

**EVALUACION DE AISLADOS DE Beauveria bassiana (BALS.) VUILL.
PARA EL CONTROL DE Plutella xylostella (L.)
(Lepidoptera:Plutellidae)**

Commemorativa
Orton - IICA - CATIE

7 - MAR 1995

RECIBIDO
Turisbal, Costa Rica

Gregorio Fuentes R.
Manuel Carballo V.

RESUMEN

Una evaluación preliminar permitió seleccionar los aislados 447, Achi 5, 167, A4 y Achi 2 de B. bassiana, como los más virulentos contra P. xylostella. La concentración letal media (CL 50) para el aislado 447 fue de 4.16×10^5 mientras que la CL 95 fue de 5.1×10^7 conidios por mililitro. El aislado 447 resultó ser el más efectivo para el control microbioal de P. xylostella tanto en el laboratorio como en el invernadero.

INTRODUCCION

La palomilla "dorso de diamante" Plutella xylostella es considerada como la principal plaga de todas las especies de crucíferas. Considerando el efecto negativo que significa la aplicación desmedida de plaguicidas para el control de esta plaga, es importante buscar alternativas de control natural que reduzcan las poblaciones de este insecto a niveles en donde el daño causado no sea económico.

El hongo entomopatógeno B. bassiana, perteneciente a la clase Deuteromicete, ha sido muy estudiado y usado en el control de importantes plagas de insectos en muchos cultivos en todo el mundo (Habib y Andrade, 1977; Ferrán 1978; Feng y Johnson, 1990).

Este hongo después de colonizar el insecto crece dentro de su organismo hasta causarle la muerte por las toxinas producidas y finalmente las hifas del hongo salen al exterior del cuerpo del insecto adonde esporulan (Alves 1986). El tiempo de colonización, que se inicia a partir de la penetración de las hifas, puede variar de tres a cinco días dependiendo del huésped, del patógeno y de las condiciones ambientales. La producción de conidios ocurre uno o dos días después de la emergencia de las hifas en condiciones de elevada humedad y con temperaturas entre 20 y 30°C (Alves, 1986).

La virulencia de los aislados y la susceptibilidad del insecto hospedero, así como el desarrollo de la infección está relacionada con la efectividad de esporas, el estado fisiológico del huésped y las condiciones abióticas (Ferrán, 1978). Alves (1986) menciona que la virulencia puede ser expresada con el tiempo letal medio (TL50) y la concentración letal media (CL50).

El presente trabajo se desarrolló con el propósito de estudiar diferentes aislados del hongo entomopatógeno B. bassiana, para el control de P. xylostella. Para la realización de este ensayo se tomaron en cuenta los siguientes objetivos específicos.

1. Determinar la patogenicidad (% de mortalidad) y evaluar el tiempo letal medio (TL50) de diferentes aislados de B. bassiana en el control de P. xylostella.
2. Determinar la concentración letal media (CL50) y la concentración letal al 95% (CL95) del aislado más virulento.
3. Evaluar los aislados utilizando la CL95 del aislado seleccionado como más patogénico y virulento.
4. Evaluar el potencial de inóculo de los aislados seleccionados como más virulentos.
5. Evaluar el aislado más virulento a nivel de invernadero, usando la concentración determinada como CL95.

MATERIALES Y METODOS

La evaluación de los aislamientos de B. bassiana se realizó en el Laboratorio del Proyecto de Manejo Integrado de Plagas (MIP), CATIE, Turrialba, de enero de 1992 a octubre de 1993.

Los aislamientos de B. bassiana se obtuvieron del MIP, CATIE y de DIECA, Grecia. Las poblaciones de insectos de P. xylostella se recolectaron en las zonas de Pacayas, Capellades de Alvarado y Cipreses de Oreamuno.

Este trabajo se desarrolló mediante cinco fases las cuales se describen de la siguiente manera:

Fase preliminar: Selección y reproducción de aislamientos de B. bassiana.

Se evaluaron un total de 24 aislados, para determinar cuales aislados eran más virulentos y seleccionarlos para las siguientes fases del ensayo. En esta fase, diez aislamientos resultaron ser los más virulentos. Para determinar la virulencia se procedió a inocular diez larvas del tercer estadio, la inoculación se hizo por contacto. Los aislados que lograban matar más cantidad de larvas en tres días y que producían mayor cantidad de micelio, se seleccionaban para reproducirlos masivamente. Las larvas muertas se introdujeron en cajas sereológicas, en un ambiente adecuado de temperatura y humedad (22±1°C; 85% HR).

