

Patogenicidad de *Beauveria bassiana* y *paecilomyces fumosoroseus* sobre adultos del picudo de la batata *Cylas formicarius elegantulus* Summers (Curculionidae)

Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *paecilomyces fumosoroseus* on adults of sweet potato weevil *Cylas formicarius elegantulus* Summers (Curculionidae)

D. Alcalá de Marcano¹, J. Marcano A.², M. Morales³

Resumen

Uno de los factores que limita la producción en batata *Ipomoea batatas* es el picudo de la batata, *Cylas formicarius elegantulus* Summers, que en el estado Yaracuy ocasiona daños hasta de un 60% de la cosecha. Debido a su hábito taladrador del tallo y raíces, su control químico resulta poco efectivo y costoso, siendo necesaria la evaluación de otras medidas que permitan un manejo integrado. Se evaluó la patogenicidad de dos hongos entomopatógenos sobre adultos del insecto, utilizando como inóculo cepas de *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus*, en forma comercial y reactivada. La inoculación se hizo por inmersión en una suspensión de $1,3 - 1,4 \times 10^8$ conidios/mL durante 5 minutos, haciendo observaciones diarias con una lupa estereoscópica registrando la mortalidad diaria y total de adultos y las etapas de desarrollo de la micosis. Los resultados mostraron durante la fase de prueba, con cepas comercial y reactivada, una reducción del movimiento y capacidad de alimentación a partir de 48 horas e inicio de muerte de algunos ejemplares a partir de 72 horas. La mortalidad total fue superior con *B. bassiana* en su forma comercial y reactivada (98,34% y 96,6%), mientras que con *P. fumosoroseus* fue de 63,33% y 98,33%. Se identificaron, en base a la duración en horas, cinco etapas del desarrollo de la micosis sobre el insecto.

Palabras clave: *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Cylas formicarius elegantulus*, patogenicidad, batata, control biológico.

Abstract

One of the most important limiting factors of sweet potato *Ipomoea batatas* production, is the sweet potato weevil *Cylas formicarius elegantulus* Summers,

Recibido el 01-07-1998 • Aceptado el 23-10-1998

1. Ing. Agr. MSc. CIAE Lara. Apartado 592. Barquisimeto, estado Lara, Venezuela. E-mail: fonalara@reacciun.ve

2. Ing. Agr. MSc. CIAE Yaracuy. Yaritagua, estado Yaracuy, Venezuela.

3. IUTY San Felipe, estado Yaracuy, Venezuela.

which, at the Yaracuy State, causes damage up to 60% of the harvested product. Due to the fact that this insect is a tuber and root borer, its chemical control is ineffective and expensive, being necessary to evaluate other control strategies within an integrated management. The pathogenicity of two entomopathogenic fungi over insect adults was evaluated, using as inoculum isolates of the fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*, on its commercial and re-activated forms. Inoculation was done by immersion in a suspension of $1.3 - 1.4 \times 10^8$ conidia/ml during 5 minutes. Daily stereoscopic observations were made, registering daily and total mortality, as well as the stage of mycosis development. Reduction on movement and feeding capacity after 48 hours and beginning of death on some specimens after 72 hours were observed. Total mortality was higher with *B. bassiana* in its commercial and reactivated forms (98.34% and 96.6%), while with *P. fumosoroseus* was 63.33% and 98.33%. Five developmental stages of the mycosis considering time (in hours) over the insect, were identified.

Key words: *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Cylas formicarius elegantulus*, sweet potato, microbiological control.

Introducción

El picudo de la batata *Cylas formicarius elegantulus* Summers (Coleóptera: Curculionidae) es el insecto plaga más devastador del cultivo de la batata *Ipomoea batatas* (L.) Lam a nivel mundial y especialmente en los trópicos (4, 12, 18, 20, 22, 23).

Los adultos y larvas se alimentan de tallos y raíces, tanto en el campo como en condiciones de almacenamiento. El daño más grave es ocasionado por las larvas, las cuales producen túneles en la raíz reservante, llenándolos de excrementos. Cuando están fuertemente infestadas las raíces, resultan no aptas para la alimentación humana. Cualquier daño en la raíz comestible induce a la producción de terpenos con un olor característico que la hace inaceptable (6, 18, 21, 22).

