

Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2019; 9:1-8. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2019.925>
 Artículo Original. Recibido: 22/07/2019. Aceptado: 26/11/2019. Publicado: 30/11/2019.

Efecto de diferentes cepas de *Beauveria bassiana* contra *Alphitobius diaperinus* de granjas avícolas en el estado de Colima

Effect of different *Beauveria bassiana* strains against *Alphitobius diaperinus* from poultry farms in the state of Colima

Moreno-Borjas Manuel¹, Prado-Rebolledo Omar^{2*}, García-Casillas Arturo²,
 Ángel-Sahagún Andrés³, Sánchez-Chiprés David⁴, García-Márquez Luis⁵

¹Estudiante de la Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria (MIPPE); ²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Colima; ³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Guanajuato; ⁴Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Guadalajara; ⁵Centro Universitario de Investigación Agropecuaria, Universidad de Colima. *Autor responsable y de correspondencia: omarrpr@ucol.mx. Kilómetro 40 Carretera Colima-Manzanillo, S/N, Tecoman, Colima, México, CP. 28100. mmoreno23@ucol.mx, omarrpr@ucol.mx, cesargarciacasillas@hotmail.com, sahaun01@yahoo.mx, dsanchez@cucba.udg.mx, ljgm_cmv@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes cepas de *Beauveria bassiana* (*B. bassiana*) contra *Alphitobius diaperinus* (*A. diaperinus*). Un total de 360 escarabajos *A. diaperinus* (adultos), fueron colectados de granjas avícolas en el estado de Colima. Después de comprobar su viabilidad (90% de conidios germinados), cinco cepas de *B. bassiana* (Bb3, Bb4, Bb5, Bb6 y Bb17) fueron utilizadas. Los cinco tratamientos de *B. bassiana*, presentaron una concentración de 1×10^8 conidios/mL. Se emplearon 15 escarabajos para el testigo y por cada cepa de *B. bassiana*, con cuatro réplicas/tratamiento. Los *A. diaperinus* muertos se incubaron por 21 d, para promover el crecimiento del micelio y con ello determinar si la muerte fue causada por *B. bassiana*. El conjunto de datos resultante se analizó mediante estadística descriptiva. La comparación entre grupos se llevó a cabo por Análisis de Varianza e histograma de frecuencia. Los resultados mostraron que todos los aislamientos fúngicos eran patógenos contra escarabajos *A. diaperinus*. La cepa Bb4 presentó diferencia entre grupos, con respecto a la mortalidad (5.25 ± 0.95 escarabajos *A. diaperinus* muertos). En los escarabajos muertos, la micosis por crecimiento del micelio de *B. bassiana*, presentó los mejores resultados en la cepa Bb4 (2.50 ± 1.29 escarabajos *A. diaperinus* con micosis) equivalente al 16.66%. Con el valor más bajo en las cepas Bb3 y Bb6 (3.33 y 1.66 % de micosis) respectivamente. Los resultados encontrados, se podrían utilizar en próximos ensayos para evaluar la cepa Bb4 en condiciones normales dentro de instalaciones para aves.

Palabras clave: *Beauveria bassiana*, *Alphitobius diaperinus*, conidios, micosis.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of different *Beauveria bassiana* strains (*B. bassiana*) against *Alphitobius diaperinus* (*A. diaperinus*). A total of 360 beetles *A. diaperinus* (adults) were collected from poultry farms in Colima state. After verifying its viability (90% of germinated conidia), five of *B. bassiana* strains (Bb3, Bb4, Bb5, Bb6 and Bb17) were used. The five treatments of *B. bassiana*, presented a concentration of 1×10^8 conidia/mL. Fifteen beetles were used for the control and for each of *B. bassiana* strain, with four replicates/treatment. The dead *A. diaperinus* were incubated for 21 d, to promote mycelial growth and thus determine whether the death was caused by *B. bassiana*. The resulting data set was analyzed by descriptive statistics. The comparison between groups was assessed by Analysis of Variance and frequency histogram. The results showed that all fungal isolates were pathogenic against *A. diaperinus* beetles. The Bb4 strain showed a difference between groups, with respect to mortality (5.25 ± 0.95 dead *A. diaperinus* beetles). In dead beetles, mycosis due to mycelium growth of *B. bassiana*, presented the best results in Bb4 strain (2.50 ± 1.29 beetles *A. diaperinus* with mycosis) equivalent to 16.66% with the lowest value in Bb3 strain and Bb6 strain (3.33 and 1.66% of mycosis) respectively. The results found could be used in future trials to evaluate the Bb4 strain under normal conditions within the bird facilities.

