

Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Departamento de Agronomía



**Incidencia del complejo de chinches (Hemiptera: Pentatomidae)
en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), bases para su manejo
integrado**

Autora: María del Carmen Rodríguez Martín

Tutor: MSc. Yordanys Ramos González

Santa Clara, 2015

Dedicatoria

Este trabajo está dedicado a la memoria de mi amado abuelo Francisco Martin León, quien ha sido mi ejemplo, mi estandarte, y la persona más añorada en mi vida.

A mi abuela Marta del Carmen Armas Morffis y mi madre Carmen María Martin Armas, por su oración incondicional, sacrificio, entrega y amor.

A mi esposo, Robert Machado Pérez, por llenar mi vida de esperanza, por todo su ánimo, aliento, protección y ternura.

Agradecimientos

Agradezco ante todo a Dios por su presencia, su cuidado y ayuda en todos los momentos de mi vida.

A mí querido profesor y guía Dr.C. Jorge Rafael Gómez Sousa por todos sus sabios consejos, que han sido un faro en mi formación profesional y personal.

A mi tutor MsC. Yordanys Ramos Gonzáles por toda la disposición y ayuda durante el desarrollo de esta tesis.

En especialmente a mi esposo y compañero Robert Machado Pérez, que con paciencia, comprensión y amor me ha acompañado en todos los momentos difíciles.

A mi familia, por todo el amor y ternura que han tenido siempre para mí.

Quiero agradecer además, a mis profesores que han contribuido al enriquecimiento de mi mente.

Resumen

Con el objetivo de determinar la incidencia del complejo de chinches (Hemiptera: Pentatomidae) en el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), así como establecer las bases para el manejo integrado de los mismos, se realizó un estudio en la finca "Día y Noche" del municipio de Santa Clara, provincia de Villa Clara, Cuba, entre octubre de 2014 y enero del 2015. Se sembraron tres cultivares de frijol de diferente color de testas en parcelas experimentales de 5 x 2.25m, distribuidas en bloques al azar y replicadas tres veces. Las especies de chinches identificadas: *Nezara viridula* (L.), *Piezodorus guildinii* (West.) y *Euschistus* sp., hicieron su aparición en la fase fenológica R1 (prefloración), mientras que el pico poblacional sucedió en la fase fenológica de llenado del fruto (R4). La migración de estos insectos fue en la fase fenológica R6 cuando las plantas se encontraban en el estado de madurez completa. El cultivar más afectado fue Bonita 11 (testa blanca) con un porcentaje de afectación que osciló entre 17.53 y 24.78 % y la menos afectada fue Triunfo 70 (3.74 %), aunque fue el único cultivar susceptible ante la levadura *Nematospora* sp. transmitida por *N. viridula* y *Euschistus* sp. En condiciones de laboratorio, se evidenció que la cepa *Metarhizium anisopliae* (Ma-30) provocó una mortalidad del 100 % de los insectos a los 10 días de inoculación, mientras que *Beauveria bassiana* (Bb-18) causó el 100 % de infección a los 20 días. En condiciones semicontroladas, Ma-30 fue la única cepa en colonizar el 100 % de la población de insectos.

Índice	P.
1. Introducción	1
2. Revisión Bibliográfica	3
2.1. Importancia del cultivo del frijol.	3
2.1.1. Ubicación taxonómica del frijol común.	3
2.2. Principales problemas fitosanitarios del cultivo del frijol.	4
2.3. Aspectos bioecológicos de algunos pentatómidos que afectan el cultivo del frijol.	5
2.3.1. <i>Nezara viridula</i> L.	5
2.3.2. <i>Euschistus</i> sp.	6
2.3.3. <i>Piezodorus guildinii</i> (West.)	6
2.4. Generalidades de los hongos entomopatógenos.	7
2.4.1. Modo de acción de los hongos entomopatógenos.	7
2.5. Características del género <i>Beauveria</i> (Bálsamo) Vuillemin.	10
2.5.1. Clasificación taxonómica.	10
2.5.2. Descripción morfológica.	10
2.5.3. Antecedentes de la actividad entomopatógena de <i>Beauveria</i> sp.	10
2.6. <i>M. anisopliae</i> (Metchnikoff) Sorokin como agente de control.	13
3. Materiales y Métodos.	15
3.1 Determinación de la fluctuación poblacional de pentatómidos en tres cultivares de frijol común.	15
3.2 Determinación de daños causados por los pentatómidos en el cultivo del frijol común.	15
3.2.1 Porcentaje de granos afectados por picadura.	15
3.2.2. Determinación de la presencia de <i>Nematospora</i> sp. en granos de frijol común y tracto digestivo de los pentatómidos.	16
3.3 Evaluación de la patogenicidad de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> sobre pentatómidos en condiciones controladas y semicontroladas.	17

3.4 Análisis estadístico.	19
4. Resultados y discusión.	20
4.1 Fluctuación poblacional de pentatómidos en frijol	20
4.2 Daños causados por pentatómidos.	24
4.2.1 Porcentaje de granos afectados por picadura.	24
4.2.2 Determinación de la presencia o no de <i>Nematospora</i> sp. en granos de frijol común.	26
4.3 Patogenicidad de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> sobre <i>N. viridula</i> en condiciones de controladas y semicontroladas.	27
5. Conclusiones.	31
6. Recomendación.	32

1. Introducción

La agricultura cubana enfrenta en estos momentos la producción de alimentos con el objetivo de evitar las importaciones. Uno de los alimentos fundamentales consumidos por la población cubana lo constituye el frijol, que durante las diversas fases fenológicas se ve afectado por diferentes plagas y enfermedades. Dentro de las plagas que afectan a esta leguminosa se destaca el complejo de chinches (Hemíptera: Pentatomidae) alimentándose de las legumbres y granos en formación (Gómez *et al.* 2009).

Estos insectos son capaces de provocar pérdidas considerables en la producción de dicho cultivo. La magnitud del daño causado por estos hemípteros depende de la especie de chinche, su estado de desarrollo, estado fenológico en que se produce la alimentación, tiempo de permanencia de las chinches y nivel poblacional. Las ninfas y adultos obtienen su alimento introduciendo sus estiletes en el tejido vegetal para succionar los contenidos celulares y a su vez inyectan agentes histolíticos que licúan las porciones sólidas o semisólidas de las células facilitando su ingestión (Bowling 1980).

Según Panizzi *et al.* (2000) y Correa-Ferreira y Azevedo (2002) estos hemípteros se alimentan principalmente de semillas y frutos inmaduros, introduciendo en ellos sus estiletes para remover el contenido celular y succionar la savia de las legumbres y granos en formación, lo que ocasiona el aborto de estos y su deformación. También pueden transmitir una saliva tóxica que causa necrosis local y pudrición, lo cual conlleva a una reducción en la cantidad y calidad de los granos y a veces pérdidas agrícolas considerables. Además, estos insectos plagas pueden transmitir o facilitar la penetración de enfermedades causadas por microorganismos patógenos, tal es el caso de la levadura *Nematospora* spp. (Actualmente *Eremothecium* spp. según Kurtzman (1995)). Este agente patógeno es el que causa las características manchas de aspecto calcáreo alrededor de las lesiones (Pioli *et al.* 2004).

La información existente en nuestro país sobre la incidencia y control de estos insectos es escasa, por lo que es necesario conocer sobre estos aspectos para lograr un manejo integrado eficaz. Para dar solución a la anterior problemática

trazamos la siguiente hipótesis: Los estudios sobre la incidencia del complejo de chinche (Hemíptera: Pentatomidae) en el frijol común y el empleo de algunos medios biológicos para su control, pueden brindar un aporte para el manejo integrado de estas plagas.

Objetivo general:

Evaluar la incidencia de los pentatómidos asociados al cultivo del frijol común, así como la efectividad de algunos medios biológicos para su control.

Objetivos específicos:

- 1- Determinar la fluctuación poblacional de especies de pentatómidos en de frijol común.
- 2- Evaluar los daños causados por estos pentatómidos en las legumbres y semillas de frijol común.
- 3- Determinar bajo condiciones controladas y semicontroladas la patogenicidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre el complejo de chinches (Hemíptera: Pentatomidae).

2. Revisión Bibliográfica

2.1. Importancia del cultivo del frijol.

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) constituye una de las leguminosas de mayor importancia a nivel mundial. Su importancia radica en que es una fuente de calorías, proteínas, fibras dietéticas, minerales y vitaminas, tanto en países desarrollados como en subdesarrollados (Quintero *et al.* 2002). El frijol complementa, con su alto contenido proteico, a los cereales y a otros alimentos ricos en carbohidratos pero pobres en proteínas, proporcionando así una nutrición adecuada.

Es un cultivo de ciclo corto y presenta tres períodos de siembra. *P. vulgaris* se cultiva en todo el mundo por su importancia económica, ya que de ellas se consumen tanto las vainas verdes como los granos secos (Rosasm, 2003; Rosas *et al.* 2004).

En Cuba es la leguminosa más importante en la dieta diaria de los cubanos por los aportes en proteínas (22 %), además de cubrir las necesidades nutricionales y por estar disponible en el mercado todo el año (Quintero *et al.* 2004).

2.1.1. Ubicación taxonómica del frijol común

P. vulgaris es un cultivo perteneciente a la familia de las leguminosas. El género posee 55 especies. La sistemática del frijol es:

Reino: Plantae

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Fabales*

Familia: *Fabaceae*

Género: *Phaseolus*

Especie: *Phaseolus vulgaris* L.

2.2. Principales problemas fitosanitarios del cultivo del frijol.

Durante años la producción de frijol en Cuba ha oscilado mucho y a veces no cumple satisfactoriamente la demanda nacional. Las condiciones ambientales adversas, el bajo nivel agrotécnico y las plagas y enfermedades en este cultivo constituyen un elemento importante en los bajos rendimientos que se obtienen (Avelares, 1992).

Según Echemendía *et al.* (2010) la protección de plantas tiene su origen al ir apareciendo los enemigos de la agricultura, como consecuencia del desarrollo que ha tenido esta. Su inicio y evolución se debieron a la aparición de plagas que arrasaron con los cultivos, provocando graves consecuencias económicas y sociales.

Según Martínez *et al.* (2007), esta leguminosa se ve afectada durante su fase vegetativa por diversas plagas como *Empoasca kraemeri* Ross y Moore, *Bemisia tabaci* (Gennadius) y los crisomélidos *Diabrotica balteata* Leconte) y *Cerotoma ruficornis* (Oliver). En su fase reproductiva inciden (aunque pueden incidir en casi todo su ciclo) el complejo de chinches (Hemiptera: Pentatomidae) que ocasionan picaduras sobre las legumbres, las que se identifican por la aparición de puntos necróticos en el epicarpio, provocando la disminución considerable de los rendimientos ocasionando afectaciones directas en el mismo.

