

PRODUCCIÓN DE *Beuaveria bassiana* (Bals.) Vuill. PARA EL CONTROL DE LA BROCA DEL CAFÉ (*Hypothenemus hampei* Ferr.)

PRODUCTION OF *Beuaveria bassiana* (Bals.) Vuill. FOR CONTROL OF COFFEE BORER (*Hypothenemus hampei* Ferr.)

Díaz-Vicente V.M.^{1*}; Pérez-Quintanilla J.N.¹; Pinson-Rincón E.P.¹; Magallanes-Cedeño R.¹; De Coss-Flores M.E.¹; Cabrera-Alvarado M.E.¹

¹Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Chiapas. Carretera costera Entronque Estación Huehuetán, Huehuetán, Chiapas.

***Autor responsable:** vdiaz_vicente@hotmail.com. Cuerpo Académico de Protección Vegetal.

RESUMEN

El hongo entomopatógeno (*Beuaveria bassiana*) infecta a la broca del café (*Hypothenemus hampei*) en condiciones de laboratorio y campo, se puede propagar masivamente usando cereales como arroz, trigo y salvado de trigo, pues presentan una concentración mayor de 1×10^{10} conidios por gramo y una patogenicidad mayor al 90%, por lo cual cumplen con las normas de control de calidad para reproducir hongos entomopatógenos ajustando el pH de agua entre 5.0 y 6.0. La dosis que se requiere aplicar para el control de la broca es de 1.00 kg ha^{-1} , iniciando la aplicación en el mes de mayo para las condiciones del Soconusco, Chiapas, México.

Palabras Clave: control biológico, conidios, hongo entomopatógeno.

ABSTRACT

The entomopathogenic fungus (*Beuaveria bassiana*) infects the coffee borer (*Hypothenemus hampei*) under laboratory and field conditions; it can be massively propagated by using cereals such as rice, wheat and wheat bran, since they present a concentration higher than 1×10^{10} conidia per gram and pathogenicity higher than 90%; therefore, they comply with the quality control regulations to reproduce entomopathogenic fungi, adjusting the water pH to between 5.0 and 6.0. The dosage required to be applied for borer control is 1.00 kg ha^{-1} , and application should begin in the month of May for the conditions of Soconusco, Chiapas, México.

Key Words: biological control, conidia, entomopathogenic fungus.



INTRODUCCIÓN

En el estado de Chiapas, México, el cultivo del cafeto (*Coffea arabica*) ocupa el primer lugar en importancia, con una superficie cultivada de 230,134 hectáreas y en la región Soconusco, con 70,000 hectáreas; es una actividad socioeconómica muy importante por la cantidad de divisas que genera (Hernández, 2000). Sin embargo, ésta se ve amenazada por problemas sanitarios, como el ataque de roya anaranjada del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk. et Br.) y la broca del grano de café (*Hypothenemus hampei* Ferr.); la primera está considerada como la enfermedad más importante del cultivo y la segunda como la plaga de mayor importancia. En la actualidad la broca se encuentra distribuida en los estados de Chiapas, Oaxaca, Puebla, Veracruz, Guerrero y Nayarit. A partir de la desaparición del Instituto Mexicano del Café se crean los Consejos Estatales de Café en los estados productores, pero se descuidó el área parasitológica y, para atender esta problemática, en julio de 1993 se creó la Junta Local de Sanidad Vegetal de Productores de Café Chiapas que atendía todo el estado de Chiapas; posteriormente surgieron otras. Sin embargo, la primera, que fue creada originalmente para atender todo el estado, se concentró únicamente en el Soconusco, la región productora de café más importante del estado y del país. Dicho Organismo Auxiliar de Sanidad Vegetal opera con recursos del Gobierno Federal, Gobierno del Estado y con la aportación de los productores. Dentro de la Campaña surgen dos alternativas de control, el biológico de la broca del grano de café (*H. hampei*) mediante la cría en áreas rurales del parasitoide (*Cephalonomia stephneris*) de origen africano, introducido a México por el Centro de Investigaciones Ecológica del Sureste (CIES), hoy Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), y con el aislamiento y la propagación masiva de una cepa nativa del hongo (*Beauveria bassiana*) (Díaz, 1995; y Barrera, 2000). En agosto de 1994 se crea el Laboratorio de Producción y Propagación Masiva del hongo *B. bassiana* y en el mes de octubre de 1994 se obtuvo la primera producción del hongo para aplicar en 155 hectáreas, el cual fue aplicado en el Ejido Guaquitepec, municipio de Chilón, Chiapas. Posteriormente, estos trabajos de investigación continuaron en la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Chiapas, donde se realizaron trabajos en campo sobre dosis, efecto del pH del agua en la aplicación (Díaz, 1996; Díaz et al. 2006; y Díaz y Roblero, 2007).

