

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Patogenicidad y Virulencia del Hongo *Beauveria bassiana* Contra la Chinche de las Crucíferas *Bagrada hilaris* Bajo Condiciones de Laboratorio

Por:

VERONICA HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre, 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Patogenicidad y Virulencia del Hongo *Beauveria bassiana* Contra la Chinche de las Crucíferas *Bagrada hilaris* Bajo Condiciones de Laboratorio

Por:

VERONICA HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría



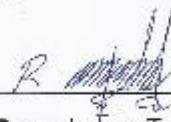
Dr. Sergio Roné Sánchez Poña

Asesor Principal




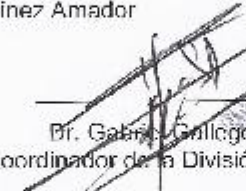
Dra. Silvia Yudith Martínez Amador

Coasesor



M.C. Reyna Ivonne Torres Acosta

Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación
GISA de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre, 2015

AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradezco a la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por haberme aceptado ser parte de ella y abierto las puertas de su seno científico para poder estudiar mi carrera.

Agradezco a mi asesor, el **Doc. Sergio Rene Sánchez Peña**, por haberme brindado la oportunidad de realizar la tesis con él, igualmente por todos sus conocimientos y orientaciones para el buen término de esta tesis. Agradezco todas las motivaciones dadas para ser una gran persona cada día, para poder superarme y cumplir mis sueños y metas.

Igualmente agradezco a mi asesora, la **Mc. Reyna Ivonne Torres Acosta** por haber aceptado que realizase la tesis en su proyecto y por la oportunidad brindada para poder recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así como por haber tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis y por ser una gran amiga en los momentos difíciles.

Agradezco a todos los compañeros de la cámara que estuvieron durante este proyecto, ya que gracias al compañerismo, amistad y apoyo moral, han aportado en un alto porcentaje a la terminación de esta tesis.

DEDICATORIA

A mis padres, por todo el amor, trabajo y sacrificio en todos estos años de vida, ha sido un privilegio ser su hija.

A mis hermanos, por todos los momentos juntos, en los buenos y los no tan buenos, gracias por todo su cariño, su apoyo y por nunca soltarme en los momentos difíciles a pesar de la distancia.

A uno más de mis hermanos, que aunque no lo sea de sangre él sabe que yo lo aprecio como tal, gracias por todo, por los consejos siempre dados, por el apoyo incondicional brindado desde la primera vez, por siempre estar ahí cuando se le necesitaba y por dejarme ser parte de su bonita familia.

A ti, mi mujer de las mil batallas, por sonreír aunque sentías que el mundo se te caía encima, por el esfuerzo que has hecho para que yo pudiera terminar la carrera, gracias.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	D
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	3
HIPOTESIS	3
REVISION DE LITERATURA	4
Chinche de las Crucíferas (<i>Bagrada hilaris</i>).....	5
Ubicación taxonomica.....	5
Biología de <i>B. hilaris</i>	6
Descripción de los Estados de Desarrollo	6
Huevo	6
Instares ninfales.....	6
Adulto	7
Ecología	7
Alimentación	8
Manejo integrado de plagas	10
Prácticas culturales.....	10
Control mecánico.....	11
Control químico	12
Control biológico	12
Hongos Entomopatógenos.....	13
<i>Beauveria bassiana</i>	15
Taxonomía y Descripción	16
Características morfológicas	17
Modo de acción	17
MATERIALES Y METODOS	20
Búsqueda de hongos entomopatógenos.....	20
Búsqueda indirecta de hongos entomopatógenos.....	20
Búsqueda directa de hongos entomopatógenos	21
Manejo en laboratorio	21

Aislamiento de hongos entomopatogenos	22
Identificacion de los hongos entomopatogenos	22
Bioensayos.....	23
Obtencion de insectos	23
Incremento de <i>Beauveria bassiana</i>	23
Conteo de esporas	24
Estimación de la virulencia de <i>B. bassiana</i> sobre <i>B. hilaris</i> en condiciones de laboratorio	25
Inoculacion	25
Análisis de datos	26
RESULTADOS Y DISCUSION	27
Plantas hospederas	27
Búsqueda, aislamiento e identificación de hongos entomopatogenos	28
Caracterizacion taxonomica	31
<i>Beauveria bassiana</i>	31
<i>Metarhizium anosopliae</i>	33
<i>Isaria fumosorosea</i>	35
<i>Zoophthora radicans</i>	37
<i>Fusarium spp</i>	39
Bioensayos de <i>Beauveria bassiana</i> en ninfas de <i>Bagrada hilaris</i> en condiciones de laboratorio	41
Bioensayos de <i>Beauveria bassiana</i> en adultos de <i>Bagrada hilaris</i> en condicione de laboratorio	44
CONCLUSIONES	48
LITERATURA CITADA	49

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. Susceptibilidad en ninfas de <i>Bagrada hilaris</i> al contacto con <i>Beauveria bassiana</i>.....	42
TABLA 2. Análisis de varianza para la evaluación de patogenicidad de <i>Beauveria bassiana</i> sobre ninfas de <i>Bagrada hilaris</i>.....	42
TABLA 3. Susceptibilidad de adultos de <i>Bagrada hilaris</i> a <i>Beauveria bassiana</i>.....	45
TABLA 4. Análisis de varianza para la evaluación de patogenicidad de <i>Beauveria bassiana</i> sobre adultos de <i>Bagrada hilaris</i>	45

INDICE DE IMÁGENES

FIGURA 1. Daño en hojas de las plantas donde hay presencia de <i>Bagrada hilaris</i>.....	9
FIGURA 2. Fases del modo de acción de <i>Beauveria bassiana</i>.....	19
FIGURA 3. Plantas hospederas de <i>Bagrada hilaris</i>.....	28
FIGURA 4. Hongos entomopatógenos infectando a <i>Bagrada hilaris</i> en Saltillo, Coahuila (Junio, 2014-Febrero, 2015).	29
FIGURA 5. Fluctuación de los 6 géneros de hongos encontrados en los diferentes meses de muestreo de <i>B. hilaris</i>.....	30
FIGURA 6. Imágenes de <i>Beauveria bassiana</i>.....	32
Figura 6A. Micelio y conidias de <i>Beauveria bassiana</i>	32
Figura 6B. <i>Bagrada hilaris</i> colonizado por <i>Beauveria bassiana</i>	32
FIGURA 7. Imágenes de <i>Metharizium anisopleae</i>.....	34
Figura 7A. Imágenes de micelio con conidióforo microscópicas de <i>Metharizium anisopleae</i>	34
Figura 7B. <i>Bagrada hilaris</i> visto macroscópicamente, insecto invadido completamente por el hongo.....	34
FIGURA 8. Imágenes de <i>Isaria fumosorosea</i>	36
Figura 8A. Microscópicamente se observa un vértice de filios que terminan en conidios	36
Figura 8B. Macroscópicamente el hongo invadió la totalidad del cuerpo de <i>Bagrada hilaris</i>	36
FIGURA 9. Imágenes de <i>Zoophthora radicans</i>	38

Figura 9A. Microscópicamente se observa el micelio con el conidióforo transparente.....	38
Figura 9B. Macroscópicamente se observa la invasión a <i>Bagrada hilaris</i> con micelio color café	38
FIGURA 10. Imágenes de <i>Fusarium spp.</i>.....	40
Figura 10A. Microscópicamente se observan macroconidias curvos e incoloros	40
Figura 10B. Macroscópicamente se observa la presencia del hongo en el abdomen y tórax de <i>Bagrada hilaris</i>	40
FIGURA 11. Mortalidad de <i>Bagrada hilaris</i> en etapa ninfal ocasionada por <i>Beauveria bassiana</i> evaluada en laboratorio.....	43
FIGURA 12. Porcentaje de mortandad de adultos de <i>Bagrada hilaris</i> tratados con <i>Beauveria bassiana</i> evaluados durante 10 días después de la exposición	46

Correo Electronico; Verónica Hernández Hernández, v_ronik_90@hotmail.com.

RESUMEN

La chinche de las crucíferas *Bagrada hilaris*, está considerado como uno de los insecto plaga más importante en el cultivo de las crucíferas, recién introducido a América donde no cuenta con depredadores naturales. El objetivo de este trabajo fue la búsqueda y evaluación de hongos entomopatógenos, para el control microbiano de *B. hilaris*. Para ello se obtuvieron aislamientos nativos provenientes de insectos muertos colectados en campo y se evaluó la patogenicidad y virulencia de *Beauveria bassiana* sobre adultos y ninfas de la chinche. Se encontraron los generos *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria*, *Zoopthora* y *Fusarium* en los diferentes muestreos realizados, se eligió para este trabajo al género *B. bassiana*. Las concentraciones de conidias utilizadas fueron 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 y un testigo que fue agua simple con 3 repeticiones, el método fue por aspersión y el trabajo fue realizado bajo condiciones de laboratorio. Se obtuvieron los mejores resultados de patogenicidad en las concentraciones de 1×10^8 , tanto en estado ninfal como en el adulto. En el estado adulto la mortandad fue del 100% en los tratamientos de 1×10^8 y 1×10^7 al 8º día todas las chinches ya se encontraban muertos, difiriendo con los del estado ninfal que no llegaron a morir todos en los

10 días del experimento. Los resultados obtenidos indican que hay una gran posibilidad de utilizar a *B. bassiana* como agente de control microbiano, incluyéndolo en un programa de Manejo Integrado de la Chinche de las Crucíferas.

Palabras claves: crucíferas, depredadores, control microbiano, conidias, aspersión.

INTRODUCCION

La clase Insecta está representada por todos los insectos, es el grupo más numeroso de organismos sobre la tierra con una población estimada de aproximadamente un millón de especies. La mayoría de los insectos son plagas y causan graves pérdidas y/o daños a los productores agrícolas. Dentro de la clase Insecta, se encuentra el orden Hemiptera, conocidos como chinches. Según Arnett (1985), este orden ocupa el cuarto lugar en importancia económica de los cultivos. Actualmente se conocen 50, 000 especies de hemípteros en el mundo y se han descrito 3,578 especies para Estados Unidos y el Norte de México, sin embargo las especies son consideradas como exóticas, por ejemplo la chinche Bagrada de las crucíferas: *Bagrada hilaris*, la cual es originaria del viejo continente y se expandió hacia Asia y al sur de Europa (Derzhansky & Pericart., 2005). Recientemente se ha reportado su presencia en el continente americano, específicamente en el condado de Los Ángeles, en Estados Unidos; donde se encontró por primera vez en el 2008 (Palumbo & Natwick., 2010). Esta plaga es común en el repollo (*Brassica oleracea var. Capitata*), la coliflor (*Brassica oleracea var. Botritis*), nabos (*Brassica rapa*) y otras crucíferas como el rábano (*Raphanus sativus*). También ataca a la papa (*Solanum tuberosum*), betabel (*Beta vulgaris*), papaya (*Carica papaya*), maíz (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum vulgare*) y mijo (*Panicum miliaceum*), algodón (*Gossypium hirsutum*) y a las Fabaceae. También se ha registrado como una plaga ocasional en el cacahuete (*Arachis hypogaeae*), el trigo (*Triticum aestivum*) y el té (*Aspalathus linearis*).

En la actualidad se buscan medidas de control eficientes para mantener las poblaciones de plagas por debajo del nivel de daño económico. Los principales tipos de control están enfocados específicamente en la aplicación de insecticidas químicos (Palumbo, 2012a), sin embargo, la tendencia actual es la disminución de los insecticidas en los cultivos agrícolas y el incremento de organismos usados en el control biológico.

OBJETIVO GENERAL

Búsqueda y evaluación de hongos entomopatógenos, para el control microbiano de *Bagrada hilaris*.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Búsqueda, aislamiento y purificación de hongos entomopatógenos a partir de *Bagrada hilaris* colectadas en campo.
2. Evaluar la virulencia que ejerce el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en la chinche *Bagrada hilaris* bajo condiciones de laboratorio.
3. Evaluar la etapa del ciclo de vida (ninfas o adultos) de *Bagrada hilaris* más susceptibles a los hongos entomopatógenos.
4. Determinar la dosis y el tiempo óptimo con los cuales se obtiene el mayor porcentaje de mortalidad de *Bagrada hilaris* en condiciones de laboratorio.

HIPOTESIS

1. Se encontrara, aislara y purificara al menos una cepa entomopatógena a partir de *Bagrada hilaris*.
2. A mayor concentración de conidias, mayor mortalidad habrá en el individuo tratado.
3. Las ninfas de *Bagrada hilaris*, serán más susceptibles a los hongos entomopatógenos que los de estado adulto.