En Cuba este complejo de chinches está formado principalmente por las especies *Piezodorus guildinii* (West.), *Euschistus* spp y *Nezara viridula* (L.) (Alvarado *et al.* 2009).

Las chinches succionan la savia de los granos e impiden el normal desarrollo de las semillas en formación, lo que origina vainas vanas y vacías. También reducen su poder germinativo, dado que una sola picadura puede producir la muerte del embrión. En el cultivo de la soya estos pentatómidos causan arrugamiento y manchas a los granos ya formados. Estas afectaciones son conocidas como manchas de fermento, disminuyen la calidad y alteran su tenor de aceite y proteínas (Marrero y Ángeles, 2003).

Estos pentatómidos se alimentan principalmente de granos y frutos inmaduros, en los que introducen sus estiletes para remover el contenido celular y succionar la savia, lo que ocasiona el aborto y deformación de legumbres y granos (Panizzi *et*

al. 2000). Se puede además producir la muerte del embrión y la transmisión de agentes patógenos a la semilla, tal es el caso de la levadura *Nematospora* sp., que causa pudrición interna de los granos de las leguminosas y otros cultivos (Aragón, 2002).

Grillo y Álvarez (1983) reportaron para la microflora de Cuba al hongo *Nematospora coryli* Peglion al dañar naranjas en la Empresa Citrícola “Victoria de Girón”, Jagüey Grande, provincia Matanzas. El agente patógeno fue transmitido por los heterópteros *Leptoglossus gonagra* (Fab.) y *N. viridula*. Estos autores demostraron experimentalmente el carácter patógeno del hongo por medio de inoculaciones artificiales y también su transmisión biológica a frutos de cítricos sanos por medio de las picaduras de ambos insectos.

2.3. Aspectos bioecológicos de algunos pentatómidos que afectan el cultivo del frijol.

2.3.1. *Nezara viridula* L.

La chinche hedionda (*N. viridula*) perteneciente al orden Hemiptera y a la familia Pentatomidae, es un insecto fitófago que tiene preferencia por las leguminosas (soya, frijol y otros), aunque ataca también a diferentes cultivos herbáceos como tomate, pimiento, pepino, melón, cereales, frutales y especies ornamentales (Yukava, 2007).

Este hemíptero tiene una distribución cosmopolita y se reproduce durante todo el año en las zonas tropicales. La hembra pone de 20 a 200 huevos sobre la superficie de la hoja de la planta hospedante. Los huevos tienen forma de barril, con una apertura en la parte superior y las ninfas tardan entre 5 y 21 días en eclosionar, dependiendo de la temperatura. Las ninfas pasan por cinco instares. Las punciones de alimentación permiten el ingreso de agentes patógenos que también pueden ser transmitidos por el insecto.

Su enemigo natural es el parasitoide de huevos *Telenomus* sp. y la mosca *Trichopoda* sp. que parasita al adulto (King y Saunders, 1984).

2.3.2. *Euschistus* sp.

En todas las especies del género *Euschistus*, los adultos tienen en el sentido amplio, cuerpos en forma de escudo y características de "chinchas". La mayoría son de color marrón, aunque algunos tienen una parte inferior de color verde amarillento. Su distribución abarca Estados Unidos de América, México, América Central, América del Sur y el Caribe (King y Saunders, 1984).

Estos insectos colocan huevos de color verde brillante, en dos filas. Las ninfas son de color marrón claro a grisáceo, llegando a ser adultas con un color marrón oscuro. Las hembras colocan de 5 a 15 huevos normalmente en el haz de las hojas, las ninfas demoran cerca de 7 días en eclosionar y pasan por 5 estadios antes de llegar a ser adultas (King y Saunders, 1984).

Tanto las ninfas como los adultos succionan la savia de los granos en formación y legumbres en desarrollo, causando severos daños. (King y Saunders, 1984; Moreira *et al.* 2009).

2.3.3. *Piezodorus guildinii* (West.)

P. guildinii deposita sus huevos principalmente sobre hojas, flores y frutos de las plantas huéspedes (Fragas y Ochoa 1971; Rizzo 1976). En el cultivo de la soya en fructificación, las hembras desovan preferentemente en las vainas, depositando de 140 a 170 huevos, siendo cada postura de 24 a 30 huevos dispuestos en dos hileras paralelas (Vincini y Álvarez, 2000). Tras un período de incubación de siete días las ninfas eclosionan pasando por cinco estadios (Fraga y Ochoa, 1971).

El ciclo de desarrollo de huevo a adulto dura de 35 a 40 días. Según Rizzo (1976) el período ninfal dura de 25 a 33 días y el ciclo de desarrollo, generalmente un mes en temporada estival.

El adulto invernante vive más tiempo (Fraga y Ochoa, 1971). Baigorri y Giorda (1997) refieren que el desarrollo de los cinco estadios ninfales puede requerir de 30 a 40 días.

2.4. Generalidades de los hongos entomopatógenos

Los hongos microscópicos fueron los primeros patógenos de insectos en ser empleados como control microbiano. Aproximadamente 80 % de las enfermedades de insectos tienen como agentes etiológicos a los hongos, la

ocurrencia de estos hongos en condiciones naturales, tanto enzoótica como epizóticamente es un factor importante en la reducción de las poblaciones de plagas (Alves, 1998). La mayoría de los hongos entomopatógenos presentan crecimiento macroscópico sobre la superficie de sus hospederos, sin embargo algunas especies no producen crecimiento superficial o producen muy poco. Su crecimiento y desarrollo están limitados principalmente por las condiciones ambientales externas, en particular, alta humedad relativa (óptima para germinación, por encima de 95 %) y temperatura (entre 20 y 30° C) adecuada para la esporulación y germinación de esporas. Las enfermedades causadas por estos hongos son denominadas “micosis” (Alean, 2003).

2.4.1. Modo de acción de los hongos entomopatógenos

Los hongos son patógenos de amplio espectro, pueden infectar diferentes estadios de desenvolvimiento del hospedero, como huevos, larvas, pupas y adultos, siendo esta característica la más deseable y peculiar. La mayoría son altamente especializados en la penetración vía tegumento, que los coloca en ventaja cuando son comparados con otros grupos de patógenos que solo ingresan al insecto por vía oral, penetrando a través del mesenterio (Alves, 1998). Estudios realizados por Alves en 1998 indican que los hongos penetran la cutícula de los insectos originando dos procesos: uno físico debido a la presión de las hifas que rompen áreas membranosas y poco esclerotizadas; y otro químico, por la elaboración de enzimas que degradan la cutícula.

La muerte del insecto ocurre por acción de micotoxinas, el rompimiento de tejidos, bloqueo mecánico del aparato digestivo y otros daños físicos por desarrollo de micelio (Cabrera y Pinedo, 1994).

El proceso de desarrollo de la enfermedad puede ser dividido en 10 pasos (Roberts y Humber, 1984; Hajek y Leger, 1994).

1- Adherencia de la conidia a la cutícula del insecto.

Para penetrar el integumento externo del hospedero la conidia debe adherirse a la superficie cuticular. La interacción entre la conidia y la cutícula depende de las sustancias mucilaginosas que rodean la conidia, las enzimas; además de la conformación morfológica del integumento que favorece la germinación de la

conidia. Las conidias pueden adherirse al azar de acuerdo a los pliegues intersegmentales o a la rugosidad de la superficie de la cutícula (Fargues, 1984).

2- Germinación de la conidia en la cutícula del insecto.

La germinación ocurre dentro de un mínimo de 12 horas siendo necesaria una humedad relativa alta (mayor al 90 %). Fisiológicamente, la germinación de la conidia es el retorno a la actividad o metabolismo vegetativo (Bartinicki, 1984). Morfológicamente la germinación es la emergencia de la célula vegetativa de una conidia, en forma de un tubo germinativo que crece sobre la superficie cuticular formándose un apresorio o penetrando directamente a la cutícula (Fargues, 1984; Bartinicki, 1984). La célula apresoria le permite adherirse a la superficie cuticular.

3- Penetración de la cutícula.

La penetración se produce por un sistema enzimático de lipasas, proteasas y quitinasas liberadas al comienzo de la germinación de la espora (Roberts y Humber, 1984; Gonzáles *et al.* 2001). Las enzimas tienen un efecto específico sobre cada uno de los componentes de la cutícula, así la epicutícula o capa más externa, formada por lípidos (ácidos grasos y parafina) es desintegrada por las lipasas, la quitinasa desintegra la quitina, sustancia que confiere resistencia y dureza a la cutícula. Asimismo, las proteínas presentes en la cutícula son desintegradas por enzimas proteolíticas producidas por el hongo (Torres *et al.* 1993).

4- Crecimiento del hongo en el hemocele.

El hongo crece en el hemocele formando cuerpos hifales levaduriformes o blastosporas, que se multiplican por gemación (Roberts y Humber, 1984; Hajek y Leger, 1994).

5- Producción de toxinas.

Las toxinas producidas por los hongos entomopatógenos son las responsables de la mortalidad del hospedero. Según Hajek y Leger (1994), el rápido desarrollo del hongo indica que la muerte del insecto ocurre por el crecimiento vegetativo (ruptura de áreas membranosas o esclerotizadas) produciéndose altos niveles de micosis, mientras que la muerte rápida (48 horas o menos) es atribuida a la producción de toxinas (Roberts y Humber, 1984), permitiendo que otros

organismos invadan el hemocele lo que produce un crecimiento reducido del hongo dentro del hospedero (Roberts y Humber, 1984; Kershaw *et al.* 1999).

6- Muerte del insecto.

Esto puede ser antecedido por cambios en el comportamiento del insecto, como contracciones y pérdida de coordinación (Roberts y Humber, 1984).

7- Desarrollo de la fase micelial.

En esta fase aparecen pequeñas manchas melanizadas en los sitios de infección, observándose en algunos casos una coloración rojiza en el insecto hospedero. Estos insectos sirven de reservorio para los hongos durante periodos de condiciones adversas (Roberts y Humber, 1984).

8- Emergencia del micelio hacia el exterior.

En condiciones de baja o moderada humedad relativa, el hongo continúa en el insecto sin embargo, con alta humedad el hongo crece a través de la cutícula (Roberts y Humber, 1984).

9- Producción de unidades infectivas.

El metabolismo del hongo se reduce, formándose las unidades infectivas o conidias (Roberts y Humber, 1984).

10- Dispersión de las unidades infectivas.

Esto sucede por medio del agua o del viento (Roberts y Humber, 1984).