Los adultos son de hábito nocturno y su mayor actividad ocurre desde las 18 horas en adelante (17). Las hembras oviponen en cavidades hechas en los tallos o en las raíces, en las cuales se desarrollan las larvas, pupas y adultos. Esta situación dificulta el control de las poblaciones a través del uso exclusivo de productos químicos convencionales, por lo que se hace necesario utilizar otras alternativas que permitan un manejo integrado de este insecto-plaga, donde los hongos entomopatógenos del género *Beauveria* y *Paecilomyces* pudieran ser un componente importante, con un gran potencial para el control biológico del picudo, por su alta rata de esporulación, germinación y por presentar virulencia selectiva (1).

Los hongos entomopatógenos han jugado un papel importante en la historia del control microbiológico. Los

géneros de estos hongos más encontrados en la naturaleza son: *Beauveria*, *Metharrizium*, *Entomophthora*, *Paecilomyces* y *Verticillium*. Las micosis son más comunes con ciertos grupos taxonómicos del orden homóptera (áfidos y cicadelidos), himenóptera (abejas), dípteras (mosca y mosquito) y coleóptera (escarabajos) siendo este último orden de insectos donde existen más especies afectadas (16, 24).

Existen muchas cepas de estos hongos que varían considerablemente en su virulencia y rango de hospederos. La forma más usual de infección es por contacto a través de la cutícula del insecto y la inducción de la micosis es factible debido a que los conidios pueden germinar aún fuera de los hospederos. La capacidad que muestran los conidios de los hongos entomopatógenos para permanecer estables en el campo, es la más importante restricción para el uso efectivo de estos agentes en el control de plagas, lo cual está muy relacionado con la capacidad de sobrevivencia de los mismos (3, 5).

En el control biológico del adulto del picudo de la batata, el género *Beauveria* puede ser utilizado como un medio eficiente dentro de un programa de manejo integrado de plagas (MIP) en razón de su alta capacidad de sobrevivencia en el suelo (3).

Una vez germinado el conidio, el hongo entra en el insecto a través de la cutícula, colonizando los tejidos internos (8).

Numerosos ensayos conducidos utilizando *Beauveria bassiana* (Bals) Voill sugieren, según sus autores, que éste es el patógeno con mayor potencial para el control microbial del picudo de la batata (2, 7, 14, 18).

En el caso del género *Paecilomyces* no se encontraron referencias sobre su utilización en el control del picudo de la batata, no obstante, existe información sobre la efectividad de este patógeno sobre otras especies de coleóptera (13, 19), lo cual pudiera traducirse en potencialidad de este entomopatógeno para el control biológico, dentro de un MIP del picudo. En la etapa preliminar de este trabajo se procedió a inocular larvas de *C. formicarius*, con dos gotas de suspensión ($1,3-1,4 \times 10^8$ conidios/mL) de los hongos *B. bassiana* y *P. fimosoroseus*, constatando su patogenicidad sobre la fase larval, siendo el porcentaje de muerte mayor con *B. bassiana* (100%) que con *P. fimosoroseus* (65%). No obstante como la fase adulta resulta más susceptible de controlar por estar más expuesta a efecto de la aplicación de los hongos a nivel de campo, la acción patogénica fue determinada sobre esta fase. El objetivo del trabajo fue el determinar la mortalidad total y diaria de adultos de *C. formicarius elegantulus*, causadas por *B. bassiana* y *P. fimosoroseus*, cepas comercial y reactivada, en condiciones de laboratorio e identificar las etapas de desarrollo de la micosis.

Materiales y métodos

El trabajo fue realizado en el laboratorio del Centro de Investigaciones Agropecuarias del estado Lara, utilizando cepas de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* producidas comercialmente por la empresa PROBIOAGRO, S.A. en Acarigua, estado Portuguesa. Para la multiplicación de las mismas se utilizaron placas de petri contentivas del medio de cultivo agar Saboraud, las cuales fueron incubadas por un período de 12 a 15 días en condiciones de laboratorio (22-29°C).

Reactivación de las cepas de los hongos *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* en adultos de *Cylas formicarius elegantulus*. Se desinfectaron 22 adultos del insecto en una solución de hipoclorito de calcio al 0,5% durante 15 minutos, se pasaron tres veces por agua destilada estéril para remover el exceso de cloro y luego fueron separados en dos grupos. Un grupo se inoculó con una suspensión del hongo *P. fumosoroseus* y el otro grupo con una suspensión de *B. bassiana* cuya concentración $1,3-1,4 \times 10^8$ conidios/mL fue medida con ayuda de la cámara de Neubauer (9).

