

Presencia de *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae) y hongos entomopatógenos potenciales para su control biológico en sistemas agrícolas de Saraguro (Loja, Ecuador).

Occurrence of Phyllophaga spp. (Coleoptera: Scarabaeidae) and entomopathogenic fungi that may be used for their biological control in farms of Saraguro (Loja, Ecuador).

Norma Morocho^{1,*}, Marina Mazón¹ y Jeamel Ruiz¹

¹ Carrera de Ingeniería Agronómica, Universidad Nacional de Loja, Loja, Ecuador.

* Autor para correspondencia: emorocho@unl.edu.ec

Fecha de recepción del manuscrito: 09/12/2020

Fecha de aceptación del manuscrito: 16/31/2020

Fecha de publicación: 31/12/2020

Resumen—En los últimos años las larvas del género *Phyllophaga* se han convertido en un serio problema en la agricultura, causando pérdidas del 10 al 100 % de la producción, por lo que los agricultores se ven en la necesidad de combatirla con productos químicos, los cuales generalmente son altamente tóxicos. Las consecuencias ecológicas del uso de insecticidas causan gran preocupación en la actualidad, ya que, aunque el objetivo de estos productos es matar insectos plaga, también pueden tener un impacto en organismos que no son su objetivo, contaminar productos alimenticios y agua para los niveles tróficos superiores o generar afecciones a la salud humana. En la naturaleza existe una gran diversidad de microorganismos, entre ellos los hongos entomopatógenos, capaces de controlar y reducir favorablemente la población larval de *Phyllophaga* spp., mitigando el daño a los cultivos y disminuyendo las pérdidas en la producción. Con base en lo anterior, la presente investigación tuvo como objetivo caracterizar y evaluar la incidencia de larvas del género *Phyllophaga* en diversos cultivos de la comunidad La Matara (cantón Saraguro, Loja), así como buscar y caracterizar hongos entomopatógenos presentes localmente atacando larvas de *Phyllophaga*. Como resultado se encontraron larvas de la especie *Phyllophaga obsoleta* (89% de la población total colectada, distribuidas de forma general en los cultivos evaluados) y larvas del género *Cyclocephala* (únicamente en el cultivo de aguacate). Además, se determinó la presencia del hongo entomopatógeno *Metarhizium* parasitando larvas de *Phyllophaga*, el cual podría ser usado para un control biológico en la comunidad.

Palabras clave—*Phyllophaga* spp.; Hongos entomopatógenos; *Cyclocephala*; *Metarhizium*.

Abstract—In recent years the larvae of the genus *Phyllophaga* have become a serious problema in agriculture, causing losses ranging from 10 to 100% of production, so farmers need to fight it with chemicals which are usually highly toxic. The ecological consequences of the use of insecticides are currently of great concern. The objective of these products is to kill insect pests, consequently they may cause an impact on non-target organisms, may contaminate food products and water for higher trophic levels, and possibly affect human health conditions. In nature, there is a great diversity of microorganisms, including entomopathogenic fungi, capable of controlling and reducing the larval population of *Phyllophaga* spp., mitigating damage to crops, and reducing production losses. Based on that, the objective of this research was to characterize and evaluate the incidence of larvae of the genus *Phyllophaga* in several cultures within 'La Matara' community (Saraguro canton, Loja), as well as to seek and characterize entomopathogenic fungi locally attacking *Phyllophaga* larvae. As a result, larvae from *Phyllophaga obsoleta* (representing 89% of the total population collected, distributed in all the crops evaluated) and from *Cyclocephala* genus were identified (only in the avocado crop). Also, the presence of *Metarhizium* was confirmed parasiting *Phyllophaga* larvae in the agricultural soils of the community, which may be used for a biological control in La Matara.

Keywords—*Phyllophaga* spp.; entomopathogenic fungus; *Cyclocephala*; *Metarhizium*.

INTRODUCCIÓN

En Ecuador hay una creciente preocupación de los agricultores por el ataque del llamado complejo

de gallinas ciegas, un grupo de larvas de la subfamilia Melolonthinae (Coleoptera) que viven en el suelo, entre los cuales destacan las larvas de *Phyllophaga* spp. Estas larvas presentan una gran capacidad de adaptabilidad, por lo

que se encuentran distribuidas en varias regiones del país y en distintos cultivos, causando serias pérdidas económicas (Quijije y Mendoza, 1995; Cueva, 2014).