2.5. Características del género *Beauveria* (Bálsamo) Vuillemin

2.5.1. Clasificación taxonómica

Agostino Bassi fue el primer científico en demostrar en 1935 que *Beauveria bassiana* afectaba al gusano de seda *Bombix mori* Linnaeus. A partir de este momento se han descrito varias especies de *Beauveria*, según sus características morfológicas y genéticas, tales como *B. bassiana*, *B. brogniartii*, *B. amorpha*, *B. vermiconia*, *B. velata* y *B. calendonica* (Willoughby *et al.* 1998), sin embargo las más frecuentemente estudiadas son *B. bassiana* (Bálsamo) Vuillemin y *B. brogniartii* (De Lacroix) Siemszko.

La clasificación taxonómica de *Beauveria sp.* es la siguiente:

Reino: FUNGI

División: MYCOTA

Subdivisión: EUMYCOTINA
Clase: DEUTEROMYCETES
Subclase: HYPHOMYCETES
Orden: MONILIALES
Familia: MONILIACEAE
Género: *Beauveria*

2.5.2. Descripción morfológica.

El género se caracteriza por presentar un micelio blanco, las fiálides están representadas por células con una región basal más voluminosa en el que se organizan los conidióforos, densamente agrupados en espirales o solitarios. Las conidias globosas, ovoides, cilíndricas, verrugosas curvadas o no, aparecen sobre las fiálides que pueden ser simples, con algunas ramificaciones en la parte superior o zigzageante. *B. bassiana* posee conidias de globosas a subglobosas (2-3 x 2.0-2.5 μm) y las estructuras conidióforas forman densos grupos (Alves, 1998).

2.5.3. Antecedentes de la actividad entomopatógena de *Beauveria sp*

Cabrera y Pinedo (1994) evaluaron una formulación comercial del hongo *B. bassiana* para el control del “gorgojo de la chupadera” *Eutinobothrus gossypii* Costa Lima, (Coleoptera: Curculionidae) plaga del algodón, encontrando que el insecto es susceptible a una dosis de 0.35 % del producto, en condiciones de laboratorio; mientras que en el campo la eficacia del producto solo se presentó en plantas de algodón provenientes de semillas en las que se obtuvieron buenos resultados a la semana de aplicación, sin embargo en plantas provenientes de soca (brote de la planta de algodón cortada luego de la primera cosecha), la población de larvas no fue afectada por el producto.

Luz *et al.* (1998) evaluaron diferentes cepas de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* para el control de *Triatoma infestans* Klug (Hemiptera: Reduviidae) a una HR cercana a la saturación y a 25 °C, registrando una mortalidad en ninfas del tercer estadio cercana al 100 % a los 15 días después del tratamiento, asimismo se pudo notar en dicho estudio que los aislamientos de *B. bassiana* causaron una mortalidad más alta en comparación a los aislamientos de *M. anisopliae*.

Willoughby *et al.* (1998) realizaron aislamientos de *B. bassiana* mediante el empleo de medios selectivos y evaluaron su virulencia sobre el “gorgojo de la raíz del trébol” *Sitona lepidus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). Aislaron 3 cepas de *B. bassiana* identificadas como F267, F268 y F269. Las cepas F267 y F268 fueron empleadas en los bioensayos, empleando una alta concentración: 1013 conidias/ha de cada cepa. La cepa con mayor patogenicidad fue F267, que mostró 100 % de mortalidad de adultos a los 29 días después de la aplicación. Con F268, la misma aplicación resultó en solo 80 % de mortalidad a los 48 días, sin embargo para este tiempo la mortalidad de los controles había alcanzado el 40 %.

Lecuona *et al.* (2001), evaluaron 4 cepas de *B. bassiana* aisladas de Argentina (Bb1, 10, 25 y 65) sobre ninfas y adultos de *T. infestans*. El porcentaje de mortalidad y TL50 promedio registrado para las ninfas fue de 100 % y 6.6 días para la cepa Bb1, 100 % y 7.1 días para la cepa Bb10, 100 % y 7.3 días para la cepa Bb25 y de 100 % y 6,5 días para la cepa Bb65; mientras que los insectos adultos presentaron 98,3 % y 5,4 días para la cepa Bb1, 100 % y 4,8 días para la cepa Bb10, 75 % y 5,4 días para la cepa Bb25 y 97,5 % y 7,5 días para la cepa Bb65; de porcentaje de mortalidad y TL50 respectivamente.

Lecuona *et al.* (2001), evaluaron el efecto de 8 cepas de *B. bassiana* sobre larvas, pupas y hembras adultas de la “mosca de la fruta mexicana”, *Anastrepha ludens* Loew (Díptera: Tephritidae). La mortalidad de los estados inmaduros fue baja, de 2-8 % en larvas y 0 % en pupas. Sin embargo, niveles muy altos de mortalidad fueron obtenidos para moscas adultas, con valores de 100, 98 y 98 % para las cepas Bb16, Bb24 y Bb26, respectivamente. Los valores de CL50 para las tres cepas evaluadas fueron de $3,12 \times 10^6$ a $9,07 \times 10^6$ conidias/mL. El TL50 fue de 2,8; 3,7 y 4,2 días para las cepas Bb16, Bb26 y Bb24, respectivamente, con un promedio de TL50 de 4,4 días para todas las cepas. El porcentaje máximo de esporulación registrado fue de 66,4 a 74,7 % para las cepas más virulentas.

Luna y Lecuona (2002), realizaron aislamientos de cepas de hongos entomopatógenos nativos a partir de tucuras *Rhammatocerus pictus* Bruner (Orthoptera: Acrididae) y de *Dichroplus elongatus* (Orthoptera: Acrididae), que se encontraban infectadas naturalmente en el campo, obteniendo 34 cepas de *B.*

bassiana y 35 de *M. anisopliae* var. *acridium*. Una parte de las cepas obtenidas fueron evaluadas sobre *R. pictus* para determinar su patogenicidad y virulencia: 18 cepas de *M. anisopliae* y 14 cepas de *B. bassiana* obtenidas de *R. pictus*, 15 cepas de *B. bassiana* aisladas de *Dichroplus elongatus* Giglio y 13 cepas de la micoteca del Laboratorio de Hongos Entomopatógenos del IMYZA-INTA-Castelar-Argentina, (12 de *B. bassiana* y 1 de *M. anisopliae*) que fueron obtenidas sobre hospederos no ortópteros. Los resultados obtenidos permitieron determinar que las cepas aisladas de tucuras así como algunos aislamientos provenientes de *Deuterocampta quadrijuga* Stal (Coleoptera: Chrysomelidae), fueron patógenos sobre *R. pictus*. Se seleccionaron 4 cepas de *B. bassiana* y 2 cepas de *M. anisopliae* var. *acridum* que mostraron mortalidad superior a 90 % y sobrevivencia media entre 7,2 y 9,2 días. En relación a los aislamientos provenientes de tucuras, el 90 % de las cepas de *B. bassiana* evaluadas provocaron una mortalidad superior al 80 % sobre *R. pictus* en tanto que las cuatro cepas obtenidas del crisomélido *D. quadrijuga*, causaron 100 % de mortalidad. Al registrar la mortalidad diaria causada por *B. bassiana*, determinaron que los insectos murieron entre los días 7,4 y 14,4, con una sobrevivencia media de 10,4 días.

Gallegos *et al.* (2004), aislaron 21 cepas de *Beauveria bassiana* a partir de adultos de "picudos" *Amphidees* spp (Coleoptera: Curculionidae), esporulados de la Sierra de Arteaga (México) de los cuales seleccionaron 4 cepas acorde a sus características de desarrollo y adaptación a la manipulación en el laboratorio. Las cuatro cepas seleccionadas mostraron mortalidad sobre picudos de la yema del manzano del complejo de *Amphidees* spp. Las cepas más eficientes fueron SAA-1 y HCA-2, con una CL95 a los 13 días de $5,2 \times 10^{10}$ y $6,2 \times 10^{11}$, respectivamente. De las concentraciones (dosis) evaluadas, la que arrojó mejores resultados fue la de 1×10^{11} conidias/ml, para las cepas SAA-1 y HCA-2.

Batta (2007) comparó el efecto de 2 cepas de *Beauveria bassiana* formulada y no formulada y su efecto biocida sobre *Scolytus amygdali* Geurin-Meneville (Coleoptera: Curculionidae), los resultados obtenidos de ambas exposiciones indican que el tratamiento de adultos de *S. amygdali* con el hongo formulado presentó un porcentaje de mortalidad media más alta cuando se comparó con el

tratamiento del hongo no formulado. La mortalidad registrada fue de 81,2 a 100 % a los 10 días después del tratamiento con el hongo formulado y de 66,7 % de mortalidad a los 10 días después del tratamiento con el hongo no formulado.

2.6. *M. anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin como agente de control.

El género *Metarhizium* presenta conidias alargadas, de color verde, producidas en forma aglomerada a partir de fiálides; las conidias son ramificadas en forma simple, en pares o verticilos, están en forma alineada formando una capa esporógena. La pared celular de este hongo ofrece propiedades lipofílicas puesto que su capa bilipídica está compuesta especialmente por ácidos grasos poli insaturados que contienen de 16 a 18 carbonos (Griffin, 1981). *M. anisopliae* presenta un crecimiento micelial que puede ser flojo o firme, con una apariencia acolchonada y con estructuras conidiales. Las conidias están frecuentemente unidas formando la estructura conocida como sinemata. La formación de esta sinemata se debe probablemente a una necesidad ecológica para habitar sobre el hospedero ya que no es muy frecuente su presencia cuando el hongo se cultiva en medios artificiales (Griffin, 1981). Ha sido encontrado afectando a ninfas de *Cyrtoneurus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae) (Sánchez y Bellotti, 1997) sobre adultos de *Hypothenemus hampei* Ferrari (González *et al.* 1993); sobre colonias de *Atta cephalotes* L. (Hymenoptera: Formicidae) (López *et al.* 1999); en larvas de *Premnotrypes vorax* Hustache (Torres y Cotes, 1999), en *Metamasius hemipterus* L., y *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae); además, se ha utilizado en el control de la langosta llanera *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn (Orthoptera: Acrididae) (Villamizar *et al.*, 1996). *M. anisopliae* var. Major ha sido aislado de larvas de *S. valida* en palmas de Tumaco, además se ha encontrado afectando larvas de *O. cassina* en el municipio de Puerto Wilches (Calvache, 2002).