Se probaron dos formas de inoculación: 1). Por contacto, aplicando sobre el insecto dos gotas de la suspensión del hongo con una pipeta pasteur esterilizada y 2). Por inmersión de los insectos durante 5 minutos en dicha suspensión.

Posterior a la inoculación, cada grupo de insectos fue colocado sobre un papel absorbente para retirar el exceso de suspensión, e introducidos en dos frascos de vidrio, previamente

esterilizados en estufa a 150°C. En el interior cada frasco contenía un disco de papel de filtro humedecido con agua destilada estéril y un trozo de batata previamente desinfectado durante 15 minutos con una solución de hipoclorito de calcio al 0,5%, la cual sirvió de substrato alimenticio, los mismos fueron tapados con un trozo de tela de organdí sujetado con una banda de goma para permitir la aireación y evitar la salida de los insectos. Al comenzar el crecimiento del micelio sobre el cuerpo del insecto, se hizo su reaslamiento en el medio Saboraud.

Mortalidad de adultos con cepas comerciales y reactivadas de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus*.

El inóculo utilizado, en ambos casos, provenía de cultivos con 15 días de crecimiento en el medio agar Saboraud a los cuales se adicionaron 20 mL de agua destilada estéril. Con la ayuda de un portaobjeto estéril se raspó la superficie de los cultivos facilitando así la liberación de los conidios. Esta suspensión previamente ajustada a una concentración de $1,3-1,4 \times 10^8$ conidios/mL fue depositada en un beacker de 100 mL y se le añadió una gota de Tween 80 al 0,1%.

Los especímenes del insecto utilizados en esta fase fueron criados en jaulas entomológicas en condiciones de laboratorio, suministrándoles raíces de batata como alimento. Se seleccionaron aquellos ejemplares más activos, completamente sanos de acuerdo a su apariencia a la lupa estereoscópica y de la misma edad, para garantizar la homogeneidad del

material biológico utilizado. Previo a su inoculación los insectos fueron desinfectados de la forma mencionada con anterioridad. Los aislamientos utilizados se codificaron de acuerdo al cuadro 1.

El ensayo se dispuso en un arreglo completamente aleatorizado, utilizando como tratamientos los cuatro aislamientos antes mencionados y un tratamiento testigo, el cual consistió de agua destilada estéril. Se inocularon 60 insectos por cada tratamiento para un total de 300 insectos.

La aplicación de los tratamientos se hizo mediante la inmersión del número total de insectos por tratamiento, en un beacker que contenía la suspensión de conidios y se agitó por cinco minutos, comenzando por el tratamiento testigo. Cumplido el tiempo de inmersión se retiró el exceso de inóculo de los insectos colocándolos sobre un papel de filtro seco. Posteriormente con la ayuda de un pincel los insectos fueron colocados individualmente en viales de 4 cc de capacidad. Estos contenían en su interior un disco de papel de filtro estéril y húmedo y un cilindro de batata de 1 cm de largo por 0,9 cm de

diámetro, que sirvió de sustrato alimenticio para el insecto. El mismo fue extraído de batatas previamente desinfectadas con hipoclorito de calcio al 0,5%, con ayuda de un sacabocado de 0,9 cm de diámetro. Los viales con los insectos ya inoculados se distribuyeron al azar y se colocaron dentro de bandejas de aluminio con agua en el fondo para crear una atmósfera saturada de humedad y estimular el inicio del proceso de patogénesis.

Los tratamientos fueron mantenidos bajo condiciones controladas a ± 12 horas de luz, temperatura de 22 - 29 °C y una humedad relativa de 90 % aproximadamente.

Después de la inoculación se hicieron observaciones diarias durante 11 días, utilizando una lupa estereoscópica, registrando el número total de adultos muertos a causa de los tratamientos aplicados mediante la confirmación de la presencia de estructuras de los hongos sobre el cuerpo de los insectos con la ayuda de la lupa estereoscópica. Esto permitió determinar la mortalidad total, la distribución de la mortalidad diaria y definir las etapas de desarrollo de las micosis.

Cuadro 1. Aislamientos utilizados.

