

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EFICACIA DE INSECTICIDAS EN EL CONTROL DE
PENTATÓMIDOS PLAGA EN SOJA E IMPACTO SOBRE
ORGANISMOS BENÉFICOS**

por

Silvana Laura Abbate Tadic

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el título
de *Magister* en Ciencias Agrarias
Opción Ciencias Vegetales

**MONTEVIDEO
URUGUAY
Agosto, 2015**

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Ing. Agr. (PhD.) Nora Altier Manzini, Ing. Agr. Iris Beatriz Scatoni, Ing. Agr. (Dr.) Jerson Vanderlei Carús Guedes e Ing. Agr. (Dr.) Adriano Arrué, el 3 de Agosto de 2015. Autor/a: Ing. Agr. Silvana Laura Abbate Tadic. Director Ing. Agr. (Dr.) Enrique Castiglioni Rosales, Co-directora Ing. Agr. (Mag.) Adela Fanny Ribeiro Gonnet.

Dedico este trabajo a mis padres, Andrés y Camila quienes con su amor incondicional me acompañan cada día

AGRADECIMIENTOS

A Enrique Castiglioni y Adela Ribeiro por sus aportes a mi formación académica y profesional desde que inicié mi carrera en la Udelar y especialmente durante este trabajo.

A mis compañeros de la EEMAC y FAGRO, quienes de una u otra forma colaboraron en la realización de este trabajo y también en mi formación académica, entre ellos, no puedo dejar de mencionar a Horacio Silva, Noel García, Oscar Bentancur, Enrique Cairus, Juana Villalba, Carlos Pérez, Beatriz Scatoni, Cintia Palladino, Mónica Ziminov, Pablo Roullier, Julio Mosqueira, Reynaldo Quintana, Oswaldo Ernst y Luis Giménez.

A INIA Las Brujas y a Federico Rivas, Nora Altier y Beatriz Dini, por darme la oportunidad de realizar una pasantía en el Laboratorio de Bioproducción y enseñarme las metodologías necesarias para la realización de mis ensayos y por los aportes recibidos.

Al Sr. José Leme y José Leme hijo por permitirme instalar uno de los ensayos en su predio.

A Pablo Nuñez de Cibeles S.A. y Marcelo Jacques de Syngenta por proporcionarme los productos y por sus aportes a este trabajo.

A ANII, por el apoyo económico brindado mediante la beca de Posgrados Nacionales.

A mi familia, en especial a mis padres Ana y Tanino, por el apoyo y el amor incondicional brindado, sin los cuales no hubiera podido finalizar esta etapa.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN	VI
SUMMARY	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. PRINCIPALES PLAGAS DE LA SOJA	1
1.1.1. El complejo de chinches fitófagas	2
1.1.1.1. Daños e importancia económica	3
1.1.1.2. <i>Piezodorus guildinii</i> (chinche verde pequeña)	4
1.1.1.3. Métodos de muestreo	5
1.1.1.4. Umbrales de decisión para el control químico	6
1.2. ENEMIGOS NATURALES EN EL CULTIVO DE SOJA	9
1.2.1. Predadores	10
1.2.2. Parasitoides	10
1.2.2.1. <i>Telenomus podisi</i> (Ashmead) (Hymenoptera: Platygastidae)	11
1.2.2.3. Hongos entomopatógenos	12
1.3. INSECTICIDAS DISPONIBLES PARA EL CONTROL DE CHINCHES (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) EN SOJA	13
1.4. OBJETIVOS	15
2. EFFECTIVENESS OF INSECTICIDES AGAINST SOYBEAN STINK BUGS AND SIDE-EFFECTS ON <i>Telenomus podisi</i> AND GENERALIST PREDATORS	16
2.1. SUMMARY	17
2.2. INTRODUCTION	18
2.3. MATERIAL AND METHODS	19
2.3.1. Control efficacy of insecticides and side-effects on generalist predators	19
2.3.1.1. Insecticides	20
2.3.1.2. Statistical analysis	20
2.3.2. Insecticide toxicity on <i>Telenomus podisi</i> under field and laboratory conditions	21
2.3.2.1. Parasitoid culture	21
2.3.2.2. Laboratory bioassays	22

