

## IDENTIFICACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS ASOCIADOS A *Pseudips mexicanus* HOPKINS, 1915 (CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE)

Oscar Burgos-Dueñas<sup>1</sup>, Armando Burgos-Solorio<sup>1</sup> Jorge Folch Mallol<sup>2</sup>, Catalina Morales Herrera<sup>2</sup>, Isaac Tello Salgado<sup>3</sup> <sup>1</sup>Laboratorio de Parasitología Vegetal, <sup>3</sup>Laboratorio de Micología Centro de Investigaciones Biológicas <sup>2</sup>Laboratorio de Biología Molecular de Hongos, Centro de Investigaciones en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos Cuernavaca Morelos. E-mail: oscar\_123\_4@live.com.mx

**RESUMEN:** *Pseudips mexicanus* es del grupo de los descortezadores que afectan la flora de bosques pino-encino causando una importante pérdida del área forestal en el país, además de, alterar el la ecología de distintos organismos que coexisten en ese hábitat. El uso de organismos para controlar descortezadores ha sido poco estudiado ya que son pocos los depredadores naturales conocidos. Un grupo importante en control biológico podrían ser los hongos entomopatógenos, sin embargo, su uso se restringe a organismos de amplio espectro. El aislamiento caracterización e identificación de los organismos que parasitan a este descortezador podrían representar una alternativa para su control, controlando de forma específica la sobrepopulación. En el presente trabajo se describen un grupo de hongos que parasitan de forma natural a *Pseudips mexicanus*, identificándolos morfológica y molecularmente.

Palabras clave: Escarabajo descortezador, entomopatógenos, clasificación

### Identification of entomogenous fungi associated of *Pseudips mexicanus* Hopkins, 1915 (Curculionidae: Scolytinae)

**ABSTRACT:** *Pseudips mexicanus* group is affecting the flora bark pine-oak forests causing a significant loss of forest area in the country, in addition to altering the ecology of different organisms that coexist in that habitat. The use of organisms to control bark has been little studied since few known natural predators. An important group in biological control could be entomopathogenic fungi; however, its use is restricted to agencies broad spectrum. Isolation characterization and identification of organisms that parasitize this bark could be an alternative for control specifically controlling overpopulation. A group of fungi that parasitize naturally to *Pseudips mexicanus*, morphologically and molecularly identifying them is described in this paper.

Key words: *Bark beetle*, entomopathogenic, classification

### Introducción

En México se conocen alrededor de 200 especies de descortezadores cuya actividad interviene en la degradación de la materia vegetal. Entre las principales especies que inciden sobre sobre los ecosistemas forestales destacan escarabajos comúnmente conocidos “descortezadores y barrenadores de la madera, entre estos destacan los géneros *Scolytus*, *Phloeosinus*, *Dendroctonus*, *Ips*, *Pseudips* y estos últimos son los grupos son los que han tenido un mayor impacto al eliminar grandes extensiones de bosques de algunas regiones de Norte y Centro América, entre las que prevales nuestro país y la región norte del estado de Morelos (Wood, 1982; Anónimo, 2010).

Los descortezadores, son un grupo de insectos que habitan en las cortezas de los árboles principalmente pinos, esto trae como resultado daños a los tejidos como el floema, conjunto de tejidos vivos especializados en la conducción de savia elaborada, lo que trae como consecuencia la muerte de los árboles y la infestación masiva de los escarabajos descortezadores, como consecuencia pérdidas considerables para los bosques ya que devastan grandes extensiones de estos ecosistemas, provocadas por más de 12 especies descortezadores y más de 15 plantas hospederas (Cuadro 1); entre las principales especies de escarabajos descortezadores destacan *Dendroctonus frontalis*, *D. adjunctus*, *D.*

*mexicanus* y especies de los géneros *Ips* spp. y *Pseudips mexicanus* entre otras (Wood, 1982; Hernández Paz, 1975; Equihua y Burgos, 2002). Estos últimos géneros se les considera como de hábitos secundarios, es decir sus ataques por lo general, infestan a los árboles cuando ya han sido colonizados por otras especies de descortezadores que integran el género *Dendroctonus*, sin embargo en algunas ocasiones sus poblaciones son tan elevadas que pueden convertirse en insectos primarios, lo que provoca la pérdida del arbolado forestal ejemplo de ello son especies *Ips* entre las que destacan *I. pini* e *I. confusus* (Billings *et al.*, 1996; Atkinson *et al.*, 1986; Cibrían *et al.*, 1998; Villa, 2009).