La reproducción de los diez aislamientos se hizo a través de las larvas muertas y que contenían abundante micelio y esporulación. Las larvas se desinfectaron introduciéndolas por unos segundos en alcohol de 70%, hipoclorito de sodio al 2.5%, agua salina y por último agua destilada estéril. Las larvas se colocaron en un medio artificial de A.A. (Agar-Agua). Después de 15 días se trasladó una pequeña parte del micelio de cada aislado a tubos de ensayo con un medio de PDA (papa, dextrosa y agar) para continuar la reproducción. A los 17 días, se agregó agua destilada a cada tubo de ensayo para formar una suspensión de conidios y transferirlos a arroz autoclavado en recipientes de 1 litro, donde permaneció por cinco días. Posteriormente se trasladó a bandejas plásticas de 30 cm de largo, 21 cm de ancho y 7 cm de alto permaneciendo por 12 días para que se efectuara la esporulación según el método propuesto por Alves (1982). El polvo de conidios se separó con una criba de 50 meshes y se conservó en refrigeración a 5°C para usarlo en los bioensayos.

Para establecer la cría de P. xylostella, se recolectaron larvas y pupas en las zonas de Pacayas, Capellades y Cipreses. Las pupas se separaban de las larvas en cajas de 250 ml, se introducía un trozo de hoja de repollo para que ovipositaran los adultos después de que emergían del capullo. Los adultos se alimentaban con miel de abeja. Las larvas utilizadas en los bioensayos fueron reproducidas por dos generaciones, para evitar que estuvieran contaminadas por hongos o residuos químicos provenientes del campo. Las condiciones ambientales en el cuarto de cría fueron: temperatura $22\pm 1^\circ\text{C}$, humedad relativa aproximada 85% y un fotoperíodo de 12 horas luz.

Fase 1: Determinación de la Patogenicidad y el TL50

Con cada uno de los aislamientos seleccionados se inocularon 15 larvas de tercer estadio, cada aislado constituía un tratamiento con cuatro repeticiones. La concentración utilizada fue de 1×10^9 conidios/ml de agua destilada. Para lograr una mayor dispersión de los conidios en la suspensión, se adicionó una gota de Tween-80. La concentración inicial de conidios se determinó haciendo conteos mediante un hematocímetro. Para obtener la concentración deseada se procedió a hacer diluciones con agua destilada. La inoculación de las larvas se hizo en forma tópica con un microcapilar y consistió en aplicar una gota a cada una de las 15 larvas por caja. Se usaron cajas de 350 ml para cada tratamiento para favorecer la aereación y reducir el peligro de otros factores de mortalidad. La mortalidad se evaluó diariamente por siete días. También se evaluó el número de conidios producidos por larva a los 20 días.

Fase 2: Determinación de la Concentración Letal Media (CL50) y la Concentración Letal al 95% (CL95)

La CL50 y CL95 se determinó con el aislamiento más virulento según la mortalidad de la fase anterior. Las concentraciones utilizadas fueron 10^9 , 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 conidios/ml, más un testigo al cual se le aplicó solo agua. Se usó el mismo tipo de cajas de la fase anterior con 15 larvas del tercer estadio por tratamiento y cuatro repeticiones. La mortalidad se evaluó diariamente por siete días.

Fase 3: Evaluación de los aislados más promisorios a la concentración considerada como la más virulenta

Los aislados con menor TL50 y mayor virulencia en la primera fase, fueron seleccionados, para evaluarlos con la concentración letal al 95% (DL95) determinada en la fase 2.

Fase 4: Fase de Invernadero

El aislado más patogénico y virulento se evaluó con la concentración letal al 95% (CL95), calculada en la fase 2. Esta práctica se realizó en el invernadero del Proyecto Manejo Integrado de Plagas (MIP).

Para obtener más información del comportamiento de la concentración empleada se procedió a aplicar una concentración 10 veces más baja y una 10 veces más alta de la CL95.

En cada concentración se inocularon un total de cuarenta larvas del tercer estadio con tres repeticiones. La aplicación se hizo por aspersión sobre las plantas de repollo en la fase de preformación de la cabeza. Las condiciones de temperatura en el invernadero fue de 25.2°C en el día y 19.8°C en la noche, con una humedad relativo de 85%. La cantidad de larvas vivas y muertas así como la producción de micelio se evaluó cada cuatro días durante 20 días.

DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANALISIS DE LOS DATOS

El diseño experimental fue completamente al azar con cuatro repeticiones, excepto la fase 4 que fue de tres repeticiones.

Se realizó un análisis de varianza para la mortalidad y un análisis de probitos para el tiempo letal medio y las concentraciones letales.

RESULTADOS Y DISCUSION

Patogenicidad y Tiempo Letal Medio (TL50) de 10 aislamientos de B. bassiana.

El aislamiento 447 presentó el menor TL50, siguiendo en orden creciente los aislados Achi 5, 167, A4, Achi 2, Ach 1, A3 y A7, aunque se observa que estadísticamente estos aislados no presentaron diferencias significativas entre sí. El aislado P.V. fue el que presentó el tiempo letal medio más alto, seguido por el aislado A2 (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad, tiempo letal medio (TL50) y número de conidios por larva, obtenidos de 10 aislamientos aplicados sobre larvas de P. xylostella. CATIE, Turrialba, 1992.

Aislamientos	% Mortalidad	TL50	L.C. (95%)	Conidios/larva
447	100 a	1.84 a	1.68-1.99	31.90 x 10 ⁵
Achi 5	97 a	2.11 a	1.88-2.34	4.10 x 10 ⁵
167	96 a	2.16 a	1.65-2.62	5.70 x 10 ⁵
A4	96 a	2.19 a	1.83-2.52	2.54 x 10 ⁵
Achi 2	93 a	2.36 a	1.70-2.95	18.40 x 10 ⁵
Achi 1	92 a	2.50 a	2.24-2.75	2.37 x 10 ⁵
A3	89 a	2.77 a	2.51-3.02	8.64 x 10 ⁵
A7	88 a	2.85 a	2.56-3.12	4.70 x 10 ⁵
A2	69 b	4.25 b	3.90-4.61	10.60 x 10 ⁵
P.V.	40 c	9.25 c	7.81-12.09	1.69 x 10 ⁵

Porcentajes con la misma letra no difieren entre sí al 0.05 según prueba Duncan.

TL 50 con la misma letra son iguales entre sí según el traslape de los límites de confianza.

El aislado 447 presentó el 100% de mortalidad (Cuadro 1). Observamos que los aislados Achi5, 167, A4, Achi2, Achi1, A3 y A7 registraron porcentajes de mortalidad muy altos y no presentaron

diferencias con el aislado 447. Los aislados A2 y P.V. presentaron porcentajes muy bajos.

Los aislamientos 447, Achi 5, 167, A4, Achi2, Achi1 A3 y A7 muestran una alta patogenicidad y virulencia que se demuestra al presentar tiempos letales medios bajos, altos porcentajes de mortalidad y porque no presentan diferencias estadísticas en estas características. Alves (1986) establece que la virulencia de un entomopatógeno puede ser evaluada en el laboratorio con insectos susceptibles y expresada por medio del TL50.

Los resultados obtenidos de alta patogenicidad del aislado 447 se asemejan a los obtenidos por Badilla y Alves (1991), al determinar que el aislado 447 era el más virulento contra el picudo de la caña, presentando un TL50 bajo y un alto porcentaje de mortalidad.

Los aislados anteriormente mencionados que presentan las características deseables de un entomopatógeno se deben de considerar promisorios. Se espera que al aplicarlos a larvas del tercer estadio de P. xylostella, produzcan el mayor porcentaje de mortalidad antes de los 7 días. Salinas (1974), establece un promedio de 12.8 días para la fase larval de Plutella que comprende 4 estadios. Esto significa 3.2 días para cada estadio. El tiempo transcurrido entre la aplicación y el efecto tiene que ser muy corto, por el rápido desarrollo larval que presenta esta plaga.

Al no existir diferencia significativa en el TL50 y la mortalidad de los primeros 8 aislados (Cuadro 1) puede deberse a que la concentración utilizada en esta fase fue muy alta, por lo que no se pueden separar los aislados por su virulencia, ya que a esa concentración todos los aislados tienen una alta mortalidad.

Potencial de Inóculo

Los aislados 447, Achi2 y A2 produjeron el potencial de inóculo más alto (31.90×10^5 y 18.40×10^5 y 10.60×10^5 conidios/larva. Los aislados Achi5, 167, A4, Achi1 y A7 presentaron promedios muy bajos en producción de conidios por larva (5.70 , 4.10 , 2.54 , 2.37×10^5) respectivamente (Cuadro 1). Sin embargo reportan porcentajes altos de mortalidad. El aislado P.V. fue el que produjo el menor número de conidios por larva.

