

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN EL CONTROL BIOLÓGICO DEL PICUDO DEL CHILE DULCE *ANTHONOMUS EUGENII* CANO

Vargas-Chacón Cristina¹

RESUMEN

Evaluación *in vitro* de hongos entomopatógenos en el control biológico del picudo del chile dulce *Anthonomus eugenii* Cano. El objetivo fue evaluar la eficacia biológica de hongos entomopatógenos a fin de que sean utilizados en el manejo integrado de la plaga. Un total de 14 hongos de los géneros *Beauveria*, *Metarhizium* y *Paecilomyces*, preparados en una suspensión acuosa a la máxima concentración de conidias que se pudo obtener de cada uno, oscilando entre 1×10^8 a 1×10^9 conidias/mL. Se utilizaron adultos de *A. eugenii* de dos días de emergidos del fruto. Se empleó un diseño irrestricto al azar con 16 tratamientos, cinco repeticiones con cinco insectos cada una. Los insectos se colocaron individualmente en viales de vidrio y se observaron diariamente hasta su muerte y la aparición de micelio sobre el cuerpo. Se obtuvieron diferencias significativas en los porcentajes de mortalidad entre los tratamientos y el testigo. Los mejores resultados se lograron con cepas del género *Beauveria* sp. Las cepas de *Beauveria bassiana*, INTA-H-49 e INTA-H-168 lograron una mortalidad del 100 % después de seis días de haber sido aplicados, pero no se evidenció la emergencia de micelio del cuerpo del insecto, lo que no favorece la diseminación del hongo en el medio ambiente ni la posibilidad de eliminar otros individuos. Las cepas de *Beauveria* sp. INTA-H-140 e INTA-H-181 lograron una mortalidad del 100 % a los 8 días posteriores a la aplicación del tratamiento y produjeron micelio que cubrió el cuerpo del insecto con una abundante formación de conidias, lo cual favorece la diseminación del hongo. Este nivel de parasitismo los constituye en las cepas más promisorias para seguir siendo estudiadas.

Palabras clave: Pimiento, Ají, Barrenillo del chile, Capsicum, Coleóptero, Biocontrol.

Keywords: Pepper, Chili pepper, Pepper weevils, Capsicum, Beetle, Biocontrol.

¹ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria, INTA. Costa Rica. Correo: mvargasch@inta.go.cr

INTRODUCCIÓN

El coleóptero *Anthonomus eugenii* Cano es una plaga reglamentaria de interés cuarentenario. Es originaria de México, donde esta ampliamente distribuida, se encuentra además en Estados Unidos, El Salvador, Guatemala, Honduras, Costa Rica y en algunas islas del Caribe (INFOAGRO 2016), Belice, Nicaragua, Panamá, República Dominicana, Cuba, Jamaica (EPPO 2023). Esta plaga ataca principalmente los cultivos del género *Capsicum* y *Solanum*. No se sabe con exactitud cuando se presentó la plaga en Costa Rica por primera vez, pero desde el año 1995 se encuentra información que indica su presencia en las provincias de Alajuela y Heredia. (Coto 1996, EPPO 1998).

Una vez que la plaga este presente en un sitio, su erradicación es muy difícil por las características propias de su ciclo biológico (MAPA 2020), durante el ciclo del cultivo una hembra puede concebir varias generaciones dado su alta fecundidad (350-600 huevos/hembra en su vida y en promedio de 5-7 huevos por día), un ciclo de vida de huevo a adulto de 14 días con una temperatura de 26 y 28 °C y ovoposición de hasta 51 días, capacidad de vuelo y el que las larvas se desarrollan dentro de los frutos en donde completan su ciclo y emergen como adultos (INFOAGRO 2016). Los adultos de *A. eugenii* pueden sobrevivir hasta por 3 meses y en condiciones de bajas temperaturas hasta por 10 meses (EPPO 2023).

En el cultivo de chile dulce o picante, puede ocasionar daños con pérdidas de hasta el 100 % de la fruta. El adulto se alimenta de las hojas e inflorescencias y las larvas de los botones florales y de la parte interna de los frutos produciendo una pudrición, desprendimiento prematuro o deformación del fruto. Las primeras infestaciones en el campo ocurren con las primeras inflorescencias del cultivo y luego se incrementan por la emergencia de adultos entre dos y tres semanas posteriores, logrando entre tres y cuatro ciclos desde el primer brote (INTAGRI s.f).