1. LITERATURA CITADA

Las plagas agrícolas pueden ser controladas eficazmente a través del uso de organismos benéficos, a este tipo de control también se le conoce como control biológico y es considerado como una alternativa potencial contra el uso de pesticidas. En los últimos años se ha estado realizando consensos para reducir los insumos de plaguicidas químicos que son percibidos como peligrosos para los consumidores por los posibles riesgos para la salud humana, la contaminación o los efectos sobre los organismos benéficos o el desarrollo de plagas resistentes a estos. Los métodos biológicos, tales como el uso de bioinsecticidas, son cada vez más populares en la lucha contra las plagas. Eilenberg *et al.*, (2001) define al control biológico o biocontrol como “El uso de organismos vivos para suprimir la densidad de población o el impacto de un organismo plaga específico, por lo que es menos abundante o menos perjudicial de lo que debería ser”. Los agentes de control biológico tienen un efecto importante en la regulación de numerosos organismos (hongos, bacterias, virus, nematodos y otros invertebrados).

El uso del control biológico puede ser usado contra cualquier insecto plaga incluyendo al orden Hemiptera, específicamente a *Bagrada hilaris* perteneciente a la familia Pentatomidae. Henry (2009), menciona que en América existen entre 900 géneros y menos de 4,700 especies de la familia Pentatomidae. Froescher (1988) dio a conocer que tan solo para el norte de México se encuentran reportadas aproximadamente 60 géneros y cerca de 200 especies.

La chinche de las Crucíferas (*Bagrada hilaris*).

Ubicación taxonómica.

Reino: ----- Animalia

Phylum: ----- Arthropoda.

Clase: ----- Insecta.

Orden: ----- Hemíptera.

Familia: ----- Pentatomidae.

Género: ----- *Bagrada*.

Especie: ----- *B. hilaris*.

Bagrada hilaris (Burmeister, 1835), es conocida comúnmente como la chinche de las Crucíferas, es una especie exótica y es originaria de África (Howard, 1906), se ha extendido a partes del sudeste de Asia, e Italia (Reed et al, 2013). En junio de 2008, se documentó en el condado de Los Ángeles, California. Este fue el primer indicio de su presencia en el continente Americano. En junio de 2010, *B. hilaris* fue encontrado en el sur de Nuevo México (Condado de Santa Ana). Posteriormente, se reportó en Arizona (Palumbo & Natwick 2010) y el sur de Nevada (Reed et al. 2013). Bundy et al., 2012 observó la presencia en Otero, Socorro, y los condados de Valencia en Nuevo México, igualmente ese año se encontró en las regiones sur de California, Arizona, Nevada y Utah, así como en oeste y sur de Nuevo México y el oeste de Texas. También ha sido detectado en el valle central agrícola y las regiones costeras del centro de California (Reed et al, 2013). En México el primero reporte fue presentado por Sánchez-Peña (2014),

quien menciona la presencia de esta plaga en cultivos de crucíferas en el norte de México durante el 2013 y 2014.

BIOLOGIA

a) HUEVOS

Los huevos son de forma de barril e inicialmente son de color blanco con dimensiones de 0.876 x 0.698 mm. pero con el tiempo se vuelven de color naranja. Las hembras ponen los huevos en el suelo debajo de la planta hospedera, pero también puede poner huevos en el envés de las hojas o en los tallos vellosos de plantas no huéspedes. Además, los huevos a menudo se colocan sobre las cubiertas de protección de plantas, tales como pantallas de malla. A diferencia de muchas chinches, *B. hilaris* no pone sus huevos en grandes masas contiguas, sino más bien individualmente o en pequeños grupos de 10 huevos, los huevos recién puestos son blancos opacos y como los embriones maduros, antes de eclosionar el color del huevo cambia de blanco a crema o de rosado o rojo. Dependiendo de la temperatura, una hembra puede poner hasta 150 huevos dentro de dos o tres semanas que pueden salir del cascarón después de cuatro días. (Reed *et al*, 2013).

b) NINFAS

Las ninfas recién eclosionadas y mudadas aparecerá de color rojo brillante o naranja, y, en cuestión de horas, la cabeza, el tórax, y piernas melanizan a marrón oscuro o negro. Existen cinco estadios (Singh & Mlik, 1993), primeros estadios tienen abdómenes predominantemente rojos, pero durante los estadios

posteriores el abdomen adquiere un aspecto llamativo, con una mezcla de rojo-naranja, negro y marcas blancas. Las ninfas mayores desarrollan envergaduras antes de convertirse en adultos (Reed *et al*, 2013).

c) ADULTO

Los adultos son de color negro con marcas de color naranjas y blancas; el cuerpo en forma de escudo es de aproximadamente $\frac{1}{4}$ de pulgada, 5 - 7 mm de largo y 3 a 4 mm de ancho en su zona más amplia. Se encuentran comúnmente parejas apareándose en las plantas, colocados de extremo a extremo en los días cálidos. La hembra es más grande que el macho. *B. hilaris* pasa la etapa adulta en el invierno. Insectos individuales pueden ser fácilmente confundido con otra Heteróptera común, como la chinche pequeña *Lygaeus kalmii* Stål, el bicho arlequín *M. histriónica* (Hahn), o incluso de las mariquitas (Coleóptera: Coccinellidae) (Reed *et al*, 2013).

ECOLOGIA

El ciclo de vida completo, de huevo a adulto, puede tardar de 41 días a una Temperatura constante de 24 °C (75 °F), a < 3 semanas a 35 °C (95 °F; Reed *et al*, 2013). Las hembras ponen un promedio de 100 a 200 huevos (Hill 1983, Singh & Malik 1993) y aunque Singh & Malik reportan que los adultos pueden sobrevivir de 3 semanas a 1 mes, se ha observado que los individuos pueden sobrevivir durante 3 meses bajo condiciones de invernadero (Reed *et al.*, 2011). Las hembras tienen una pre-oviposición en un periodo de 3 a 4 días y los adultos se observan comúnmente en cópula (Reed *et al*, 2013).

El ciclo de generación y número de generaciones por año depende de las condiciones climáticas. En el sur de California hay varias generaciones cada año y las poblaciones generalmente su punto máximo es finales de verano y otoño. Por lo general, todas las etapas de la vida están presentes juntos en las plantas, especialmente cuando las densidades de plagas aumentan, las generaciones se superponen, y las fuentes de alimentos disminuyen. Incluso aunque la *B. hilaris* prefieren la estación fría, el desarrollo de los cultivos de col se ve favorecido por las temperaturas; adultos tienden a volar cuando las temperaturas están por encima de 30 °C. Sin embargo, los insectos pasan más tiempo en el suelo en un clima caliente, donde se esconden, buscan la humedad y sombra, o ponen huevos. *Bagrada hilaris* pasan el invierno como adultos cuando las temperaturas son desfavorables (Reed *et al*, 2013).

ALIMENTACION

En la India, *Bagrada hilaris* fue reportado como una plaga de semillas oleaginosas y hortalizas, en particular de la coliflor (Panizzi, 1997) y la mostaza (Vekarta & Patel, 1999). También se informó sobre el trigo (Rawat & Singh, 1980) y el maíz (Rizvi *et al.*, 1986).

En América se informó que *B. hilaris* prefiere las Brassicaceae (Reed *et al*, 2013), algunas Asteraceae (girasol); Malvaceae (algodón) y Poaceae (maíz y pasto Sudán). (Reed *et al.* 2011; Reed *et al*, 2013), observaron que estas chinches al termino del cultivo, por la época del verano se pasan a las malezas cercanas o a muchas plantas ornamentales. (Anexo 1).

Los cultivos en etapa de plántulas son las más altamente susceptibles a sufrir daños por alimentación de *B. hilaris* en cotiledones, hojas recién emergidas y meristemos apicales, el excesivo daño por alimentarse de los meristemos apicales puede resultar en la muerte de la punta de crecimiento o la deformación y el inicio de una brotación accidental (Reed *et al*, 2013).

Al igual que muchos otros hemíptera, *B. hilaris* tiene piezas bucales tipo chupador y exhibe una lanceta que le sirve para alimentarse de hojas, tallos, flores y semillas (Hori, 2000). Insertan sus partes bucales en las hojas jóvenes, inyectando enzimas digestivas y succionando la savia. Producen múltiples penetraciones con el estilete en la plantas lo que resulta en lesiones en forma de estallido estelar en el follaje, tallos y frutos (Fig 1). Dependiendo de la madurez de la planta en el momento de la alimentación, las hojas pueden llegar a ser mal formadas, dañarse, marchitarse con eventual desecación y consecuentemente causar la muerte de los tejidos. El daño en última instancia resulta en hojas "quemadas", retraso del crecimiento, terminales ciegos, y bifurcación o varias cabezas en la coliflor, el brócoli y la col (Colazza *et al*, 2004; Reed *et al*, 2013).



Figura 1. Daño en hojas de las plantas donde hay presencia de *Bagrada hilaris*, aparece con lesiones de estallidos estelares de color verde claro y más tarde se torna blanco para posteriormente dejar una apariencia de quemado.

MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS

Prácticas culturales

Monitoreo

En el control regular de las cosechas es importante la detección temprana de *Bagrada hilaris* antes de que causen daños a los cultivos. Investigaciones realizadas en Namibia ha demostrado que las medidas de control deben comenzar cuando el número de *B. hilaris*/m² en la etapa inicial de crecimiento supera un insecto. Si el cultivo está más allá de la etapa inicial de crecimiento, un nivel umbral más alto de 3 insectos / m² se puede mantener (Keizer & Zuurbier, 2012), sin embargo hay que tener en cuenta que estos umbrales se dan como ejemplos. Los umbrales económicos dependen de muchos factores (la etapa del cultivo, la edad del cultivo y las condiciones socio-económicas y climáticas) y no pueden adoptarse sin tener en cuenta las condiciones locales de cada región.

En la actualidad, no hay planes de muestreo fiables o una herramienta de control que estén disponibles para *B. hilaris*. Las observaciones sugieren que la inspección de plantas para observar la presencia de *B. hilaris* en plántulas de cultivos de col debe ser llevado a cabo desde mediados de la mañana (10:00 horas) hasta finales de la tarde (16:00 horas), cuando la temperatura es cercano a

los 29°C ya que durante este tiempo *B. hilaris* se encuentra más activo, Huang *et al* (2013). También se recomienda realizar el monitoreo inmediatamente después de la emergencia de las plántulas, debido a que se han observado a los insectos adultos alimentándose de plántulas de brócoli cuando estas apenas emergen de la tierra. El muestreo debe incluir una cuidadosa inspección de la presencia de los adultos y síntomas de alimentación frescos debajo de los cotiledones. En las plantas de semillero más grandes y los cultivos trasplantados (es decir, de dos a tres hojas o más grande), el monitoreo tiene que ser en el envés de las hojas, así como en la superficie de la planta y el suelo por debajo de la planta (Palumbo 2012b).

Saneamiento

Se recomienda destruir los cultivos viejos y quitar las malezas que conforman la familia de las crucíferas dentro y cerca de las zonas de producción para impedir la acumulación de insectos en las plantas hospederas. Los insectos adultos, huevos y ninfas presentes en las gritas y en el suelo pueden ser controlados por vapor o tratamiento químico antes de la sembrar. La eliminación de los residuos del cultivo después de la cosecha puede reducir el traspaso entre cultivos (Reed *et al*, 2013).

Control mecánico

La examinación manual y la destrucción de los insectos ayudan a reducir el daño, sin embargo, el hecho de recoger los insectos de las plantas de forma manual sólo es factible si las poblaciones de plagas son muy bajas y será factible solo en las

primeras etapas del cultivo. Cuando las infestaciones son pesadas, puede ser posible aspirar a los bichos con una aspiradora portátil (Reed *et al*, 2013).

Riego

El riego por aspersión perturba los bichos, disminuye su disposición a alimentarse de la cosecha. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el uso del riego por aspersión puede conducir al aumento de enfermedades como la pudrición y el mildiu.

El cultivo mixto

Se ha reportado que el cultivo de plantas de olor fuerte como el ajo, la cebolla o perejil cerca de la cosecha para reducir infestaciones (Dobson *et al*, 2002).

Control químico

La investigación sobre el manejo de esta plaga en cultivos, sugiere que los piretroides sintéticos, neonicotinoides, y compuestos organofosforados pueden ser eficaces en la reducción de los daños. Sin embargo, los insectos adultos por lo general escapan volando antes de ponerse en contacto con los insecticidas y vuelven más tarde cuando este se ha dispersado (Reed *et al*, 2013).

Control biológico

Los enemigos naturales

Bagrada hilaris no es nativo de América y no hay enemigos naturales que los ataquen específicamente, aunque las arañas y otros depredadores generales pueden alimentarse de esta plaga. Debido a que las chinches secretan un líquido maloliente que es repulsiva para muchos depredadores, las aves aparentemente encuentran el sabor de estos muy desagradables y evitan el consumo de ellos (Reed *et al*, 2013).

En la actualidad, el único evento de depredación documentados es uno en Nueva México, es una observación de la alimentación por *Collops* sp. (Coleoptera: Melyridae) en un segundo estadio ninfal del *Bagrada hilaris* (Bundy *et al.*, 2012).

Hongos Entomopatogenos

El desarrollo y aplicabilidad de la patología de insectos, se inició en 1879 con Hagen quien estudió el posible uso de hongos para el control de insectos (Vergara, 2004). Los hongos entomopatógenos son parásitos obligados o facultativos de insectos, con una alta capacidad de esporulación y sobrevivencia; sus principales ventajas radican en la manipulación y adaptación a diferentes ambientes, especificidad y capacidad de penetración directa a través del tegumento. La mayoría de los hongos entomopatógenos infectan a sus anfitriones por la penetración directa de la pared del cuerpo (Faria & Wraight, 2001).