Lo observado en el Cuadro 1, explica que no necesariamente la efectividad de una cepa es la alta producción de conidios, sino la virulencia, la capacidad de diseminación y la viabilidad de los conidios. En el caso de estos aislados donde la producción de conidios es baja y la mortalidad es alta, se puede deducir que no existen genotipos menos virulentos actuando sobre el insecto. El aislamiento A2 presenta una alta producción de conidios pero produce un porcentaje de mortalidad muy bajo, esto puede deberse a que hay pérdidas de virulencia y que predominan los genotipos avirulentos o poco virulentos. Lazo (1990), menciona que la pérdida de virulencia en un cultivo seriado, se debe a la pérdida de genotipos virulentos y que predominen los menos virulentos.

Al determinar que el aislado 447 poseía todas las características de un patógeno epizootico, presentando el menor TL50, el más alto porcentaje de mortalidad y la mayor producción de conidios por larva, permitió seleccionarlo para evaluarlo en las siguientes fases.

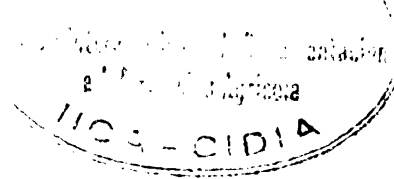
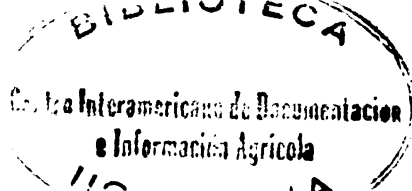
Concentración Letal Media (CL50)

La concentración para matar al 50% de la población de larvas fue de 2.2×10^5 conidios/ml y para matar al 95% fue de 5.1×10^7 conidios/ml. En el Cuadro 2 se observa que un aumento en la concentración produce un incremento en la mortalidad. Badilla y Alves (1991), determinaron que al aumentar la concentración de conidios, aumentaba la mortalidad en adultos del picudo de la caña, inoculando con el aislado 447 con las siguientes concentraciones 8×10^{11} , 8×10^{10} , 8×10^9 y 8×10^8 conidios/ml.

Cuadro 2. Mortalidad de larvas de P. xylostella con diferentes concentraciones de B. bassiana, aislamiento 447 a los 7 días de la inoculación. CATIE, Turrialba. 1992.

Concentración	% Mortalidad	TL50	L.C. (95%)
1×10^7	100.0 a	1.82 a	1.61-2.00
1×10^8	96.7 a	2.00 a	1.74-2.22
1×10^7	91.7 a	2.43 a	2.16-2.70
1×10^6	71.7 b	3.42 b	3.02-3.86
1×10^5	55.0 c	4.74 c	4.13-5.60

TL50 con la misma letra difieren entre sí por los valores del límite de confianza al nivel del 95% de probabilidad. Límite de confianza al 95% de probabilidad.



Fernández et al (1985), encontraron un aumento en la mortalidad de la broca del café Hypothenemus hampei al aumentar la concentración de B. bassiana. Gutiérrez (1991), determinó que al aumentar la concentración de B. bassiana aislado 117, usando las concentraciones 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 esporas/ml, aumentaba la mortalidad de Plutella. Además calculó la concentración letal media la cual fue de 4.16×10^5 con/ml. Estos resultados se asemejan a los obtenidos en esta fase del ensayo.

Las concentraciones 10^9 , 10^8 , 10^7 , no difieren significativamente en cuanto a mortalidad, lo que sugiere que las concentraciones superiores a 10^7 conidios/ml, son altamente patogénicas. Esto también explica porque en la primera fase no hay diferencia en los aislados, pero probablemente a concentraciones menores de 10^7 si podrían presentar diferencia entre aislados y permitir separarlos por su virulencia (Cuadro 2).

Las concentraciones 10^6 , 10^5 si presentaron diferencias significativas. Se puede pensar que el potencial de inóculo de estas dos concentraciones fue muy bajo lo que hizo que disminuyera significativamente la mortalidad. Estos resultados se relacionan con lo propuesto por Ferrán (1978), quien afirma que existe una correlación positiva entre el número de esporas infectivas y la mortalidad. Menciona además que las concentraciones bajas no causan el desarrollo de la enfermedad.