En el manejo de la plaga se han utilizado tradicionalmente insecticidas químicos los cuales tienen alto valor económico, contaminan el ambiente, disminuyen la biodiversidad, pueden provocar intoxicaciones y efectos negativos en el

ambiente, a la salud humana y la generación de resistencia a las moléculas utilizadas. Una alternativa a esta práctica es el uso de controladores biológicos los cuales no perjudican al ser humano ni el ambiente (Gutiérrez *et al.* 2013).

Estudios sobre el control biológico de esta plaga son escasos. Sin embargo, hay experiencias con el uso de parasitoides como *Catolaccus hunteri* Crawford, y *Triapsis eugenii*; éste último con un parasitismo de un 30 % se constituyó como el controlador biológico más prometedor (INTAGRI 2016). En el estudio realizado por Rodríguez-Leiva *et al.* (2007) sobre la bioprospección de insectos parasitoides de *A. eugenii* se destacaron como los más promisorios los parasitoides *T. eugenii* y *Urosigalphus* sp. por su especificidad y capacidad de parasitar la plaga en el estadio de huevo. En el estudio realizado por Murillo (2022) el mayor parasitismo reportado en campo (40 %), se obtuvo con *T. eugenii*.

Se ha evaluado la eficacia biológica de la bacteria *Bacillus cereus* (Bac F315), la cual demostró una mortalidad del 92 % contra *A. eugenii* en condiciones controladas en laboratorio (Escobar 2008). En el año 1998 se evaluó en el país, la efectividad de plaguicidas químicos y del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* contra *A. eugenii*. Para ese año, los plaguicidas químicos producían una mortalidad del 100 % de la plaga. Además, las dosis bajas del insecticida fipronil en combinación con *Beauveria bassiana*, mostraron ser una alternativa de control del picudo del chile, debido a que el químico disponía al insecto al ataque del hongo. Otros plaguicidas químicos no fueron compatibles con el hongo al afectar su viabilidad, por lo que es importante recalcar que el manejo de la plaga con controladores biológicos hay dependencia no solo de su efectividad sino de la compatibilidad con otros insecticidas (Mora 1998).

En el año 2020, se presentaron graves problemas sanitarios en el cultivo de chile dulce debidos a los ataques de la plaga *A. eugenii* así como, los primeros indicios de que la plaga estaba adquiriendo resistencia a los plaguicidas. Para salvar la cosecha, los productores aplicaron químicos en exceso lo cual ocasionó que se

sobrepasaran los límites máximos de residuos (LMR) de los plaguicidas permitidos. El 72 % de las muestras de chile dulce analizadas por el Servicio Fitosanitario de Costa Rica no cumplieron con los LMR, por lo que el cultivo fue considerado el de mayor importancia en el incumplimiento de esta regulación. El mayor incumplimiento se dio con el Fipronil seguido por metamidofós, ometoato, clorpirifos, carbendazina, acefato, oxamil, clorotalonil, procloraz, iprodiona, BAC, propomocrab y profenofós entre otros (SFE 2021).

Es evidente la necesidad de nuevas moléculas químicas eficaces o bien de alternativas biológicas que puedan contribuir al manejo de la plaga. Por ello, el gobierno indica que es fundamental hallar una alternativa de manejo integrado del cultivo que incluya la aplicación de sustancias químicas y de controladores biológicos que permitan el control de *A. eugenii*, plaga considerada actualmente como la que más afecta el cultivo de chile en nuestro país (SFE 2022).

Se han realizado estudios donde algunos hongos entomopatógenos han sido eficaces en el control de *A. eugenii*. Los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* aplicados en suspensiones acuosas de 1×10^9 conidias/ml, han logrado mortalidades del 80 al 100 % después de cuatro a siete días de aplicados (Barba *et al.* 2020). En el estudio realizado por Samaniego *et al.* (2015), se

sumergieron adultos de la plaga en una suspensión de $1,5 \times 10^8$ conidias/ml del hongo *Metarhizium anisopliae* CBOC 071002 y se logró un parasitismo del 100 % dentro de los 7 días posteriores a la aplicación del tratamiento. En el estudio realizado por García-Carrucini *et al.* (2017) se evaluaron hongos entomopatógenos aislados de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) y del picudo del plátano (*Cosmopolites sordidus*) en *A. eugenii*. Se utilizaron suspensiones aproximadas de 1×10^6 conidias/ml de *Beauveria bassiana*, *B. caledonica*, *Paecilomyces fumosorosea* y *P. lilacinus*. El 100 % de la mortalidad de los insectos se alcanzó entre los cuatro y seis días luego de aplicados los tratamientos, mientras que los insectos control lograron sobrevivir hasta por 11 días sin alimentación. En el estudio de Carballo *et al.* (2021) se determinaron las cepas más virulentas de *B. bassiana* aplicando una suspensión de conidias de diferentes concentraciones en adultos de *A. eugenii*.