Los hongos entomopatógenos han sido producidos en masa como biopesticidas desde la década de 1970. Sin embargo, los hongos patógenos más exitosos son los Entomophthorales pero han demostrado ser difíciles de producir en masa y de

formular. Por lo tanto, la mayoría de los esfuerzos se han centrado en más especies de amigables de producir, especialmente especies Ascomycetos de los géneros *Beauveria*, *Mearhizium*, *Isaria* y *Lecanicillium* (Sordariomycetes: Hypocreales) (Jandricic *et al.*, 2014).

Un aspecto importante a considerar para lograr buenos resultados en el uso de hongos entomopatógenos, es la obtención de cepas nativas para asegurar una mayor efectividad, si bien las especies han evolucionado a las condiciones ambientales de la zona por lo cual no necesitan una etapa de adaptabilidad como en el caso de cepas exportadas, que incluso con éstas se corre el riesgo de no adaptabilidad y/o en su caso de no resultar tan efectivas en el momento de ejercer su patogenicidad.

El desarrollo de agentes de biocontrol de hongos en el campo, depende críticamente de la fluctuación en la humedad relativa y la temperatura (Deacon, 1991; Magan, 1997). Los estudios han demostrado que para un uso óptimo de *L. muscarium* y *B. bassiana* las condiciones favorables para la supervivencia de los hongos y la eficacia deben mantenerse durante un máximo de 6 ± 8 horas después de la aplicación al follaje de las plantas (Cuthbertson, *et al.* 2012; Cuthbertson *et al.*, 2005b).

En el entorno natural, la disponibilidad de agua es un parámetro abiótico que determinar la germinación de esporas, el crecimiento, y la infección. La mayoría de hongos entomopatógenos requiere humedad relativa de al menos 95% en la

superficie del insecto para la germinación, el crecimiento del tubo germinativo, y para que se produzca la infección.

La temperatura tiene efectos profundos en la fisiología y el desarrollo tanto del insecto huésped y de los hongos patógenos (que afectan simultáneamente la susceptibilidad del anfitrión y la virulencia del patógeno), estos efectos son influenciados a su vez por factores relacionados con la planta hospedera.

Los hongos entomopatógenos pertenecientes al género *Beauveria* han sido reconocidos como agentes de control biológico de las plagas importes de cultivos de campo y de invernaderos (Eyal *et al.*, 1994).

Beauveria bassiana

Es un hongo que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, tiene un amplio rango de hospedantes por lo cual es utilizado en todo el mundo como control biológico de plagas debido a su estabilidad fuera del hospedante y también es el aislado fúngico más común de insectos muertos y moribundos en la naturaleza (MacLeod, 1954).

Taxonomía y Descripción

Ubicación taxonómicas de *Beauveria bassiana*

Reino ----- Fungí

Phylum ----- Ascomycota

Subphylum ----- Pezizomycotina

Clase ----- Sordariomycetes

Subclase ----- Hypocreomycetidae

Orden ----- Hypocreales

Familia ----- Clavicipitaceae

Género ----- *Beauveria*

Especie ----- *B. bassiana*

Los primeros datos sobre *Beauveria bassiana* fueron emitidos por Agostino Bassi en 1834, cuando demostró que este hongo era el agente causal de una enfermedad en el gusano de la seda *Bambix mori*, conocido como la muscardina blanca. Balsamo Crivelli, en 1835 describió y llamo al hongo *Botrytis bassiana* en

honor a Bassi. Vuillemin posteriormente en 1912 considerando la forma y tipo de conidióforo y esporangio, la prolongación y disposición de las esporas, creo el género *Beaveria*, seleccionando a *bassiana* como la especie tipo (Tanada y Kaya, 1993).

Características morfológicas de *B. bassiana*

Este hongo presenta hifas septadas de 2,5 a 25 μm de diámetro, de donde se forman las estructuras reproductivas denominadas conidióforos simples, raramente agrupados que tienen una base globosa o sea en forma de recipiente y se extienden apicalmente en grupos densos y se extienden apicalmente con un conidio por dentículo (Barron, 2001; Kouassi, 2001). El conidio es aceptado, globoso y menor a 3.5 μm . Las esporas son esféricas y levemente ovaladas en medios aerobios, pero más ovaladas en medios anaerobios, llamadas blastósporas (Kouassi, 2001). Tanto las esporas como las hifas, no son pigmentadas (hialinas), por lo que su apariencia es blancuzca para el ojo humano (Barron, 2001).

Modo de acción de *Beauveria bassiana*

El ciclo de vida de *B. bassiana* comprende dos fases, una patogénica y la otra saprofita. La fase patogénica involucra cuatro pasos principales: adhesión, germinación, diferenciación y penetración (Fig. 2).

La adhesión de los conidios a la cutícula del insecto es el primer paso. Para ello es necesario el reconocimiento y compatibilidad (enzimas y glicoproteínas) entre el conidio y las células del tegumento del insecto, influida por dos acciones: una pasiva en la cual se ejercen fuerzas electrostáticas e hidrofóbicas, y otra activa, en la cual se secretan mucílagos, que interactúan químicamente con las lecitinas de la membrana y generan un ambiente favorable para la secreción de enzimas (Kouassi, 2001; Wong, 2003; Duperchy, 2003).

Una vez que se haya adherido, inicia la germinación de la unidad infectiva sobre la cutícula, que es dependiente de las condiciones que le puedan brindar el insecto y el ambiente, especialmente temperatura y humedad (Kouassi, 2001; Duperchy 2003).

La diferenciación del hongo, inicia con la formación de un tubo germinativo, similar a un aprensorio, el cual ayuda a la penetración de la cutícula por actividad enzimática extracelular (quitinasas, lipasas, esterases, y proteasas) y presión mecánica (Kouassi, 2001; Wong, 2003; Duperchy, 2003). Este mismo facilita la invasión de la epidermis e hipodermis.

La fase saprofica ocurre dentro del hemocelo, con un crecimiento prolífico del hongo. Esta multiplicación del hongo ocurre por germinación produciendo formas micelianas libres y unicelulares llamados blastosporas y también la producción de

hifas. Finalmente el hongo invade los tejidos y como consecuencia ocurre la muerte del hospedante ocasionado por daño mecánico, desnutrición y toxicidad, y es cuando las hifas secretan un antibiótico (oosporina), que ataca las bacterias del intestino (Kouassi, 2001; Wong, 2003).

Después de la muerte ocurre una fase de crecimiento micelial hacia el exterior que concluye con la producción de nuevas unidades reproductivas (conidios) sobre la superficie y rodeando el cadáver del insecto.

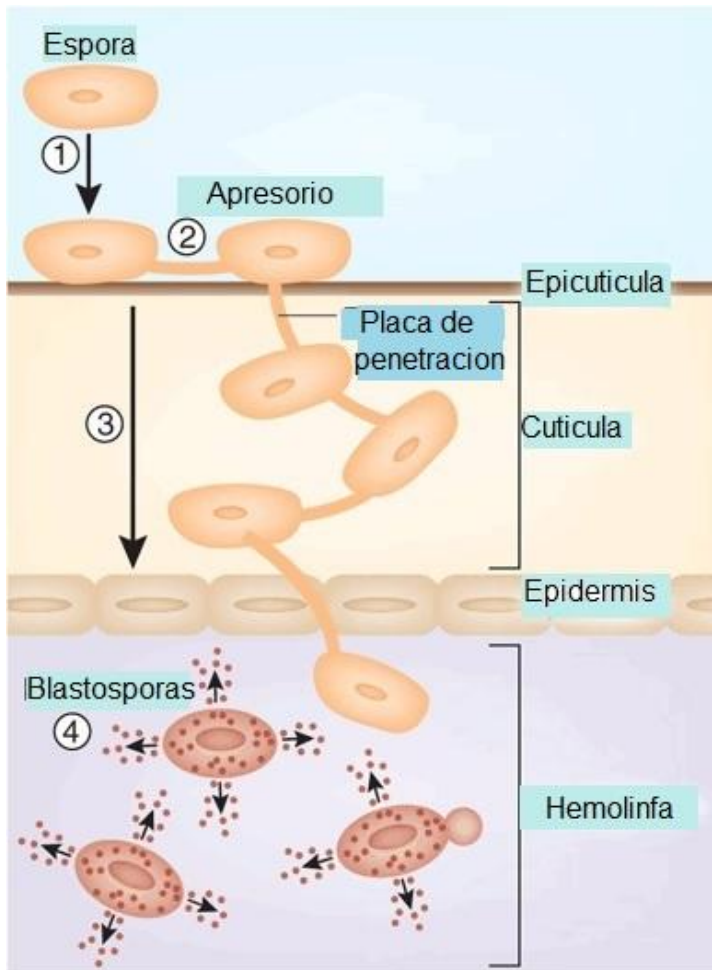


Figura 2. Después del contacto físico entre esporas fúngicas y la cutícula del insecto. (1) El reconocimiento del hongo al huésped conduce a la germinación de esporas y la producción de una estructura de penetración, el apresorio. (2) Crece una placa de penetración y una serie de hifas para cruzar la cutícula y la epidermis. (3) Una vez dentro del insecto, el hongo produce blastosporas que brotan y se propagan a través de la hemolinfa. (4) La hemolinfa específica, restringe la expresión de liberación de una toxina específica del insecto para el periodo después de la infección.

2. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó, en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. La investigación se realizó en dos fases; la primera corresponde a la colecta de material biológico a partir de muestreos realizados en el cultivo de brócoli. La segunda fase se realizó en la cámara bioclimática número 6 y 7 del departamento de Parasitología Agrícola de la misma universidad.

2.1 Búsqueda de hongos entomopatógenos

Búsqueda indirecta de hongos entomopatógenos de *Bagrada hilaris*.

En un cultivo de brócoli ubicado en el lugar conocido como El Bajío, de esta universidad, se observó la presencia de *B. hilaris* durante los meses de Mayo y Junio del 2014. Cada semana se colectaron 50 especímenes de *B. hilaris* en etapa adulta. La técnica de colecta de insectos fue la siguiente:

1. Se seleccionaron al azar 30 plantas de brócoli.
2. Se colocó una tela en el suelo rodeándola en la base del tallo.
3. Cada planta fue agitada durante 30 segundos.
4. Las chinches que cayeron sobre la tela fueron colectadas y almacenadas en un recipiente con capacidad de un litro.
5. Se seleccionaron 60 chinches para ser transportados al laboratorio.

Búsqueda directa de hongos entomopatógenos de *Bagrada hilaris*.

En el cultivo de brócoli señalado anteriormente, se examinaron de manera directa cadáveres de *B. hilaris* con o sin la presencia de micosis. Los ejemplares se buscaron debajo de las hojas más frondosas y las más cercanas al suelo.

Al encontrar un ejemplar en el suelo con la presencia de micosis, éste era levantado con pinzas entomológicas, colocado de manera individual en un recipiente y transportada al laboratorio donde se colocaba en cámara húmeda para su posterior aislamiento y purificación.

2.2 Manejo en laboratorio

Machos y hembras fueron colocados de manera individual en un recipiente de plástico con capacidad de 30 ml., con tapa para evitar escape y fueron alimentados con un trozo de repollo (*Brassica oleracea L. var. capitata*), el cual fue cambiado cada dos o tres días durante los siguientes ocho días. Los insectos muertos fueron observados bajo el estereoscopio para confirmar la presencia o ausencia de hongos entomopatógenos. Posteriormente fueron colocados en cámara húmeda y revisados constantemente para evaluar la presencia de entomopatógenos. Los recipientes con los ejemplares fueron colocados a una temperatura de 26 +/- 2 °C. Las chinches con aparente signo de infección fúngica, inmediatamente pasaron a la siguiente fase: Aislamiento del hongo.

Aislamiento de hongos entomopatógenos

El área de trabajo para realizar el aislamiento fue esterilizado con hipoclorito de sodio y alcohol. El medio de cultivo comercial que se utilizó fue PDA (Agar Papa y Dextrosa, 39 g /L agua), el cual fue preparado previamente y esterilizado a 120°C por 15 min. (15 lb/pg²). El proceso de aislamiento se realizó tomando una pequeña cantidad del hongo (micelio o conidias) presente en la superficie del insecto y colocado en cajas Petri (90 mm de diámetro). Posteriormente las placas fueron selladas e incubadas entre una y dos semanas a una temperatura promedio de 26 ± 30°C, 30% HR y fotoperiodo de 16:8 h de luz:oscuridad. Posteriormente, el material biológico se incubó entre una y dos semanas y se descartó la presencia de hongos no deseables.