Estas larvas, consideradas plagas de importancia mundial, habitan en el suelo a una profundidad de 15 a 25 cm y se alimentan de las raíces de las plantas destruyendo su sistema radicular. Específicamente en el tercer estadio larval, provocan los mayores daños a los cultivos, con pérdidas que van desde el 10 al 100 % de la producción (CATIE, 2002).

En la provincia de Loja se registra un solo estudio realizado por Tambo y González (1999), quienes investigaron las especies que causaban mayor daño a los cultivos, sin buscar alguna alternativa de control para esta plaga.

La herramienta principal que se está utilizando para el control y erradicación de esta plaga es la aplicación de insecticidas granulados al suelo (Ruiz *et al.*, 2012), convirtiéndose en un problema más que una solución. Según informes realizados por la FAO (2018), a nivel mundial cada año se rocían 4,6 millones de toneladas de plaguicidas químicos, provocando la más severa contaminación al agua, suelo y seres vivos en general, incluido el ser humano. Estudios preliminares del CATIE (2002) manifiestan que “los pesticidas utilizados para el control de *Phyllophaga* spp. se encuentran entre los más tóxicos, siendo responsables de los casos más severos de intoxicación de los campesinos”.

Debido al hábito subterráneo que *Phyllophaga* tiene durante su desarrollo larval es susceptible a la infección por microorganismos, siendo esta una alternativa para su control. Entre los microorganismos utilizados en el control biológico se encuentran los hongos entomopatógenos, que tienen la particularidad de parasitar a diferentes tipos de artrópodos y de encontrarse en los hábitats más variados. Entre estas especies de hongos ampliamente reconocidas como bioinsecticidas se encuentran *Beauveria bassiana* (Bals) y *Metarhizium anisopliae* (Metschn.), que han mostrado excelentes resultados en el control de varias plagas agrícolas, incluidos larvas y adultos del género *Phyllophaga* (Rustiguel *et al.*, 2018).

Considerando lo antes mencionado, esta investigación busca conocer las especies del género *Phyllophaga* presentes en la comunidad de La Matara (cantón Saraguro), sus preferencias alimenticias y su incidencia en los cultivos. Así mismo, se busca conocer las cepas nativas de hongos entomopatógenos que atacan a estas especies, para poder planificar una estrategia de manejo que pueda funcionar en la zona particular de estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en la comunidad La Matara (Fig. 1), cantón Saraguro, provincia de Loja (sur de Ecuador). Sus coordenadas son 3° 3' 38" Latitud sur y 79° 43' 41" Longitud oeste, y altitud de 2 350 m.s.n.m.

La comunidad cuenta con una extensión de 144 ha; desde

sus inicios se ha dedicado a la producción agrícola destinada al consumo familiar y comercialización. Su suelo es franco-arcilloso, cuenta con un sistema de riego que abastece a toda la comunidad y su pendiente va del 2 % al 20 %.

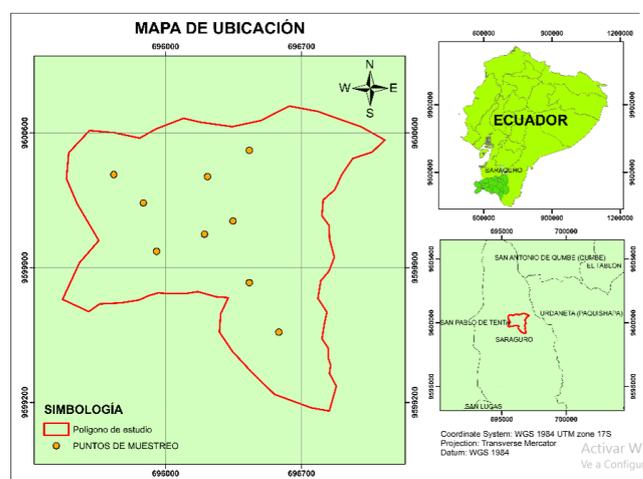


Fig. 1: Mapa de ubicación de los puntos de muestreo de larvas de *Phyllophaga* spp. en la comunidad La Matara, sur de Ecuador.