El objetivo de esta actividad fue evaluar los hongos entomopatógenos de la colección del INTA y algunos productos comerciales, a fin de encontrar alternativas de control biológico que puedan ser útiles en el manejo integrado del cultivo de chile dulce en el país. Además, los hongos promisorios revigorizados fueron almacenados a fin de que su potencial de patogenicidad pueda ser mantenido para futuros estudios en invernadero y campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó durante el periodo comprendido entre agosto del 2021 y setiembre del 2021 en el Laboratorio de Fitoprotección del INTA, San José, Mata Redonda.

En el cuadro 1 se muestra la lista de los tratamientos utilizados, origen de los mismos y la concentración utilizada. Se evaluaron 14 hongos entomopatógenos de los géneros, *Beauveria*, *Metarhizium* y *Paecilomyces*. Cada uno de los hongos fue sembrado en placas Petri, con medio de cultivo comercial agar papa dextrosa (PDA por sus siglas en inglés) y se incubaron a temperatura ambiente hasta

que el crecimiento del hongo abarcó toda la placa. Para la suspensión de conidias, se le agregó a cada placa 5 ml de agua destilada estéril y se raspó el hongo con una hoja de bisturí para soltar las conidias y suspenderlas en el líquido. La suspensión de conidias se vertió en un frasco conteniendo 45 ml de agua destilada estéril. En el caso de los frascos destinados a los tratamientos con el hongo *Beauveria*, el agua se preparó con *Tween 20* % al 0,1 % a fin de romper la tensión superficial común con este hongo. La concentración de conidias de cada suspensión se obtuvo mediante el uso de una cámara de conteo de células, tipo Neubauer.

Cuadro 1. Hongos utilizados en la revigorización con *E.eugenii*. San José, 2021.

Trat	Código	Nombre científico	Origen/insecto	Concentración aplicada (conidias/ml)
1	INTA-H31	<i>Beauveria bassiana</i>	Heredia. San Antonio de Belén/ Hypothenemus hampei)	3 x 10 ⁹
2	INTA-H49	<i>Beauveria bassiana</i>	Alajuela, Los Chiles/mosca blanca	1 x 10 ⁹
3	INTA-H181	<i>Beauveria</i> sp.	Limón, Pococí/ <i>Rhynchosiphorus</i>	1 x 10 ⁹
4	Testigo 1	NA	NA	NA
5	<i>M. acridium</i>	<i>Metarhizium acridum</i>	México facilitado por OIRSA	1,1 x 10 ⁸
6	INTA-H164	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Facilitado por DIECA	2,6 x 10 ⁸
7	INTA-H51	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Comercial	4,0 x 10 ⁸
8	INTA-H159	<i>Paecilomyces</i> sp.	Guanacaste/mosca blanca	1,5 x 10 ⁸
9	INTA-H146	<i>Paecilomyces</i> sp.	Comercial	6,4 x 10 ⁸
10	INTA-H29	<i>Beauveria bassiana</i>	Desconocido	1,1 x 10 ⁹
11	INTA-H168	<i>Beauveria</i> sp.	<i>Rhynchosiphorus palmarum</i>	1 x 10 ⁹
12	INTA-H149	<i>Beauveria</i> sp.	Alajuela, Grecia /hormiga	1 x 10 ⁸
13	INTA-H19	<i>Paecilomyces cinnamomeus</i>	Puntarenas, Osa/larva de lepidóptero	1,5 x 10 ⁸
14	INTA-H131	<i>Paecilomyces</i> sp.	comercial	1 x 10 ⁹
15	INTA-H140	<i>Beauveria</i> sp.	Desconocido/ <i>Methamasius hemipterus</i>	1 x 10 ⁸
16	Testigo 2	NA	NA	NA

Se recolectaron chiles dulces, de fincas ubicadas en la provincia de Heredia, las cuales reportaron una alta incidencia de la plaga. Los chiles infestados, fueron llevados al laboratorio y colocados en cajas de cría de madera de 70 x 40 cm y dos días posteriores a la emergencia de adultos, se capturó la totalidad de los mismos. Seguidamente, los insectos se dividieron en grupos, a fin de lograr las repeticiones y el número de insectos por repeticiones que se utilizó en el bioensayo.