Identificación de los hongos entomopatógenos:

La determinación taxonómica de las cepas se realizó mediante características microscópicas y morfológicas como conidios, conidióforos y micelio (Humber, 1989), mientras que las características macroscópicas se basaron en la forma, color, crecimiento de la colonia, además de la apariencia del hongo sobre su hospedero (Samson, 1988). Las cepas utilizadas en el presente estudio se encuentran depositadas en el cepario del Dr. Sergio Sánchez Peña de la cámara bioclimática número 6 del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y se le asignó una clave.

2.3 BIOENSAYOS

Obtención de insectos

Los insectos fueron tomados a partir de un pie de cría, el cual inició de la siguiente manera: ejemplares de *B. hilaris* fueron colectados en un cultivo de brócoli y se transportaron al laboratorio donde se colocaron en recipientes de plástico, los insectos se alimentaron con un trozo de repollo. Posteriormente grupos de 5 ninfas se colocaron en un recipiente con capacidad de 30ml y se alimentaron hasta ser usados en los bioensayos con entomopatógenos.

Incremento de *Beauveria bassiana*

Para el cultivo del hongo se prepararon suspensiones de 5×10^6 conidios con agua destilada estéril y se inocularon en 350 ml, en matraces Erlenmeyer (Pyrex, N.Y., EE.UU.) de 500 ml conteniendo 100 ml de caldo papa dextrosa. Se incubaron por 24 h, a 28 °C y 300 rpm en una incubadora con agitación orbital (New Brunswick Scientific).

Para el cultivo del hongo en sustrato sólido, se utilizaron 2 kilos de arroz comercial, cada kilo fue distribuido en bolsas con 149.9 gramos C/U, dando en total 14 bolsas de arroz al cual se le agrego 30 ml de agua y posteriormente cada bolsa fue grapada en tres ocasiones. Para la esterilización se procedió a colocar las bolsas de arroz dentro de la autoclave se esterilizó por 15 minutos.

Las bolsas de arroz fueron inoculadas al siguiente día con 25 ml de la suspensión conidial, tratando de esparcirla de manera uniforme sobre el arroz y al terminar fueron selladas herméticamente. Las bolsas se incubaron por 12 días a

temperatura ambiente (25 –28 °C), 7 días oscuridad y 7 días con luz, pasado este tiempo se procedió al secado del arroz abriendo las bolsas.

Conteo de esporas

El conteo de esporas se realizó con la cámara de Neubauer, utilizando 5 cuadrículas (las 4 esquinas y las de en medio) bajo microscopio con una ampliación de 40x.

Primeramente se procedió a preparar una suspensión de 10 ml de agua destilada con Bionex (0.05%) al cual se le agrego una pequeña cantidad del hongo cosechado del arroz. La suspensión conidial fue agitada manualmente por varios minutos, posteriormente se tomaron 10 microlitros de la suspensión usando una pipeta Pasteur y se llenó la cámara de conteo. El conteo se realizó en un microscopio compuesto.

Si la suspensión estaba muy concentrada se hicieron diluciones seriadas de la siguiente manera: la cual se obtuvo transfiriendo con una pipeta estéril 1 ml de la primera dilución a un tubo que contenía 9 ml de agua destilada estéril, este se agita fuertemente durante 1 min e igualmente se observó en la cámara de Neubauer y para esta disolución si se podía realizar el conteo. En total se hicieron 3 diluciones (1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6). Terminado el conteo se determinó el número de conidios por mililitro (ml) utilizando la siguiente formula:

CONIDIAS/ML= # de conidias contadas * 25,000 * factor de dilución

CONIDIAS TOTALES= conidias/ml * Vol. de la suspensión original de conidias.

2.4 Estimación de la virulencia de *Bagrada bassiana* sobre *Bagrada hilaris* en condiciones de laboratorio.

Inoculación

Los insectos se anestesiaron con CO² durante 3-5 segundos, después grupos de cinco insectos fueron colocados sobre papel toalla. Cada grupo fue inoculado con tres aspersiones para cada una de las concentraciones preparadas (T0=Testigo, T1= 1x10⁸, T2= 1x10⁷ y T3= 1x10⁶). Posteriormente los insectos fueron colocados en envases de plástico, acondicionadas con una tela de tul para poder respirar. Las muestras fueron identificadas con el código de la concentración. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, empleándose 15 insectos por tratamiento, con 3 repeticiones. Los tratamientos fueron las 3 concentraciones y 1 testigo. Para el testigo se emplearon chinches a las que se les aplicó la misma metodología, pero asperjando solamente agua destilada estéril. Como alimento, se colocó en cada envase, pedacitos de 5cm. de diámetro de hojas de la planta hospedera, el recambio del alimento se realizaba diariamente. Las observaciones se realizaron una vez al día, a la misma hora, evaluándose los síntomas como el color y la mortandad de los individuos, la cual se determinó por la ausencia de movimiento de la chinche al ser tocada. Para confirmar el agente causal, los insectos muertos se colocaron en placas Petri con papel húmedo con 5 gotas de agua estéril y dejadas en cámara oscura hasta la emergencia del hongo.

2.5 Análisis de Datos

La mortalidad de los adultos de *B. hiliaris* se calculó como porcentaje de mortalidad y con los resultados de cada repetición se calculó la mortalidad total y el promedio de mortalidad/tratamiento.

Los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico SAS ver. 8 para Windows (SAS Institute Inc., USA). Se realizaron las pruebas ANOVA y separación de medias de Tukey.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

Plantas hospederas

Este trabajo se realizó durante el segundo semestre de 2014 registrando alta presencia de adultos, ninfas, y ausencia de huevecillos de *B. hilaris*. La chinche fue observada en hojas, flores y racimos de *Brassica oleracea* var. *Italica* (Brócoli), *Eruca sativa* Mill. (Arugula), *Rapistrum rugosum* (Mostacilla), *Sisymbrium irio* L. (Mostacilla común) (Fig. 3). También se observó su presencia en el suelo y en grietas, esto concuerda con Guarino *et al*, (2008), quien menciona el comportamiento de *Bagrada*, quienes invernan en las grietas y hendiduras del suelo cerca de su fuente de alimento.

Bundy *et al*, (2012) observaron que los insectos al final del verano, cuando los cultivos de crucíferas comerciales habían sido devorados totalmente, estos se trasladaban a plantas maleza de las orillas, Arugula y Rompepiedras (*Lepidium latifolium* L.) y el otoño las ninfas y adultos se encontraban bajo los restos muertos de las plantas de arugula.

Huang *et al* 2013, indicaron que el ambiente y la temperatura son factores importantes que afecta la actividad y abundancia de *B. hilaris*. En el verano, adultos de *B. hilaris* son más abundantes durante el periodo más caluroso del día y menos abundantes en las plantas, debajo de estas o en el suelo durante las partes frías del día.



Figura 3. Plantas hospederas de *Bagrada hilaris*. A) *Sisymbrium irio* L. (mostacilla común), B) *Rapistrum rugosum* L. (mostacilla) y C) *Eruca sativa* Mill (Arugula).

3.2 Búsqueda, aislamiento e identificación de hongos entomopatógenos

De acuerdo a los resultados obtenidos durante el presente proyecto, el número total de hongos entomopatógenos de *Bagrada h.* se muestran en la figura 4. En total se encontraron 209 cepas, distribuidos en los siguientes géneros (en orden de abundancia): *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria*, *Zoophthora*, *Fusarium*, e *Isaria* (Figura 5). También se encontraron cuatro ejemplares micosados con aparentes signos de infección, sin embargo, no se logró la identificación taxonómica.

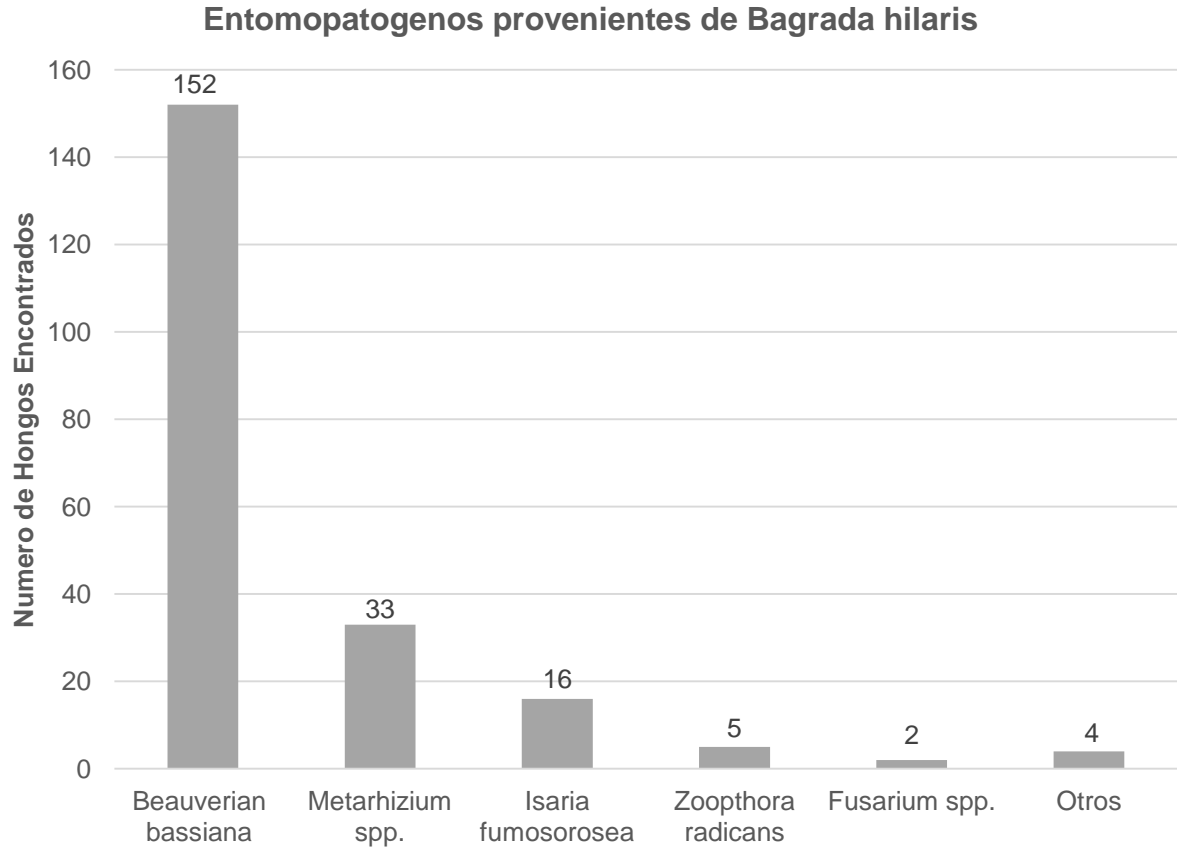


Figura 4. Hongos entomopatógenos infectando a *Bagrada hilaris* en Saltillo, Coahuila (Junio, 2014-Febrero, 2015).

Se encontraron 25 cepas en el mes de junio, en julio 32, en agosto 48, en septiembre 5, en octubre 55, en noviembre 34, en diciembre 4, en enero 4 y en febrero únicamente se encontró una cepa (Figura 5). La lista de cepas aisladas, con sus respectivos datos históricos (Clave, colector, lugar y fecha de colecta) se muestran en el anexo 2 al final del documento.

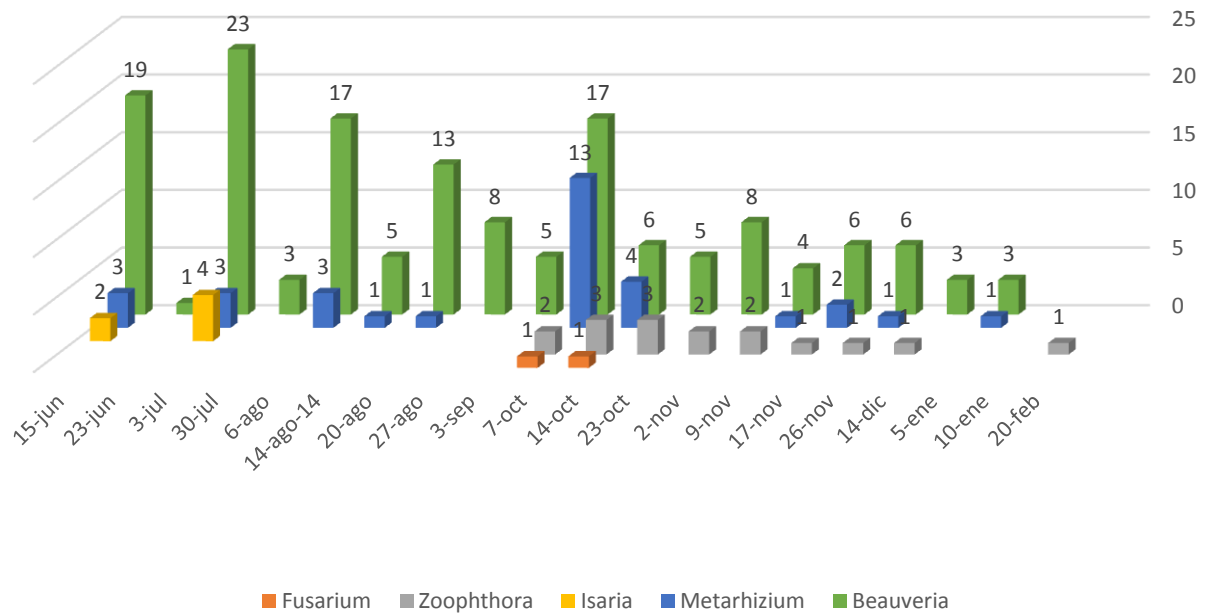


Figura 5. Fluctuación de los 6 géneros de hongos encontrados en los diferentes meses de muestreo de *B. hiliaris*.