Keywords: *Beauveria bassiana*, *Alphitobius diaperinus*, conidia, mycosis.

INTRODUCCIÓN

Entre los principales retos que enfrenta la industria avícola, destaca el control de *Alphitobius diaperinus* (*A. diaperinus*) (Crippen *et al.*, 2018), ya que este escarabajo es reservorio de numerosos patógenos en aves y humanos (do Carmo *et al.*, 2019). Además, aunque el hábitat principal de *A. diaperinus*, es el estiércol o la basura (Govorushko, 2019), sus larvas pueden trepar paredes (Santoro *et al.*, 2008) y postes de soporte en instalaciones para aves (Rice y Lambkin, 2009). Causando daños en los materiales de aislamiento durante sus procesos de pupación (Hazeleger *et al.*, 2008; Wales *et al.*, 2010; Crippen *et al.*, 2018). El control de este insecto, generalmente se realiza con insecticidas (Arena *et al.*, 2019). Destacando el i) fenitrotión, ii) cyßuthrin y iii) spinosad (Tomberlin *et al.*, 2014; Hickmann *et al.*, 2018). Sin embargo, muchos de estos químicos no tienen efecto sobre la etapa adulta del escarabajo (do Prado *et al.*, 2013).

Además, Lambkin *et al.* (2010) reportaron una mayor resistencia de *A. diaperinus* a fenitrotión, en 11 granjas avícolas de engorda. Especialmente al sureste de Queensland, donde numerosas aplicaciones de fenitrotión se han realizado de manera constante. Una alternativa de control para *A. diaperinus* es el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (*B. bassiana*) (Martins *et al.*, 2016).

Este hongo es utilizado como insecticida biológico o biopesticida controlando un gran número de parásitos como orugas, termitas, moscas blancas, áfidos y escarabajos (Daniel *et al.*, 2019), al causarles micosis o enfermedad blanca de la muscardina (Santoro *et al.*, 2008; Mascarín y Jaronski, 2016). En México producto de una investigación precedente realizada por (Prado *et al.*, 2014), se evaluó la patogenicidad de cinco cepas del hongo *Beauveria bassiana* en adultos de escarabajo *Alphitobius diaperinus* bajo condiciones de laboratorio obteniendo buenos resultados. Por lo que, a partir de ese estudio, surgió la necesidad de realizar investigaciones con nuevas cepas mexicanas del hongo *Beauveria bassiana*. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de diferentes cepas de *B. bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) contra *A. diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) de granjas avícolas en el estado de Colima.

MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar experimental.

Los bioensayos se realizaron en el Laboratorio de Control Biológico de la DES: Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Colima. Las condiciones del Laboratorio fueron 25 ± 1 °C de temperatura, 80 ± 4 % de humedad relativa (HR), y 12:12 h luz/obscuridad (L/O).

Procedencia de *A. diaperinus*.

Un total de 360 escarabajos *A. diaperinus* (adultos) fueron colectados de granjas avícolas en el estado de Colima, durante la 7ª semana de producción (septiembre y octubre del 2016). La captura se llevó a cabo en diversos sitios de la cama de las aves, con el uso de pinzas entomológicas. Los *A. diaperinus* fueron transportados en frascos de 6 cm de diámetro x 7 cm de alto, al laboratorio para su identificación taxonómica de acuerdo a (Chernaki y Almeida, 2001; Dunford y Kaufman, 2006).

Origen de las cepas *B. bassiana*.

Se utilizaron cinco cepas de *B. bassiana* (Bb3, Bb4, Bb5, Bb6 y Bb17) de la colección de hongos entomopatógenos del Laboratorio de Control Biológico de la DES: Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Colima y del Laboratorio de Parasitología y Control Biológico del Departamento de Veterinaria y Zootecnia, División Ciencias de la Vida de la Universidad de Guanajuato.