Se prepararon viales de vidrio con una capacidad de 25 ml a los cuales se les colocó un trozo de papel toalla absorbente en el fondo y un tapón de algodón. Posteriormente fueron autoclavados 15 min a 120 °C y 15 psi.

Se estableció un ensayo irrestricto al azar con 16 tratamientos, cinco repeticiones y cinco insectos por repetición. Los adultos de *A. eugenii*, fueron sumergidos por 10 segundos en la suspensión acuosa de cada tratamiento. Los insectos que correspondieron a los testigos, se sumergieron únicamente en agua con Tween 20 al 0,1 %. Para absorber el exceso de líquido, cada grupo de insectos fue colocado en placas petri

con papel toalla estéril, antes de ser individualizados dentro de los viales.

Los frascos con los insectos fueron colocados en un cuarto a 25 °C. Durante el ensayo únicamente se les suministró agua sin otro tipo de nutriente, tal como lo realizaron Carrucini *et al.* (2017). Diariamente, los insectos fueron observados a fin de determinar el momento de su muerte y la aparición de micelio sobre el cuerpo del insecto. El parasitismo fue confirmado aislando e identificando el hongo dentro del insecto. Este proceso permitió revigorizar su virulencia por lo que seguidamente de la purificación, fueron almacenados en congelación (-20 °C y -80 °C) para su uso en investigaciones futuras.

Los datos de la variable mortalidad, fueron analizados estadísticamente a fin de determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) empleando modelos lineales generales y mixtos y una prueba de separación de medias según Fisher con un nivel de significancia de 0,05 para todas las comparaciones (Di Rienzo *et al.* 2020).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con $p < 0,0001$ y un R^2 de 0,61. En el cuadro 1 se presentan los porcentajes de mortalidades según los días después de la aplicación de los tratamientos. Algunos de los insectos utilizados en los testigos lograron sobrevivir sin alimentación hasta por 16 días. En condiciones naturales el adulto puede vivir de 3 a 4 meses (Elmore *et al.* 1934 citado por Garza 2001) y sin alimento puede sobrevivir de 1 a 3 semanas lo cual coincide con los resultados de este estudio (Intagri 2016).

El día 4 después de aplicados los tratamientos, se presentaron las primeras muertes de los insectos, siendo los tratamientos con el hongo *Beauveria bassiana*, INTA-H-49 e INTA-H-31 diferentes del resto, con porcentajes de mortalidad de 20 y 40 % respectivamente.

Los mejores resultados de mortalidad se dieron con los hongos del género *Beauveria* sp. El día 6 luego de la aplicación de los tratamientos, los hongos INTA-H149 e INTA H-168, lograron el

100 % de la mortalidad diferenciándose estadísticamente del testigo $p < 0.001$. Todos los insectos testigo, permanecieron activos a esa fecha.

El día 8 luego de la aplicación, los tratamientos INTA-H31, INTA-H49, INTA-H181, INTA-H51, INTA-H146, INTA-H168, INTA-H149, INTA-H-19, INTA-H140 lograron el 100 % de mortalidad con $p < 0.001$ mientras que los testigos apenas alcanzaron una mortalidad máxima del 20 %.

Los tratamientos que tardaron 12 días para lograr la mortalidad del 100 % de la población y que resultaron estadísticamente diferentes al testigo $p < 0.001$, fueron *M. acridum*, INTA-H164 (*M. anisopliae*), INTA-H-159 (*Paecilomyces* sp.) e INTA-H29 (*Beauveria bassiana*).

El tratamiento INTA-H131 (*Paecilomyces* sp.), no se diferenció del testigo y el día 12 luego de la aplicación de los tratamientos, ambos presentaron una mortalidad del 80 %, por lo que se considera que éste hongo no logró el efecto buscado sobre picudo del chile dulce.

Cuadro 1. Mortalidad en porcentaje de *A. eugenii* por diferentes tratamientos, según los días después de la aplicación (dda).