El género *Beauveria spp.*, fue encontrado en mayor cantidad que otros entomopatógenos, considerando éste género como el principal enemigo natural de *B. hiliaris*. Por lo anterior, éste género fue seleccionado para continuar con el objetivo dos. La cepa utilizada en los bioensayos de *B. bassiana* contra *Bagrada hiliaris* se encuentra etiquetada con el número 236, seleccionada por haber sido encontrada en campo esporulando.

CARACTERIZACION TAXONOMICA

Caracterización de *Beauveria bassiana*.

Clasificación taxonómica

Reino: Fungí.

División: Ascomycota.

Clase: Sordariomycetes.

Subclase: Hypocreomycetidae.

Orden: Hypocreales.

Familia: Cordycipitaceae.

Género: *Beauveria*.

Especie: *B. bassiana*.

El género *B. bassiana* se caracteriza por presentar abundantes conidióforos producidos en densos racimos irregularmente agrupados, posee hifas cenocíticas, lisas, con células conidiogenas, las fialides se encuentran hinchadas en la base que asemeja la estructura de un frasco subgloboso y se adelgazan hacia la parte que sostiene las esporas llamado raquis en forma de zig-zag. Las conidias son hialinas, lisas de forma globosa a elipsoidal. (Domsch *et al*, 1993). El crecimiento micelial del hongo en caja Petri es de color blanco de aspecto aterciopelado o lanoso y llegando a parecer polvoriento debido a las abundantes conidias que presenta.

A nivel macroscópico (Fig. 6), se observó el crecimiento del hongo creciendo sobre la cutícula de la chinche presentando una invasión total o parcial en unos casos de un micelio color blanco de aspecto aterciopelado, algodonoso o lanoso.



Figura 6A. Micelio y conidias de *Beauveria bassiana*.



Figura 6B. *Bagrada hilaris* colonizado por *Beauveria bassiana*.

Caracterización de *Metarhizium anisopliae*.

Clasificación taxonómica

Reino: Fungí.

División: Ascomycota.

Clase: Sordariomycetes.

Subclase: Hypocreomycetidae.

Orden: Hypocreales.

Familia: Clavicipitaceae.

Género: *Metarhizium*.

Especie: *M. anisopliae*.

El género *Metarhizium*, se caracteriza a nivel microscópico por que los conidióforos son abundantes, usualmente con 2-3 ramificaciones por nudo. Las fiálides tienen formas cilíndricas o clavadas que se adelgazan abruptamente hacia el ápice. Los conidios están formados en cadenas en los ápices de las fiálides, estrechos, cilíndricos, delgados y truncados en ambos extremos, hialinos a oliváceos o verdes (Bischoff et al., 2009), poseen extremos redondeados, lisos y agrupados en cadenas, regulares debido a la agregación por elongación de las mismas conidias (Domsch, 1993). Las esporas están formadas sobre hifas columnares, a veces discretos esporodocios, como costras. El crecimiento micelial del hongo en caja Petri es de color verde oliváceo tornándose con el paso del tiempo a un color verde oscuro.

A nivel macroscópico (Fig. 7), se observó que el insecto presentaba colonización total de coloración olivácea de aspecto algodonoso.

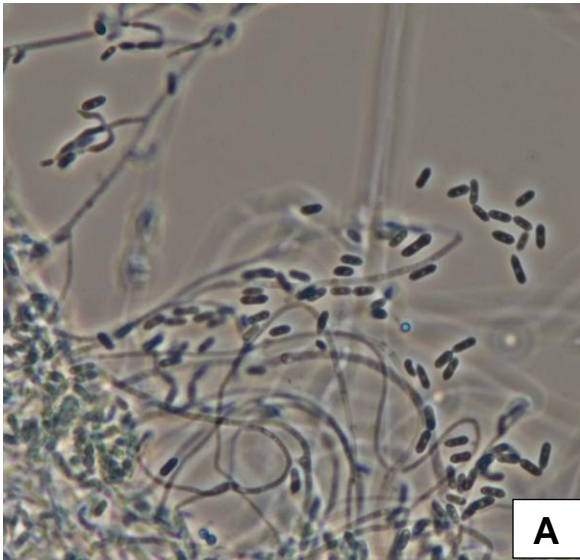


Figura 7A. Imágenes de micelio con conidioforo microscópicas de *Metharizium. anisoplaea*.

Figura 7B. *Bagrada hilaris* visto macroscopicamente, insecto invadido completamente por el hongo.

Caracterización de *Isaria fumosorosea* Wize.

Clasificación taxonómica

Reino: Fungí.

División: Ascomycota.

Clase: Sordariomycetes.

Subclase: Hypocreomycetidae.

Orden: Hypocreales.

Familia: Cordycipitaceae.

Género: *Isaria*.

Especie: *I. fumosorosea*.

El género *Isaria*, se caracteriza a nivel microscópico por presentar conidióforos producidos solos o en grupos, de paredes lisas, hialinas, con verticilos ramificados con grupos de 3-6 fiálides. Algunas veces el patrón verticilado se rompe y sobre el conidióforo se producen ramas sencillas. Fiálides con una base ancha globosa a elipsoidal que se adelgaza a un cuello delgado y largo, como en forma de recipientella. Los conidios son cilíndricos a fusiformes (3-4 x 1-2 μm), con extremos redondeados, lisos, hialinos o ligeramente rosados, formando estructuras tipo cadenas (Zimmermann, 2008). El crecimiento micelial del hongo en caja Petri es de color blanco, y pueden permanecer así o cambiar con el tiempo a tonalidades de color rosa.

A nivel macroscópico, se observó el crecimiento del hongo en la parte externa del insecto, presentando un micelio color blanco con alta esporulación (Fig. 8)

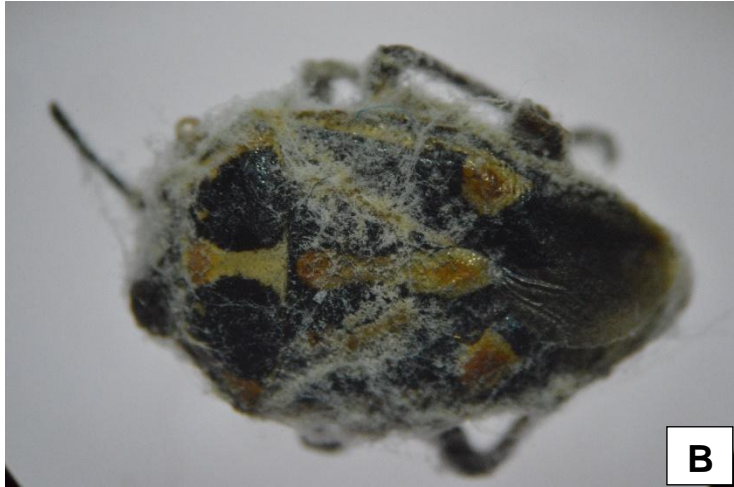


Figura 8. Imágenes de *Isaria fumosorosea* A) Microscópicamente, se observa un vértice de filios que terminan en conidios. B) Macroscópicamente, el hongo invadió la totalidad del cuerpo de *Bagrada hilaris*.

Caracterización de *Zoophthora radicans*.

Clasificación taxonómica.

Reino: Fungí.

División: Zygomycota.

Clase: Zygomycetes.

Orden: Entomophthorales.

Familia: Entomophthoraceae.

Género: *Zoophthora*.

Especie: *Z. radicans*.

El género *Zoophthora* se caracteriza por que los conidióforos son ramificados y septadas en sus puntas, cada punta produce un conidióforo color café (Fig. 4). Los conidióforos forman una masa de filamentos que aparece alrededor del insecto. Los conidios primarios y secundarios son sin color, con un solo núcleo y de forma elíptica u ovalada con una pequeña protuberancia convexa que ocupa toda la base parecida a un collar. Están rodeados por una pared de esporangios separados, excepto en la pequeña protuberancia. La pared es mucosa, más gruesa en el vértice y continua o discontinua a lo largo de los lados pero no se extendía sobre la base. Los conidios secundarios son más pequeños (Been-Zeev & Kenneth, 1981b). El crecimiento micelial del hongo en caja Petri es de color café claro o cambiar con el paso del tiempo a un café oscuro (Fig. 9).

A nivel macroscópico se observó que del insecto, sobresalían de la parte ventral del tórax y del abdomen crecimiento micelial café claro.

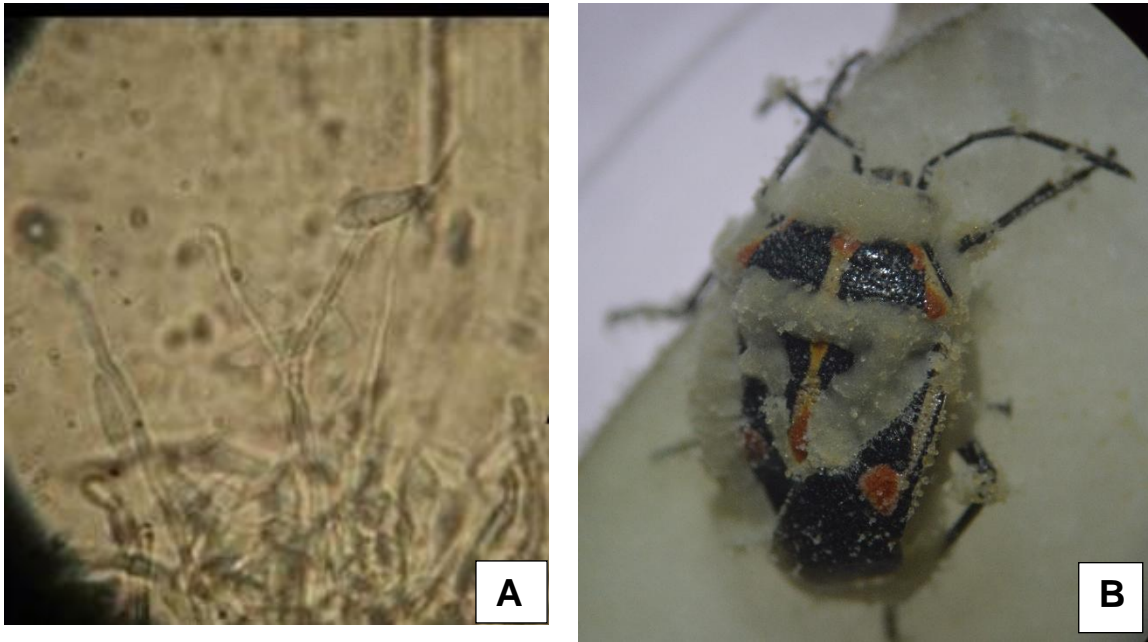


Figura 9. Imágenes de *Zoophthora radicans*. A). Microscópicamente se observa el micelio con el conidióforo transparente. B) Macroscópicamente se observa la invasión a *Bagrada hilaris* con micelio color café claro.

Caracterización de *Fusarium spp.*

Clasificación taxonómica.

Reino: Fungí.

División: Ascomycota.

Clase: Sordariomycetes.

Subclase: Hypocreomycetidae.

Orden: Hypocreales.

Familia: Nectriaceae.

Género: *Fusarium*.

El género *Fusarium*, se caracteriza a nivel microscópico porque sus conidióforos simples y modificados surgen lateralmente de las hifas en el micelio sin esporodoquios, las células son conidogenas monolocales y subcilíndricas. Los macroconidios no tenían color, son semicurvados o casi rectos a curvados, con 3 – 5 septos en los extremos puntiagudos y la célula basal tiene forma de pie. Los microconidios son abundantes y ubicados en falsas cabezas, al igual que los macroconidios no tenían color, su forma es de ovalada a elíptica y tienen entre 1 y 2 septos con clamidiosporas abundantes, globosas y subglobosas, la pared es lisa y dispuestas individualmente o en pares a lo largo de la hifa (Nelson *et al*, 1983). El crecimiento micelial del hongo en caja Petri es de color blanco (Fig. 10).

A nivel macroscópico se observó el crecimiento del micelio aéreo del hongo en la parte externa del insecto, específicamente en la cutícula del abdomen y el tórax.