Eta experimental (Fase 1). Multiplicación, viabilidad y concentración de cepas de *B. bassiana*.

Las cinco cepas de *B. bassiana* fueron multiplicadas en medio sólido de agar dextrosa sabouraud (ADS) e incubadas por 21 d. Un día antes de realizar el bioensayo, los conidios se cosecharon con un asa bacteriológica y se colocaron en un frasco de vidrio de 2 x 8 cm con capacidad de 25 mL, que contenía 10 mL de agua destilada estéril con Tween 80 (00102; Sigma Chemical CO., Saint Louis, MO) al 0.01%. La mezcla se homogenizó (agitando) por 5 min y se determinó la viabilidad de los conidios de cada cepa mediante microcultivo (Santoro *et al.*, 2008; Mascarín y Jaronski, 2016). Se consideró como cepa viable, aquella donde se observó más del 90% de los conidios germinados (Geden y Steinkraus, 2003; Daniel *et al.*, 2019). Para determinar la concentración de los conidios se utilizó una cámara de Neubauer. Los cinco tratamientos de *B. bassiana* (Bb3, Bb4, Bb5, Bb6 y Bb17) presentaron una concentración de 1×10^8 conidios/mL.

Experimento (Fase 2). Patogenicidad.

Rezende *et al.* (2009) y Alves *et al.* (2015) sugirieron emplear entre 10 y 20 escarabajos. Por lo tanto, se emplearon 15 escarabajos *A. diaperinus* (adultos) para el testigo y por cada cepa de *B. bassiana* (Bb3, Bb4, Bb5, Bb6 y Bb17), con cuatro réplicas/tratamiento. Cada *A. diaperinus* fue transferido a un vaso de precipitado estéril con capacidad de 250 mL, que contenía 10 mL de suspensión (1×10^8 conidios/mL) de cada tratamiento y (únicamente agua destilada estéril con Tween 80 al 0.01%) para el testigo. Después de la inoculación, los *A. diaperinus* fueron colocados en cajas Petri, con papel filtro húmedo con agua destilada estéril. La mortalidad se registró cada 12 h después de la inoculación por un lapso de 10 d. Los escarabajos muertos se colocaron individualmente en cajas Petri con papel filtro húmedo con agua destilada estéril y se incubaron por 21 d, para promover el crecimiento del micelio y con ello determinar si la muerte fue causada por *B. bassiana*.

Análisis estadístico.

Para el tratamiento de los datos obtenidos se utilizó el programa estadístico (SAS, System, v. 9.0.2, Cary, NC). Para evaluar el diseño completamente al azar, el siguiente modelo fue probado:

$$\gamma_{ij} = \mu_i + \epsilon_{ij}$$

donde:

- γ_{ij} = observación de la j-ésimo u.e. de i-ésimo tratamiento;
- μ_i = media del i-ésimo tratamiento; y
- ϵ_{ij} = error experimental de la unidad *ij*.

El conjunto de datos resultante se analizó para estadística descriptiva por (PROC UNIVARIATE; SAS, 2010). La comparación entre tratamientos (testigo, Bb3, Bb4, Bb5, Bb6 y Bb17), se llevó a cabo por (PROC ANOVA; SAS, 2010). Cuando se encontró efecto significativo por grupo ($P < 0.05$), se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey. Los datos obtenidos para micosis, se transformaron al arco seno ($\sqrt{\bar{x}/100} * \sin^{-1}$), se expresaron en porcentaje y fueron graficados.