2.3.2.3. Field experiments	23
2.3.3.4. Statistical analysis	23
2.4. RESULTS	24
2.4.1. Control efficacy of stink bugs	24
2.4.2. Generalist predators	27
2.4.3. Side effects of insecticides on <i>Telenomus podisi</i>	30
2.5. DISCUSSION	32
2.6. CONCLUSIONS	36
2.7. REFERENCES	37
3. COMPATIBILIDAD DE <i>Beauveria bassiana</i> Y <i>Lecanicillium attenuatum</i> CON INSECTICIDAS USADOS EN SOJA	41
3.1. RESUMEN	42
3.2. SUMMARY	43
3.3. INTRODUCCIÓN	44
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS	46
3.4.1. Cepas e insecticidas utilizados	46
3.4.2. Crecimiento micelial	46
3.4.3. Producción de conidios	47
3.4.4. Análisis estadístico	48
3.5. RESULTADOS	48
3.5.1. <i>Beauveria bassiana</i>	48
3.5.2. <i>Lecanicillium attenuatum</i>	50
3.5.3. Clasificación de toxicidad de los insecticidas para los hongos entomopatógenos	51
3.6. DISCUSIÓN	52
3.7. CONCLUSIONES	54
3.8. BIBLIOGRAFÍA	55
4. CONCLUSIONES	62
5. BIBLIOGRAFÍA	64

RESUMEN

Las chinches fitófagas limitan el rendimiento y la calidad de granos en soja. Los biocontroladores no reducen sus poblaciones a niveles aceptables, requiriendo de la complementación con agroquímicos. El uso de insecticidas selectivos, cuya información es limitada en el país, permitiría conservar la fauna benéfica y contribuiría a la sustentabilidad de dicho agro-ecosistema. Se evaluaron mezcla de neonicotinoides y piretroides, imidacloprid+carbaril, tiacetoxan+spirotetramat, neonicotinoides y triclorfón en relación a: la eficacia de control de chinches en soja y el impacto sobre artrópodos predadores (a campo), la toxicidad, en campo y laboratorio, para larvas de *Telenomus podisi* (Ashmead) desarrollándose en huevos de *Piezodorus guildinii* (Westwood) y la compatibilidad *in vitro*, con los entomopatógenos *Beauveria bassiana* (ILB 204) y *Lecanicillium attenuatum* (ILB 257). La eficacia de control e impacto sobre predadores se evaluaron durante dos años (2012 y 2013) en ensayos parcelarios, determinando el número de chinches fitófagas y predadores, previo a la aplicación de insecticidas y hasta 18 días posteriores. En laboratorio, la toxicidad de insecticidas sobre *T. podisi* se evaluó como porcentaje de emergencia de adultos de posturas de *P. guildinii* parasitadas, que fueron sumergidas durante 5 segundos en soluciones con los insecticidas o agua destilada. A campo, previo a la aplicación de insecticidas, se dispusieron posturas parasitadas en vainas de soja durante 24 horas y luego de se llevaron a laboratorio hasta su emergencia. La compatibilidad con los entomopatógenos se evaluó mediante el crecimiento micelial y la producción de conidios de ambas cepas creciendo en medio sólido con el agregado de los insecticidas. Tiacetoxan+lambdacialotrina presentó la mayor eficacia de control de chinches y afectó negativamente a los predadores. En laboratorio, la emergencia de *T. podisi* fue afectada por las mezclas de neonicotinoides y piretroides, triclorfón y imidacloprid+carbaril. A campo, ningún insecticida afectó a los parasitoides. Siguiendo el modelo “T” (Alves *et al.* 1998b), tiacetoxan+lambdacialotrina, imidacloprid+betacyflutrina, tiacetoxan y triclorfón, en las dosis comerciales, resultaron compatibles con las cepas evaluadas.

Palabras clave: *Piezodorus guildinii*, *Telenomus podisi*, MIP, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium attenuatum*.