Los hongos entomopatógenos son aquellos que pueden causar alteraciones fisiológicas en los insectos, causándoles la muerte. La mayoría de las especies de estos hongos están limitadas principalmente a las condiciones de temperatura y humedad relativa para su germinación y esporulación. Algunos tienen un gran rango de hospedantes y atacan a muchas especies; otros están restringidos a pocas o una sola especie (De la Rosa, 1995). La mayoría de los hongos entomopatógenos pertenecen a la clase Hyphomycetes (Deuteromycetes) (De la Rosa, 1995). La aplicación de estos microorganismos para el control de plagas insectiles lleva a la búsqueda de patógenos eficaces, desarrollo de cultivo *in vitro*, bioensayos y producción masiva a bajos costos (De la Rosa, 1995). Para dar inicio a la producción de *B. bassiana* se realizó un aislamiento de una cepa nativa de este hongo, dado que es mejor trabajar con este tipo de cepas porque ya están adaptadas al medio ambiente de la región donde son aisladas. Con base en lo anterior se evaluó el efecto del hongo entomopatógeno (*Beauveria bassiana*) en el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei*).

MATERIALES Y METODOS

Se realizaron muestreos en campo en huertas cafetaleras del municipio de Cacahoatán, Chiapas y se colectaron frutos de café (*Coffea arabica*) atacados por broca del café (*H. hampei*), con la presencia de un hongo de aspecto algodonoso; la muestra colectada se aisló y purificó. Se siguieron los Postulados de Koch, los cuales fueron propuestos desde 1862 y tienen vigencia hasta la fecha, para el aislamiento del hongo, la inoculación de éste a organismos susceptibles y la recuperación del patógeno de los organismos inoculados. Posterior a los bioensayos realizados en laboratorio (Postulados de Koch), el hongo se propagó masivamente; para ello se utilizaron cereales como sustratos: trigo (*Triticum aestivium*), arroz (*Oryza sativa*), salvado de trigo, maíz (*Zea mays*) y sorgo (*Sorghum bicolor*), en la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Chiapas. Con el producto aislado e incrementado en forma masiva se realizaron aspersiones de cinco diferentes dosis del hongo en campo: 0.20 kg⁻¹, 0.40 kg ha⁻¹, 0.60 kg ha⁻¹, 0.80 kg ha⁻¹, 1.00 kg ha⁻¹ y un tratamiento testigo sin aplicación para determinar la mejor dosis que ejerciera control de la broca; también se evaluó el pH del agua (5.0, 5.5, 6.0, 6.5 y 7.0) para hacer la mezcla de aplicación. Los experimentos se realizaron usando un diseño experimental en bloques al azar (Olivares, 1994).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las muestras colectadas en campo se aisló el hongo entomopatógeno *B. bassiana*. Las características principales fueron el micelio blanco, ligeramente coloreado (blanco amarillento) y de apariencia polvosa, conidióforos simples e irregulares agrupados en un verticilio donde se sitúan los conidios en forma de zigzag; los conidios son hialinos, redondeados sobre pequeños esterigmas (Barnet y Hunter 1972). El hongo en un cultivo puro presentó micelio de aspecto algodonoso de color blanco; el micelio se ramificó y formó conidióforos simples. La cantidad de conidios aumentó con el transcurso del tiempo, de tal forma que después de 18 y 20 días la colonia mostró una esporulación abundante de color blanco-crema con textura semejante al talco (Figura 1).