Para las concentraciones 10^9 , 10^8 , 10^7 no hubo diferencias significativas en los tiempos letales (Cuadro 2). Los tiempos letales para estas tres concentraciones fueron bajos (1.82, 2.00 y 2.43), lo que significa que la virulencia de este aislado es alta a concentraciones superiores a 10^7 conidios/ml. Las concentraciones 10^6 , 10^5 presentaron diferencias significativas en los tiempos letales, al disminuir la concentración aumenta ligeramente el TL50.

Estos resultados permiten asegurar que el aislado 447 con las concentraciones 10^9 , 10^8 y 10^7 conidios/ml es efectivo y se podría usar a la concentración más baja, lo que permite gastar menor cantidad de polvo de conidios para obtener una alta mortalidad de larvas. Esto significa 100 veces menos peso del polvo de conidios a la concentración 10^7 , con respecto a la concentración 10^9 .

-Evaluación de los cinco aislados más patogénicos de B. bassiana, a la concentración considerada como la más virulenta

De los diez aislados seleccionados en la primera fase para determinar la patogenicidad y TL50 se seleccionaron los aislados 447, A4, 167, Achi2 y Achi5. La evaluación de estos aislados se hizo con la concentración 5.1×10^7 conidios/ml correspondiente a la CL95 determinada en la segunda fase con el aislado 447.

El aislado 447 presentó el menor TL50 (3.32días), el aislado A4 (4.14 días), difieren estadísticamente estos dos aislados en cuanto a TL50. Los aislados 167, Achi2, Achi5 (6.39, 6.67, 7,2 días respectivamente) no difieren entre sí, pero si de los aislados 447 y A4 (Cuadro 3).

Cuadro 3. Porcentaje de mortalidad, tiempo letal medio (TL50) y límites de confianza (L.C.) de cinco aislados de B. bassiana a una concentración de 5.1×10^7 con/ml, determinada en la segunda fase. CATIE, Turrialba. 1992.

Cepa	% Mortalidad	TL50 (días)	L.C. (95%) (Ing. - Sup.)
447	93.33 a	3.32 a	2.81 - 3.78
A4	70.00 b	4.14 b	3.76 - 4.59
167	50.00 c	6.39 c	5.79 - 7.34
Achi 2	43.33 c	6.67 c	5.87 - 8.03
Achi 5	43.33 c	7.26 c	6.28 - 9.09

TL50 con diferente letra difieren significativamente con base a otros aislados de la misma agrupación.

Límite de confianza al 95% de probabilidad.

Mortalidad acumulada los 7 días.

Porcentajes con diferente letra difieren estadísticamente al 0.05 según prueba Duncan.

De lo anterior deducimos que cada aislado responde en forma diferente a la concentración 5.1×10^7 conidios/ml y no como en la primera fase cuando se usó una concentración alta de 10^9 conidios/ml, que no permitió encontrar diferencia entre aislados. Esto indica que la virulencia es una característica de cada aislado.

Asi mismo el aislado 447 al reportar el menor tiempo letal medio y el porcentaje de mortalidad más alto (93.33%) según Cuadro 3, confirma que la CL95 calculada en la segunda fase, realmente

mata al 95% de la población de larvas. Los aislados A4, 167, Achi2 y Achi5 no son letales a la concentración de 5.1×10^7 conidios/ml lo que indica que para estos la CL 95 debe ser más alta.

Comparando estos resultados con los obtenidos en la primera fase en que se usó una concentración alta, demuestra que el TL50 es dependiente de la concentración usada.

Al hacer esta evaluación a una concentración baja nos permite separar en forma más estricta entre aislados por su patogenicidad y virulencia ya que a una concentración baja demuestra que la cepa es efectiva por su propia virulencia y no por un exceso en su concentración.

Evaluación del aislado 447 en el invernadero

Al determinar que el aislado 447 era el más patogénico y virulento y que además produjo la más alta cantidad de inóculo, se seleccionó para ser evaluado a las concentraciones 5.1×10^6 , 5.1×10^7 , 5.1×10^8 conidios/ml.

Las concentraciones 5.1×10^8 y 5.1×10^7 no presentaron diferencia significativa en cuanto a mortalidad reportando 96.67% y 89.17% respectivamente. La concentración 5.1×10^6 fue estadísticamente diferente a las dos concentraciones anteriores, presentando una mortalidad muy baja de 13.33% (Cuadro 4).