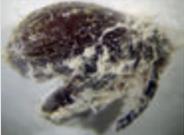
Mortalidad en porcentaje					
TratAM.	2 dda	4 dda	6 dda	8 dda	12 dda
INTA-H-31	0	40	60	100	100
INTA-H-49	0	20	60	100	100
INTA-H-181 (<i>b. bassiana</i>)	0	0	60	100	100
Testigo 1	0	0	0	20	80
<i>M acridium</i>	0	0	0	40	100
INTA-H-164	0	20	40	40	100
INTA-H-51	0	0	0	100	100
INTA-H-159	0	20	20	60	100
INTA-H-146	0	20	20	100	100
INTA-H-29	0	20	40	60	100
INTA-H-168 (<i>b. bassiana</i>)	0	20	100	100	100
INTA-H-149 (<i>b. bassiana</i>)	0	40	100	100	100
INTA-H-19	0	0	0	100	100
INTA-H-131	0	20	40	80	80
INTA-H-140 (<i>b. bassiana</i>)	0	20	40	100	100
Testigo 2	0	0	0	0	80

Es importante destacar que los tratamientos que lograron eliminar el 100 % de la población en el menor tiempo (INTA-H-168 e INTA-H-149) no formaron micelio sobre el insecto ni entre los diferentes segmentos del cuerpo. Al respecto, el mecanismo más común estudiado en para los hongos entomopatógenos, es mediante la adhesión de las conidias (forma infectiva) en las partes blandas del insecto por donde penetra y ramifica sus estructuras invadiendo al insecto hasta que muera y posteriormente hay salida del micelio hacia el exterior del insecto. Sin embargo, con este resultado el mecanismo de acción de estas cepas podría ser diferente, por ejemplo, mediante la producción de algunas toxinas que tienen actividad insecticida o bien que para este aislamiento

en particular, la humedad no fue lo suficientemente alta para que lograra la esporulación hacia el exterior del insecto (Sagar 1999).

Algunos tratamientos, lograron producir una gran cantidad de micelio y conidias fuera del insecto, lo cual es una característica deseable a fin de facilitar la diseminación, establecimiento del hongo en el sitio y el parasitismo de un número mayor de insectos. Esta característica debe de tomarse en cuenta para seleccionar el hongo que se va a aplicar en campo. Las cepas INTA-H-140 e INTA-H-181 sobresalieron en el crecimiento del hongo fuera del insecto con evidente producción de micelio y conidia, lo que los hacen promisorios para ser evaluados en campo (cuadro 2).

Cuadro 2. Producción de micelio y conidias sobre los insectos tratados.

Código	Foto	Porcentaje de insectos con micelio externo	Observación
INTA-H-31 (<i>B. bassiana</i>)		75	Con micelio cubriendo el cuerpo del insecto y presencia de conidias que facilitan la diseminación del hongo
INTA-H-49 (<i>B. bassiana</i>)		80	Micelio envolvente, no evidencia presencia de conidias
INTA-H-181 (<i>Beauveria</i> sp.)		80	Micelio que cubre el cuerpo del insecto con abundante formación de conidias que favorece la diseminación del hongo.
<i>M. acridium</i>		0	Sin micelio ni conidias
INTA-H-164 (<i>M. anisopliae</i>)		40	Micelio entre los segmentos del cuerpo del insecto, con abundantes conidias que facilitan la diseminación del hongo.
INTA-H-51 (<i>M. anisopliae</i>)		0	Sin micelio ni conidias
INTA-H-159 (<i>Paecilomyces</i> sp.)		40	Escaso micelio sobre el cuerpo del insecto, con conidias presentes

Código	Foto	Porcentaje de insectos con micelio externo	Observación
INTA-H-146 (<i>Paecilomyces</i> sp.)		20	Abundante micelio y conidias sobre el cuerpo. Porcentaje muy bajo de insectos que presentan esta condición
INTA-H-29 (<i>B. bassiana</i>)		20	Micelio únicamente en los segmentos del cuerpo del insecto, con pocas conidias.
INTA-H-168 (<i>Beauveria</i> sp.)		0	Sin micelio ni conidias
INTA-H-149 (<i>Beauveria</i> sp.)		0	Sin micelio ni conidias
INTA-H-19 (<i>Paecilomyces cinnamomeus</i> .)		0	Sin micelio ni conidias
INTA-H-131 (<i>Paecilomyces</i> sp.)		0	Sin micelio ni conidias
INTA-H-140 (<i>Beauveria</i> sp.)		100	Micelio que cubre al insecto con abundante formación de conidias que favorece la diseminación del hongo.
Testigo		0	Sin micelio ni conidias