RESULTADOS

Los estadísticos descriptivos para el total de muertos y el total de muertos por micosis, ocasionada por las cinco cepas de *B. bassiana* sobre escarabajos *A. diaperinus* (adultos) de granjas avícolas en el estado de Colima. Se puede apreciar que las cepas probadas en el total de escarabajos muertos y el total de escarabajos muertos por micosis mostraron valores mayores que el testigo, donde la cepa Bb4 fue la que obtuvo los valores más altos, como se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Estadística descriptiva para el total de muertos y el total de muertos por micosis de *Beauveria bassiana* sobre *Alphitobius diaperinus*, $n = 360$ escarabajos

	$\bar{x} \pm DE^a$	IC ^b	P ₁₀ -P ₉₀	P ₂₅ -P ₇₅
Total de muertos				
Testigo	1.00 $\pm$ 0.81	0.00 – 2.19	0.00 – 2.00	0.25 – 1.75
Cepas de <i>B. bassiana</i>				
Bb3	1.50 $\pm$ 1.73	0.00 – 4.25	0.00 – 4.00	0.25 – 3.25
Bb4	5.25 $\pm$ 0.95	3.72 – 6.77	4.00 – 6.00	4.25 – 6.00
Bb5	2.50 $\pm$ 1.00	0.90 – 4.09	2.00 – 4.00	2.00 – 3.50
Bb6	2.00 $\pm$ 0.81	0.70 – 3.29	1.00 – 3.00	1.25 – 2.75
Bb17	2.00 $\pm$ 1.41	0.00 – 4.25	0.00 – 3.00	0.50 – 3.00
Total de muertos por micosis^c				
Testigo	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 – 0.00	0.00 – 0.00	0.00 – 0.00
Cepas de <i>B. bassiana</i>				
Bb3	0.50 $\pm$ 0.57	0.00 – 1.41	0.00 – 1.00	0.00 – 1.00
Bb4	2.50 $\pm$ 1.29	0.44 – 4.55	1.00 – 4.00	1.25 – 3.75
Bb5	1.00 $\pm$ 1.15	0.00 – 2.83	0.00 – 2.00	0.00 – 2.00
Bb6	0.25 $\pm$ 0.50	0.00 – 1.04	0.00 – 1.00	0.00 – 0.75
Bb17	0.75 $\pm$ 0.95	0.00 – 2.27	0.00 – 2.00	0.00 – 1.75

^aMedia $\pm$ desviación estándar; ^bintervalo de confianza al 95%; ^cconfirmación por crecimiento de micelio de *B. bassiana*.

La cepa Bb4 de *B. bassiana* presentó diferencia entre grupos, con respecto a la mortalidad (5.25 $\pm$ 0.95 escarabajos *A. diaperinus* muertos). La mortalidad más baja entre cepas de *B. bassiana* se cuantificó en Bb3 (tabla 2). En los escarabajos muertos, la micosis por crecimiento del micelio de *B. bassiana*, presentó los mejores resultados en la cepa Bb4 (2.50 $\pm$ 1.29 escarabajos *A. diaperinus* con micosis) equivalente al 16.66% (figura 1).

Tabla 2. Comparación de patogenicidad de cinco cepas de *Beauveria bassiana* contra *Alphitobius diaperinus* de granjas avícolas en el estado de Colima

	Cepas de <i>B. bassiana</i>					
	Testigo	Bb3	Bb4	Bb5	Bb6	Bb17
Mortalidad	1.00 $\pm$ 0.81 ^a	1.50 $\pm$ 1.73 ^a	5.25 $\pm$ 0.95 ^b	2.50 $\pm$ 1.00 ^a	2.00 $\pm$ 0.81 ^a	2.00 $\pm$ 1.41 ^a
Micosis	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.50 $\pm$ 0.57 ^a	2.50 $\pm$ 1.29 ^b	1.00 $\pm$ 1.15 ^{a,b}	0.25 $\pm$ 0.50 ^a	0.75 $\pm$ 0.95 ^a

Dentro de renglones valores con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$). Todos los datos son presentados por media $\pm$ DE.

La cepa Bb5 registró (1.00 ± 1.15 escarabajos *A. diaperinus* con micosis) equivalente al 6.66% (figura 1). Con el valor más bajo en las cepas Bb3 y Bb6 (3.33 y 1.66 % de micosis) respectivamente.