Aislamientos	Procedencia	Código
<i>Beauveria bassiana</i> PROBIOAGRO	Acarigua	Bb-P
<i>Beauveria bassiana</i> Reactivado Insecto	Lab. CIAE Lara*	Bb-Rl
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> PROBIOAGRO	Acarigua	Pf-P
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> Reactivado Insecto	Lab. CIAE Lara	Pf-Rl

* Laboratorio FONAIAP - Centro de Investigaciones Agropecuarias del estado Lara

Resultados y discusión

Reactivación de las cepas de los hongos *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* en adultos de *C. formicarius elegantulus*. En los insectos inoculados por inmersión y por aplicación de dos gotas de suspensión de los hongos mencionados, se observó la muerte de los mismos a los 5 días de incubación y la cobertura de micelio a partir de los 7 días, con una esporulación abundante de color cremoso para *B. bassiana* y de un rosa pálido para *P. fumosoroseus*. El método de inoculación mediante inmersión resultó ser el más efectivo, observándose a los 5 días que el 95,45% de los insectos inoculados estaban muertos y presentaban signos de los hongos. En base a estos resultados se decidió evaluar en las siguientes fases del trabajo los dos hongos en sus formas comercial y reactivada en el insecto, utilizando solamente la inoculación por inmersión en la suspensión de conidios. Resultó de particular interés la característica que posee este insecto de quedar inmóvil por más de 15 segundos, cuando es tocado, lo cual permitió la aplicación de inóculo sin ningún inconveniente.

La desinfección tanto de los adultos de *C. formicarius* como del substrato alimenticio (batata) con hipoclorito de calcio al 0,5% durante 15 minutos no ocasionó muerte en el insecto, no inhibió la formación de micelio ni la diseminación de los conidios del hongo.

Mortalidad de adultos con cepas comerciales y reactivadas de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus*. Los resultados presentados en el

cuadro 2 indican que ambos hongos son patogénicos sobre adultos del insecto *C. formicarius elegantulus*, ocasionando a partir de las 48 horas, una disminución en los movimientos y capacidad para alimentarse. Los insectos muertos presentaban un aspecto momificado con una coloración más oscura y mostraban presencia de hifas del hongo saliendo a nivel de algunas partes del cuerpo como las articulaciones, principalmente en patas y antenas.

En el caso del hongo *B. bassiana* (cuadro 2) se observó la muerte de algunos ejemplares a partir de las 72 horas de su inoculación, manifestándose diferencias poco notables entre la cepa comercial y reactivada del hongo, con una mortalidad total de 98,34% y 93,6% respectivamente. Esto podría indicar que en ambas formas dicho hongo es una excelente alternativa para el control de este insecto, lo cual concuerda con resultados obtenidos por otros investigadores (2, 7). Sin embargo en el caso del hongo *Paecilomyces fumosoroseus* (cuadro 2) la mortalidad total causada por la cepa comercial del mismo es relativamente baja (63,33%) comparada con la producida por el hongo reactivado mediante su inoculación en el insecto (98,33%). Estos resultados confirman lo señalado por diferentes investigadores sobre el aumento de virulencia del hongo una vez que es inoculado sobre el hospedero susceptible (10, 11).

La mortalidad total observada en el tratamiento testigo fue de 16,66% y puede ser atribuida a diferentes causas

como: manipulación, otros contaminantes externos y causas fisiológicas como la inanición. En estos casos, al ser observados a la lupa estereoscópica, no se apreciaron estructuras de los hongos evaluados sobre el insecto muerto mantenido en condiciones de alta humedad. El resto de los insectos se mantuvo durante la conducción del ensayo en condiciones normales, manteniendo su capacidad de movilidad y alimentación.

Se identificaron cinco etapas del desarrollo de la micosis sobre el adulto de *C. formicarius* (cuadro 3), encontrándose que con el aislamiento Bb-P la muerte de los adultos ocurrió a las 111,05 horas en promedio, mientras que con el aislamiento Bb-RI la muerte fue a las 128,68 horas. En el caso de *Paecilomyces* la duración promedio del período hasta la muerte fue mayor (172,42 horas) para el aislamiento comercial (Pf-P), mientras que con el aislamiento reactivado este período se redujo, con una duración de 120,81 horas. Así mismo el tiempo transcurrido desde la muerte a liberación de conidios, tuvo una duración promedio de 244 horas para el Bb-P y de 274,56 horas para el Bb-RI, 216 horas

para el Pf-P y 256,55 horas para Pf-RI (cuadro 3).