3. Materiales y Métodos

El presente trabajo se realizó en áreas de la Finca “Día y Noche” de la Unidad Básica de Producción Cooperativa (UBPC) 28 de octubre, perteneciente a la empresa Valle del Yabú, ubicada en la carretera de Camajuaní km 6 ½, del municipio Santa Clara, provincia Villa Clara. El experimento de campo se desarrolló sobre un suelo Pardo Mullido medianamente lavado según Hernández *et al.* (1999), en parcelas de 5m de largo por 2.25m de ancho, con un marco de siembra de 0,45 x 0,04m. Se emplearon tres cultivares de frijol común: Bonita 11, (con granos de testa blanca), Triunfo 70, (con granos de testa negra) y Hatuey 24 (con granos de testa roja). El experimento contó con tres réplicas por cultivar.

3.1 Determinación de la fluctuación poblacional de pentatómidos en tres cultivares de frijol común.

Para los estudios de fluctuación poblacional se realizaron muestreos durante el ciclo del cultivo con frecuencia semanal, observándose 25 plantas por réplica tomadas en 5 puntos al azar. Las evaluaciones se realizaron desde el 19 de octubre del 2014 hasta el 22 de noviembre del 2014. En cada muestreo se determinó el estado de desarrollo del cultivo (fases fenológicas) según la metodología de García (1996) (Anexo 1).

Los datos climáticos fueron suministrados por la Estación Meteorológica ubicada en la Estación Experimental “Álvaro Barba Machado” de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas (UCLV).

3.2 Determinación de daños causados por los pentatómidos en el cultivo del frijol común.

3.2.1 Porcentaje de granos afectados por picadura.

Para determinar el porcentaje de granos afectados por los pentatómidos, se sembraron semillas de los tres cultivares de frijol en estudio en bolsas de polietileno (0,5kg de capacidad). Se colocaron cinco bolsas de cada cultivar en jaulas entomológicas de 0,25m² de base y 0,6m de altura y se realizaron tres replicas. Una vez que las plantas se encontraron en la fase fenológica R3 (Formación de legumbres) se introdujeron por replica dentro de las cajas

entomológicas 10 pentatómidos de cada especie por separado; *N. viridula*, *P. guildinii* y *Euschistus* sp. Criadas en el laboratorio.

A los 14 días de la introducción de los insectos se colectaron legumbres y se observaron a un microscopio estereoscópico (20x) donde se cuantificaron el número de legumbres y granos afectados por las picaduras de los pentatómidos de diferentes especies. Además se determinó el grado de afectación según la escala propuesta por Jensen y Newson (1972).

3.2.2 Determinación de la presencia de *Nematospora* sp. en granos de frijol común y tracto digestivo de los pentatómidos.

Para determinar otro de los daños que ocasionan estos insectos en el frijol, se realizó un estudio donde se tomaron 10 legumbres inmaduras por cada cultivar, sembrados previamente en bolsas de polietileno (0,5kg de capacidad) para determinar la posible presencia de *Nematospora* sp. en los granos de este cultivo. En este sentido se introdujo cada legumbre en placas de Petri (12.5 cm de diámetro) y se colocó un pentatómido de cada especie en estudio por cada placa. Una vez transcurridas 72 horas fueron trasladadas al laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (FCA) donde se realizó un proceso de desinfección, el cual consistió en sumergir los granos en etanol absoluto durante 3 minutos en hipoclorito de sodio al 1,5 % con la posterior inmersión por dos minutos en etanol 70 %. Por último se hicieron tres enjuagues con agua destilada estéril y se inocularon 10µL del agua del último enjuague en un medio de SDA (Sabouraud Dextrosa Agar). Estas inoculaciones se incubaron a 25°C por 72 horas para confirmar que el proceso de desinfección fue efectivo y no hubo crecimiento de bacterias u hongos provenientes de las testas de los granos.

Después las semillas fueron maceradas en un flujo laminar FASTER BIOGO (con equipo estéril) y disgregadas en 2 mL de agua destilada y estéril. Parte de este contenido (semilla+agua) se inoculó a 25°C por 48h en SDA en forma de agotamiento por estrías para obtener colonias aisladas. Luego del crecimiento de las levaduras, estas se aislaron y se les realizó una tinción simple para su posterior observación e identificación en un microscopio clínico hasta nivel de género según las claves taxonómicas de Shivas *et al.* (2005).

Para determinar la presencia de esta levadura en el tracto digestivo de las chinches, se tomaron cinco ejemplares de *P. guildinii*, *N. viridula* y *Euschistus* sp. y se decapitaron e inocularon en SDA siguiendo la metodología de Dammer y Grillo (1990). Las inoculaciones de las cabezas de estos insectos se realizaron 72 horas después de decapitados y al momento del sacrificio para conocer si este microorganismo permanecía en las chinches después de la muerte de los insectos.

3.3 Evaluación de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre pentatómidos en condiciones controladas y semicontroladas.

Para la evaluación de la patogenicidad de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en pentatómidos se realizaron los siguientes tratamientos (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos empleados para el control de pentatómidos en el frijol común.

No	Tratamientos	Concentración	Dosis de aplicación
1	Agua destilada estéril+0.05 % Tween 80 (Control absoluto)		0.05 % L ⁻¹
2	<i>Beauveria bassiana</i> (Cepa Bb-1)	1 x 10 ⁸ conidias por mL	2.5 g L ⁻¹
3	<i>Beauveria bassiana</i> (Cepa Bb-18)	1 x 10 ⁸ conidias por mL	2.5 g L ⁻¹
4	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Cepa Ma-30)	1 x 10 ⁸ conidias por mL	2.5 g L ⁻¹
5	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Cepa Ma-11)	1 x 10 ⁸ conidias por mL	2.5 g L ⁻¹

En condiciones controladas se sumergieron durante un minuto 10 adultos en 5 mL de la suspensión de cada aislado en estudio. Una vez transcurrido este tiempo los insectos se trasladaron a placas de Petri (9 cm de diámetro) con un papel de filtro humedecido y una legumbre para su alimentación. Estas placas se colocaron en

una cámara climática a 25°C, 75 % de humedad relativa y a un fotoperíodo de 16 horas luz: ocho horas oscuridad. Se realizaron evaluaciones cada 12 horas y se cuantificaron los insectos muertos una vez que estos no respondían ante un estímulo inducido.

Bajo condiciones semicontroladas, se asperjaron los biopreparados a cinco plantas por cultivar previamente sembradas en bolsas de polietileno (0.5 kg de capacidad). Una vez secados estos hongos se introdujeron las plantas junto con 10 pentatómidos en cajas cubiertas por malla de 0.25m² de base y 0.6m de altura. Las evaluaciones para determinar los insectos muertos se efectuaron cada 12 horas y se mantuvo el mismo criterio de evaluación que el experimento anterior. Los cadáveres colectados producto al efecto producido por los medios biológicos en las condiciones semicontroladas fueron introducidos en recipientes plásticos conteniendo 25mL de agar agua y un pequeño papel de filtro humedecido. Esto se realizó con el objetivo de favorecer la germinación de esporas a través de la cutícula de los insectos y confirmar que la muerte de los mismos fue producto a la patogenicidad de estos hongos entomopatógenos y no debido a otros factores. El experimento se replicó tres veces.

3.4 Análisis estadísticos

Los datos obtenidos se procesaron mediante el paquete STATGRAPHICS Plus versión 5.1 (2000) y se realizó un análisis de varianza de clasificación simple con la posterior aplicación de la prueba LSD.

Para determinar si las variables climáticas incidieron en la fluctuación de los pentatómidos se realizó una correlación de Pearson utilizando el paquete estadístico SPSS versión 18.

4. Resultados y Discusión.

4.1 Fluctuación poblacional de pentatómidos en frijol

En la figura 1 se muestra la fluctuación poblacional del complejo de chinche (Hemiptera: Pentatomidae) sobre *P. vulgaris* en época temprana.

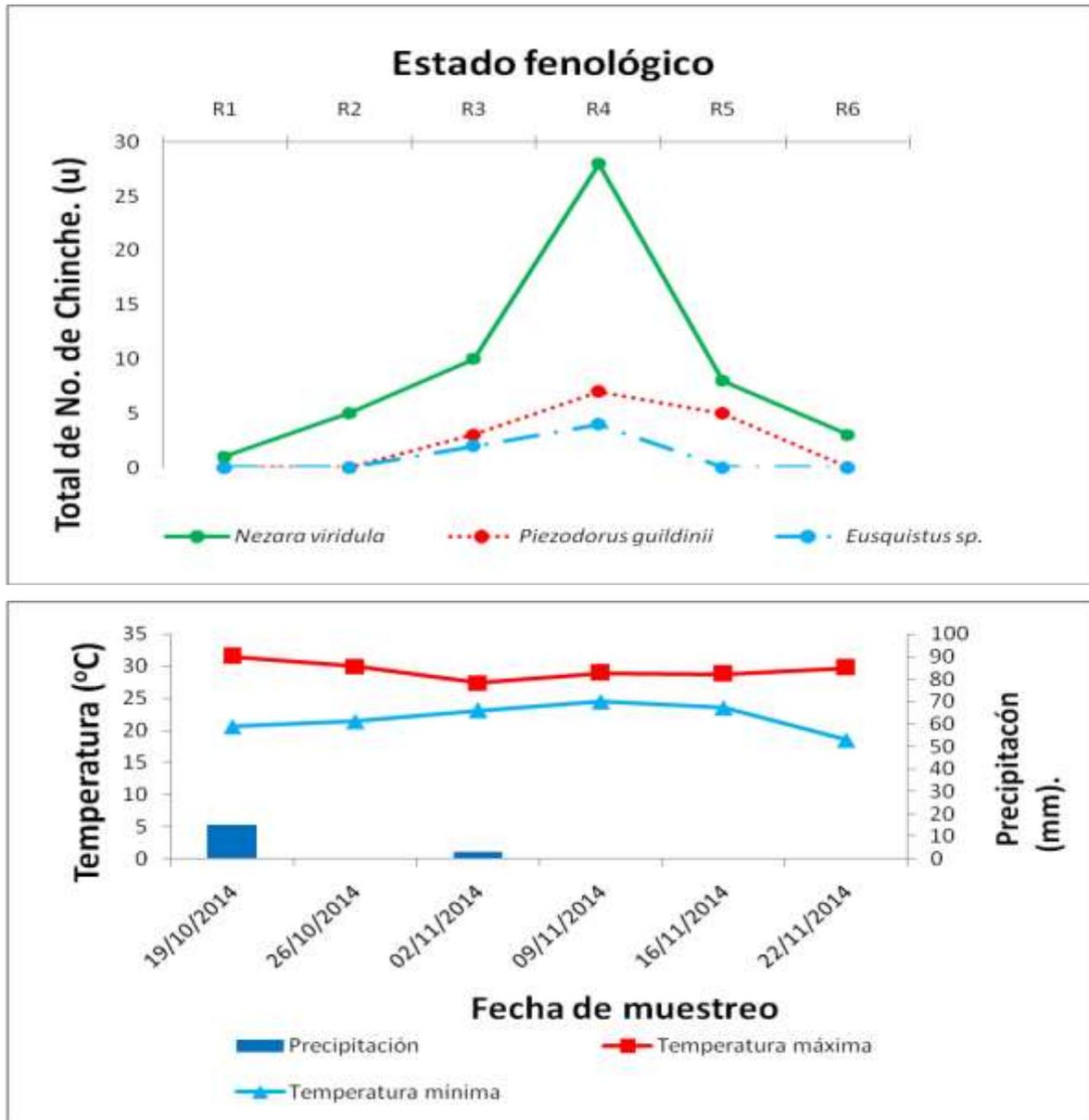


Fig. 1. Fluctuación poblacional de los principales pentatómidos en el cultivo del frijol.