FFECTIONESS OF INSECTICIDES IN THE CONTROL OF STINK BUGS IN SOYBEAN AND IMPACT ON BENEFICIAL ORGANISMS

SUMMARY

Phytophagous stink bugs limit the yield and grain quality in soybeans. Biocontrol agents fail to reduce their populations to acceptable levels, requiring supplementation with insecticides is required. Use of selective insecticides, whose information is limited in Uruguay, would preserve the beneficial fauna and contribute to the sustainability of soybean agro-ecosystem. Mixtures of neonicotinoids plus piretroids, imidacloprid+carbaryl, thiamethoxan+spirotetramat, neonicotinoids and trichlorfon were evaluated in terms of: control effectiveness for stink bugs in soybeans and their impact on predatory arthropods (at field), Toxicity to *Telenomus podisi* (Ashmead) larvae developing in *Piezodorus guildinii* (Westwood) eggs, at field and laboratory conditions and *In vitro* compatibility with the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (ILB 204) and *Lecanicillium attenuatum* (ILB 257). Control effectiveness and impact on predators were evaluated for two years (2012 and 2013) at plot field trials up to 18 days. Insecticides toxicity on *T. podisi* was evaluated as percentage of adult emergence of parasitized *P. guildinii* eggs, previously immersed for 5 seconds in insecticides solutions or distilled water. In the field, prior to application of insecticides, previously parasitized eggs were laid in pods during 24 hours and taken back to the laboratory to determine emergence percentage. Entomopathogenic fungi compatibility was evaluated on the mycelial growth and conidia production of both strains growing on solid medium added with insecticides. Thiamethoxam+lambda-cyhalothrin presented the highest control efficacy and negatively affected the predators. In the laboratory, *T. podisi* emergence was lower in mixtures of neonicotinoids and pyrethroids, trichlorfon and imidacloprid+carbaryl treatments than in the control. At field, no insecticide affected the parasitoids emergence. Following the "T" model proposed by Alves *et al.* (1998b), thiamethoxam+lambda-cyhalothrin, imidacloprid+betacyflutrina, thiamethoxam and trichlorfon, at the commercial doses, were compatible with the strains studied.

Keywords: *Piezodorus guildinii*, *Telenomus podisi*, IPM, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium attenuatum*

1. INTRODUCCIÓN

La soja (*Glycine max*) (L.) Merrill es el séptimo cultivo en términos de producción mundial (FAOSTAT, 2013), proporcionando la mitad de la demanda mundial de aceite vegetal y proteína (Oerke y Dehne, 2004). La producción de la misma, en sistemas de siembra directa, es altamente dependiente de agroinsumos, lo que históricamente ha generado preocupación acerca de su impacto ambiental (Gudynas, 2008; Pengue, 2005; Fearnside, 2001; van den Bosch, 1978). Al tiempo que el empleo de agroquímicos crece a nivel mundial, también aumenta la demanda de productos más selectivos y con menor impacto sobre el ambiente (Thomson y Hoffmann, 2007).

Con una producción de 2.765.000 toneladas durante el período 2012/2013 (MGAP-DIEA, 2014), el país ocupa el octavo lugar de productores del mundo (FAOSTAT, 2013) siendo el principal destino de esta producción la exportación de grano sin procesar hacia China y la Unión Europea (Arbeletche *et al.*, 2008). El área sembrada de este cultivo creció sostenidamente en los últimos quince años, constituyendo durante el último período informado por DIEA (1.050.000 hectáreas en el período 2012/2013, MGAP-DIEA, 2014) aproximadamente el 75% del total del área de cultivos de verano. Este incremento de la superficie sembrada ha sido acompañado de un reemplazo del sistema mixto tradicional (agricultura-pasturas) por agricultura continua en grandes extensiones. En contraste con el incremento del área sembrada, los rendimientos nacionales no han crecido sustantivamente, manteniendo un elevado nivel de variación entre años (Pérez *et al.*, 2011), ubicándose en un promedio de 2634 kg/ha, 316 kg por encima del promedio alcanzado durante el período 2002/2003 (MGAP-DIEA 2005 y 2014). Una de las consecuencias de la expansión de este cultivo ha sido el incremento en la cantidad de insecticidas empleados (Bruno, 2007).

1.1. PRINCIPALES PLAGAS DE LA SOJA

Entre las limitantes para lograr un aumento de la productividad del cultivo de soja se encuentran las plagas que, en condiciones favorables para su desarrollo,

pueden causar grandes pérdidas de rendimiento de granos. En Uruguay, el cultivo es afectado principalmente por diversos lepidópteros, entre los cuales se encuentran *Anticarsia gemmatalis* (Hübner), *Rachiplusia nu* (Guenée), *Chrysodeixis includens* (Walker), *Crocidosema aporema* (Walsingham), trips como *Caliothrips phaseoli* (Hood) y *Frankliniella occidentalis* (Perg.), ácaros *Tetranychus urticae* (Koch) y un complejo de chinches fitófagas que afectan al cultivo en varios estados de desarrollo (Bentancourt y Scatoni, 2010). Desde hace tres años la presencia de *Helicoverpa gelotopeon* (Dyar) en poblaciones por encima del umbral económico ha sido motivo de aplicación de insecticidas durante el período vegetativo y principalmente durante el período reproductivo (Álvarez y Abbate, 2013) y, recientemente, se ha confirmado la presencia de *Helicoverpa armigera* en el país (Castiglioni *et al.*, “de próxima aparición”).