Para la producción masiva de *B. bassiana* se utilizó el medio de cultivo Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) y, posteriormente, en sustrato de arroz, trigo, salvado de trigo, maíz y sorgo. La concentración de conidios por gramo de *B. bassiana*

fue más alta en el trigo, seguida de arroz y salvado de trigo (Cuadro 1), trigo (6.062×10^{10}), arroz (4.716×10^{10}), salvado de trigo (3.70×10^{10}). En el caso del maíz y sorgo el crecimiento fue nulo debido a que estos granos generan aflatoxinas que evitan la germinación de *B. bassiana* (Best et al., 1990; Johnson, 1991). Investigaciones realizadas por De La Rosa (1995) muestran que este hongo es patógeno de la broca del café *H. hampei* y puede causar mortalidad de hasta 100%, dependiendo de la cantidad de conidios que se utilice (Figura 2).

El Cuadro 1 muestra que el porcentaje de patogenicidad de *B. bassiana* fue mayor en el trigo, seguido del arroz y el salvado de trigo, mientras que en maíz y sorgo crecieron los hongos *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. de ocurrencia típica en estos granos (Best et al., 1990; Johnson, 1991). La aplicación en campo mostró que la mejor dosis fue 600 g ha^{-1} a una concentración de



Figura 1. A: Frutos de café (*Coffea arabica*) con la presencia del hongo *B. bassiana* recolectados en campo. B: Cepa aislada de *B. bassiana* de aspecto algodonoso. C: Cepa de *B. bassiana* de 20 días de crecimiento con aspecto semejante al talco.



Figura 2. Hembra adulta de la broca del café infectada (*Hypothenemus hampei*) con *B. bassiana* en condiciones de laboratorio.

4.716×10^{10} , resaltando que al aplicar *B. Bassiana* se debe ajustar el pH del agua a niveles de ácidos a ligeramente ácidos (pH 5 y 6) por requerimientos propios del hongo (Cuadro 2 y 3, Figura 3).

De acuerdo con la biología, ecología de la broca y grado de madurez del fruto es necesario conocer la época de aplicación del hongo (*B. bassiana*) para que tenga mejor efecto de control de esta plaga, por lo que es necesario realizar investigaciones por región geográfica. Bajo las condiciones en que se realizó la presente investigación en la región Sierra del estado de Chiapas, la mejor época de control de la broca del café es el mes de junio (Cuadro 4) porque presentó el menor porcentaje de infestación por (*H. hampei*), pues la broca se encuentra en tránsito e inicia la perforación de los frutos y, como el hongo actúa por contacto, el control es más eficiente; una vez que la broca penetró completamente el fruto, el control es más deficiente por la forma de acción del hongo.

CONCLUSIONES

El cereal más eficiente para propagar el hongo (*B. bassiana*) en forma masiva fue el trigo, ya que presentó

Cuadro 1. Comparación de medias de la concentración de conidios por gramo de *B. bassiana* y porcentaje de patogenicidad.

Tratamiento	Concentración conidios	Patogenicidad (%)
Trigo	6.062×10 ¹⁰ a	96.00 a
Arroz	4.716×10 ¹⁰ b	94.60 b
Salvado de trigo	3.70×10 ¹⁰ c	91.80 c
Maíz	0.00 d	0.00 d
Sorgo	0.00 d	0.00 d

Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales según prueba de Tukey a $\alpha=0.05$ de probabilidad.

Cuadro 2. Porcentaje de mortalidad de la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferr. Con diferentes dosis del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. en condiciones de campo.

Tratamiento	Días después de la aplicación			
	15	30	45	60
E 1.00 kg×ha ⁻¹	52.32 a	55.65 a	38.37 a	53.97 a
D 0.80 kg×ha ⁻¹	41.12 a	52.07 a	33.47 a	40.05 a
C 0.60 kg×ha ⁻¹	34.05 a	51.65 a	32.17 a	39.92 a
B 0.40 kg×ha ⁻¹	32.32 ab	48.15 a	29.80 ab	34.35 ab
A 0.20 kg×ha ⁻¹	29.62 ab	34.42 ab	22.07 ab	28.52 ab
F Testigo sin aplicación	6.75 b	7.55 b	7.10 b	6.90 b

Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales según prueba de Tukey a $\alpha=0.05$ de probabilidad.