Se pudo apreciar que la entrada de los primeros adultos fue en la fase prefloración (R1) representando los mismos el 1,32 % del total de insectos cuantificados. El mayor nivel poblacional se produjo en la fase R4 (Llenado de legumbres) con un

51,3 % de pentatómidos. El descenso de la población ocurrió a partir de R4 hasta R6, con un 11,84 % de chinches en esta última etapa.

De forma general el cultivo se desarrolló durante un período donde las temperaturas se mantuvieron con cierta estabilidad (temperatura máxima 31.5; temperatura mínima 18.5°C) seguidas de escasas precipitaciones con pocas intensidades.

El manejo integrado de plagas (MIP) requiere conocer la fluctuación poblacional de las plagas en los cultivos (Kogan, 1998).

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Alvarado (2010) en el Huerto Sandino del municipio de Remedios, Villa Clara, donde reportó el pico poblacional en R3 y R4, y el descenso poblacional comenzó entre R5 y R6. Se debe señalar que en estudios similares realizados en el Huerto Jardín del municipio de Santa Clara, el mismo autor detectó que la disminución del número de chinches ocurrió a partir de R4.

Ramos *et al.*, (2011) también evidenció que el pico poblacional de los pentatómidos en el cultivo del frijol sucedió en la fase fenológica R4 y el descenso en R6 cuando las plantas estaban en el período de senescencia.

Estudios realizados por Todd, (1989); Gamundi *et al.*, (1996) y Gamundi *et al.*, (2003) demostraron que la dinámica poblacional de las chinches, principalmente la de *N. viridula* y *P. guildinii* está sincronizada con el crecimiento reproductivo del cultivo. Estas especies por lo general manifiestan un marcado crecimiento poblacional desde la floración en adelante.

Según Kuss *et al.* (2007) las chinches colonizan el cultivo en la etapa de floración o poco antes, luego, con la formación de legumbres, comienzan a dispersarse hacia otros órganos de la planta. A partir del estado fenológico R3, la población aumenta marcadamente hasta la madurez fisiológica y la distribución comienza a ser uniforme en todo el campo.

Este comportamiento posiblemente esté ligado a la dispersión de las ninfas, las que a partir del cuarto estadio pueden desplazarse aproximadamente 7-10 m desde el lugar de oviposición (Panizzi *et al.*, 1980).

Massoni y Frana (2005) exponen resultados sobre la fluctuación de adultos de *P. guildinii* en leguminosas de grano, detectando las mayores poblaciones a los 34 y 36 días después que eclosionan las ninfas. Por su parte Sturmer *et al.* (2007) dan a conocer que *E. meditabunda* y *D. furcatus* colonizan el cultivo preferentemente en la etapa vegetativa.

Labrada (2008) obtuvo resultados similares, pero en correspondencia a la fenología de la soya. La autora dio a conocer que las poblaciones de los pentatómidos aparecieron por primera vez a los 28 días después de la siembra, los mismos se observaron alimentándose del follaje de las plantas y de los botones florales. A partir de los 35 días de la siembra hubo un incremento brusco hasta llegar a un máximo de 45 individuos adultos a los 49 días, coincidiendo con la fase fenológica R5, momento en que las legumbres se encuentran en plenitud de desarrollo y llenado del grano. Este estado de las plantas favorece el aumento de las poblaciones de las chinches, pues es el momento en que existe una mayor disponibilidad de alimentos de su preferencia.

La etapa preferida por las chinches es durante la formación de vainas o cápsulas, por lo que durante la senescencia del cultivo los pentatómidos emigran a otros hospedantes más suculentos (Todd, 1989).

Massaro (1994) en experimento realizado en la región central de Santa Fe, Argentina, observó que la llegada de las chinches al cultivo de la soya fue en los períodos de fructificación y llenado de semillas. Sánchez *et al.* (2005) en la misma región y comparando dos tipos de siembra, demostraron que la población permanece estable en siembra directa (entre 0,2 y 1 individuo por metro lineal), mientras que en los lotes con siembra convencional los niveles continuaron aumentando de manera significativa hasta fines de febrero (4,1 individuos por metro lineal) y se mantuvieron elevados hasta mediados de marzo (entre 1,6 y 3,5 individuos por metro lineal). Estos valores se encontraron por encima del nivel de daño económico (1,5 individuos por metro lineal) publicado por Gamundi *et al.* (2003).

En el cultivo del ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) William (2000), en un experimento realizado en parcelas de un productor, observó que el comportamiento de las

poblaciones de *N. viridula* aparecieron en el cultivo a partir de los 40 días después de la siembra, etapa en la que el ajonjolí ha empezado la floración; aunque las poblaciones fueron bajas (0,2 chinches por metro lineal) y no superaron el nivel crítico de una chinche por metro lineal propuesto por Antón (1998). También dio a conocer que la población de pentatómidos tiende a ascender y sobrepasar el nivel crítico después de los 70 días, etapa en la cual las legumbres están bien formadas y son buena fuente de alimento, alcanzando en promedio cercano a cuatro chinches por metro lineal.

Massoni y Frana (2005) exponen resultados sobre la fluctuación de adultos de *P. guildinii* en leguminosas de grano, detectando las mayores poblaciones a los 34 y 36 días después que eclosionan las ninfas. Por su parte Sturmer *et al.* (2007) dan a conocer que *E. meditabunda* y *D. furcatus* colonizan el cultivo preferentemente en la etapa vegetativa.

Resultados obtenidos por Ramos *et al.* (2010) sobre la fluctuación de *Aphis craccivora* (Koch.) confirman que cuando existe una fase fenológica apropiada para el insecto, acompañada de períodos secos y sin grandes diferencias de temperaturas, ocurre un ascenso poblacional.

De acuerdo con la correlación de Pearson que se muestra en la tabla 2 se puede decir que el factor decisivo referente a la llegada de los primeros adultos, la ocurrencia del pico poblacional y el descenso de los niveles poblacionales fue la fenología del cultivo y no las variables climáticas, pues solo la temperatura mínima influyó en el número de *Euschistus* sp.

Tabla 2. Correlación entre las variables climáticas y la fluctuación poblacional de los pentatómidos.

Especies de chinches	Temperatura	Temperatura	Precipitación
	Máxima	Mínima	
<i>Nezara viridula</i>	0,290	0,160	-0,425
	0,242	0,525	0,079
<i>Piezodorus guildinii</i>	0,024	0,198	-0,310
	0,923	0,432	0,210
<i>Euschistus</i> sp.	0,106	0,472(*)	-0,340
	0,674	0,048	0,167

4.2 Daños causados por pentatómidos.

4.2.1 Porcentaje de granos afectados por picadura.

Durante el estudio se observó un mayor porcentaje de granos y legumbres afectadas por el complejo de chinches en el cultivar Bonita-11, con un porcentaje de afectación en los granos que osciló entre 17.71 y 24.78 %, mientras que se evidenció una oscilación entre 18.84 y 29.10 % en las legumbres.

El cultivar Triunfo 70 de granos con testa negra fue la que presentó menores niveles de daños alcanzando un máximo de afectación de 3.74 % en los granos y 8.66 % en las legumbres. De forma general *N. viridula* mostró mayor incidencia en granos y legumbres de los cultivares de frijol en estudio (Tabla 3).

Tabla 3. Porcentaje de afectación el complejo de chinche (Hemiptera: Pentatomidae) sobre cultivares de frijol común.

Cultivares	Granos afectados (%)			Legumbres afectadas (%)			Nivel de daño
	<i>N. viridula</i>	<i>Piezodorus guildinii</i>	<i>Euschistus</i> sp.	<i>N. viridula</i>	<i>Piezodorus guildinii</i>	<i>Euschistus</i> sp.	
Triunfo 70	3.74 c	3.45 c	1.06 c	8.66 c	8.82 c	5.19 c	Leve
Hatuey 24	17.99 b	13.05 b	5.92 b	15.00 b	11.87 b	9.31 b	Moderado
Bonita - 11	24.78 a	23.71 a	17.71 a	29.10 a	24.87 a	18.84 a	Severo

Letras diferentes en la misma columna denota diferencias significativas (Prueba de Anova, LSD, $P \leq 0.05$).

Silva *et al.* (2012) observaron los daños superficiales provocados por *Edessa meditabunda* (Fabricius) y *Euschistus heros* (Fabricius) a semilla de soya. *E. meditabunda* consumió 22.89 mm² del área superficial de la semilla representando el 30 % del área cotiledonal, mientras que *E. heros* consumió solamente el 18 % de esta área, representando aproximadamente 12.47 mm².

Algunos autores han reportado que la exposición de legumbres maduras de soya ante pentatómidos provoca una disminución de la calidad y cantidad de las semillas seguido de bajos rendimientos del cultivo (Do Bae *et al.*, 2014).

Corrêa Ferreira y Acevedo en experimentos de campo del cultivo de la soya introdujeron cajas con las chinches *E. heros*, *P. guildinii* y *N. viridula* para determinar el daño que causan estos insectos producto de su alimentación. Estos determinaron que *P. guildinii* causó el mayor daño en las semillas en comparación con el resto de las chinches, mientras que *E. heros* provocó el menor impacto en este sentido.

P. guildinii ha causado daños de diversas magnitudes en los granos de frijol. Depieri y Panizzi (2011) determinaron que este pentatómido consumió 2mm de la

superficie de los granos de soya, mientras que *E. heros* y *N. viridula* consumió 0.8 y 1.2mm respectivamente.

McPerson y McPerson (2000) reportaron que durante muestreos de campo en el Sur de Carolina las chinches *N. viridula*, *A. hilare* y *Euschistus* spp. consumieron 60, 25 y 14 % de infestación respectivamente.

4.2.2 Determinación de la presencia o no de *Nematospora* sp. en granos de frijol común.

Se determinó la presencia de *Nematospora* sp. en el cultivar Triunfo 70 (granos de testa negra), no así con el resto de los cultivares, Bonita 11 (granos con testa blanca) y Hatuey 24 (granos con testa roja).