Los datos de la figura 1 muestran que el aislamiento comercial de *Beauveria* (Bb-P) requirió un tiempo menor que el aislamiento reactivado (Bb-RI) para matar el 50% de la población (109,2 horas y 126 horas, respectivamente). En el caso de *Paecilomyces* la diferencia de tiempo entre ambos aislamientos fue mayor, siendo en el caso del aislamiento comercial (Pf-P) de 202,8 horas, mientras que para el aislamiento reactivado (Pf-RI) este tiempo fue de 110,4 horas después de la inoculación (figura 2).

En la figura 3 se puede observar que inicialmente la mortalidad diaria fue variable, manteniéndose en menos del 10% hasta las 96 horas, alcanzando un valor máximo de 85%, para el aislamiento comercial a las 120 horas a partir del cual comienza a descender. En el caso del aislamiento Bb-RI se registra un 5% de mortalidad a las 72 horas después de la inoculación, incrementándose progresivamente a las 120 y 144 horas con un porcentaje de 33,33% y 51,67%, respectivamente,

Cuadro 2. Patogenicidad de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* sobre adultos de *C. formicarius elegantulus*.

Tratamiento*	Total adultos	Mortalidad causada por el hongo (%)	Mortalidad por otras causas (%)	Mortalidad total (%)
Bb-P	60	98,34	1,66	100
Bb-RI	60	96,67	3,33	100
Pf-P	60	63,33	20,0	83,33
Pf-RI	60	98,33	1,67	100
Testigo	60	0,0	16,66	16,66

*Bb-P (*Beauveria bassiana* Probioagro). Bb-RI (*Beauveria bassiana* reactivado en insecto). Pf-P (*Paecilomyces fumosoroseus* Probioagro). Pf-RI (*Paecilomyces fumosoroseus* reactivado en insecto)

Cuadro 3. Duración de las diferentes etapas de desarrollo de *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* sobre adultos del picudo de la batata *C. formicarius* en condiciones de laboratorio (22-29°C).

Etapas de desarrollo	Tratamiento ⁽¹⁾	Nº adultos observados	Tiempo promedio en horas
Inoculación a muerte	Bb-P	59	111,05
	Bb-RI	58	128,68
	Pf-P	38	172,42
	Pf-RI	59	120,81
Muerte a producción de micelio	Bb-P	59	146,44
	Bb-RI	58	117,93
	Pf-P	38	174,31
	Pf-RI	59	122,44
Muerte a cubrimiento micelial	Bb-P	59	174,50
	Bb-RI	27	184,00
	Pf-P	13	199,00
	Pf-RI	57	194,94
Muerte a conidiogénesis	Bb-P	38	196,42
	Bb-RI	55	193,30
	Pf-P	18	220,00
	Pf-RI	40	187,20
Muerte a liberación de conidios	Bb-P	48	244,00
	Bb-RI	25	274,56
	Pf-P	32	216,00
	Pf-RI	29	256,55

⁽¹⁾Bb-P = *Beauveria bassiana* PROBIOAGRO. Bb-RI = *Beauveria bassiana* reactivada. Pf-P = *Paecilomyces fumosoroseus* PROBIOAGRO. Pf-RI = *F. fumosoroseus* reactivado.

siendo su pico máximo a las 144 horas después de la inoculación. De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede observar que el aislamiento comercial (Bb-P) ocasionó la muerte del mayor número de insectos en menor tiempo después de la inoculación (85% a las 120 horas), comparado con el aislamiento reactivado (Bb-RI). Se puede apreciar tanto para el tiempo letal medio como para la mortalidad diaria para *B. bassiana* que la cepa comercial fue más efectiva que la reactivada, lo cual no es similar a los resultados obtenidos por otros investigadores, quienes reportan un aumento en los rangos de mortalidad con las cepas reactivadas, una vez que éstas son inoculadas sobre el huésped

susceptible (10, 11).