La presencia de estas especies de insectos es importante, a pesar de que en algunos autores los consideran como “*Plagas forestales*”, sin embargo cumplen una función importante en los ecosistemas forestales, ya que constituyen elementos indispensables en la regulación de estas comunidades, al eliminar árboles dañados por fuego, moribundos, enfermizos y/o estrés hídrico, y contribuyen de manera directa o indirecta al reciclaje de la materia orgánica y a la incorporación de ésta al suelo (Harmon *et al.*, 1986; Carpenter *et al.*, 1988; Edmons y Eglytis, 1989; Zhong y Schowalter *et al.*, 1989 en Schowalter y Filip, 1993). En los últimos años los problemas en las comunidades forestales se han recrudecido debido a que las poblaciones de estos escarabajos aumentan drásticamente y convertirse en plagas importantes causando severos cambios en el escenario forestal y pérdidas económicas a la industria forestal. La infestación masiva de estos insectos de grandes extensiones de bosque en algunas entidades de la república mexicana entre las que destacan Chihuahua, Durango, Michoacán, Estado de México y Morelos entre otras; de tal manera que el control de estos organismos se realiza por podas de saneamiento, el uso de trampas por medio de feromonas de atracción, o el control por medio de insecticidas, sin embargo su uso trae como consecuencia que el uso excesivo de estos productos crean resistencia a estos descortezadores, además de eliminar a otros organismos, además de un costo económico elevado (Llenderal, 1997).

Ante esta evidencia, se han desarrollado estrategias para el control de descortezadores, ha tomado relevancia el creciente interés para establecer estrategias para el manejo de los mismos, tomado como referencia el control natural de los mismos, entre estos destacan los beneficios de los hongos entomopatógenos ejemplo de ellos son las especies de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisoplae* y *Bacillus thuringiensis* entre otros organismos (Rodgers, 1993, Thomas, 1997, Butt *et al.* 2001, tomado de Alatorre, 2007; Fonseca *et al.*, 2005, 2008; Hajek y Bauer, 2007; Santana-Román *et al.*, 2013).

El uso de hongos entomopatógenos se encuentra dentro de los sistemas de control biológico, que es una práctica agrícola y forestal que busca restablecer las poblaciones de insectos plaga con el uso de enemigos naturales (Spardo y Gullino, 2004, tomado por Telléz, 2009; Steinwender *et al.*, 2009). Esta alternativa ofrece una solución amigable al ambiente y de bajo costo, ya que, los tratamientos convencionales son costosos y poco amigables con el ambiente, además de no ser específicos, (Summy y Frech, 1998).

Un elemento clave para el uso correcto de los organismos entomopatógenos, es el grado de identificación y caracterización de los organismos asociados a escarabajos descortezadores de importancia forestal, ya que de esto depende el efecto positivo esperado, por lo que el presente trabajo tiene por objetivos la identificación morfológica y molecularmente los hongos entomopatógenos asociados *Pseudips mexicanus*.

## Materiales y Métodos

**Área de estudio:** El estudio se realizó en Real Montecassino ubicado en la ladera este del Eje Neovolcánico. Presenta una temperatura que va de los 8-18°C y una precipitación 1000-2000 mm. Los climas de la región son semifríos (C (E) (m) (w), C (E) (w2) (w)) y templados (C (w2) (w)) según el sistema de Köppen (SPP, 1981). La localidad presenta vegetación de pino-encino, donde prospera *P. montezumae* y *P. teocote*, *P. pseudostrobus* entre otros, de esta última especie se tomaron muestras (SPP, 1981; Aguilar, 1990).