En este estudio se utilizaron las máximas concentraciones del hongo que se lograron en el laboratorio (1×10^8 a 1×10^9 conidias/ml). Sin embargo, en un estudio realizado con otros aislamientos de *Beauveria bassiana* lograron reducir la concentración eficaz a 2.2×10^4 conidias/ml mezclándolo con aceite de soya a una concentración del 3 % además, con esta adición lograron reducir el tiempo de la mortalidad del 50 % de la población de estudio conforme aumentaron la concentración del entomopatógeno (Carballo *et al.* 2021). Se debe valorar en la preparación de los hongos eficientes obtenidos en este estudio una misma concentración, con la incorporación de aceite de soya a fin de mejorar la eficiencia de los tratamientos cuando sean aplicados en los sistemas productivos.

CONCLUSIONES

Los mejores aislamientos para continuar con estudios sobre el parasitismo de hongos entomopatógenos corresponden al género *Beauveria* spp. Los aislamientos INTA-H140 e INTA-H181 fueron los tratamientos más promisorios, ya que lograron eliminar la población en estudio a los 8 días luego de la aplicación y luego de la muerte de los insectos, lograron la producción de micelio y conidias sobre su cuerpo, característica relevante en la propagación y establecimiento del hongo en el sitio de aplicación.

Los aislamientos INTA-H-149 e INTA-H-168 eliminaron los individuos en estudio en 6 días luego de la aplicación. Sin embargo, estos no produjeron micelio ni estructuras infectivas (conidias) externamente. Se deben realizar estudios

detallados para comprobar las mejores condiciones para que estas dos cepas, produzcan dicho micelio o estudiar el mecanismo que están utilizando estas cepas.

Los insectos adultos de *A. eugenii* no tratados con hongos entomopatógenos, lograron sobrevivir entre 14 y 16 días, bajo las condiciones del laboratorio (con agua y sin ningún otro alimento a una temperatura de 25 °C).

Se requieren estudios de eficacia biológica más completos con los cuatro hongos INTA-H149, INTA-H168, INTA-H140 e INTA-H181, aumentando el número de insectos en las repeticiones, con diferentes concentraciones por tratamiento e incorporando aceites en la suspensión de los tratamientos.

AGRADECIMIENTO

A los compañeros de investigación del INTA, Stephany Quirós Campos y Javier Madriz Arrieta por la recolección de frutos afectados con la plaga que hicieron posible realizar este estudio.

LITERATURA CITADA

Barba, A; Aguilera, V; Hirano, M; Gordón, R. 2010. Manejo integrado de *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera:Curculionidae) en el cultivo de ají. IDIAP (Panamá) 24p. Consultado el 3 may. 2023. Disponible en <https://www.cabi.org/wp-content/uploads/Barba-2009a-IPM-Anthonomus-eugenii.pdf>

Carballo, M; Rodríguez, L; Durán, J. 2021. Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control del picudo del chile en laboratorio. Manejo integrado de plagas (Costa Rica). 62:54-59. Consultado el 3 may. 2023. Disponible en <https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/6257/A2114e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Coto, D. 1996. El picudo del chile (*Anthonomus eugenii* Cano) su reconocimiento y posible manejo. Hoja Técnica Manejo Integrado de plagas (Costa Rica). 42:1-4.

Di Rienzo, J; Casanoves, F; Balzarina, M; González, L; Tablada, M; Robledo, C. 2020. InfoStat versión 2020. Centro de transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Escobar, P. 2008. Actividad insecticida de bacterias asociadas al cultivo de chile (*Capsicum annum* L.) y aisladas del *Anthonomus eugenii* Cano como alternativa de control biológico de esta plaga. Tesis de grado. Centro de investigaciones biológicas del Noreste, S.C (CIB). Consultado el 2 may. 2023. Disponible en http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/198/escobar_p.pdf?sequence=1&isAllowed=y

European and Mediterranean Plant Protection organization (EPPO). 1998. EPPO reportin Service N°6-1998. Distribution list for *Anthonomus eugenii* (en línea). Consultado el 3 may.2023. Disponible en <https://gd.eppo.int/reporting/article-3610>

European and Mediterranean Plant Protection organization (EPPO). 2023. *Anthonomus eugenii*. (en línea). Consultado el 2 oct. 2023. Disponible en <https://gd.eppo.int/taxon/ANTHEU/distribution>