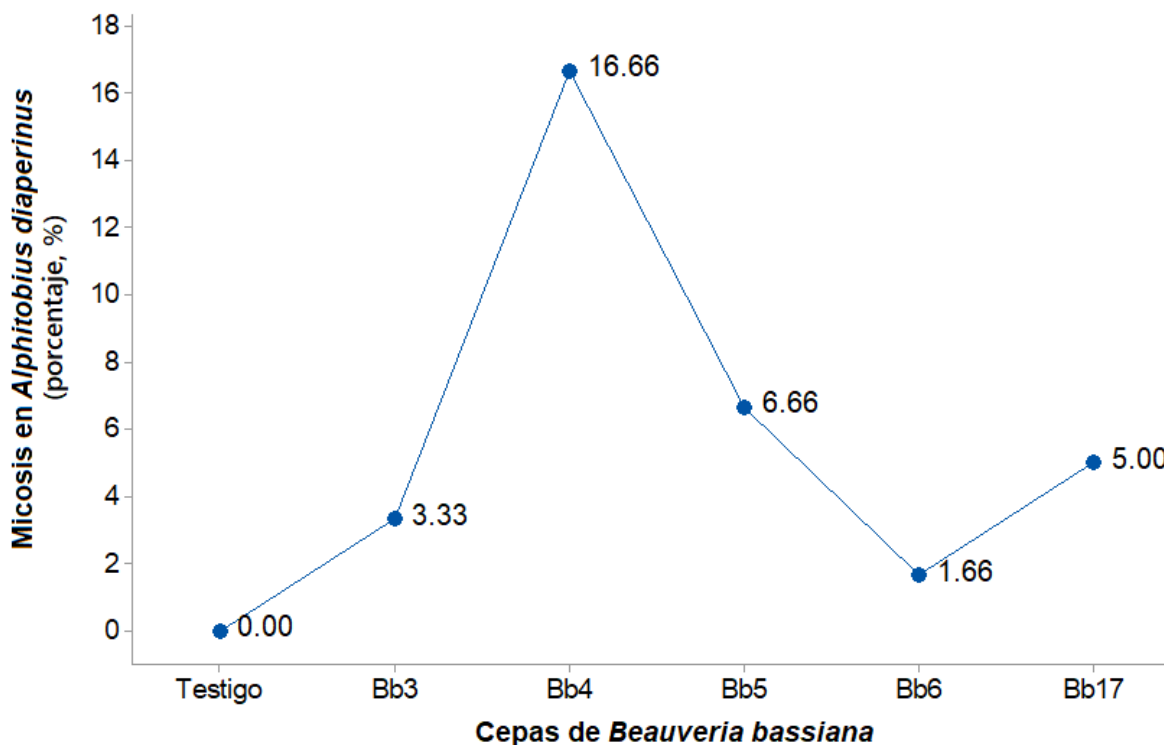


Figura 1. Micosis por *Beauveria bassiana* en *Alphitobius diaperinus* de granjas avícolas en el estado de Colima, $n = 360$ escarabajos.

DISCUSIÓN

Los resultados mostraron que todos los aislamientos fúngicos fueron patógenos contra escarabajos *A. diaperinus*, con una mortalidad inducida por micosis del 16.66% como máximo y con diferencias significativas entre cepas (Bb3, Bb4, Bb5, Bb6 y Bb17). Estos resultados son similares a los reportes de (Rohde *et al.*, 2006; Rezende *et al.*, 2009), quienes trabajaron con el mismo escarabajo. Se ha descrito que el primer contacto entre *B. bassiana* y *A. diaperinus*, sucede cuando la espora (conidio) es depositada en la superficie del insecto, de ahí la importancia de la dosis patogénica (1×10^8 conidios/mL) (Santoro *et al.*, 2008).

El conidio inicia el desarrollo de su tubo germinativo y su apresorio para fijarse al escarabajo. Para una germinación adecuada se requiere una HR del 92% y temperatura de entre 23 a 25 °C (Vertyporokh *et al.*, 2019). Después mediante enzimas como las proteasas, lipasas y quitinasas, el hongo entomopatógeno ingresa en *A. diaperinus* a través de sus partes blandas (Mascarin y Jaronski, 2016).