Al desprender la corteza del pino se pudieron observar las galerías de los descortezadores y algunos insectos con micelio. Los insectos colectados de *P. pseudostrobus* fueron llevados al laboratorio de parasitología forestal CIB-UAEM. Ahí se cultivaron en medio PDA, cadáveres de *P. mexicanus* que presentaban micelio, y se incubaron por ocho días, posteriormente se hicieron aislamientos para obtener cepas puras, para después cultivarlos en otro medio más enriquecido (extracto de levadura).

**Identificación morfológica:** Para la identificación morfológica se realizaron aislamientos de los hongos hasta obtener cepas puras de los mismos, una vez teniendo las cepas puras se realizaron preparaciones del hongo y se observaron al microscopio compuesto a los aumentos 40x y 100x. Se utilizaron las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1987), Domsch *et al.*, (1993) y Webster (1986).

**Identificación molecular:** Para la identificación de los especímenes, se procedió a aislar DNA genómico del cultivo de las cepa de acuerdo al método reportado por (Kuhad *et al.*, 2004). Se utilizó el gen 18S DNA ribosomal usando como primer forward Nu- 0817-F y reverso Nu-1536-R, y con el gen 28S se utilizaron los ITS-3 e ITA-4. Posteriormente fueron amplificados de acuerdo al método y condiciones descrito por Borneman y Hartin, 2000, se utilizó un Kit Fermentas Thermo Scientific, Clonejet PCR CloninKit, K123 #K1232. La concentración de MgCl<sub>2</sub>, dNTPs, PCR primers y DNA de la reacción fue de 1.6 mM, 200 mM, 0.5 mM y 1 ng/ml, respectivamente. La presencia de DNA genómico y la amplificación de los fragmentos 18s y 28s fue confirmado usando geles de agarosa al 0.8% utilizando como marcador de peso molecular de 1kb DNA ladder. Para los fragmentos se utilizó como control los marcadores 18s y 28s de *Bjerkandera adusta*. Los productos de PCR fueron clonados en el vector de pJET y se procedió a la transformación de *E. coli* con el pJET por electroporación, se seleccionaron cepas y se les hizo una miniprep casera y se corroboró con geles de agarosa que tuvieran el inserto, los fragmentos se liberaron del vector por medio de una digestión usando la enzima BGL II y se confirmó haciendo geles comparando vectores digeridos y no digeridos, esto se hizo para tener seguridad de que las colonias de *E. coli* presentaran los productos PCR insertados en el vector de clonación (pJET).

El DNA ribosomal del 18S y 28S se mandó a secuenciar en el Instituto de Biotecnología de la UNAM (IBT), usando el Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction terminadores BigDye v3.1 (PE Applied Biosystems) se utilizaron para la secuenciación automatizada un PRISM Modelo 3730 XI analizador genético ABI, versión de software 3.0.

## Resultados

Se aislaron 19 muestra de hongos presentes en insectos vivos y cadáveres presentes en la corteza de *Pseudips mexicanus*; las muestra fueron aisladas y sembradas consecutivamente hasta obtener cepas puras. Una vez obtenidas, fueron identificadas morfológica y molecularmente, estando representando cuatro géneros entre los que destacan *Lecanicillum* (Clavicipitaceae), *Trichoderma* (Hypocreaceae), *Aspergillus* (Trichocomuceae) y *Baeuveria* (Clavicipitaceae).