La selección de los sitios de estudio se realizó en función de los cultivos presentes en la localidad, sin tomar en cuenta su extensión ni topografía. Se seleccionaron nueve sembríos aleatorios (Fig. 1) con 10 repeticiones en cada uno, dando un total de 90 muestras. En cada sembrío se registraron los siguientes datos: fecha de muestreo, cultivo, ubicación geográfica, altitud sobre el nivel del mar y nombre del propietario. El muestreo de larvas se realizó una sola vez en cada punto durante el tiempo de estudio desde el mes de octubre 2019 hasta marzo 2020. En cada punto de muestreo se sacó un cubo de suelo de 30 x 30 x 30 cm, del que se separaron manualmente las larvas presentes. Las larvas recolectadas se depositaron en recipientes plásticos, con suelo húmedo propio del lugar y posteriormente fueron trasladadas al laboratorio de entomología de la Universidad Nacional de Loja para su caracterización.

La identificación taxonómica de las especies del género *Phyllophaga* se realizó en el laboratorio de entomología de la Universidad Nacional de Loja, con larvas de tercer estadio; aquellas larvas que se encontraron en estadios uno y dos fueron alimentadas con trocitos de papa de ½ cm de diámetro, tres veces por semana, controlando la humedad del suelo. Una vez alcanzado el tercer estadio, se procedió a conservar las muestras en una solución de alcohol 75 % con ácido acético 80 % y glicerina. Se utilizó el estereoscopio para la observación morfológica de las larvas; la identificación se realizó con las claves taxonómicas propuestas por Ramirez-Salinas *et al.* (2000), que priorizan la forma del ráster como la principal característica para la identificación.

Para el aislamiento de hongos entomopatógenos, adicionalmente a los muestreos sistemáticos anteriormente descritos, se realizaron muestreos aleatorios en los terrenos cultivados dentro de la comunidad, los mismos que se encuentran dentro del polígono inicial de 1440000 m² de área (Fig. 1), procediendo a realizar la búsqueda de larvas

de *Phyllophaga* en diferentes estados de desarrollo que presentaran signos de estar infectados por hongos. Por cada larva colectada se procedió a llenar una ficha que contenía los siguientes datos: nombre del insecto colectado (familia, género, especie), lugar, cultivo, altitud y fecha. Las larvas colectadas se colocaron en fundas plásticas con su debida etiqueta y fueron trasladadas al laboratorio de Sanidad vegetal de la Universidad Nacional de Loja.

En el laboratorio se siguió el protocolo de Cañero y Ames (2004): se remojó al insecto en hipoclorito de sodio (0,5% del producto activo) durante cinco minutos, seguidamente se enjuagó tres veces con agua destilada y se colocó en papel de filtro estéril en una caja petri esterilizada, la cual se selló con papel Parafilm y se dejó incubar a 25 °C hasta observar la germinación del hongo. Después, con ayuda de una aguja de siembra previamente desinfectada, en la cámara de flujo laminar se tocó levemente el cuerpo del insecto donde se veía crecimiento fungoso, se realizó un ligero raspado y se transfirió su contenido a una caja Petri con medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (APD). La identificación morfológica de los aislados fue desarrollada con base en las claves descritas por Humber (2012).

En la cámara de flujo laminar a partir de los aislamientos se tomaron discos con un sacabocado de 10 mm de diámetro, se sembraron en el centro de la caja que contenía 15 ml del medio APD a una temperatura de 25±1 °C y cada caja se selló con Parafilm. El tiempo de incubación y evaluación comprendió un total de 15 días. Pasado ese tiempo se caracterizaron las colonias a nivel macroscópico: se observó la forma de crecimiento de la colonia, tamaño (el cual se mide de lado a lado pasando por el centro en dos puntos de la colonia), aspecto, textura y la producción de pigmentos (coloración de ambas caras).