En los tractos alimenticios de las chinches sacrificadas en el momento, se determinó la presencia de *Nematospora* sp en los ejemplares de *N. viridula* y *Euschistus* spp.

Esta levadura apareció solamente en insectos sacrificados en el momento de procesar su estilete y no así en aquellos sacrificados 72 horas antes de dicho procesamiento.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Ramos *et al.*, (2011) quienes determinaron este tipo de levadura en el tracto digestivo de *N. viridula*.

En estudios sobre la chinche *Leptoglossus zonatus* (Dallas) en el cultivo del frijol, Buss *et al.* (2005) demostraron que esta especie transmite la levadura *N. coryli*, la cual causa manchas en los granos y provoca que colapsen, se sequen y pudran.

Por otra parte, Clarke y Wilde (1970; 1971) dieron a conocer que *Acrosternum hilare* (Say) en el cultivo de la soya es un vector del hongo *N. coryli*, y que esta chinche retiene al hongo en su cabeza por noventa días; mencionaron además que lo pierden durante la muda y que se puede encontrar en las heces fecales, pero no en las secreciones salivales. En el arroz, Daugherty y Foster (1966) describieron a la chinche *Oebalus pugnax* (F.) relacionada con la enfermedad conocida como *Nematospora del arroz* señalan que este cultivo es afectado frecuentemente por este hongo después de una infestación de la chinche.

Nezara viridula es una de las especies de pentatómidos reportadas como transmisora del hongo *Nematospora coryli* (Peglion), el cual transmite por sus

estiletes en el momento de la alimentación de la savia de los granos (Correa-Ferreira y Azevedo, 2002); no obstante, Alvarado *et al.* (2009) informaron no haber encontrado esta levadura en ninguna de las tres especies estudiadas.

En un experimento realizado para diagnosticar la epidemiología de las pudriciones del fruto de la macadamia (*Macadamia integrifolia*) en la región de Turrialba, Costa Rica, se detectó la presencia de *N. coryli* involucrada en las pudriciones del fruto con una incidencia del 5,27 % en el primer período, y el 6,69 % en el segundo, lo que mostró que esta levadura tuvo una tendencia a aumentar (Zúñiga *et al.*, 1987). Estos mismos autores diagnosticaron que en la parte interna de la cáscara del fruto ligeramente inmaduro se presentaron puntos color café que coincidieron con las lesiones de levadura en el cotiledón. Esto parece indicar que la transmisión de *N. coryli* pudiera haber sido a través de insectos vectores probablemente de la familia Pentatomidae.

4.3 Patogenicidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre *N. viridula* en condiciones de controladas y semicontroladas.

En condiciones de laboratorio, se evidenciaron los primeros individuos de *N. viridula* infectados por la cepa *Metarhizium anisopliae* (Ma-11) a los 4 días después de la inoculación representando el 10 % de los insectos evaluados. El 100 % de mortalidad se alcanzó los 14 días. Resultados similares fueron obtenidos con la cepa Ma-30 que al igual que su homóloga alcanzó infectar al 15 % de la población de insectos y causó una mortalidad total a los 12 días de la aplicación. Por su parte la cepa Bb -18 logró parasitar al 25 % de los pentatómidos a los 6 días y provocó una patogenicidad del 100 % a los 18 días. Bb-1 alcanzó a infectar al 20 % de las chinches tratadas a los 6 días pero su máxima patogenicidad la alcanzó a los 20 días.

En condiciones semicontroladas solo la cepa Ma-30 logró parasitar al 100 % de los insectos a los 24 días mientras que Ma-11 causó un 73 % de mortalidad a los 20 días. Las cepas Bb-18 y Bb-1 mostraron un parasitismo del 54 y 41 % respectivamente. Cabe señalar que el inicio de la mortalidad de *N. viridula* en las condiciones semicontroladas se retrasó con respecto a las controladas y no todas las cepas alcanzaron su 100 % de parasitismo.

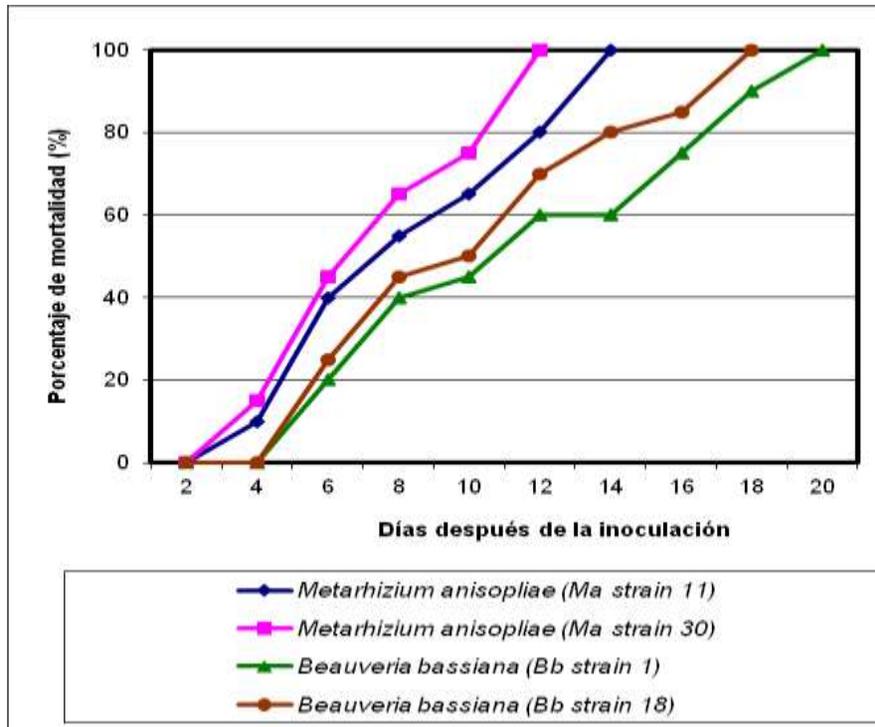


Figura 2. Mortalidad de *N. viridula* con diferentes medidas de control bajo condiciones controladas.

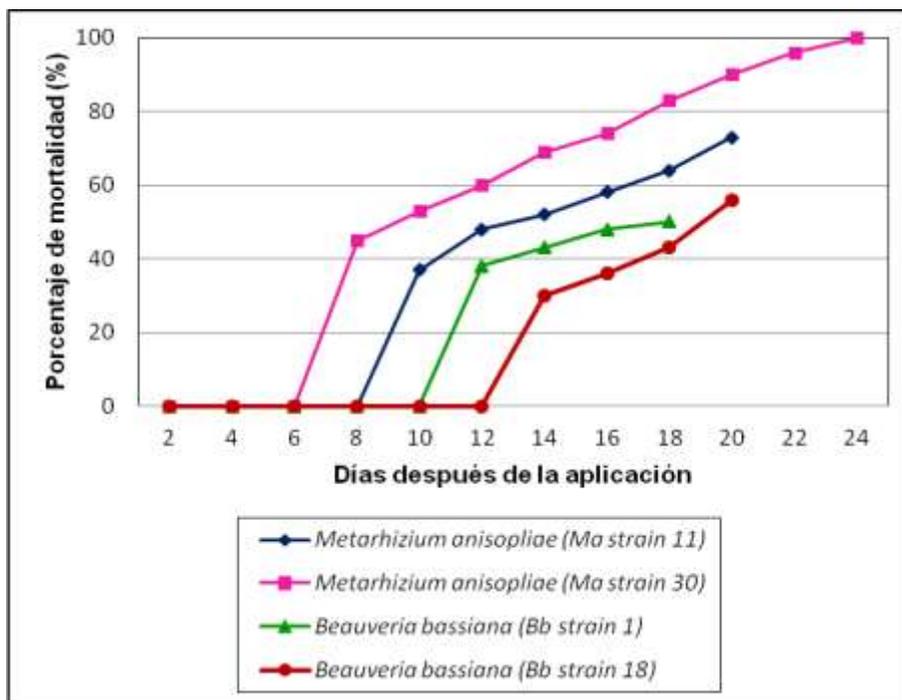


Figura 3. Mortalidad de *N. viridula* con diferentes medidas de control bajo condiciones semicontroladas.

Los hongos entomopatógenos son conocidos por infectar a un amplio rango de especies de insectos de diferentes órdenes. Estos son principalmente aislados de suelos en varios ecosistemas (Roy *et al.* 2010).

Según Moscardi *et al.*, (1988) los hongos *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin del orden Hypocreales (Ascomycota) son enemigos naturales que presentan una distribución cosmopolita.

Poblaciones de pentatómidos son naturalmente infectadas por hongos entomopatógenos principalmente *B. bassiana* y *M. anisopliae*, pero usualmente estas infecciones son bajas, por lo que a veces se requiere de la aplicación directa de estos aislados (Moscardi *et al.* 1988).

Sosa y Moscardi (1997). Determinaron la patogenicidad de cepas brasileñas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en *N. viridula*, *P. guildinii* y *E. heros* en condiciones de campo. Estos autores evidenciaron que ambos hongos indujeron una infección de 42 y 48 % para *P. guildinii* y *N. viridula* respectivamente, mientras que para *E. heros*, la mortalidad fue de 33 %.

Experimentos realizados por Todorova *et al.* (2002) para determinar la patogenicidad de seis aislados de *B. bassiana* sobre el pentatómidos *Perillus bioculatus* (F.), se evidenció que bajo las mismas condiciones experimentales, cinco de los aislados empleados causó más del 77 % de mortalidad después de los 8 días de aplicación, mientras que el aislado IPP46 solamente mostró el 11 % de mortalidad de las ninfas. Esto demuestra que la patogenicidad de estos hongos está grandemente influenciada por sus características genéticas.

Por otra parte Gouli *et al.* (2011) utilizaron tres aislados de *B. bassiana* y dos de *M. anisopliae* para el control de la chinche *Halyomorpha halys* (Stal) (Heteroptera: Pentatomidae). Uno de los aislados de *B. bassiana* era el ingrediente activo del producto comercial BotaniGard® el cual produjo entre el 85 y 100 % de mortalidad, mientras que con los otros dos aislados (ERL 1170 y ERL 1540) se obtuvo buenos

resultados en este sentido. Las cepas de *M. anisopliae* presentaron menor virulencia en los pentatómidos.