### Descripción morfológica de los géneros *Lecanicillum* sp.

Las colonias en medio de cultivo suelen ser blancas o amarillentas, de aspecto algodonoso, el medio de cultivo cambia de color rojizo al crecer el hongo. El micelio es septado y las fiálides son solitarias o en verticilo, con un tamaño variable, normalmente entre 12-40 x 0,8-3,0  $\mu\text{m}$ . Los conidios son cilíndricos en un rango entre 2-10 x 1,0-2,6  $\mu\text{m}$  y pueden formar grupos. No presenta clamidosporas, de acuerdo a Domsch *et al.*, (1993), la descripción obtenida sugiere como género a *Lecanicillum*. Figura 1. Se ha reportado a *Lecanicillum*

Para el control de algunos dípteros, tales como *Aedes aegypti*, transmisor de la malaria y algunos ácaros de importancia agrícola y de salud humana. Ejemplo de ello, Luz y colaboradores en el (2010) identificaron mosquitos adultos de *Aedes aegypti*, *Anopheles arabiensis* y *Culex quinquefasciatus* infectados de manera natural por *lecanicillum*. Al probar su efectividad como control biológico y obtuvieron una mortalidad del 87% para estos organismos. Derivado de este estudio se estableció un método de trapeo para inocular mosquitos domésticos y controlar sus poblaciones.

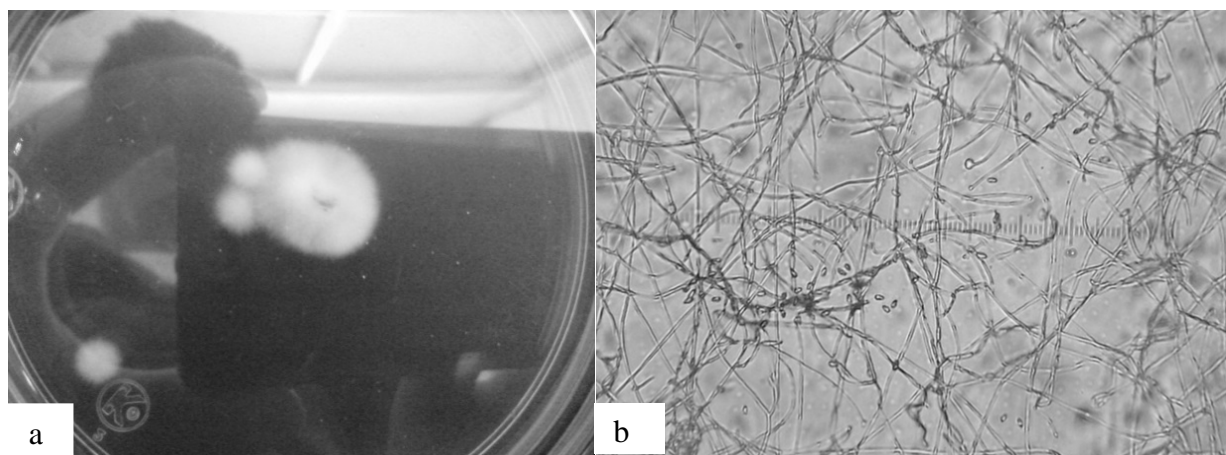


Figura 1a. Imagen del micelio que presenta coloración blanca algodonosa y (b) de las hifas del hongo presentes y septadas.

### *Beauveria* sp.

El aspecto de la colonia es lanoso y en forma de polvo debido a los abundantes conidios, es de color blanco en un principio, tornándose amarillenta posteriormente en la parte del centro, de textura blanda y superficie plana. *Beauveria bassiana* posee hifas cenocíticas, lisas, con células conidiógenas formando densos racimos irregularmente agrupados, las fialides se encuentran hinchadas en la base que asemeja la estructura de un frasco sub-globoso y se adelgazan hacia la parte que sostiene las esporas llamado raquis en forma de zigzag. Estos resultados coincidieron con la descripción realizada por Domsch *et al.*, (1993). Figura 2. Por lo general se reporta a *Beauveria bassiana* como hongo entomopatígeno con mayor aplicación para el control de insectos de importancia agrícola y forestal aplicado en formulaciones comerciales; ejemplo de ello Steinwender y colaboradores (2009), aislaron conidióforos de *B bassiana* creciendo sobre *Ips typographus* presentes en la región de Rothwald, Austria, estos organismos fueron aplicados a *Ips sexdentatus* obteniendo un 93 % de mortalidad