Dentro del escarabajo, *B. bassiana* ramifica sus estructuras y coloniza las cavidades del huésped (Daniel *et al.*, 2019). Con toxinas p. ej., beauvericina, beauverolide, bassianolide

y oxálico rompe el sistema inmunológico de *A. diaperinus*, invadiendo todos sus tejidos y matando al escarabajo (Geden y Steinkraus, 2003). Dando así inicio a la fase saprofítica de *B. bassiana* con su multiplicación y crecimiento (Mascarin y Jaronski, 2016).

Sin embargo, la mayor mortalidad esperada no alcanzó niveles significativos. Daniel et al. (2019) encontraron que los aislados de *B. bassiana* son altamente virulentos y también indicaron una amplia variabilidad en la virulencia entre cepas (del 2 al 70%). Lo que indica, que al igual que en el presente estudio, es obligatorio evaluar la mayor cantidad posible de cepas y así poder seleccionar la que presente mayor patogenicidad contra *A. diaperinus*.

CONCLUSIÓN

Beauveria bassiana demostró ser útil como medida de control biológico para *Alphitobius diaperinus* de granjas avícolas en el estado de Colima. Se destaca el potencial para causar micosis de la cepa Bb4, sobre las cepas Bb3, Bb5, Bb6 y Bb17 en condiciones de laboratorio. Los resultados encontrados, se podrían utilizar en próximos ensayos para evaluar la cepa Bb4 en condiciones normales dentro de instalaciones para aves.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACyT-México).

LITERATURA CITADA

ALVES LFA, Oliveira DGP, Lambkin T, Bonini AK, Alves VM, Pinto, FGS, Scur MC. 2015. *Beauveria bassiana* applied to broiler chicken houses as biocontrol of *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae), an avian pathogens vector. *Rev Bras Cienc Avic.* 17(4): 459-466. <http://dx.doi.org/10.1590/1516-635X1704459-466>

ARENA JS, Merlo C, Defagó MT, Zygadlo JA. 2019. Insecticidal and antibacterial effects of some essential oils against the poultry pest *Alphitobius diaperinus* and its associated microorganisms. *J Pest Sci.* 1(2):1-12. ISSN: 1612-4758. <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-019-01141-5>.

CHERNAKI AM, Almeida LM. 2001. Morfologia dos estágios imaturos e do adulto de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera, Tenebrionidae). *Rev Bras Zool.* 18(1): 351-363. <http://www.scielo.br/pdf/rbzool/v18n2/v18n2a04>

CRIPPEN TL, Sheffield CL, Beier RC, Nisbet DJ. 2018. The horizontal transfer of *Salmonella* between the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and poultry manure. *Zoonoses Public Hlth.* 65(1):e23-e33. ISSN: 1863-2378. <http://dx.doi.org/10.1111/zph.12404>.

DANIEL JFS, Scalco AV, de Souza RM, Ocampos FMM, Barison A, Alves LFA, Neves P. 2019. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* to *Beauveria bassiana* extracts. *Nat Prod Res.* 33(20):3033-3036. ISSN: 1478-6427. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2018.1514396>.

DO CARMO RL, Tiago M, de O., Teixeira CM, Santos MAdS, Cunha LM, Silva MX, Martins NRdS. 2019. Synanthropic diptera affecting layer poultry farms: a review. *Arq Inst Biol.* 86(1):1-8. ISSN: 1808-1657. <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657000922017>.