Alvarado (2009) utilizó dos cepas cubanas de *B. bassiana* y una de *M. anisopliae* para el contro de *Euschistus emoorei* (Rolston) y demostró que la cepa aislada de *Hypothenemus hampei* (F.) y la de *M. anisopliae* suministrada por el Centro de Reproducción de Entomofagos y Entomopatógenos (CREE) “Sur del Jíbaro” causaron un 100 % de la muerte de los insectos a las 192 y 168 horas respectivamente, mientras que la cepa de *B. bassiana* obtenida por el CREE de de la Empresa de Cultivos Varios “Valle del Yabú” no provocó la muerte de los insectos.

5. Conclusiones

1. Incidieron sobre el frijol común las especies *N. viridula*, *P.guildinii* y *Euschistus* sp. las que iniciaron su ataque desde la fase fenológica R1, alcanzando su pico poblacional en la fase fenológica R4 con un total de 39 individuos, siendo *N. viridula* la especie más representativa.
2. El mayor porcentaje de granos y legumbres afectadas se evidenció en el cultivar Bonita-11, mientras que el cultivar Triunfo-70 fue la más tolerante al daño de estos hemípteros. *N. viridula* fue la especie que más incidió sobre los cultivares en estudio.
3. Se detectó la presencia de *Nematospora* sp. en *Nezara viridula* y *Euschistus* sp., así como en los granos del cultivar Triunfo -70.
4. La cepa Ma-30 provocó la mayor mortalidad de *N. viridula* en el menor tiempo (10 días) y a su vez fue la única cepa en alcanzar el 100 % de mortalidad en condiciones semicontroladas.

6. Recomendaciones

1. Continuar este trabajo en las épocas de siembras intermedia y tardía.
2. Determinar por claves morfológicas la especie de *Nematospora* encontrada en granos de frijol y tracto digestivo de los pentatómidos.

Bibliografía

Alean, I. (2003). Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Microbióloga Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias Básicas Microbiología Agrícola y Veterinaria.

Alvarado, A. (2010). Aspectos bioecológicos de los pentatomidos encontrados en el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en tres localidades de la provincia de Villa Clara, con énfasis en *Euschistus emorei* Rolston. Tesis presentada para aspirar al título de Máster en Agricultura Sostenible. Facultad de Ciencias Agropecuarias, UCLV. 68p.

Alvarado, A.; Grillo, H. Gómez, J. y Arias, María Alejandra. (2009). Complejo de chinches (Heteroptera; Pentatomidae), en frijol común. Inventario y presencia en tres localidades de Villa Clara. *Centro Agrícola* 36(3): 75-82.

Alves, S. (1998). Controle Microbiano de Insetos. Segunda Edición. Fundación de Estudios Agrarios Luiz de Queiroz – FEALQ. Piracicaba, SP, Brasil. 1163 pp.

Antón, T. (1998). Manejo de plagas de las cápsulas In Manejo Integrado de Plagas en el Cultivo del Ajonjolí. 81-89p.

Aragón, J. (2002). Marzo: mes crítico para las plagas de la soja – Informe N° 7. Sección Entomología. INTA EEA Marcos Juárez p.1-8.

Avelares, J. (1992). Evaluación de 8 variedades criollas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) recolectadas en Nicaragua. Germoplasma. Revista informativa anual del programa Recursos genéticos nicaragüenses. Número 1. Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua. p 1-8.

Baigorri, E. y L. Giorda. (1997). El cultivo de la soja en Argentina. INTA Centro Regional Córdoba. 448 p.

Bartinicki, S. (1984). Spore Germination in fungi: Basic concepts. In: Roberts, D; Aist J (Eds) *Infection Proceses of Fungi*. A Bellagio Conference, March 21-25, 1983. The Rockefeller Foundation. New York. 111-117 pp.

Batta, Y. (2007). Biocontrol of almond bark beetle (*Scolytus amygdali* Geurin-Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal of Applied Microbiology* ISSN 1364-5072.

Bowling, C. (1980). The stylet sheath as an indicator of feeding activity by the southern green stinkbug on soybean. *Journal of Economic Entomology* (73):1-3.

Buss, L. J.; Halbert, S. E.; Jhonson, S. J. (2005). *Leptoglossus zonatus* A new leafhoppered Bug in Florida (Hemiptera: Coreidae), *FDACS-DPI Pest Alerts*, <http://www.doacs.state.fl.us/pi/enpp/ento/l.zonatus.html> (consultado el 11 de mayo de 2015).

Cabrera, J.; Pinedo, E. (1994). El hongo *Beauveria bassiana* en el control de algunas plagas agrícolas. *Revista Peruana de Entomología*. 37: 107-110.

Calvache, H. (2002). Manejo integrado de plagas en el agrosistema de la palma de aceite. En: Curso Nacional Manejo Integrado de Plagas en Palma de Aceite. Fonade – Cenipalma, 205p.

Clarke, R.; Wilde, G. (1970). Association of Green Stink Bug and the Yeast- Spot Disease Organism of Soybeans. I. Length of Retention, Effect of Molting, Isolation from Feces and Saliva. *Journal of Economic Entomology*, 63 (1): 200-204, EE. UU.

Clarke, R.; Wilde, G. (1971). Association of Green Stink Bug and the Yeast- Spot Disease Organism of Soybeans. III. Effect on Soybean Quality. *Journal of Economic Entomology*, 64 (1): 222-223, EE. UU.

Correa-Ferreira, B. y Azevedo, J. (2002). Soybean seed damage by different species of stink bugs. *Agric. Forest Entomol.* (4): 145-150.

Dammer, K.; Grillo, H. (1990) Infestation of *Leptoglossus gonagra*(Fabr) with *Nepatosporacoryli* Peglion and *Ashbya gossypii* (Ashby and Nowell) Guilliermond in a citrus plantation in the Republic of Cuba. *Archiv fur Phytopathologie and Pflanzenschutz Archives of Phitopathology and Plant Protection*, **26**, 71-78.

Daugherty, D.; Foster. J. (1966). Organism of Yeast Spot Disease Isolated from Rice Damaged by Rice Stink Bug. *Journal of Economic Entomology* 59(5): 1282-1283, EE. UU.

Do Bae, S.; Kim, H.; Mainali, B. (2014) Changes in Nutritional Composition of Soybean Seed Caused by Feeding of Pentatomid (Hemiptera: Pentatomidae) and Alydid Bugs (Hemiptera: Alydidae). *Journal of Economic Entomology* 107: 1055-1060.

Dieperi, R.A.; Panizzi, A.R. (2011). Duration of feeding and superficial and in-depth damage to soybean seed by selected species of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). *Neotropical Entomology*, 40(2):197-203.

Echemendía, Mayra.; Pozo, E.; Reyes, Yusimy, García, Irma.; Rivas, E.; Báez, M. (2010). Sanidad Vegetal. Tomo 1. Editorial Félix Varela. La Habana, Cuba. 1p.

Fargues, J. (1984). Adhesión of the fungal spore to the insect cuticle in relation to pathogenicity. In: Roberts, D; Aist J (Eds) *Infection Proceses of Fungi*. A Bellagio Conference, March 21-25, 1983. The Rockefeller Foundation. New York. pp. 90-110.

Fragas, C.; Ochoa, L. (1971). Aspectos morfológicos y bioecológicos de *Piezodorus guildinii* (West.) (Hem. Pent.). IDIA. Suplemento N° 28: 103-116.

Gallegos, G.; Olayo, R.; Guerrero, E.; Sánchez, V., Cepeda, M.; Grant, Y.; Quiro, M. (2004). Evaluación de cepas nativas de *Beauveria bassiana* (vuill.) sobre *Amphidees* spp. de Arteaga, Coahuila Entomología Mexicana. 1: 360-367.

Gamundi, J.; Capurro, J.; Gerster, G.; Molinari, A. Lorenzatti, A. (1996). Evaluación de cultivares de soja del grupo IV y V frente al ataque de la oruga medidora y chinches. Soja. Para mejorar la producción. Campaña 1995/96. 13p.

Gamundi, J.; Adrian, M.; Bacigaluppo, M.; Lago, L.; Lenzi, P.; Bodrero, M. (2003). Incidencia del complejo de chinches en el cultivo de soja con diferentes espaciamientos entre líneas. Soja. Para mejorar la producción de soja. INTA, Estación Experimental Agropecuaria Oliveros. Publicaciones Regionales, 24: 79-86.

García, J. (1996). Fenología de cuatro variedades de caraota *Phaseolus vulgaris* L, sembradas en dos localidades y dos fechas del período septiembre - enero (Longitud del día decreciente). Tesis de grado. Maracay, Ven. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Instituto de Agronomía. 56p.

Gómez, J.; Ramos, Y.; Arboláez, H.; Pérez, E.; González, Mabel. (2009). Incidencia de Hemiptera en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Centro Agrícola* 36(4): 15-18; octubre-diciembre.

González, M.; Posada, F.; Bustillo, A. (2001). Bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Sobre la broca de café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). *Revista Colombiana de Entomología*. 19(4): 123-130.

González, G.; María T.; Posada, F.; Francisco, J.; Bustillo, P.; Alex, E. (1993). Bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Revista Colombiana de Entomología (Cali) 19 (4): 123-130.

Gouli, V.; Gouli, S.; Skineer, M.; Hamilton, G.; Su Kim, J.; Parker, B.L. (2011). Virulence of select entomopathogenic fungi to the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Stal) (Heteroptera: Pentatomidae). *Pest Manag Sci*, 68:155-157.

Griffin, D. (1981). Fungal Physiology, A While-Interscience Publication, USA, 102-111pp.

Grillo, H.; M. Álvarez. (1983). *Nematospora coryli* Peglion (Nematosporaceae: Hemiascomycetidae) y sus transmisores en el cultivo de los cítricos. *Centro Agrícola* 10 (20): 13-34.

Hajek, H.; Leger, R. (1994). Interactions between fungal pathogens and insect host. Annual Review of Entomology. 39: 293-332.

Hernández, A.; Pérez, J.; Bosch, D.; Rivero, R.; Camacho, E.; Ruiz, J. (1999). Nueva versión de clasificación genética de los Suelos de Cuba. Instituto de Suelos. AGRINFOR. 37-38p.

Jensen, R.; Newson, L. (1972). Effect of stink bug damaged soybeans seeds on germination, emergence and yield. *Journal of Economic Entomology*. Baltimore. (65): 261.

Kershaw, M.; Moorhouse, R.; Bateman, R.; Reynolds, S.; Charnley, A. (1999). The role of destruxin in the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insects. *Journal of Invertebrate Pathology*. 74: 213-223.

King, A. y J. Saunders. (1984). Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. O.D.A. Londres. 182p.

Kogan, M. (1998). Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. *Annu. Rev. Entomol*(43): 243-270.

Kurtzman, C.P. (1995). Relationships among the genera *Ashbya*, *Eremothecium*, *Holleya* and *Nematospora* determined from rDNA sequence divergence. *Journal of Indian Microbiology*, 14:523–530.