Se realizaron cinco repeticiones por colonia madre, todas con la misma temperatura y medio de cultivo. Para la caracterización microscópica de las estructuras del hongo se realizó la técnica del microcultivo utilizada por Valle (2015). Para ello se colocó papel filtro en el interior de cada caja de Petri de 90 mm y sobre él se pusieron dos portaobjetos colocados en cruz. Se esterilizaron y posteriormente se adicionó agar en agua al 1,5% sobre el portaobjeto de la parte superior, en el cual se sembró una porción del aislamiento, con ayuda de un asa recta.

Seguidamente, se humedeció el papel de filtro con agua destilada estéril, las placas se sellaron con Parafilm y se llevaron a incubación a 25±1 °C. Se esperó el crecimiento de dos a tres días para realizar las observaciones al microscopio con aumento de 40X para verificar su crecimiento y estructura. La toma de microfotografías de la morfología, disposición de los conidios y la medición de conidios (largo y ancho) se realizó con ayuda de la cámara digital del microscopio MC-500-W.

RESULTADOS

Caracterización de larvas de Phyllophaga spp. y otros ejemplares del complejo gallina ciega

Los individuos del género *Phyllophaga* encontrados en el estudio correspondieron a la especie *Phyllophaga obsoleta* (Fig. 2), registrados en los cultivos de ciclo corto: maíz, hortalizas, mora, fresa y papa. También se pudo identificar el género *Cyclocephala* presente en el cultivo de aguacate.

Los caracteres diagnósticos observados para la identificación de *Phyllophaga obsoleta* en la presente investigación se describen a continuación: la larva presentó una cabeza color café de 5 a 6 mm de ancho (Fig. 2B); frente con 8-13 sedas anterofrontales; anchura de la cápsula cefálica 4,1-4,8 mm; en la región del pronoto no esclerotizada se encuentra una sutura longitudinal que se prolonga por el centro del cráneo y se divide en dos partes extendiéndose hacia los lados y terminando en la base de la mandíbula; presenta dos antenas de color café de 4 mm de longitud con 4 artejos (Fig. 2A); de los bordes laterales del labium se desprenden los palpos labiales, los cuales son de 1 mm y cubiertos de vellosidades; dos mandíbulas muy fuertes de 4 mm de longitud (Fig. 2C), terminando en una coloración negra.

Presentó tres pares de patas, las primeras son de 6 mm, las segundas de 7 mm y el tercer par de 9 mm de largo, con vellosidades en toda su superficie. Su región anal presenta una hendidura en forma de Y; ráster (Fig. 2D) con palidias ligeramente recurvadas, convergentes en ambos extremos, cada palidium formado por 15-27 pali cortos; setas tegiladas encorvadas en su extremo semejándose a un bastón, extendiéndose más allá del extremo anterior de la palidia. Su cuerpo es de color blanco crema y presenta forma de 'C,' cubierto de vellosidades y presenta espiráculos en cada uno de sus segmentos, el primero más grande que el resto. En su parte terminal presenta un ensanchamiento en forma de saco de color oscuro en donde se encuentra su sistema digestivo.

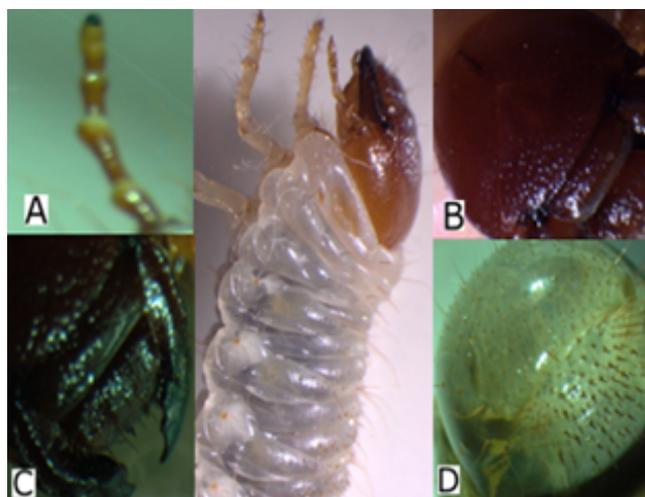


Fig. 2: Larva de tercer estadio de *Phyllophaga obsoleta*; A, antenas; B, cabeza; C, mandíbula; D, ráster.