García-Garrucini, M; Cartín, V; Estévez, C. 2017. Hongos entomopatógenos nativos con potencial para el control del picudo del pimiento, *Anthonomus eugenii* Cano, en Puerto Rico. *Journal of Agriculture University Puerto Rico* 101:95-106. Consultado el 3 may. 2023. Disponible en <https://revistas.upr.edu/index.php/jaupr/article/download/14296/11887/14086>

Garza, E. 2001. El barrenillo del chile *Anthonomus eugenii* y su manejo en la planicie Huasteca. INIFAP, México. Folleto Técnico N°4. Consultado el 4 may.2023. Disponible en <http://www.inifapcirne.gob.mx/Biblioteca/Publicaciones/749.pdf>

Gutiérrez, A; Robles, A; Santillan, C; Ortiz, M; Cambbrero, O. 2013. Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México. *Biociencia* 2(3):102-112. Consultado el 2 de may 2023. Disponible en <http://aramara.uan.mx:8080/bitstream/123456789/747/1/CONTROL%20BIOL%20c3%93GICO%20COMO%20HERRAMIENTA%20SUSTENTABLE%20EN%20EL%20MANEJO%20DE%20PLAGAS%20Y%20SU%20USO%20EN%20EL%20ESTADO%20DE%20NAYARIT%20c%20M%20c3%89XICO.pdf>

INFOAGRO. 2016. Picudo del chile. *Anthonomus eugenii*. Consultado el 2 may 2023. Disponible en <https://mexico.infoagro.com/picudo-del-chile-anthonomus-eugenii/>

INTAGRI. 2016. Manejo integrado del picudo del Chile. Serie Fitosanidad México, N° 54 4p. Consultado el 2 may. 2023. Disponible en <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/manejo-integrado-del-picudo-del-chile>

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). 2020. Programa Nacional para la aplicación de la normativa fitosanitaria. Plan de contingencia de *Anthonomus eugenii* Cano. España. Consultado el 2 may 2023. Disponible en https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/pnc_anthonomuseugenii_tcm30-544957.pdf

Mora, J. 1998 Uso de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin como alternativa de manejo del picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano. Tesis de grado. Centro agronómico Tropical de investigación y enseñanza CATIE. Consultado el 2 may. 2023. Disponible en <https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/10391/A0425e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Murillo, J. 2022. Potencial de parasitoides para el control biológico de *Anthonomus eugenii* en diferentes variedades de chile. *Avances en Investigación Agropecuaria* 26(2)3-4. Consultado el 2 may. 2023. Disponible en <https://revistasacademicas.ucol.mx/index.php/agropecuaria/article/view/508/436>

Rodríguez-Leiva, E; Stansly, P; Schuster, D; Bravo-Mosqueda, E. 2007. Diversity and distribution of parasitoids of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) from Mexico and prospects for Biological Control. *Florida Entomological Society* 90(4):693-702. Consultado el 2 de may. 2023. Disponible en <https://www.jstor.org/stable/20065890>

Samaniego, R; Barahona, L; González, A; Guerra, J. 2015. Evaluación *in vitro* de *Metarhizium anisopliae* para control biológico del picudo del ají. IDIAP. Panamá. Consultado el 3 may. 2023. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/327633952_EVALUACION_IN_VITRO_DE_Metarhizium_anisopliae_PARA_CONTROL_BIOLOGICO_DEL_PICUDO_DEL_AJI/citation/download

Secretaría de agricultura, ganadería y desarrollo rural (SAGAR). 2019. Uso de *Beauveria bassiana* como insecticida microbiano (en línea). Consultado el 2 oct. 2023. Disponible en https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/172882/Ficha_CB_03_Beauveria_bassiana.pdf

Servicio Fitosanitario del Estado (SFE). 2021. Informe del año 2020. Análisis de residuos de plaguicidas realizados a vegetales frescos. Consultado el 3 may. 2023. Disponible en https://www.sfe.go.cr/DocsResiduosAgroquim/Informe_analisis_de_residuos_de_plaguicidas_2020.pdf

Servicio Fitosanitario del Estado (SFE). 2022. Informe del año 2021. Análisis de residuos de plaguicidas realizados a vegetales frescos. Consultado el 3 may. 2023. Disponible en https://www.sfe.go.cr/DocsResiduosAgroquim/Informe_de_residuos_de_plaguicidas_2021.pdf