La mortalidad diaria de insectos, sometidos a los aislamientos Pf-P y Pf-RI presentó una distribución variable (figura 4). Para el aislamiento comercial Pf-P la mortalidad se inició a las 120 horas después de la inoculación con un porcentaje de 3,33%, luego tiene un incremento a las 144 horas (16,67%), valor que permanece más o menos constante hasta las 192 horas, para disminuir hasta 6,33% a las 216 horas después de la inoculación. Para el aislamiento Pf-RI, la mortalidad se inició a las 72 horas después de la inoculación alcanzando un pico máximo de 75% a las 120 horas, disminuyendo hasta un 16,67% a las 144 horas.

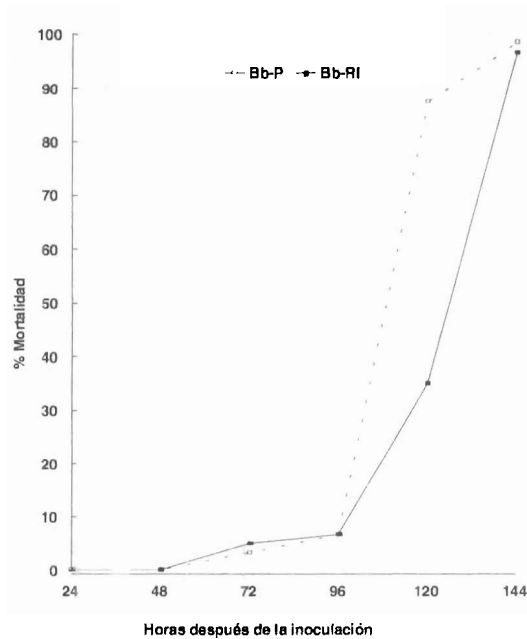


Figura 1. Mortalidad acumulada de adultos de *C. formicarius elegantulus* causada por *Beauveria bassiana* PROBIOAGRO (Bb-P) y reactivado en adultos de *C. formicarius elegantulus* (Bb-RI).

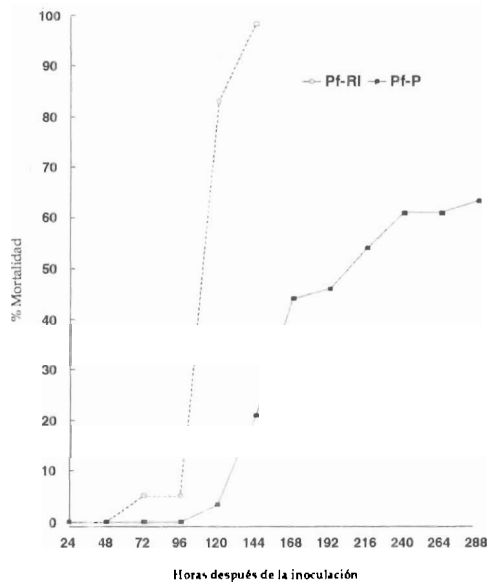


Figura 2. Mortalidad acumulada de adultos de *C. formicarius elegantulus* causada por *Paecilomyces fumosoroseus* PROBIOAGRO (Pf-P) y reactivado en adultos de *C. formicarius elegantulus* (Pf-RI).

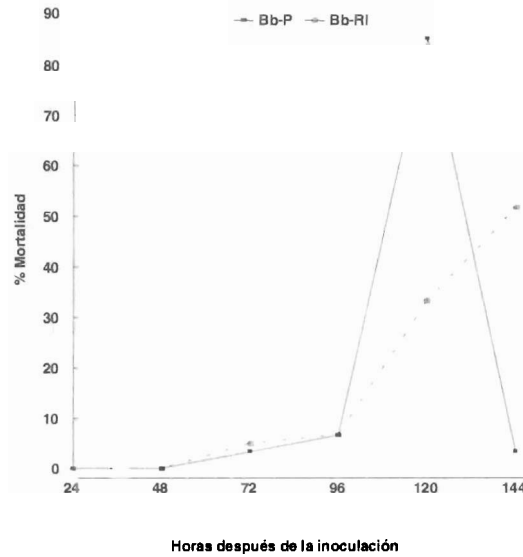


Figura 3. Mortalidad diaria de adultos de *C. formicarius elegantulus* causado por *Beauveria bassiana* PROBIOAGRO (Bb-P) y reactivado en adultos de *C. formicarius elegantulus* (Pf-RI).