Cuadro 4. Mortalidad de larvas de P. xylostella, inoculadas con B. bassiana aislado 447 en invernadero a diferentes concentraciones. CATIE, Turrialba. 1992.

Concentración	No. muertas	No. vivas	% Mortalidad
5.1×10^8	38.67 a	1.33 a	96.67 a
5.1×10^7	35.67 a	4.33 a	89.17 a
5.1×10^6	5.33 b	34.67 b	13.33 b
Testigo	0.00 c	40.00 c	0.00 c

Medias seguidas de una misma letra, en una misma columna, no difieren entre sí al 0.05 según prueba Duncan.

Los resultados obtenidos con las concentraciones 5.1×10^7 y 5.1×10^8 conidios/ml nos permite sugerir que las concentraciones superiores de 5.1×10^7 son altamente patogénicas para el aislado 447 bajo condiciones de invernadero.

Badilla y Alves (1991), obtuvieron porcentajes muy altos de mortalidad, usando dosis de 7.7×10^7 con/mm², aplicados a trozos de

caña para controlar el picudo de la caña en el campo con el aislado 447. Además de la eficiencia de este aislado, encontraron una alta persistencia en el campo.

Al no presentar diferencia significativa las concentraciones 5.1×10^7 y 5.1×10^8 en cuanto a mortalidad, podemos afirmar que la CL95 determinada en el laboratorio es muy parecida a la CL95 del invernadero.

CONCLUSIONES

-El tiempo letal medio (TL50) varía de acuerdo al aislado del hongo, por lo que se puede afirmar que es una característica propia de cada aislado.

-Los aislados 447, Achi5, 167, A4, Achi2, Achi1, A3 y A7 de B. bassiana presentan una alta patogenicidad sobre larvas de P. xylostella a una concentración de 1×10^9 conidios/ml.

-La concentración letal media (CL50) fue de 2.2×10^5 conidios/ml determinada con el aislado 447.

-El tiempo letal medio (TL50) varió con la concentración del hongo, a mayor concentración el tiempo letal medio disminuyó.

-El aislado 447 fue el más patogénico y virulento contra larvas de P. xylostella a una concentración de 5.1×10^7 conidios/ml en el laboratorio y en el invernadero.

-El aislado 447 fue el que produjo el potencial de inóculo más alto y el cien por ciento de mortalidad de larvas en el menor tiempo.

BIBLIOGRAFIA

Alves, S.B. 1986. Controle microbiano de insectos. Primera edición. Editora Manole. Sao Paulo (Brasil). 407 p.

Badilla, F.; Alves, S.B. 1991. Control del picudo de la caña de azúcar. Sphenophorus levis Vaurie (Col.: Curculionidae) con Beauveria bassiana y Beauveria brongniartii en condiciones de laboratorio y campo. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 20-21:34-38.

- Feng, G.M.; Johnson, B.J. 1990. Relative virulence of six isolate of Beauveria bassiana on Diuraphis noxia (Homoptera:Aphididae) Environ. Entomol. 19(3):785-790. H
- Fernández, P.M.; Leucona, R.E.; Alves, S.B. 1985. Patogenicidade de Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. a broca-do-café Hypothenemus hampei (Ferrari, 1867) (Coleoptera:Scolytidae). Ecosistema Pinhal. 10(1):176-181.
- Ferrán, P. 1978. Biological. Control of insect pest by entomogenous fungi. Ann. Rev. Entomol. 23:409-442.
- Gutiérrez, C. 1991. Control de larvas de Plutella xylostella (L). con la mezcla de Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. más Nu-Film 17. Tesis Mag. Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 73 p.
- Habib, E.M.; Andrade, C.F. 1977. Epizootia en larvas de Brassolis sophorae (Linnaeus) causada por Beauveria bassiana (Balls.) Vuill., con estudios de identificao e sintomología. Anais da Sociedade Entomologica do Brasil. 6(2):230-237.
- Lazo, R.B. 1990. Susceptibilidad de la broca del fruto del café (Hypothenemus hampei) al hongo entomopatógeno Beauveria bassiana y su tolerancia al oxiclورو de cobre. Tesis Mag. Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 61 p.
- Salinas, P.J. 1974. Estudios sobre la ecología de Plutella xylostella (L.) (Lepidoptera):Plutellidae). Ciclo de vida, longevidad y Fecundidad. In: Congreso Latinoamericano de Zoología (VI, 1974, México). México. 17 p.