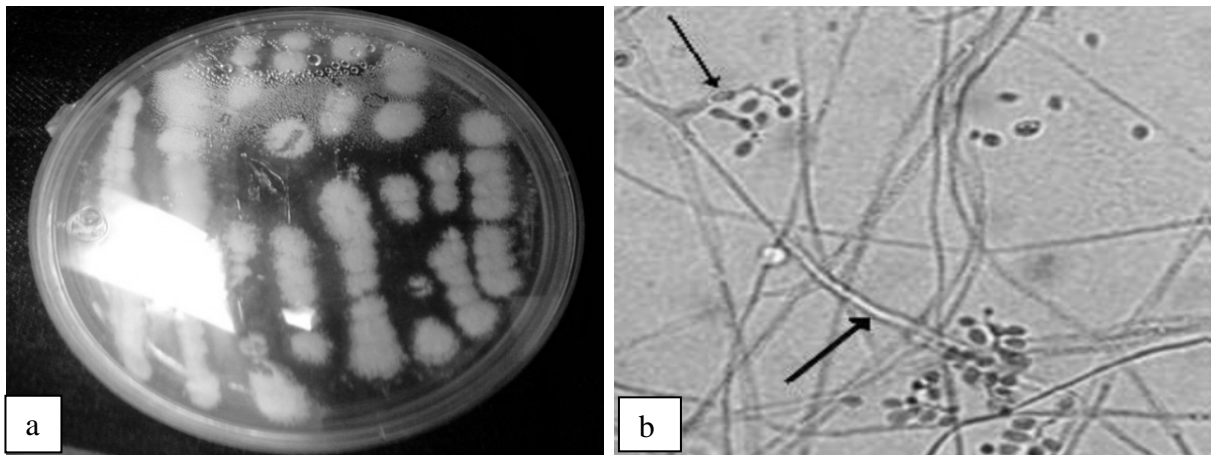


Figura 2a. Imagen del micelio blanco y aspecto de polvo y (b) de las hifas del hongo así como las esporas presentes.

***Trichoderma sp.***

Desarrolla anillos concéntricos, hifas septadas, hialinas, conidióforo intrincado, midiendo (50,0 – 60,0 x 2,0 – 3,0)  $\mu$ , verticilos formado por cinco fiálides, de forma ampuliforme, midiendo (10,5 x 3,3)  $\mu$  y 2,2  $\mu$  en la base, no se observaron fiálides intercalares, conidios con pared lisa, globosos a subglobosos, de color verde oliva, sus medidas son (3,5 x 3,1)  $\mu$ , presenta clamidosporas terminales e intercalares, globosas a subglobosas, midiendo (9,5 x 9,0)  $\mu$ . Las características del aislamiento corresponden a la descripción dada por Barnett y Hunter (1987). Figura 3. Sundaravadivelan y Padmanabhan en el 2014, demostraron la efectividad de *T. harzianum* al utilizar a *Aedes aegypti*, demostrando una efectividad del 96%, al utilizarlo como agente de control biológico.

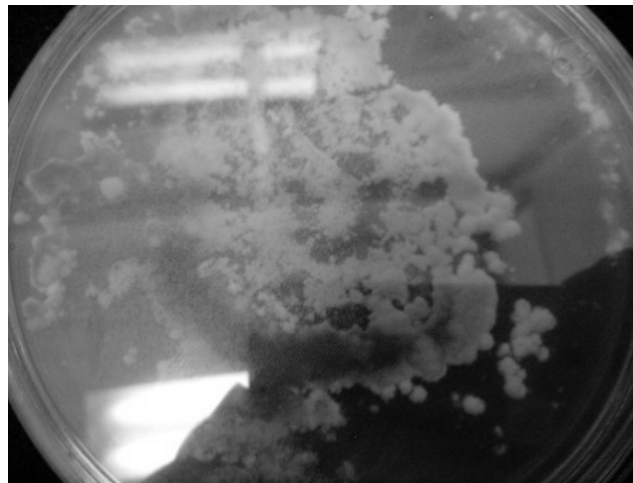


Figura 3. Cloración del hongo *trichoderma* que presenta coloraciones amarillas, verdes y blancas con forme el hongo se desarrolla.