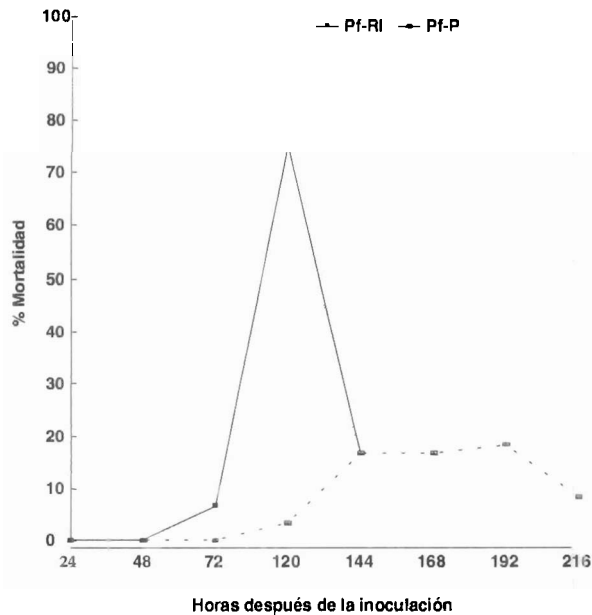


Figura 4. Mortalidad diaria de adultos de *C. formicarius elegantulus* causada por *Paecilomyces fumosoroseus* PROBIOAGRO (Pf-P) y reactivado en adultos de *C. formicarius elegantulus* (Pf-RI).

Conclusiones

Los hongos *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* son patogénicos sobre adultos de *C. formicarius*.

Los porcentajes de mortalidad total en el caso del hongo *B. bassiana* cepa comercial y reactivado mostraron poca diferencia (98,34% y 96,6%). Para el caso del hongo *P. fumosoroseus*, el porcentaje de mortalidad entre la cepa comercial y la reactivada varía grandemente (63,33% y 98,33%).

En relación al tiempo letal medio (T.L. 50) para el hongo *B. bassiana* los valores fueron de 109,2 horas y 126 horas para el aislamiento comercial y reactivado, respectivamente. En el caso de *P. fumosoroseus* la diferencia en el tiempo fue mayor entre el aislamiento comercial y reactivado (202,8 horas y

110,4 horas respectivamente).

El aislamiento comercial Bb mató el mayor número de insectos en menor tiempo cuando se compara en el aislamiento reactivado (85% vs 33%) medido a las 120 horas después de la inoculación. Para el caso de Pf los valores de mortalidad diaria mostraron gran diferencia entre el aislamiento comercial y reactivado, (3,33% vs 75%, respectivamente).

El control de *C. formicarius* con cepas de Bb y Pf representa una solución parcial al problema ocasionado de este insecto, debiéndose utilizar manejos complementarios para lograr una reducción significativa de las poblaciones.

Literatura citada

1. Allard, C. B., H. Winke, D. N. Njenga, E. Nkubaye, P. Ndayira Gije and M. Ntimpirangeza. 1992. Field application of a biological insecticide, *Beauveria bassiana*, for the control of sweet potato weevils, *Cylas puncticollis* and *Blosyrus spp*, in Burundi. p. 68-79 In: Workshop Held (1992, Mombasa, Kenya). Root and tuber pest management in East and Southern Africa. Proceedings. de. by G. B. Allard. Mombasa, Kenya, International Institute of Biological Control.
2. Castineiras, A., T. Cabrera, A. Calderón y O. Obregon. 1984. Virulencia de cuatro cepas de *Beauveria bassiana* sobre adulto de *Cylas formicarius elegantulus* (Coleoptera: Curculionidae). Ciencia Técnica en la Agricultura, Protección de Plantas, (Cuba) 7: 67-74.
3. Champlin, F. R., P. Y. K. Cheung, S. Pekrul, R. J. Smith, R. L. Burton and E.A. Cirula. 1981. Virulence of *Beauveria bassiana* mutants for the pecan weevil. Journal of Economic Entomology 74: 617-621.
4. Cockerhan, K. L., O. T. Deen, M. B. Cristian and L. D. Newson. 1954. The biology of the sweet potato weevil. Louisiana Agricultural Experimental Station (La). Tech. Bulletin 483. 30 p.
5. Daoust, R. A. and R. M. Pereira. 1986. Survival of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes: Moniliales) conidias on cadavers of cowpea pest stored outdoors and in laboratory in Brazil. Environmental Entomology 15 (3): 642-647.
6. Deen, O. T. 1990. Observations of flight of the sweet potato weevil. Louisiana Agricultural Experimental Station Bull. 323: 40-43.
7. Díaz, S. J. y R. H. Grillo. 1986. Cepa de *Beauveria bassiana* Bals (Vuillemin) como patógeno de *Cylas formicarius elegantulus* Summers. Centro Agrícola (Cuba) 13 (3): 94-95.