Los datos presentados en la Tabla 1 corresponden a las larvas recolectadas en el sitio de estudio, con un total de 176.

La especie *Phyllophaga obsoleta* se encontró con el mayor porcentaje alcanzando el 89% de la población total, teniendo como preferencia los cultivos de fresa, papa, hortalizas y maíz. En bajas proporciones se pudo identificar el género *Cyclocephala*, con el 11%, encontrándose en el cultivo de aguacate.

Las larvas del tercer instar del género *Cyclocephala* se distinguen por las siguientes características: el cuerpo es color crema, más claro, blando, cilíndrico, largo y setoso; la región abdominal es gris clara a gris más oscuro casi al ápice; cabeza pardo amarillenta, reticulada y brillante, sutura epicraneal engrosada y pigmentada, la sutura frontal delgada y clara, sigmoide; epicranium con una hilera de tres setas dorsoepicraneales a cada lado de la sutura; al lado de estas hileras hay otra hilera de cinco setas craneales; siete setas paraocelares a cada lado; ocelos presentes, poco notables; frente con una seta en cada ángulo anterior y dos setas frontales anteriores; una seta frontal exterior a cada lado; dos setas largas posteriores a cada lado, cerca de la sutura frontal.

Antena con cuatro segmentos, último segmento con dos áreas sensoriales ovaladas dorsales y ventrales. Patas largas, en el tercio basal del cuerpo, uñas tarsales del primer par de patas con dos setas, una basal y otra preapical; uñas de las patas metatorácicas reducidas. Raster con teges, conformado por grupos de 34-36 setas gruesas y con ápice curvado. Labio anal superior con 31-34 sedas hamatae y setas finas. Abertura anal transversa, poco curvada.

Tabla 1: Recuento de larvas del tercer estadio del complejo gallina ciega colectadas en la comunidad La Matara, cantón Saraguro

Cultivos	<i>Phyllophaga obsoleta</i>	<i>Cyclocephala</i> sp.	Total
Fresa	31	0	31
Hortaliza	11	0	11
Papa	43	0	43
Mora	17	0	17
Maíz	55	0	55
Aguacate	0	19	19
Total	157	19	176
Frecuencia (%)	89%	11%	100%

Obtención de aislados de hongos entomopatógenos

Durante las prospecciones realizadas dentro de la comunidad La Matara, del total de aproximadamente 130 larvas del género *Phyllophaga* encontradas, solo en cuatro de ellas se registró presencia de hongo entomopatógeno. Al realizar el aislamiento, se identificó el género *Metarhizium*. Debido a que las larvas colectadas con presencia de hongos fueron tomadas del suelo, también se pudo evidenciar la presencia de hongos fitopatógenos como *Fusarium* y *Penicillium* colectados de larvas de *Phyllophaga* sp. muertas dentro de los cultivos presentes en la zona de estudio, durante el período de evaluación.

Características macroscópicas del género *Metarhizium*

El crecimiento de las colonias en las cajas de Petri fue de forma expansiva y homogénea alrededor del disco inocular. El crecimiento radial de la cepa encontrada (MN) en la zona de estudio mostró un aumento evidente a partir del día 5 después de la siembra (Tabla 2).

Tabla 2: Medición del crecimiento radial durante 15 días de la cepa MN del género *Metarhizium*, con seis repeticiones. MNr = número asignado a cada repetición de la cepa.

		Diámetro (mm)				
Cepa	Rp	1 día	2 día	3 día	4 día	
MNr	1	0	0	10	11	
	2	0	0	10	11	
	3	0	0	11	12	
	4	0	0	11	13	
	5	0	0	10	11	
	6	0	0	12	13	
Cepa	Rp	5 día	6 día	7 día	8 día	
MNr	1	13	17	17	20	
	2	16	22	29	34	
	3	16	19	30	35	
	4	18	23	35	41	
	5	11	13	20	23	
	6	16	24	30	39	
Cepa	Rp	9 día	10 día	11 día	12 día	13 día
MNr	1	20	25	25	27	29
	2	34	34	34	34	35
	3	35	35	35	35	35
	4	41	41	41	41	42
	5	23	23	25	25	27
	6	39	39	40	40	40

La colonia MNr4 fue la que presentó un mejor crecimiento con un diámetro de 42 mm (tasa de crecimiento 5 mm cada 24h) en los primeros 4 días, después se evidenció un crecimiento acelerado desde el día quinto hasta el séptimo (tasa de crecimiento 9 mm cada 24h), manteniendo los 42 mm hasta el último día de medición.