Cuadro 3. Efecto del pH del agua en la mezcla de *B. bassiana* sobre la mortalidad de la broca del café (*H. hampei*).

pH	Días después de aplicación			
	15	30	45	60
5.0	60.00 a	56.00 a	53.00 a	47.80 a
5.5	57.50 a	54.00 a	54.00 a	48.00 a
6.0	54.00 a	50.00 a	56.00 a	48.00 a
6.5	38.00 b	37.80 b	38.00 b	26.00 b
7.0	26.80 b	25.40 c	28.40 b	22.00 b
Testigo	7.60 c	6.40 d	6.80 c	6.60 c

Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales según prueba de Tukey a $\alpha=0.05$ de probabilidad.


Figura 3. Presencia del hongo *B. bassiana* sobre *H. hampei* después de la aplicación en condiciones de campo.

se aplica (*B. bassiana*) en campo es necesario utilizar un pH del agua de 5.0 a 6.0.

LITERATURA CITADA

- Barnett H.L., Hunter B.C. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Third edited. Burges Publishing Company pp. 96-97.
- Barrera, J.F. 2000. Los agentes de control biológico de la broca del café en México. En Memorias del X Curso Nacional de Control Biológico del 13 al 15 de noviembre de 2000. Guanajuato, Guanajuato, México pp. 227-236.
- Best F.S., Forsyth F.S., Stewart W.F. 1990. Registration requirements and safety considerations for microbial pest control agents in North America. In: Safety of microbial insecticides. Lair, M., L.A. Lacey and E.W. Davidson Eds. C.R.C. Boca Raton Florida pp. 3.10.
- De la Rosa W. 1995. Hongos entomopatógenos. En: Memorias del VI Curso Nacional de Control Biológico. El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, Chiapas, México. pp. 100-110.
- Díaz V.V.M. 1995. Producción masiva de *Beauveria bassiana* para el control

mayor concentración de conidios por mililitro y mayor viabilidad, patogenicidad y pureza. El arroz también puede ser utilizado para propagar masivamente el hongo *B. bassiana*, al igual que el salvado de trigo. El maíz y el sorgo no son una alternativa para propagar este hongo. La dosis a aplicarle es de 1.00 kg ha⁻¹ a una concentración de 4.72×10¹⁰ conidios por gramo. Cuando

Cuadro 4. Porcentaje de infestación de la broca del café (*H. hampei*) cuando el hongo (*B. bassiana*) se aplica en diferentes épocas.

Tratamientos	Días después de la aplicación			
	15	30	45	60
Junio	9.00 b	16.00 b	19.70 b	18.00 b
Julio	16.00 a	40.00 a	50.50 a	38.70 a
Agosto	18.00 a	20.00 ab	20.00 b	21.00 b
Testigo sin aplicación	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c

Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales según prueba de Tukey a $\alpha=0.05$ de probabilidad.

biológico de la broca del café en Chiapas, México. XVIII Congreso Nacional de Control biológico y I Congreso Americano de Control Biológico, I Simposio sobre control biológico de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) (Coleoptera:Scolytidae), 6 al 10 de noviembre de 1995. Tapachula, Chiapas.

Díaz V.V.M., Pérez Q. J.N., Pinson R E.P., Posada C S. 2006. El pH del agua en la aplicación del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferr. en Cacahoatán, Chiapas. Entomología Mexicana Volumen 5 Tomo 1. pp. 630-634.

Díaz V.V.M., Roblero J.D. 2007. Épocas de aplicación del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para el control de *Hypothenemus hampei* Ferr, Quehacer Científico en Chiapas 1(4):42-47

Hernández L. 2000. Sueños de café. En Café Orgánico. Uciri-Cepco-Majomut. Fonaes. México, D.F. pp. 27-48.

Johnson D.L. 1991. Introduction, biology, ecology field experimentation and environmental impact. In: Biological control of Locusts and grasshoppers. Lomer, C.J, and C. Prior Edits. pp. 267-278.

Olivares E. 1994. Paquete de Diseños Experimentales. Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FAUANL) Versión 2.5. Facultad de Agronomía, Marín, N.L.