***Penicillium sp.***

Este género se caracteriza por formar conidios en una estructura ramificada semejante a un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiálides. Los filamentos o hifas alcanzan un

diámetro entre dos o tres micrómetros y tienen septos con un poro central que no es visible al microscopio óptico. Las paredes del estípote, las ramas o las métulas pueden ser lisas, rugosas o equinuladas. La pared de las fiálides es siempre lisa. Las fiálides pueden tener forma de ánfora o bien ser casi cilíndricas con la porción apical en forma de cono. El tamaño máximo de las fiálides es de 15  $\mu\text{m}$  y la parte terminal no supera los 3  $\mu\text{m}$  de largo. Los conidios son esféricos o elipsoidales, unicelulares, hialinos que en masa se ven de color verde, verde azulado, verde aceituna o gris. La pared de los conidios es lisa o rugosa según las especies (Webster 1986). Figura 4. *Penicillium* es utilizada en la actualidad para el control de *Culex* que es un vector de filarias, Salwan S. Rashed y colaboradores (2013) realizó un estudio para observar la patogenicidad de tres especies de este hongo teniendo como resultado una mortalidad del 100%. Al igual que en este estudio los insectos fueron aislados de cadáveres de mosquitos. En la actualidad se utiliza a *Penicillium* como agente de control biológico para especies de importancia agrícola y de salud.

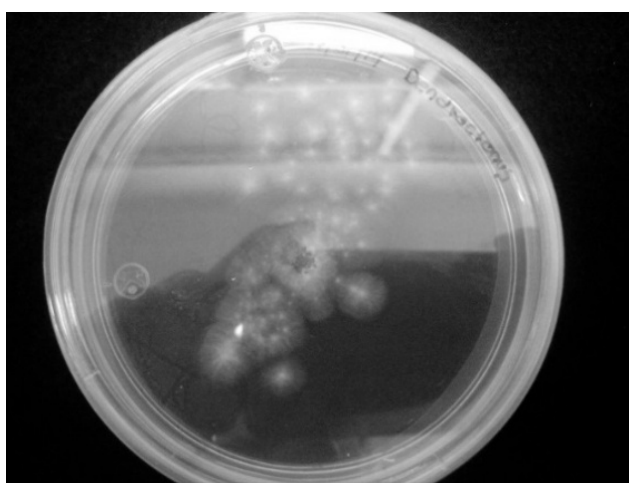


Figura 4. Coloración del hongo *Penicillium* y su crecimiento que presenta coloraciones café oscuro y verde.

### Descripción molecular de los hongos asociados

Una vez obtenidas las secuencias de los cuatro hongos identificados morfológicamente se procedió a realizar un alineamiento de las secuencias, utilizando como referente las secuencias depositadas en la base de datos del NCBI. Los resultados muestran un 98 y 100% de similitud, corroborando el género de los hongos entomopatógenos identificados morfológicamente en este estudio.

### Discusión

Las alternativas de control de estos insectos se remiten a tomar una serie de estrategias que van desde el derribo-descortezado, control químico (inorgánicos) y biológicos (feromonas y métodos microbianos) este último ha resultado ser una de las opciones más viables y amables con la naturaleza al ser consideradas en programas de manejo y control de especies de importancia forestal (Hajek y Bauer, 2007). Los hongos asociados a este descortezador, representan una posible actividad entomopatógena, tal es el caso del género *Beauveria* (Steinwender *et al.*, 2009). En el presente trabajo se demostró la presencia de distintos géneros con la presencia de *Beauveria* spp., *Lecanicillium* spp., *Trioderma* spp. y *Penicillium* spp., las cuales indican una actividad patógena activa en contra de este descortezador. También se da a conocer los primeros registros de estos hongos entomopatógenos

asociados a esta especie de descortezador para el país. (Hajek y Bauer, 2007; Fonseca *et. al.*, 2005, Fonseca, 2008; Santana-Román *et. al.*, 2013).