Los resultados de la caracterización morfológica (macroscópica y microscópica) de las colonias fueron comparados con las claves taxonómicas de Humber (2012). Las colonias presentaron un crecimiento lento con un promedio de 15 días para un desarrollo óptimo, eran de textura algodonosa, margen de micelio color blanco y esporulación de color verde oscuro (Fig. 3B), el reverso de la colonia era de color amarillo anaranjado y miel (Fig. 3A), presentaban pigmentación y un borde fino de color blanco alrededor de la colonia.

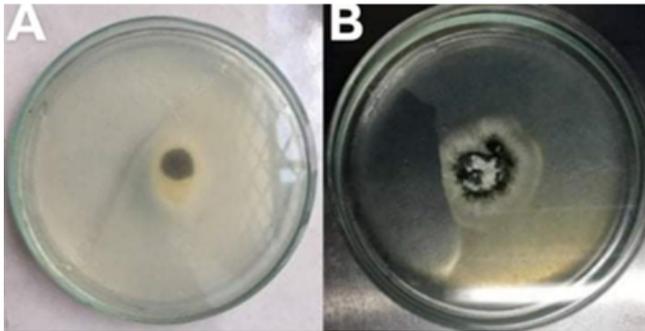


Fig. 3: Características microscópicas de la colonia de *Metarhizium* spp. en sus 15 días de maduración; A, reverso de la colonia; B, anverso de la colonia.

Morfología microscópica de *Metarhizium* spp.

Presentaron hifas septadas y ramificadas, los conidióforos crecieron a partir del micelio de forma irregular con dos a tres ramificaciones (Fig. 4). Se midieron 65 conidios, los cuales obtuvieron un tamaño de 6,2 a 8,5 μm de largo y 2,1 a 3,7 μm de ancho. Los conidios eran cilíndricos con una coloración verde pálido brillante (Fig. 5), de extremos redondeados agrupados en cadenas a menudo largas o formando pirámides.

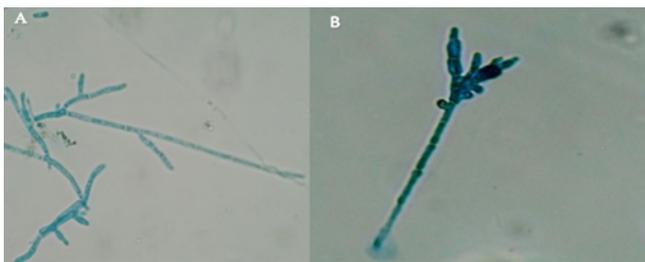


Fig. 4: Características microscópicas de las estructuras de *Metarhizium* spp.; A, Fiálides alargadas con ápice redondeado; B, conidióforo largo y tabicado con presencia de fiálides

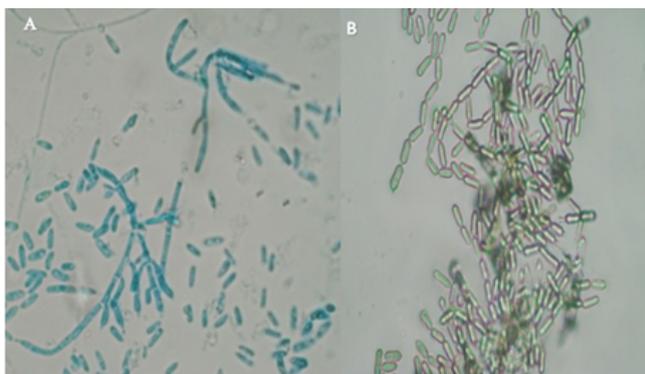


Fig. 5: Características microscópicas de las estructuras de *Metarhizium* spp.; A, conidióforos individuales ampliamente ramificados; B, conidios hialino unicelular, cilíndricos formando cadenas

DISCUSIÓN

En la presente investigación se ha detectado la presencia de *Phyllophaga obsoleta* en los cultivos de papa, mora, maíz, hortalizas y fresa de la comunidad de La Matara, una especie que ya ha sido reportada en la provincia de Loja

(Tambo y González, 1999), y ya había sido registrada como plaga de cultivos de fréjol y maíz (Cueva, 2014).