- DO PRADO GP, Stefani LM, da Silva AS, Smaniotto LF, Garcia FR, de Moura NF. 2013. *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) susceptibility to *Cunila angustifolia* essential oil. *J Med Entomol.* 50(5):1040-1045. ISSN: 0022-2585. <http://dx.doi.org/10.1603/me12277>.
- DUNFORD JC, Kaufman PE. 2006. Lesser mealworm, litter beetle, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae). In: Entomology and Nematology Department, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Gainesville, USA: Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 1-12 p.
- GEDEN CJ, Steinkraus DC. 2003. Evaluation of three formulations of *Beauveria bassiana* for control of lesser mealworm and hide beetle in Georgia poultry houses. *J Econ Entomol.* 96(5):1602-1607. ISSN: 0022-0493. <http://dx.doi.org/10.1603/0022-0493-96.5.1602>.
- GOVORUSHKO S. 2019. Global status of insects as food and feed source: a review. *Trends Food Sc Tech.* 91(1):436-445. ISSN: 0924-2244. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.032>.
- HAZELEGER WC, Bolder NM, Beumer RR, Jacobs-Reitsma WF. 2008. Darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) and their larvae as potential vectors for the transfer of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica* serovar paratyphi B variant Java between successive broiler flocks. *Appl Environ Microbiol.* 74(22):6887-6891. ISSN: 1098-5336. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00451-08>.
- HICKMANN F, de Moraes AF, Bronzatto ES, Giacomelli T, Guedes JVC, Bernardi O. 2018. Susceptibility of the Lesser Mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), From Broiler Farms of Southern Brazil to Insecticides. *J Econ Entomol.* 111(2):980-985. ISSN: 1938-291X. <http://dx.doi.org/10.1093/jee/toy059>.
- LAMBKIN TA, Rice SJ, Furlong M. 2010. Responses of susceptible and cyfluthrin-resistant broiler house populations of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) to γ -cyhalothrin. *J Econ Entomol.* 103(6):2155-2163. ISSN: 0022-0493. <http://dx.doi.org/10.1603/ec09403>.
- MARTINS CC, Alves LF, Mamprim AP. 2016. Effect of plant extracts and a disinfectant on biological parameters and pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Cordycipitaceae). *Braz J Biol.* 76(2):420-427. ISSN: 1678-4375. <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.17914>.
- MASCARIN GM, Jaronski ST. 2016. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World J Microbiol Biotechnol.* 32(11):177. ISSN: 1573-0972. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>.
- PRADO ROF, Lezama GR, Contreras BD, Contreras LD, Morales BJE, Tellez G. 2014. Patogenicidad del hongo *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) en adultos del escarabajo *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) de casetas avícolas del estado de Colima. *Rev Iberoamericana de Ciencias.* 1(1):88-93. ISSN 2334-2501. <https://pdfs.semanticscholar.org/553c/c44d1810ef37a106fd510f0a848844fb0544.pdf>
- REZENDE SRF, Curvello FA, Fraga ME, Reis RCS, Castilho AMC, Agostinho TSP. 2009. Control of the *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae) with

entomopathogenic fungi. *Braz J Poultry Sci.* 11(2):121-127. ISSN: 1516-635X. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2009000200008>.

RICE SJ, Lambkin TA. 2009. A new culture method for lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. *J Appl Entomol.* 133(1):67-72. ISSN: 09312048. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0418.2008.01314.x>.

ROHDE C, Alves FAL, Neves MOJP, Alves BS, da Silva RLE, de Almeida EMJ. 2006. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae). *Neotrop Entomol.* 35(2):231-240. ISSN: 1519-566X.

SANTORO PH, Neves PM, Alexandre TM, Sartori D, Alves LF, Fungaro MH. 2008. Selection of *Beauveria bassiana* isolates to control *Alphitobius diaperinus*. *J Invertebr Pathol.* 97(2):83-90. ISSN: 0022-2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2007.07.009>.

SAS Institute. 2010. Statistical Analysis Software SAS/STAT®. version 9.0.2, Cary, N.C., USA: SAS Institute Inc., ISBN: 978-1-60764-599-3.

TOMBERLIN JK, Richman D, Myers HM. 2014. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) from broiler facilities in Texas to four insecticides. *J Econ Entomol.* 101(2):480-483. ISSN: 0022-0493.

VERTYPOROKH L, Hulas-Stasiak M, Wojda I. 2019. Host-pathogen interaction after infection of *Galleria mellonella* with the filamentous fungus *Beauveria bassiana*. *Insect Sci.* 1(0):1-11. ISSN: 1744-7917. <http://dx.doi.org/10.1111/1744-7917.12706>.

WALES AD, Carrique-Mas JJ, Rankin M, Bell B, Thind BB, Davies RH. 2010. Review of the carriage of zoonotic bacteria by arthropods, with special reference to *Salmonella* in mites, flies and litter beetles. *Zoonoses Public Hlth.* 57(5):299-314. ISSN: 1863-2378. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01222.x>.