Perspectivas de estudio

La importancia y uso de los entomopatógenos, radica en sustituir la práctica de químicos por alternativas biológicas para el control de los descortezadores, al regular las poblaciones de insectos de importancia forestal. Por tanto, el presente trabajo establece las bases metodológicas para establecer medidas para control biológico y su efectividad patogénica de estos hongos para el control de las principales especies de importancia forestal, sin la alteración del ambiente, que a la postre, contribuyan al mantenimiento y a la conservación de los bosques del país.

**Literatura Citada**

- Aguilar B. S. 1990. Dimensiones ecológicas del estado de Morelos. Centro Regional de Investigaciones Multidisciplinarias UNAM. México. 221 pp.
- Alatorre, R. R. 2007. Hongos entomopatógenos. pp. 127-143. *En:* L. A. Rodríguez del-Bosque y H. C. Arredondo-Bernal (eds.). *Teoría y Aplicación del Control Biológico*. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. 303 p
- Anónimo, 2010. Manual de sanidad forestal, primera edición. Comisión nacional forestal. Periférico poniente 5360.Col. San Juan de Ocotán 45019. Zapopan Jal.
- Atkinson, H. T., Saucedo, C. E., Martínez, F. E. y Burgos, S.A. 1986. Coleópteros Scolytidae y Platypodidae asociados con las comunidades vegetales de clima templado y frio en el estado de Morelos, México. *Acta Zool. Mex.* 17: 31-33
- Barnett, I. and B. Hunter 1987. *Illustrated Genera of Imperfect fungi*. Fourth Edition. Macmillan Publishing Company, New York. 218 p.
- Billings, R. F. and R. S. Cameron. 1984. Kairomonal responses of Coleoptera *Monochamus titillator* (Cerambycidae), *Thanasimus dubius* (Cleridae) and *Temnochila virescens* (Trogositidae), to behavioural chemicals of southern pine bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). *Environmental Entomology* 13:1542-48.
- Cibrián T., J. y D. Cibrián T. 1998. Las plagas y enfermedades de los bosques de México. Memoria del Ciclo de Conferencias: El Sector Forestal de México, Avances y Perspectivas. México, D. F. pp. 19-23.
- Domsch, K. H., W. Gams and T. Anderson. 1993. *Compendium of soil fungi*. IHV-Verlag, 859 pp.
- Hajek, A.E. and L.S. Bauer 2007. Microbial control of wood-boring insects attacking forest and shade trees. (505–533). In: L.A. Lacey, H.K. Kaya (Eds.), *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*, Springer, Secaucus, NJ
- Hernández Paz, M. 1975. *El gorgojo de la corteza, plaga de los pinares*. *Dendroctonus frontalis* Zimm. (Coleoptera: Scolytidae). *COHDEFOR*. (Corporación Hondureña de Desarrollo Forestal). Publicación No. 1. P.1-3.
- Fonseca, A, Peña G., Bravo A., Hernández V, A. Burgos S. 2005. Agente causal de una epizootia en los descortezadores *Pseudohylesinus variegatus* Blandford, 1897 y *Pityophthorus elatinus* Wood, 1964 (Coleoptera: Scolytidae) asociados a *Abies religiosa* (Pinaceae). XXVIII Congreso Nacional de Control Biológico. San Miguel de Allende, Gto. Noviembre 2005. 180-183.
- Fonseca, A. G. 2008. Distribución Espacial de *Pseudohylesinus variegatus* y *Pityophthorus elatinus* asociados *Abies religiosa*, en el Parque Nacional Lagunas de Zempoala” Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Morelos 48 p.