Los especímenes de *Phyllophaga obsoleta* fueron encontrados a los 2 525 m.s.n.m, una altitud que se encuentra dentro del rango determinado para el género, ya que su gran capacidad de adaptación y dispersión le permite vivir desde el nivel del mar hasta los 3 500 m de altitud (Calberto, 2004).

En el cultivo de aguacate se determinó la presencia de larvas del género *Cyclocephala*, cuya identificación no se pudo realizar hasta el nivel de especie debido a la falta de claves. En cualquier caso, este género ha sido encontrado atacando cultivos de cacao, maíz, aguacate y café (Cueva, 2014), aunque se ha visto que suele ser el género predominante particularmente en el cultivo de aguacate (Tabarda y Yepes, 2019).

El hongo que se encontró parasitando las larvas de *Phyllophaga* spp. correspondió al género *Metarhizium*, el cual presentó un crecimiento circular lento cambiando de tonalidad después del noveno o décimo día conforme iba madurando la colonia, pasando de blanco a verde oscuro, una característica típica de este género (Gallegos *et al.*, 2003; Vázquez, 2020). El tamaño de los conidióforos fue de 6,2 a 8,5 μm de largo y de 2,1 a 3,7 μm de ancho, coincidiendo con los datos expuestos por Vázquez (2020), según el cual los conidios de esta especie tienen una longitud de 4 a 10 μm y un diámetro que va de 2 a 4 μm .

La tasa de crecimiento radial diaria que se registró fue de 9 mm cada 24 h con una temperatura 25 ± 1 °C, una tasa ligeramente inferior a la registrada por Contreras y Bustillo (2019), el cual reporta un crecimiento de 10,40 mm cada 24 h. Este valor inferior de crecimiento se podría deber al cambio de temperatura sufrido por las larvas al pasarlas al laboratorio puesto que la temperatura anual promedio de la comunidad oscila entre 9 y 23 °C, en la cual el hongo ya se encuentra adaptado, mucho más variables a las condiciones de laboratorio.

La presencia del hongo entomopatógeno fue baja en comparación con otros estudios (Hernández-Velázquez *et al.*, 2011), lo cual genera una baja eficiencia en el control del complejo de gallina ciega en la zona. Sin embargo, la elevada efectividad patogénica que han mostrado cepas nativa de *M. anisopliae*, pudiendo alcanzar más del 53 % de efectividad (Torres *et al.*, 2013), indica el gran potencial que este hongo puede tener en la zona, el cual puede ser implementado para el control biológico de *Phyllophaga*, pero para corroborarlo debería de hacerse un ensayo sobre su actividad biológica. Para ello, es importante considerar al momento de la aplicación sobre el suelo que haya un adecuado nivel de materia orgánica, y se debe evitar el uso de plaguicidas químicos, para asegurar la sobrevivencia del inóculo y por ende un eficiente control de la plaga.

La información presentada en esta investigación permitirá replantear los diferentes aspectos de investigación de esta plaga de importancia económica dentro de la provincia de Loja, y de esta forma poder presentar un plan de manejo

agronómico eficiente para los agricultores. Por otra parte el uso de especies del género *Metarhizium* como entomopatógeno puede ser una alternativa muy eficiente para el control de larvas de *Phyllophaga* y otros insectos plaga, pero previo a la utilización del hongo se deben de realizar pruebas de patogenicidad que garanticen la efectividad de la cepa para después ser aplicada en campo.