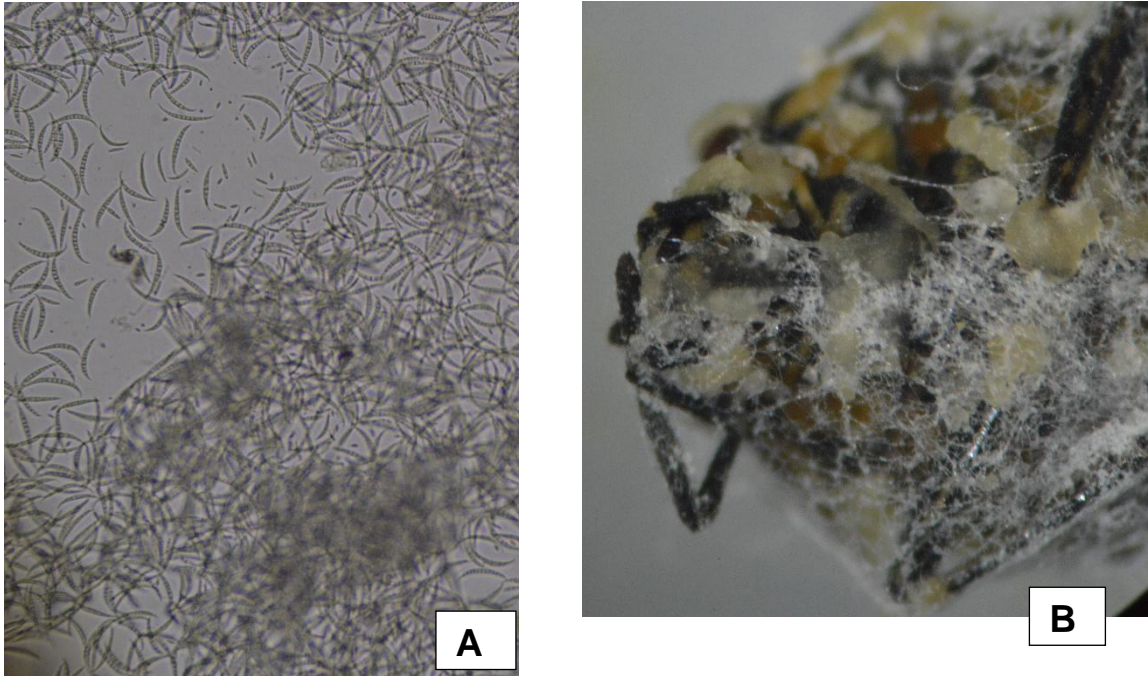


Figura 10. Imágenes de *Fusarium spp.* A) Microscópicamente se observan macroconidias curvos e incoloros. B).Macroscópicamente se observa la presencia del hongo en el abdomen y tórax de *Bagrada hilaris*.

3.3 Bioensayos del *Beauveria bassiana* en ninfas de *Bagrada hilaris* en condiciones de laboratorio.

Los resultados de la susceptibilidad de las ninfas de *Bagrada hilaris* a los 8 días después de realizar la aplicación de los diferentes tratamientos con *B. bassiana* son presentados en la tabla 1. El análisis de varianza (Tabla 2) mostró diferencias altamente significativas entre los distintos tratamientos y el tiempo de contagio y la interacción tratamiento por tiempo en ninfas de *B. hilaris*. Teniendo en cuenta esto y la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.1$) se encontró que la mortalidad promedio en *B. hilaris* provocada por *B. bassiana* fue de 96.6 en el tratamiento de 1×10^8 . Mientras que en el tratamiento de 1×10^7 fue de 89.1, y la media mostrada en el tratamiento de 1×10^6 fue de 48.3.

La susceptibilidad del T10⁸ con respecto al tratamiento de más baja concentración que es el T10⁶ fue de un 48.3%, la diferencia es muy alta comparada con el segundo tratamiento T10⁷, que fue de un 7.5%. Lo cual nos indicó, que a mayor concentración de conidias la mortalidad en ninfas es más alta. Estos datos coinciden con los de Todorova *et al.*, (2002) quienes evaluaron *B. bassiana* en estadios ninfales de *P. bioculatus* y observo que a concentraciones altas de *B. bassiana* hay mayor porcentajes de mortalidad y las concentraciones bajas el insecto es menos susceptible.

TABLA 1. Porcentaje de susceptibilidad en ninfas de *Bagrada hilaris* al contacto con *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio.

Variables	Tratamientos	Media	Tukey
Mortalidad en ninfas	1X10 ⁸	96.6	A
	1X10 ⁷	89.1	A
	1X10 ⁶	48.3	A
	Testigo	0.91	B

TABLA 2. Análisis de varianza para la evaluación de patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre ninfas de *Bagrada hilaris*.

FUENTE	DF	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO DE LA MEDIA	F - VALOR	Pr > F
TRAT.	3	5895	1965 **	28.98	< .0001
TIEMPO	9	48274.16667	5363.7963 **	79.11	< .0001
TRAT*TIEMPO	27	63834.16667	2364.2284 **	34.87	< .0001
ERROR	440	29833.3333	67.803		
TOTAL	479	147836.6667			

**Diferencias altamente significativas

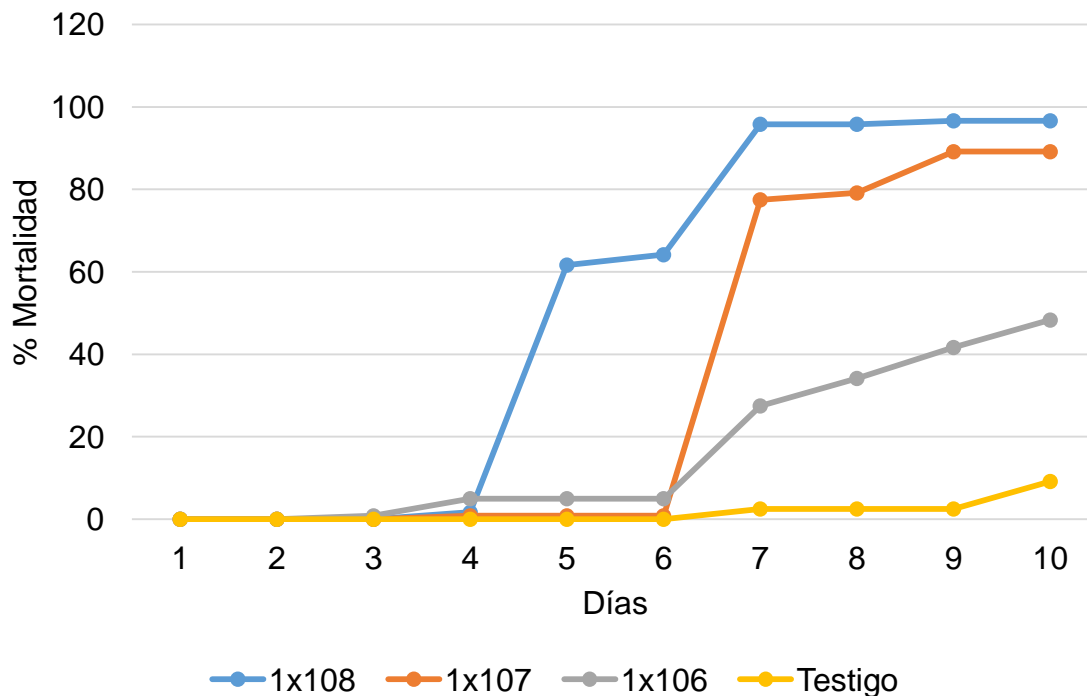


FIGURA 11. Mortalidad de *Bagrada hilaris* en etapa ninfal ocasionada por *Beauveria bassiana*, evaluada en laboratorio.

En la Fig. 11 se observa el porcentaje de mortalidad acumulada por las diferentes concentraciones de *B. bassiana* sobre *B. hilaris* evaluada durante 10 días. Los tratamientos empezaron a mostrar efectos de mortalidad a partir del día 3. En el T1 (1×10^8), se observa cómo empezó a surgir efecto de mortalidad a partir del 4to día, llegando a morir hasta un 61% de las chiches, incrementándose la mortalidad cada día, para el día 7 la mortalidad se estancó en un 95% llegando al día 10 con ese porcentaje de mortalidad. El total de chiches para ese tratamiento murieron en menos de 4 días.

En el T2 (1×10^7), el efecto se empezó a notar a partir del día 7 empezando a morir más del 50%. En este caso murieron 78%. Para el día 9 ya había muerto un total de chiches del 89% con un tiempo de mortalidad de 3 días.

En el T3 (1×10^6), la mortalidad se empezó a mostrar a partir del día 3 con un 5% manteniéndose hasta el día 6, subió a un 28% en el día 7 para llegar con un 48% de mortalidad el último día de la evaluación. En el Testigo se observa que el día 7 se presentó una mortalidad de 2.5% y para el día 10 se murió un total de 9% de chinches.

El menos virulento fue el T3 y el la tasa más alta de virulencia lo mostro el tratamiento T1 debido a que este tiene las concentración de conidias más alta. Luz *et al* (1999), trabajaron con *B. bassiana* en *Triatoma infestans* y observaron que a mayores cantidades de conidias, puede aumentar la transmisión del hongo a los individuos y acelerar la propagación de la virulencia y Puterka, (1999) evaluo la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *pear psylla* y observo que en estado ninfal la mortalidad fue mayor del 60%.

3.4 Bioensayos del *Beauveria bassiana* en adultos de *Bagrada hilaris* en condiciones de laboratorio.

En la tabla 3 y 4 se observa que los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas entre los distintos tratamientos, el tiempo de contagio y la interacción tratamiento por tiempo en adultos de *B. hilaris*. En los adultos, la susceptibilidad del tratamiento 1×10^8 con respecto al tratamiento 1×10^6 fue del 6% y con respecto al testigo donde hubo una mortandad de 0.8, la susceptibilidad fue del 99.2%.

Se observa claramente que los tratamientos 10^8 y 10^7 tuvieron un 100% de susceptibilidad teniendo una muy pequeña diferencia con el tratamiento 10^6 el cual tuvo un 94%, lo cual nos indica que en los 3 tratamientos la susceptibilidad es muy

alta incluso el tratamiento con la más baja concentración de conidias donde solo hubo una sobrevivencia del 6%.

TABLA 3. Porcentaje de susceptibilidad de adultos de *Bagrada hilaris* a diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana* en condiciones controladas.

Variables	Tratamientos	Media %	Tukey
Adultos	1X10 ⁸	100	A
	1X10 ⁷	100	A
	1X10 ⁶	94	A
	Testigo	0.8	B

TABLA 4. Análisis de varianza para la evaluación de patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre adultos de *Bagrada hilaris*.

FUENTE	DF	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO DE LA MEDIA	F - VALOR	Pr > F
TRAT.	3	3049.5	1016.5 **	8.05	< .0001
TIEMPO	9	13444.5	1493.83 **	11.83	< .0001
TRAT*TIEMPO	27	19405.5	718.72 **	5.69	< .0001
ERROR	160	20200	126.25		
TOTAL	199	56099.5			

**Diferencias altamente significativas.

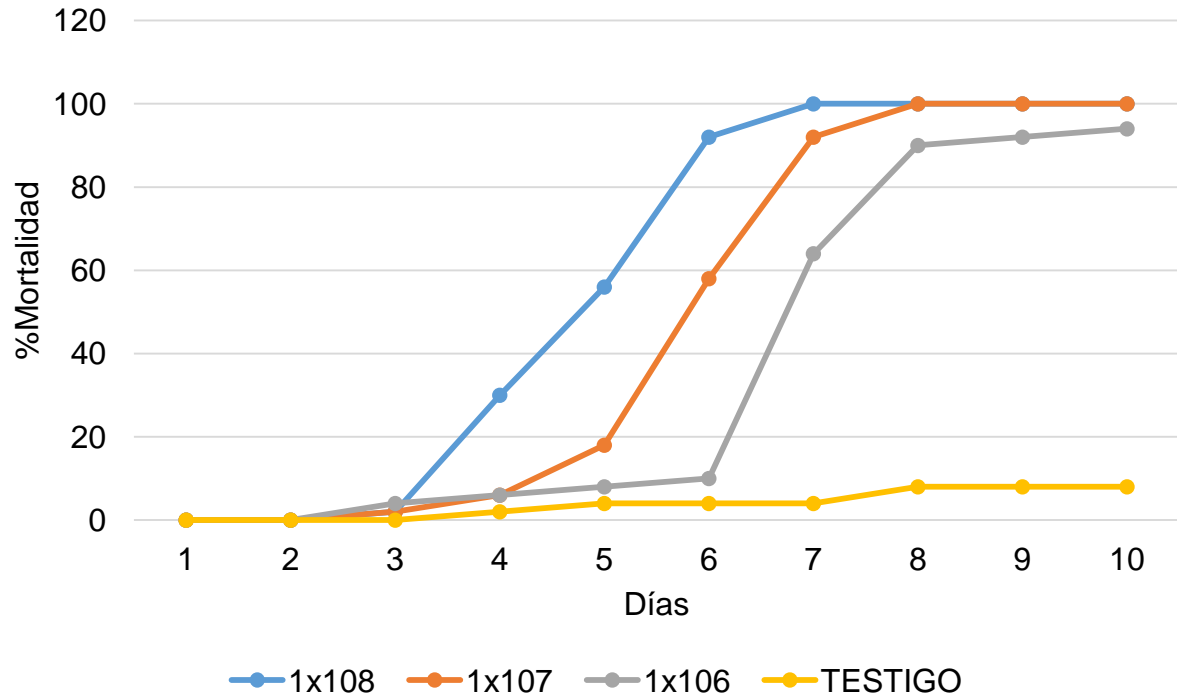


FIGURA 12. Porcentaje de mortandad de adultos de *Bgrada hilaris* tratados con *Beauveria bassiana* evaluados durante 10 días después de la exposición.