- Equihua, A. M. y Burgos, A. 2000. *Scolytidae*. Pp. 538-557 In: Llorente B, J, E. González S, y N. Papavero (Eds). Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de México: Hacia una síntesis de su conocimiento. Voll. III 690.
- Kuhad, R. C., Sood, N, Tripathi, K. K., Singh, A Ward, O. P. 2004. Developments in microbial methods for the treatment of dye effluents. *Adv. Appl. Microbiol.* 56: 185-213.
- Luz, C, Mnyone. L. L, Sangusangu. R, Lyimo. N. I, Norcha. F. N. L, Humber. R. A, Russell. L. T. 2010. A new resting trap to sample fungus-infected mosquitoes, and the pathogenicity of *Lecanicillium muscarium* to culicid adults. *Acta Tropica*.116. Pag.105-107.
- Llenderal, C. C. 1997. Introducción a la fisiología de los insectos. Colegio de Posgraduados 170 p.
- Salwa, S. R., Gamal A. H., Eman, M. R., and Wageha, A. M. 2013. Pathogenicity of Entomopathogenic Fungi on Larvae of *Culex pipiens* Mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal of Applied Sciences Research*. 13. Pp. 6636-6642.
- Santana-Román, M. E. O. Burgos-Dueñas, A. Burgos-Solorio, A. Burgos-Dueñas, C. Morales-Herrera y J. L. Folch-Mallol 2013. Caracterización molecular de hongos Entomopatógenos en *Pseuiops mexicanus* (Hopkins, 1915) (Coleoptera: Curculionidae; Scolytinae). [107-111] *En: Vásquez y Pacheco* (eds.) XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico 7 y 8 de Noviembre, Oaxaca, Oaxaca, México
- Secretaría de Programación y Presupuesto 1981. Síntesis Geográfica del Estado de Morelos. Coordinación General de los Servicios Nacionales de Estadística, Geografía e Informática. México, D. F.
- Summy, K.R. and J.V. French. 1988. Biological control of agricultural pests: concepts every producer should understand. *J. Rio Grande Valley Hort. Soc.* 41:119-133.
- Sundaravadivelan, C. and Padmanabhan. N.M. 2014. Effect of mycosynthesized silver nanoparticles from filtrate of *Trichoderma harzianum* against larvae and pupa of dengue vector *Aedes aegypti* L. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 21. Pp. 4624-4633.
- Schowalter, T. D. and M. G. Filip 1993. Beetle-Pathogen Interactions in Conifers Forest. Academic Press Harcourt Brace & Company, Publishers 252 p.
- Steinwender, B. M., H. W. Krenn and R. Wegensteiner 2009. Different effects of the insectpathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Deuteromycota) on the bark beetle *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Curculionidae) and on its predator *Thanasimus formicarius* (Coleoptera: Cleridae) *Journal of Plant Diseases and Protection*. 117 (1), 33–38.
- Villa. C. 2006. Importante contribución a la salud de ecosistemas forestales [en línea]. Forestal. México. Noviembre-Diciembre 2006. Fecha de consulta 20 de marzo del 2014. Disponible en: [www.camafu.org.mx/...forestal/-.../importante-contribucion-a-la-salud-d](http://www.camafu.org.mx/...forestal/-.../importante-contribucion-a-la-salud-d).
- Villa, C. J. 2009. Importante contribución a la salud de los ecosistemas forestales. CONAFOR. Programa de Sanidad forestal. pp. 27-28.
- Téllez, J. A., Cruz R. M. G., Mercado, F. Y., Asaff, T. A. y Arana, C. A. 2009. Mecanismo de acción y repuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista Mexicana de Micología* 30: 73-80.
- Webster J. 1986. Introduction to Fungi. 2º ed. Cambridge University Press.
- Wood, S. L. 1982. The Bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a taxonomic monograph. *Great Basin Naturalist Memoirs*. 6: 1359.