REFERENCIAS

- CATIE (2002). Seminario taller centroamericano sobre la biología y control de Turrialba. Costa Rica. 35 pp.
- Cañero, V y Ames, T. (2004). Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. *Centro Internacional de la Papa* (CIP). 62 pp.
- Calberto, G. (2004). Estudio del ciclo de vida de *Phyllophaga menetriesi* (Blanchard) en condiciones controladas de temperatura, humedad e intensidad lumínica. Tesis para la obtención del título de Administrador del Medio Ambiente y de los Recursos Naturales de la Universidad Autónoma de Occidente, Colombia. 65 pp. Cueva, M. (2014) Identificación taxonómica de las especies de *Phyllophaga* (Col. Scarabaeidae) presentes en diez cultivos del Ecuador. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad ESPE, Ecuador. 46 pp.
- Contreras, L y Bustillo, A. (2019). Caracterización morfológica de cepas de hongos entomopatógenos de *Beauveria bassiana*, *Cordyceps* spp., *Metarhizium* spp. y *Purpureocillium lilacinum*. XV Reunión técnica nacional de palma de aceite. Colombia. Disponible en: https://www.cenipalma.org/wp-content/uploads/2019/10/1.-Caracterizacio%CC%81n-morfolo%CC%81gica-de-cepas-de-hongos-entomopato%CC%81genos-de-Beauveria-bassiana_c ompressed.pdf
- FAO (2018). Los contaminantes agrícolas: una grave amenaza para el agua del planeta. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 5 pp.
- Gallegos, M.G., Cepeda, S.M. y Olayo, P.R.P. (2003). Entomopatógenos. Trillas, México D.F. 2003. 148 pp.
- Hernández-Velázquez, V.M., Cervantes, Z., Villalobos, F.J., García, L.L. y Peña G. (2011). Aislamiento de hongos entomopatógenos en suelo y sobre gallinas ciegas (Coleoptera: Melolonthidae) en agroecosistemas de maíz. *Acta Zoológica Mexicana*, 27(3): 591-599.
- Humber, R.A. (2012). Identification of entomopathogenic fungi. En: Lacey, L.A. (Ed.). *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (Second Edition). Pp. 151-187. San Diego: Academic Press
- Quijije, R.O. y Mendoza J.R. (1995). El Orozco y su control. Boletín divulgativo n° 252, INIAP. 7 pp.
- Ramírez-Salinas, C., Morón, M.A. y Castro-Ramírez, A (2000). Descripción de los estados inmaduros de seis especies de *Phyllophaga* (Coleoptera: Melolonthidae; Melolonthinae) de la región altos de Chiapas, Mexico. *Folia Entomológica Mexicana*, 109: 73-106.
- Rustiguel, C., Fernández, M., Guimaraes, L y Moraga, E. (2018). Different strategies to kill the host presented by *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Canadian Journal of Microbiology*, 64(3): 191-200.
- Ruiz, V., Aquino, B., Silva, R y Girón, P (2012). Control Integrado de la Gallina Ciega *Phyllophaga vetula* Horn (Coleoptera: Melolonthidae) con Agentes Entomopatógenos en Oaxaca, México. *UDO Agrícola*, 12(3): 609-616.
- Taborda, Y y Yepes, F.C. (2019). Chisa (Coleoptera: Melolonthidae) asociadas al aguacate (*Persea americana* Mill.) en municipios del Oriente Antioqueño. *Revista Colombiana Metroflor*. Disponible en: <https://www.metroflorcolombia.com/chisas-coleoptera-melolonthidae-asociadas-al-aguacate-persea-americana-mill-en-municipios-del-oriente-antioqueño/>
- Tambo, V y González, L. (1999). Taxonomía del Género *Phyllophaga* spp. e Incidencia en los Principales Cultivos Bajo el Proyecto de Riego Chiriacu-Lucero. Loja.
- Torres, M., Cortez, H., Ortiz, C., Cappello, S y Cruz, A. (2013). Caracterización de aislamientos nativos de *Metarhizium anisopliae* y su patogenicidad hacia *Aeneolamia postica*, en Tabasco, México. *Revista Colombiana de Entomología* 39(1): 40-46.
- Vázquez, J.Y. (2020). *Metarhizium anisopliae*: características, taxonomía y morfología. Lífede. Recuperado de: <https://www.lifeder.com/metarhizium-anisopliae/>