El porcentaje de mortalidad acumulativa en adultos se presenta en la Figura 12. Los tratamientos empezaron a mostrar mortalidad a partir del tercer día. En el T1 (1×10^8) el día 3 se observó una mortandad del 4%, incrementándose todos los días casi un 40%, para el día 7 ya todos las chinches estaban muertas. Estos datos coinciden con los de McGuire *et al.*, (2005), que aplico *B. bassiana* a *Lygus hesperus* ocasionando altos niveles de infección en adultos en los 3 días después de la aplicación.

La mortandad en el T2 (1×10^7) empezó a partir del 3 día aumentando cada día un 40% de muertos hasta el día 8 donde ya no había chinches vivas.

En el T3 (1×10^6) la mortandad igual que en los otros tratamientos empezó el 3 día, manteniéndose por debajo del 20% hasta el día 6 e incrementándose hasta el 94% en el día 10, sobreviviendo un 6% de las chinches a este tratamiento.

Para el T0 (Testigo), se presentó una mortandad del 2% desde el día 4, manteniéndose debajo del 10% en los diez días. Para el T10⁸ y T10⁷ en total de chinches murieron en 5 días y para el T10⁶ se necesitaron 7 días para que el número de chinches se redujera a un 6%. Estos datos difieren con lo de Mustu *et al*, 2011 quien estudio la eficacia de mortalidad de *Beauveria bassiana* sobre *Aelia rostrata*, observo que el tratamiento más alto alcanzo una mortalidad al 100% en 9 días.

El estadio más susceptible a una infección causada por *B. bassiana* en *B. hiliaris* es la etapa adulta. Samuels & Coracini (2004), trabajaron con *B. bassiana* para el control de *Blissus antillus* y presenciaron que la mayor infestación de insectos por conidias se produjo en la concentración mayor, igualmente obtuvieron que hubo una mortalidad más alta en chinches adultas. Y Shaikh & Mohite (2015) trabajaron con *Nilaparvata lugens* aplicando *B. bassiana*, obtuvieron que el tratamiento con mayores conidias resulto ser el más eficaz y superior que el resto de los tratamientos, igualmente observaron que la eficacia de *B. bassiana* aumento con la prolongación de días después de la aspersion del hongo.

CONCLUSIONES

Este trabajo de investigación nos demostró que *B. hilaris* es un insecto presente todo el año, cuando no está en los cultivos están en las plantas malezas que se ubican al alrededor de los cultivos, mayormente están presentes en las crucíferas.

Se lograron realizar los objetivos planteados al inicio de este trabajo, al encontrar a través de las chinches muertas 5 géneros de hongos que afectan a *B. hilaris*, por el nivel de patogenicidad de *Beauveria bassiana* fue el hongo tratado. En ninfas y adultos se presentó una mayor mortandad al ser inoculado con el tratamiento más alto de conidias de *B. bassiana*, el etapa de vida más susceptible al hongo fue en el adulto, porque en las ninfas todavía están en etapa de muda.

Solo se aceptaron 2 hipótesis de las 3 que se plantearon, no solamente se encontró un género de hongo, se encontraron más de 2 géneros y a mayor concentración de conidias mayor mortandad hay en el insecto. La hipótesis rechazada se dio porque las ninfas no son las más susceptibles a *B. bassiana*, en este caso fueron los adultos y esto se debe al papel que juega la muda del insecto en el estadio ninfal.

Este trabajo solamente fue realizado en laboratorio, para poder utilizar a *Beauveria* como control biológico contra *Bagrada hilaris*, se tiene que realizar evaluaciones en campo e invernadero. Igualmente se pueden realizar trabajos con otros hongos, el género *Metharizium* también tiene un importante potencial de virulencia en este insecto que está causando un gran impacto en los cultivos de crucíferas.

BIBLIOGRAFIA

Arnett, R. H., Jr. 1985. American insects. A handbook of the insects of America North of Mexico. New York: Van Nostrand Reinhold. Pp 77.

Barron, G. 2001. George Barron`s Website on Fungi. *Beauveria bassiana*. Universidad de Guelph, Ontario, Canadá. Disponible en: <http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/nov01.htm>.

Been-Zeev, I. and R. G. Kenneth 1981b. *Zoophthora radicans* and *Zoophthora petchi* sp. nov. (zygomycetes: Entomophthorales), Two species of the “shaerosperma group” attacking leafhoppers (Homoptera). *Journal BioControl*, Vol. 26, No. 2. Pp 131-142.

Bischoff J. F, Rehner S. A, Humber R. A. 2006. *Metarhizium frigidum* sp. nov.: a cryptic species of *M. anisopliae* and a member of the *M. flavoviride* complex. *Journal Mycologia*, Vol 98, No. 5. Pp 737–745.

Bundy, C. S., T. R. Grasswitz and C. Sutherland. 2012. First report of the invasive stink bug *Bagrada hilaris* (Burmeister) (Heteroptera: Pentatomidae) from New Mexico, with Notes on its Biology. *Southwestern Entomologist*, Vol.37, No. 3. Pp. 411– 414.

Burmeister 1835. Fauna Europeae. *Bagrada hilaris*.
http://www.faunaeur.org/full_results.php?id=454261

- Colazza, S., S. Guarino, and E. Peri. 2004. *Bagrada hilaris* (Burmeister) (Heteroptera: Pentatomidae) a pest of caper in the island of Pantelleria. J. Informatore Fitopatologico Vol. 54, No. 12. Pp 30-34.
- Cuthbertson, A. G. S., Walters, K. F. A., Deppe, C. 2005b. Compatibility of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* and insecticides for eradication of sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. Journal Mycopathology Vol. 160, No. 1. Pp 35-41.
- Cuthbertson, A. G. S., Mathers, J. J., Blackburn, L. F., Powell, M. E., Marris, G., Pietravalle, S., Brown, M. A. & Budge, G. E. 2012b. Screening commercially available entomopathogenic biocontrol agents for the control of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) in the UK. Journal Insects, Vol. 3, No. 3. Pp 719–726.
- De Faria, M. R. & S. P. Wraight. 2007. Mycoinsecticides and micoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and internacional classification of formulation types. Journal Biological Control, Vol. 43, No. 3. Pp 237-256.
- Deacon, J. W. 1991. Significance of ecology in the development of biocontrol agents against soil-borne plant pathogens. Journal Biocontrol Science and Technology, Vol. 1, Nom. 1. Pp 5-20.
- Derzhansky, V. V. and J. Péricart. 2005. Hémiptères Pentatomoidea euro-méditerranéens. Paris: Faune de France, Vol. 1. Pp 1-494.

- Dobson H., Cooper J., Mangyangarirwa W., Chiimba W. 2002. Integrated vegetable pest management: Safe and sustainable protection of small-scale brassicas and tomatoes. Natural Resource Institute, University of Greenwich, Kent, UK. Pp 179.
- Domsch, K. H., Gams, W. and Anderson, T. H. 2007. Compendium of soil fungi. 2nd Edition. Revised by W. Gams. Eching: IHW-Verlag. Pp 845.
- Duperchy E. 2003. Identification of up-regulated genes of the hyphomycete *Beauveria bassiana*, during the infection of *Leptinoptarsa dicemlineata*. Doctoral thesis. University Ruprecht Karl of Heidelberg, Alemania. Pp 111.
- Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C., 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Journal Biocontrol* Vol. 46. Pp 387–400.
- Eyal, M. D., Mabud, A., Fishbein, K. L., Walter J. F., Osbourne, L. S. and Landa, Z. 1994. Assessment of *Beauveria bassiana* Nov. EO-1 Strain, Which Produces a Red Pigment for Microbial Control. *Journal Applied Biochemistry and Biochemistry*, Vol. 44, Nom. 1. Pp 65 – 80.
- Froeschner, R. C. 1988d. Family Pentatomidae Leach, 1815. The stink bugs. Pp 544–597. In T. J. Henry and R. C. Froeschner Eds. *Catalog of the Heteroptera, or True Bugs, of Canada and the Continental United States*. E. J. Brill, Leiden and New York. Pp 958.
- Guarino, S., Pasquale, C. D., Peri, E., Alonzo, G., Colazza, S., 2008. Role of volatile and contact pheromones in the mating behavior of *Bagrada hilaris*

- (Heteroptera: Pentatomidae). *European Journal Entomology*, Vol. 105, No. 4. Pp 613-617.
- Henry, T. J. 2009. Biodiversity of Heteroptera, in *Insect Biodiversity: Science and Society*. 1st edition. Edited by R. Footitt and P. Alder. Blackwell Publishing. Pp 223-263.
- Hill, D. 1983. *Agricultural insect pests of the tropics and their control*. Second Edition. Publishing Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom. Pp 516
- Hori, K. 2000. Heteroptera of Economic Importance. In C. W. Schaefer and A. R. Panizzi Eds. CRC Press Publishing, Vol 36, No. 50. Pp 10-35.
- Howard, C.W., 1906. The bagrada bug (*Bagrada hilaris*). *Transvaal Agricultural Journal*, Vol. 5, No. 17. Pp 168-173.
- Huang, T., Reed, D.A., Perring, T.M., Palumbo, J.C., 2013. Diel activity and behavior of *Bagrada hilaris* (Hemiptera: Pentatomidae) on Desert Cole Crops. *Journal of Economic Entomology*, Vol. 106, No. 4. Pp 1726-1738
- Humber R. A. 1989. Synopsis of a revised classification for the Entomophthorales (zygomycotina). *Journal Mycotaxon*, Vol. 34, No. 2. Pp 441-460.
- Jandricic, S. E., Filotas, M., Sanderson, J. P., Wraight, S. P., 2014. Pathogenicity of conidia-based preparations of entomopathogenic fungi against the greenhouse pest aphids *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, and *Aulacorthum*

- solani (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Invertebrate Pathology*, Vol. 118, No. 5. Pp. 34–46.
- Keizer, M., Zuurbier, J. Namibian Crop pests No. 22. Bagrada bug. Infonet-biovisión, 2012. <http://www.infonetbiovision.org/print/ct/103/pests>.
- Kouassi M. 2001. Les possibilités de la lutte microbiologique emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. *Vertigo – la revue electronique en sciences de l'environnement (Online)*, Vol. 2, No. 2. <https://vertigo.revues.org/4091>
- Luz, C., Silvia, I. G., Cordeiro, C. M. T. & Tigano, S. M. 1999. Sporulation of *Beauveria bassiana* on cadavers of *Triatoma infestans* after infection at different temperatures and doses of inoculum. *Journal of Invertebrate Pathology*, Vol. 73. No. 2. Pp 223-225.
- MacLeod DM. 1954. Investigations on the genera *Beauveria* Vuill And *Tritirachium* Limber. *Canadian Journal of Botany*, Vol. 32, No. 6. Pp 818–890.
- Magan N. 1997. Fungi in extreme environments. In: Wicklow D. Soderstrom B Eds. *The mycota, Vol. IV, Environmental and microbial relationships*. Berlin: Springer. Pp 99-113.
- McGuire, M. R., M. Ulloa, Y. H. Park and N. Hudson. 2005. Biological and molecular characteristics of *Beauveria bassiana* isolates from California *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) populations. *Journal Biological Control*, Vol. 33, No. 3. Pp 307-314.

- Mustu, M., Demirci, F. Kocak, E., 2011. Mortality effects of *Isaria farinosae* (Holm.) and *Beauveria bassiana* (Balsamo) vuillemin (Sordariomycetes: Hypocreales) on *Aelia restrata* Boh. (Hemiptera: Pentatomidae). *Turkish Entomology Dergisi*, Vol. 35, No. 4. Pp 559-568.
- Nelson P. E., Toussoun T. A. and Marasas W. F. O. 1983. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press, University Park. Pp 193.
- Palumbo, J. C., and Natwick, E. T. 2010. The bagrada bug (Hemiptera: Pentatomidae): A new invasive pest of cole crops in Arizona and California. *Plant Health Progress. Plant Management Network*. <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/brief/2010/bagrada/>
- Palumbo, J.C., 2012a. Control of *Bagrada hilaris* with insecticides in broccoli. *Arthropod Manage. Tests* 37, E8. <http://dx.doi.org/10.4182/amt.2012.E8>
- Palumbo, J.C., 2012b. Control of *Bagrada hilaris* with conventional and experimental insecticides on broccoli. *Arthropod Manage. Tests* 37, E9. <http://dx.doi.org/10.4182/amt.2012.E9>.
- Panizzi, A. R., 1997. Wild hosts of Pentatomids: Ecological significance and role in their pest status on crops. *Journal Annual Review of Entomology*, Vol. 42. Pp 99-122.
- Puterka, G. J., 1999. Fungal pathogens for arthropod pest control in orchard systems: mycoinsecticidal approach for pear psylla control. *Journal BioControl*, Vol. 44, No. 2. Pp 183–210.