1.1.1. El complejo de chinches fitófagas

Las chinches fitófagas, especialmente las pertenecientes a la familia Pentatomidae (Hemiptera: Pentatomidae), son consideradas dentro de las principales plagas de la soja en diversas partes del mundo (Panizzi y Slansky, 1985; Vicentini y Jiménez, 1977; Turnipseed y Kogan, 1976) ocasionando pérdidas de rendimiento y disminución en la calidad y el potencial de germinación de granos (Sosa Gómez y Moscardi, 1995; Brier, 1993; McPherson *et al.*, 1979; Todd y Turnipseed, 1974). Todas las regiones productoras de soja en el mundo están asociadas con al menos una especie de chinche económicamente dañina (Todd y Herzog, 1980). Los granos de soja dañados por chinches pueden recibir un menor precio debido a sanciones por los importadores (Chyen *et al.*, 1992) o pueden ser directamente rechazados (McPherson *et al.*, 1994).

En Uruguay, el complejo de chinches fitófagas representa uno de los mayores problemas sanitarios de este cultivo, requiriendo todos los años una o más aplicaciones de insecticidas. Las especies presentes en el país, en orden decreciente de importancia por su abundancia y daños que ocasionan son: *Piezodorus guildinii*

(Westwood), *Nezara viridula* (Linnaeus), *Dichelops furcatus* (Fabricius) y *Edessa meditabunda* (Fabricus) (Zerbino, 2010; Ribeiro *et al.*, 2009).

1.1.1.1. Daños e importancia económica

Los daños que provocan los pentatómidos afectan directamente la productividad del cultivo, ocasionando pérdidas de rendimiento y disminución en la calidad y el potencial de germinación de granos (Brier, 1993; McPherson *et al.*, 1979; Panizzi *et al.*, 1979; Vicentini y Jiménez, 1977; Todd y Turnipseed, 1974; Daugherty *et al.*, 1964). Estos insectos se alimentan perforando los tejidos de las plantas con sus estiletes mandibulares y maxilares, removiendo los nutrientes principalmente desde el floema, e inyectan enzimas digestivas que disuelven las paredes celulares, removiendo el contenido celular y destruyendo algunas células (Panizzi *et al.*, 2000). Las chinches son atraídas principalmente por los estados reproductivos de la soja y otras leguminosas y prefieren alimentarse de los granos de las vainas (McPherson y McPherson, 2000).

La magnitud de los daños causados por el complejo de pentatómidos varía de acuerdo al estado fenológico de la planta, el potencial de daño de cada especie, la susceptibilidad del genotipo de soja y la época de siembra (Corrêa Ferreira, 2005; Corrêa Ferreira y Azevedo, 2002; Sosa Gómez y Moscardi, 1995; Panizzi *et al.*, 1979). Además, la intensidad del daño causado está directamente relacionada al tamaño de la población (McPherson, 1996; McPherson *et al.*, 1993; Panizzi *et al.*, 1979) y al tiempo de exposición a la infestación (Dipieri y Panizzi, 2011; Corrêa Ferreira y Azevedo, 2002; Boethel *et al.*, 2000). En relación a la especie, *P. guildinii* es la que causa mayores daños en soja en América del Sur (Corrêa Ferreira y Azevedo, 2002; Vicentini y Jiménez, 1977).

Durante la floración y formación de granos en soja, las chinches inducen el aborto de flores y semillas y la abscisión de vainas; posteriormente durante el llenado de granos, disminuyen el tamaño y peso de granos (Corrêa Ferreira y Azevedo, 2002; Panizzi y Slansky, 1985; McPherson *et al.*, 1979; Panizzi *et al.*, 1979; Todd y Turnipseed, 1974), pudiendo causar atrofia o vaciamiento parcial o total de los

mismos (Galileo y Heinrichs, 1978). Además, disminuyen el vigor y poder germinativo de la semilla y la calidad del grano se ve afectada por una disminución en el contenido de aceite y aumento en el contenido de proteínas (Sosa Gómez y Moscardi, 1995; Todd y Turnipseed 1974). Todd *et al.* (1973) observaron un deterioro en la calidad del aceite proveniente de granos dañados por chinches, que incrementaron en forma relativa su contenido en ácidos linoléico, palmítico y esteárico y un decremento proporcional de ácido linolénico.