Kuss, R.; Guedes, J.; Moser, G.; Guareschi, A.; Arnemann, J.; Stecca, C. (2007). Amostragem de percevejos-da-soja com diferentes métodos e horários de coleta. ATA e Resumos. 35ª Reunião de Pesquisa de Soja da Região Sul. Santa María, RS. 115p.

Labrada, Leidy. (2008). Uso de medidas agrotécnicas en el manejo integrado de plagas en soya. Trabajo de Diploma. UCLV. 37p.

Lecuona, R.; Edelstein, J.; Berretta, M.; La Rosa, F.; Arcas, A. (2001). Evaluation of *B. bassiana* (Hyphomycetes) Strains as Potencial Agents for Control of *Triatoma infestans* (Hemiptera:Reduviidae). *Journal of Medical Entomology*. 38(2): 172-179.

López, E.; Romero, M.; Ortiz, A.; Orduz, S. (1999). Primer registro de *Metarhizium anisopliae* infectando reinas de *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae) en Colombia. En: *Revista Colombiana de Entomología*. Vol. 25, No. 1/2; 49-56p.

Luna, J.; Lecuona, R. (2002). Selección de cepas de hongos entomopatógenos nativos para el control de la tucura *Rhammatocerus pictus* (Bruner) (Orthoptera: Acrididae). *RIA, INTA, Argentina*. 31 (1):67 – 84.

Luz, C.; Rocha, L.; Nery, G. (1998). Detection of Entomopathogenic Fungi in Peridomestic Triatomine-Infested Areas in Central Brazil and Fungal Activity Against *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae) *Neotropical Entomology* .33(6): 783-790.

McPerson, J.E y McPerson, R. (2000). Stink bugs of economic importance in America North of Mexico. Academic Press, New York 225p.

Marrero, L.; María de Los Ángeles Martínez. (2003). Ocurrencia de heterópteros en agroecosistemas cubanos de soya (*Glycine max* (L.) Merrill.)», *Revista de Protección Vegetal* 18 (2): 98-103.

Martínez, E.; G. Barrios; L. Rovesti.; L. Santos. (2007). Manejo Integrado de Plagas. Manual Práctico. Centro Nacional de Sanidad Vegetal. La Habana.

Massaro, R. (1994). Estrategias para el control integrado de plagas insectiles de la soja en siembra directa. III Congr. Nac. de Siembra directa, 31 de agosto al 2 de setiembre, Córdoba, 193-213p.

Massoni, F y Frana, J. (2005). Duración del ciclo biológico de *Piezodorus guildinii* (westwood) (Heteroptera: Pentatomidae) en el cultivo de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. *Prot Vegetal*.T100. 378-381p.

Moreira, H. J.; Damasceno Aragao F. (2009).- Manual de pragas da Soja.FMC - Campinas-Sao Paulo, Brasil.

Moscardi, F., Correa-Ferreira, B. S., Diniz, M. C., and Bono, I. L. S. 1988. Incidência estacional de fungos entomógenos sobre populações de percevejos-pragas da soja. *In* "Resultados de Pesquisa de Soja 1986–1987," p.90. EMBRAPA—Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Londrina, PR, Brazil.

Panizzi, A.; Galileo, R.; Gástal, H.; Toledo, J.; Wild, C. (1980). Dispersal of *Nezara viridula* and *Piezodorus guildinii* nymphs in soybeans. *Environ. Entomol.* 9: 293-297.

Panizzi, A.; J. Mcpherson; D. James; M. Javahery; R. Mcpherson.(2000). Bugs (Pentatomidae), Heteroptera of economic importance, Raton, Florida, CRC Press, EE. UU.

Pioli, R., M. Lago., J.C. Gamundi., M. Bodrero., M. Andrian. (2004). Relationship between stink bug damage and soybean seed-borne

diseases in Santa Fe, Argentina. En: III Congreso Mundial de Soja- Foz de Iguazú (Brasil), Documentos – Abstracts of contributed papers and posters.

Quintero, E.; C. Pérez; C.M. Andreu; D. Martín (2002). Manejo sostenible del cultivo del frijol. Resultado de investigaciones. *Centro Agrícola* (4):79-80.

Quintero, E.; Gil, V.; Guzmán L.; Saucedo, O. (2004). Banco de germoplasma de frijol del CIAP: fuente de resistencia a la roya. Workshop Cuba-Bélgica, Santa Clara.

Ramos, Y.; Gómez, J.; Espinosa, R.; Marichal, Eddy.; Armentero, C. (2011). Afectaciones directas producidas por el complejo de chinches (Hemiptera: Pentatomidae) en granos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y determinación de *Nematospora* sp. *Fitosanidad* 15 (3):179-183.

Ramos, Y.; Gómez, J.; Pérez, E.; Cabrera, D.; Hernández, H.; González, Mabel. (2010). Comportamiento de *Aphis craccivora* Koch. (Hemiptera: Aphididae) sobre el frijol común en época de siembra intermedia. *Rev Centro Agrícola* 37(1): 57-59.

Rizzo, H. (1976). Hemípteros de interés agrícola. Chinches perjudiciales y chinches benéficas para los cultivos. Hemisferio Sur, Buenos Aires, 69 p.

Roberts, D.; Humber, R. (1984). Entomopathogenic Fungi. In: Roberts, D; Aist J (Eds) *Infection Proceses of Fungi*. A Bellagio Conference. March 21-25, 1983. The Rockefeller Foundation. New York. Pp. 1-12.

Rosas, J. (2003). Recomendaciones para el manejo agronómico del cultivo del frijol. Programa de Investigación en Frijol. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano, Honduras.

Rosas, J.; Beaver, J.; Beebe, S.; Viana, A. (2004). Nomenclatura de variedades de frijol común liberadas en Centro América y el Caribe. *Agronomía Mesoamericana* (15):221-224.

Roy, H.E.; Vega, F.E.; Chandler, D.; Goettel, M.S.; Pell, J.K.; Wajnberg, E. (2010). *The Ecology of Fungal Entomopathogens*. Springer Verlag.

Sánchez, D.; Scotta, R. y Arregui, M. (2005). Evolución de la población de chinches y oruga de las leguminosas en sistemas de siembra convencional y directa de soja en la región central de santa fe. *Rev Fabe*. 4(1-2).

Sánchez, S.; Bellotti, C. (1997). Patogenicidad de hongos hyphomycetes sobre *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae) chinche subterránea de la yuca. En: *Revista Colombiana de Entomología*. Vol. 23, No. 1/2; p.31-37.

Shivas, R.G.; Smith, M.W.; Marney, T.S.; Newman, T.K.; Hammelwang, D.L.; Cooke, A.W.; Pegg, K.G.; Pascoe, I.G. (2005). First record of *Nematospora coryli* in Australia and its association with dry rot of Citrus. *Australasian Plant Pathology*, 34:99-101.

Silva FAC, Da Silva JJ, Depieri RA & Panizzi AR (2012) Feeding Activity, Salivary Amylase Activity, and Superficial Damage to Soybean Seed by Adult *Edessa meditabunda* (F.) and *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Neotropical Entomology* 41: 386-390

Sosa, D.; Moscardi, F. (1997). Laboratory and Field Studies on the Infection of Stink Bugs, *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii*, and *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) with *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Brazil.

Sturmer, G.; Guedes, J.; Kuss, R.; Stecca, C.; Rodríguez, R.; Pereira, E. (2007). Proporção de espécies de percevejos durante o ciclo da soja. *ATA e Resumos*. 35ª Reunião de Pesquisa de Soja da Região Sul. Santa Maria, RS. 119p.

Todd, J. (1989). Ecology and behavior of *Nezara viridula*. *Annual Review of Entomology* (34): 273-292.

Todorova, S.I.; Cloutier, C.; Côté, J.C.; Coderre, D. (2002). Pathogenicity of six isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina, Hyphomycetes) to *Perillus bioculatus* (F) (Hem., Pentatomidae). *Journal of Applied Entomology*, 126(4): 182-185.

Torres, H.; Ortega, A.; Alcázar, J.; Ames, T.; Palomino, L. (1993). Control Biológico del Gorgojo de los Andes (*Premnotrypes spp.*) con *Beauveria brogniartii*. Guía de Investigación CIP 8. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. 43pp.

Torres, T.; Cotes, A. (1999). Actividad biocontroladora de hongos entomopatógenos contra *Premnotrypes vorax* (Coleoptera: Curculionidae) mediante su utilización individual o combinada. En: Revista Colombiana de Entomología. Vol. 25, No. 3 / 4;121- 129p.

Villamizar, L.; Cotes, A.; Álvarez M. (1996). Estudio tecnológico para la producción masiva y preformulación del hongo entomopatógeno *Metarhizium spp.* (Metschinicov) para el control biológico de la langosta de los llanos orientales (*Rhammatocerus schistocercoides*) In: XXIII Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, 1996, Cartagena. Resúmenes XXIII Congreso Sociedad Colombiana de Entomología., 1996. 18 – 18p.

Vincini, A.; Álvarez, H. (2000). Plagas de los cultivos de girasol, maíz y soja. p 309-351. En Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja. F.H. Andrae y V.O. Sadras (eds.). EEA INTA Balcarce – Facultad de Ciencias Agrarias UNMP. Editorial Médica Panamericana. S.A. 443 p.

Williams, C. (2000). Análisis del daño causado por la chinche verde (*Nezara viridula* L.) en el cultivo de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) en Nicaragua. Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. 38p.

Willoughby, B.; Glare, T.; Kettlewell, F.; Nelson, T. (1998). *Beauveria bassiana* as a Potential Biocontrol Agent gainst The Clover Root Weevil, *Sitona lepidus*. The New Zealand Plant Protection Society Incorporated. 1: 9-15.

Yukava, J. (2007). Distribution range shift of two allied species, *Nezara viridula* and *N. antennata* (Hemiptera: Pentatomidae) in Japan, possibly due to global warming. Applied Entomology and Zoology.

Zúñiga, D.; E. Vargas; Umaña, Gerardina. (1987). Diagnóstico y aspectos preliminares sobre las pudriciones del fruto de la Macadamia (*Macadamia integrifolia*) en Turrialba, *Agronomía Costarricense* 12 (1): 45-51, Costa Rica.

Anexos

Anexo 1. Fases fenológicas del cultivo del frijol

Estados vegetativos

Estados reproductivos

Ve (Emergencia)	R1 (Prefloración)
Vc (Nudo cotiledonal)	R2 (Floración)
V1 (Primer nudo)	R3 (Formación de la legumbre)
V2 (Segundo nudo)	R4 (Llenado de legumbre)