- Rawat, R. R. and Singh, O. P., 1980. India painted bug on wheat. Plant Protection Bulletin. Food and Agriculture Organization, Vol. 20, No. 2. Pp. 77-78.
- Reed D. A., May C., Lewis T., Perring T. M.; 2011. Effects of temperature and host plant on development, fecundity and longevity of the stink bug, *Bagrada hilaris*. Poster, 59th Annu. Meet. Entomol. Soc. Am., 13–16.
- Reed, D. A., Palumbo, J. C., Perring, T. M. and C. May. 2013. *Bagrada hilaris* (Hemiptera: Pentatomidae), an invasive stink bug attacking cole crops in the southwestern United States. Journal of Integrated Pest Management. Vol. 4, No. 3. Pp 1-7.
- Rizvi, S.M.A., Singh, R., Singh, H.M., Singh, S.P., 1986. Painted bug, *Bagrada hilaris* (Burm.) appears in epidemic form on maize. Narendra Deva Journal of Agricultural Research, Vol.1, No. 2. Pp 173.
- Shaikh S. H. and Mohite P. 2015. Effect of Entomopathogenic Fungi Against Brown Plant Hopper, *Nilaparvata lugens* (Stal.) (Hemiptera: Delphacidae) Infesting Rice. Internacional Journal of Science and Research, Vol. 4, No. 10. Pp 905-907.
- Samuels R. I. and Coracini D. L. A. 2004. Selection of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* Isolates for the control of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae). Journal Scientia Agricola, Vol. 61, No. 3. Pp 271-275.
- Samson, R. A.; Evans, H. C. Y Latgé, J. P. 1988. Atlas of Entomopathogenic Fungi. Berlin: Springer-Verlag.

- Sánchez-Peña, S. R. 2014. First record of the invasive stink bug *Bagrada hilaris*, on cultivated crucifers in Saltillo. *Journal Southwest. Entomology*, Vol. 39. Pp 375–377.
- SAS Institute. 20014. The SAS System for Windows 8e. Cary, NC. USA. Software en CD.
- Singh, H., and V. S. Malik. 1993. Biology of painted bug (*Bagrada cruciferarum*). *Indian Journal of Agricultural Science*, Vol. 63. Pp 672– 674.
- Tanada Y. & Kaya, H. K. 1993. *Insect Pathology*. Publising Academic Pressing, Inc. San Diego, CA. Pp 666.
- Todorova S. I., Coderre D., Vincent C., Cote J. C. (2002). Screening of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) isolates against *Choristoneura rrosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal The Canadian Entomologist*, Vol. 134, N. 1. Pp 77-84.
- Vekarta, M.V., Patel, G.M., 1999. Succession of important pests of mustard in North Gujarat. *Indian Journal of Entomology*, Vol. 61, No. 4. Pp 356-361.
- Vergara RR (2004) Enfoque agroecológico del empleo de entomopatógenos para el control de plagas. Conferencia dictada en el Octavo Seminario de Agroecología Agromedicina y Medio Ambiente. Tunja: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. PP 34.
- Wong H. 2003. Molecular biology of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: Insect-cuticle degrading enzymes and development of a new

selection marker for fungal transformation. Doctoral thesis. University Ruprecht Karl of Heidelberg, Alemania. Pp 147.

Zimmermann, G. (2008), The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. Journal *Biocontrol Science and Technology*, Vol. 18, No. 9. Pp 865-901.

ANEXO 1. Temperaturas durante la época de muestreo de *Bagrada hilaris* en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México.

MES	MAX.	MIN.	MED.	OSC.	LLUVIA (mm)	LLUVIA MAX.	HUM. (%)
JUNIO	27.3	15.5	21.4	11.8	29.7	-	43.0
JULIO	-	-	-	-	-	-	-
AGOSTO	27.4	14.6	18.3	11.2	47.0	-	42.0
SEPTIEMBRE	22.8	13.0	17.9	9.8	51.0	-	64.0
OCTUBRE	25.5	11.3	18.4	14.1	1.4	-	52.6
NOVIEMBRE	20.6	6.2	10.7	11.5	2.5	-	50.4
DICIEMBRE	19.8	8.2	14.0	11.6	1.2	-	57.4

ANEXO 2. Registro de genero de hongos entomopatogenos encontrados en los diferentes muestreos realizados.

CLAVE	HOSPEDERO	FECHA	ÁREA DE COLECTA	COLECTÓ	AISLAMIENTO	CEPA AISLADA	Observaciones
15-jun							
211	Bagrada hilaris	15/06/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Isaria
213	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
215	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
221	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
389	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
209	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
210	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
212	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
214	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
216	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
217	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
218	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
219	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
220	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
222	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
223	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
224	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
225	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
226	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
228	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
229	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
232	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
233	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
480	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Isaria
481	Bagrada hilaris	15/06/2014	Bajío, cultivo de brócoli	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Isaria
23-jun							
236	Bagrada hilaris	23-jun-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria colectada en campo

CLAVE	HOSPEDERO	FECHA	ÁREA DE COLECTA	COLECTÓ	AISLAMIENTO	CEPA AISLADA	Observaciones
03-jul							
235	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
180	Bagrada hilaris	03/07/2014	maleza	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
181	Bagrada hilaris	03/07/2014	maleza	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
183	Bagrada hilaris	03/07/2014	maleza	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
184	Bagrada hilaris	03/07/2014	maleza	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
186	Bagrada hilaris	03/07/2014	maleza	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
187	Bagrada hilaris	03/07/2014	maleza	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
188	Bagrada hilaris	03/07/2014	maleza	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
189	Bagrada hilaris	03/07/2014	maleza	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
191	Bagrada hilaris	03/07/2014	maleza	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
193	Bagrada hilaris	03/07/2014	maleza	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
195	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
196	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
201	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
204	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
205	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
207	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
208	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
483	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
484	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
485	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
486	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
487	Bagrada hilaris	03/07/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
182	Bagrada hilaris	03/07/2014	maleza	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	YA	Isaria
185	Bagrada hilaris	03/06/2014	maleza	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Isaria
203	Bagrada hilaris	03/06/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Isaria
206	Bagrada hilaris	03/06/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
488	Bagrada hilaris	03/06/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
489	Bagrada hilaris	03/06/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium

494	Bagrada hilaris	03/06/2014		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Isaria
30 JULIO							
491	Bagrada hilaris	30-jul-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
492	Bagrada hilaris	30-jul-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
493	Bagrada hilaris	30-jul-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria

CLAVE	HOSPEDERO	FECHA	ÁREA DE COLECTA	COLECTÓ	AISLAMIENTO	CEPA AISLADA	Observaciones
6 AGOSTO							
266	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
288	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
291	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
263	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
264	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
265	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
267	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
268	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
269	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
270	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
271	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
272	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
273	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
275	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
277	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
279	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
281	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
285	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
286	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
292	Bagrada hilaris	06-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
14 AGOSTO							
294	Bagrada hilaris	14-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
295	Bagrada hilaris	14-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
298	Bagrada hilaris	14-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria

301	Bagrada hilaris	14-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
304	Bagrada hilaris	14-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
302	Bagrada hilaris	14-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
20 AGOSTO							
321	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
325	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
423	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
424	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
426	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
495	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
496	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
497	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
498	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
499	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
500	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
501	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
502	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
428	Bagrada hilaris	24-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
27 AGOSTO							
400	Bagrada hilaris	27-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
401	Bagrada hilaris	27-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
403	Bagrada hilaris	27-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
404	Bagrada hilaris	27-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
405	Bagrada hilaris	27-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
406	Bagrada hilaris	27-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
408	Bagrada hilaris	27-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
411	Bagrada hilaris	27-ago-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria

CLAVE	HOSPEDERO	FECHA	ÁREA DE COLECTA	COLECTÓ	AISLAMIENTO	CEPA AISLADA	Observaciones
03 SEPTIEMBRE							
417	Bagrada hilaris	10-sep-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
418	Bagrada hilaris	10-sep-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beauveria
420	Bagrada hilaris	10-sep-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
533	Bagrada hilaris	10-sep-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
534	Bagrada hilaris	10-sep-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria

CLAVE	HOSPEDERO	FECHA	ÁREA DE COLECTA	COLECTÓ	AISLAMIENTO	CEPA AISLADA	Observaciones
7 OCTUBRE							
429	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
430	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
431	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
432	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
433	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
434	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
435	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
436	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
437	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
438	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
439	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
440	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Metarhizium
441	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
442	Bagrada hilaris	07-oct-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Zoopthora
391	Bagrada hilaris	07-oct-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Zoopthora
396	Bagrada hilaris	07-oct-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Fusarium
314	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
315	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
316	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria

317	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
318	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
319	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
320	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
349	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
397	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
398	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
399	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
503	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
504	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
505	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
506	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
507	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
508	Bagrada hilaris	07-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
14-oct							
306	Bagrada hilaris	14-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
307	Bagrada hilaris	14-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
308	Bagrada hilaris	14-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
309	Bagrada hilaris	14-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
392	Bagrada hilaris	14-oct-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Zoopthora
393	Bagrada hilaris	14-oct-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Zoopthora
310	Bagrada hilaris	14-oct-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Zoopthora
443	Bagrada hilaris	14-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
444	Bagrada hilaris	14-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
445	Bagrada hilaris	14-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
446	Bagrada hilaris	14-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
447	Bagrada hilaris	14-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
448	Bagrada hilaris	14-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
313	Bagrada hilaris	14-oct-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Fusarium
23-oct							
311	Bagrada hilaris	23-oct-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Zoopthora
312	Bagrada hilaris	23-oct-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Zoopthora
449	Bagrada hilaris	23-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria
450	Bagrada hilaris	23-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beauveria

230	Bagrada hilaris	23-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
402	Bagrada hilaris	23-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
407	Bagrada hilaris	23-oct-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
509	Bagrada hilaris	23-oct-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Zoophthora

CLAVE	HOSPEDERO	FECHA	AREA DE COLECTA	COLECTÓ	AISLAMIENTO	CEPA AISLADA	Observaciones
02							
NOVIEMBRE							
194	Bagrada hilaris	02-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
231	Bagrada hilaris	02-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
241	Bagrada hilaris	02-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
242	Bagrada hilaris	02-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	SI	Beuveria
256	Bagrada hilaris	02-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
129	Bagrada hilaris	02-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
138	Bagrada hilaris	02-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
142	Bagrada hilaris	02-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
179	Bagrada hilaris	02-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Zoophthora
428	Bagrada hilaris	02-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Zoophthora
465	Bagrada hilaris	09-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Zoophthora
466	Bagrada hilaris	09-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Zoophthora
509	Bagrada hilaris	09-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
510	Bagrada hilaris	09-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
511	Bagrada hilaris	09-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
535	Bagrada hilaris	09-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Beuveria
512	Bagrada hilaris	09-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.	NO	Metarhizium
17							
NOVIEMBRE							
467	Bagrada hilaris	17-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Zoophthora
513	Bagrada hilaris	17-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beuveria
514	Bagrada hilaris	17-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beuveria
515	Bagrada hilaris	17-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beuveria
516	Bagrada hilaris	17-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beuveria
517	Bagrada hilaris	17-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beuveria
518	Bagrada hilaris	17-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beuveria
519	Bagrada hilaris	17-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Metarhizium
520	Bagrada hilaris	17-nov-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Metarhizium
26							
NOVIEMBRE							

469	Bagrada hilaris	26-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beauveria
521	Bagrada hilaris	26-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beauveria
522	Bagrada hilaris	26-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beauveria
523	Bagrada hilaris	26-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beauveria
524	Bagrada hilaris	26-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beauveria
525	Bagrada hilaris	26-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beauveria
526	Bagrada hilaris	26-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Metarhizium
533	Bagrada hilaris	26-nov-14		V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Zoophthora

CLAVE	HOSPEDERO	FECHA	ÁREA DE COLECTA	COLECTÓ	AISLAMIENTO	CEPA AISLADA	Observaciones
14 DICIEMBRE							
470	Bagrada hilaris	14-dic-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Zoophthora
527	Bagrada hilaris	14-dic-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beauveria
528	Bagrada hilaris	14-dic-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beauveria
529	Bagrada hilaris	14-dic-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beauveria

CLAVE	HOSPEDERO	FECHA	ÁREA DE COLECTA	COLECTÓ	AISLAMIENTO	CEPA AISLADA	Observaciones
05 ENERO							
471	Bagrada hilaris	05-feb-15	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Metarhizium
530	Bagrada hilaris	05-feb-15	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beauveria
531	Bagrada hilaris	05-feb-15	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beauveria
532	Bagrada hilaris	05-feb-15	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Beauveria

CLAVE	HOSPEDERO	FECHA	ÁREA DE COLECTA	COLECTÓ	AISLAMIENTO	CEPA AISLADA	Observaciones
20 FEBRERO							
472	Bagrada hilaris	20-feb-14	Socioeconomicas	V. HDZ. HDZ.	R.I.T.A.		Zoophthora