8. Ferron, P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metharrizium*. p. 64-482. In: Burges, H.D. (ed) Microbial Control of Pest and Plant Diseases, 1970-1980. Academic Press, London, UK.
9. French, E. y T. Hebert. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA). San José (C.R.)
10. González, G., María T., F.Posada, J.Francisco, P. Bustillo y E. Alex. 1993. Bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Revista Colombiana de Entomología (Cali) 19 (4): 123-130.
11. Hincapie, R, H. Ospina, A. Bustillo y A. Saldarriaga. 1990. Evaluación del entomopatógeno *Verticillium lecanii* en el control del áfido *Mysus persicae* en crisantemos. Revista Colombiana de Entomología 16(2): 21-27.
12. Jansson, R. K., R. R. Heath and J.A. Coffelt. 1989. Temporal and spatial patterns of sweet potato weevil (Coleóptera: Curculionidae) counts in pheromone baited traps in whitethreshd sweet potato field in Southern Florida. Environ. Entomol. 18 (4): 691-697.
13. Jiménez, R.J. y C.R. Fernández. 1980. Efectividad de entomopatógenos para el control del picudo verde-azul de los cítricos. Cienc. Tec. Agric. Protección de Plantas (Cuba) 3(1): 75-86.
14. Khader Khan, H., S. Jayaraj. and R. J. Rabindra. 1990. Evaluation of micopathogens against the sweet potato weevil *Cylas formicarius* (F.). Journal of Biological Control. 4 (2): 109-111.
15. Lopez Nuñez, J. C. 1994. Efecto patogénico de cuatro aislamientos de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill (Hyphomycetos) sobre larvas de *Bombyx mori* (L.) (Cepidoptera: bombycidae) en laboratorio. Revista Colombiana de Entomología 20(1): 53-60.
16. Lujan, M. 1983. Importancia del hongo *Metharrizium anisopliae* como insecticida microbiológico en el control de plagas nocivas. Boletín de Reseñas. CIDA. (Cuba). p. 1-26.
17. Proshold, F.I., J.L. González, C. Asencio and R.R. Heath. 1986. A trap for monitoring the sweet potato weevil (Coleóptera: Curculionidae) using pheromone and live females as bait. J. Econ. Entomol. 79 (3): 641-647.
18. Reyes, M.U. 1986. Aspectos biológicos de *Cylas formicarius elegantulus* Summers (Coleóptera: Curculionidae) y determinación de factores de resistencia en diferentes variedades de *Ipomoea batata* (L) Lam. (Convolvulaceae). Tesis Doctoral. Maracay, [Ven.] Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Posgrado Entomología 164 p.
19. Rodríguez, S. D. 1986. Entomopatógenos registrados en gusano blar.co y pruebas de patogenicidad. p. 10-17. En: Memorias del curso sobre Manejo Integrado de Plagas de Papa. CIP. ICA. Luis Valencia (ed) Bogotá. Colombia.
20. Sutherland, J. A. 1986. A review of the biology and control of the sweet potato weevil (*Cylas formicarius*) (Fab). Trop. pest Management 32: 304-315.
21. Talekar, N. S. 1982. Effects of sweet potato weevil infestation on root yield. J. Econ. Entomol. 75 (6): 1042-1045.
22. Talekar, N. S. 1983. Infestation of a sweet potato weevil (Coleóptera: Curculionidae) as influenced by pest management techniques. J. Econ. Entomol. 76 (2): 342-344.
23. Talekar, N. S. 1988. How to control sweet potato weevil: A practical I.P.M. approach. Asian Vegetable Research and Development Center. Shanhuwa, Taiwan R. OC. 6 p.
24. Zimmermam, G. 1990. Microorganismos, pathogenic on insects and their use in biological plant protection. Inv. Agr. S. Jorge dos Orgaos 3(2): 53-58.