... A. López-Ávila. (Eds.), *Uso de Lecanicillium lecanii para el control de la mosca blanca Bemisia tabaci en algodón y berenjena*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Saxena, D., Ben-Dov, E., Manasherob, R., Barak, Z. E., Boussiba, S., & Zaritsky, A. (2002). A uv tolerant mutant of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* producing melanin. *Current Microbiology*, 44(1), 25-30.
- Shahid, A. A., Rao, Q. A., Bakhsh, A., & Husnain, T. (2012). Entomopathogenic fungi as biological controllers: new insights into their virulence and pathogenicity. *Archives of Biological Sciences*, 64(1), 21-42.
- Smits, N., & Sinoquet, H. (2004). Fungal bioinsecticide survival in response to uvB in 3D digitized grapevine canopies: a simulation study. En C. Godin, J. Hanan, W. Kurt, A. Lacoite, A. Takenaka, P. Prusinkiewicz, ... B. Andrieu (Eds.), *Proceedings of the 4th International Workshop on Functional-Structural Plant Models* (pp. 7-11). Montpellier, Francia: UMR AMAP
- Sponagel, K. W. (1994). *La broca del café Hypothenemus hampei en plantaciones de café robusta en la amazonía ecuatoriana*. Giessen, Alemania: Wissenschaftlicher Fachverlag.
- Steinhaus, E. (1956). Microbial control —the emergence of an idea. A brief history of insect pathology through the nineteenth century. *Hilgardia*, 26(2), 107-160.
- Tobar, S., Vélez, P., & Montoya, E. (1996). Selección de aislamientos patógenicos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* por resistencia a la luz ultravioleta. Documento presentado en Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Cartagena, Colombia.
- Valdés-Gutiérrez, S., Escobar-López, L., Córdoba-Castro, L., & Góngora-Botero, C. (2014). Efecto de la luz ultravioleta sobre *Beauveria bassiana* y su virulencia a la broca. *Revista Cenicafé*, 62(2), 58-68.
- Van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J., & Urbaneja, A. (2017). Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, 62(1), 1-21. doi:10.1007/s10526-017-9801-4.
- Vega, F. E., Jackson, M. A., Mercadier, G., & Poprawski, T. J. (2003). The impact of nutrition on spore yields for various fungal entomopathogens in liquid culture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(4), 363-368.
- Vélez, P., & Montoya, E. (1993). Supervivencia del hongo *Beauveria bassiana* bajo radiación solar en condiciones de laboratorio y campo. *Revista Cenicafé*, 44(3), 111-122.
- Vélez, P. E., Posada, F., Marín, P., González, M., Osorio, E., & Bustillo, A. (1997). *Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos* (Boletín técnico N.º 17). Chinchiná, Colombia: Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).
- Villamizar, L., Grijalba, E., Zuluaga, V., Gómez, M., & Cotes, A. M. (2009). Evaluation of some parameters influencing the activity of a fungal biocontrol agent used for *Bemisia tabaci* control. *IOBC-WPRS Bulletin*, 45, 327-330.
- Wang, C., & Wang, S. (2017). Insect pathogenic fungi: genomics, molecular interactions and genetic improvements. *Annual Review of Entomology*, 62, 73-90. doi:10.1146/annurev-ento-031616-035509.
- Wang, S., Miao, X., Zhao, W., Huang, B., Fan, M., Li, Z., & Huang, Y. (2005). Genetic diversity and population structure among strains of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, as revealed by inter-simple sequence repeats (ISSR). *Mycological Research*, 109(12), 1364-1372.
- Zárate, C., Cotes, A., & Villamizar, L. (2010). *Estudio de la estabilidad en almacenamiento de tres formulaciones oleosas a base de Nomuraea rileyi*. Documento presentado en xxxiii Congreso Nacional de Control Biológico. Ciudad de México, México.
- Zhang, S., & Xia, Y. (2008). Identification of genes preferentially expressed during microcycle conidiation of *Metarhizium anisopliae* using suppression subtractive hybridization. *FEMS Microbiology Letters*, 286(1), 71-77.
- Zhao, J., Yao, R., Wei, Y., Huang, S., Keyhani, N.O., & Huang, Z. (2016). Screening of *Metarhizium anisopliae* uv-induced mutants for faster growth yields a hyper-virulent isolate with greater uv and thermal tolerances. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(21), 9217-9228.
- Zimmermann, G. (2008). The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Science and Technology*, 18(9), 865-901.