Durante el proceso de alimentación pueden ocurrir, además, daños indirectos debido a la transmisión de enfermedades como la producida por el hongo *Nematospora coryli* Peglion (Panizzi y Slansky, 1985) y de otras enfermedades fúngicas y bacterianas (Russin *et al.*, 1988; Panizzi *et al.*, 1979; Vicentini y Jiménez, 1977). Russin *et al.* (1988), por su parte, encontraron una asociación entre la incidencia de *Fusarium* spp. y el daño por chinches.

La retención foliar, conocida como “soja loca”, en la que las vainas maduran pero las hojas permanecen verdes dificultando la cosecha (Boethel *et al.*, 2000) es otra consecuencia de los daños causados por estos insectos (Daugherty *et al.*, 1964) y *P. guildinii* es la especie más asociada a este daño (Sosa Gómez y Moscardi, 1995).

Debido a que tanto las ninfas en estadios avanzados de desarrollo como los adultos son fitófagos, el potencial de daños es elevado. Las ninfas de cuarto y quinto estadio de *Nezara viridula* (L.), *Euschistus servus* (Say) y *P. guildinii* son capaces de producir daños significativos, siendo los provocados por este último estadio similares a los provocados por los adultos (McPherson *et al.*, 1979). Además, presentan ciclos de vida relativamente largos; el estado inmaduro puede alcanzar los 35-45 días y el de adulto hasta dos meses en verano (Aragón y Flores, 2006).

1.1.1.2. *Piezodorus guildinii* (chinche verde pequeña)

Piezodorus guildinii es un insecto de origen neotropical que se encuentra desde Argentina hasta el sur de Estados Unidos (Panizzi y Slansky, 1985). Constituye una importante plaga de soja tanto en América del Sur como en los estados del sur de

Estados Unidos (Temple, 2011; Aragón y Flores, 2006). Se alimenta de un amplio rango de plantas cultivadas y silvestres, pero prefiere las leguminosas, siendo capaz de causar daños económicos en soja, alfalfa, lotus y otras leguminosas (Alzugaray y Ribeiro, 2000; Panizzi y Slansky 1985). En América del Sur la chinche verde pequeña presenta cinco generaciones por año (Panizzi y Slansky 1985).

En Uruguay *P. guildinii* es la chinche que con mayor frecuencia se encuentra en los cultivos de soja (Ribeiro *et al.*, 2009; Zerbino y Alzugaray, 2003). La coexistencia de esta oleaginosa con praderas plurianuales de fabáceas en los sistemas de producción del litoral oeste uruguayo representa una fuente continua de alimento para estos insectos que se alimentan principalmente de semillas y frutos inmaduros de leguminosas. Ribeiro y Castiglioni (2009) y Ribeiro *et al.* (2009) comprobaron que las poblaciones de *P. guildinii* permanecen en los cultivos de alfalfa o lotus hasta que en soja comienzan a formarse los primeros granos (R3). Esta especie, además, no es controlada eficientemente por enemigos naturales (Ribeiro y Castiglioni, 2008). La combinación de estos dos aspectos puede ser la explicación de la abundancia de *P. guildinii* en los sistemas agrícola- pastoriles uruguayos. Las altas poblaciones y los bajos umbrales de daño que se utilizan para su control determinan que todos los años se requieran entre una y dos aplicaciones de insecticidas para su control (Castiglioni, 2004).

En Argentina, según Vicentini y Jiménez (1977), *P. guildinii* es la chinche que presenta mayor capacidad de causar daño a la soja. Resultados similares fueron encontrados en Brasil por Corrêa Ferreira y Azevedo (2002) y Santos (2003), quienes confirmaron el mayor potencial de *P. guildinii* para deteriorar la calidad de semilla de soja, en comparación con las especies *N. viridula* y *E. heros*.

1.1.1.3. Métodos de muestreo

La red entomológica y el paño horizontal (Boyer y Dumas, 1969) se utilizaron tradicionalmente para muestrear la abundancia de chinches en soja (Todd y Herzog 1980). Ambos métodos resultaron adecuados para cuantificar el nivel de población de las chinches en el campo (Kamminga, 2008). El muestreo con red entomológica

consiste en contar la cantidad de individuos que se recolectan luego de 25 golpes de red y el muestreo con paño horizontal consiste en golpear las plantas contenidas en ambos surcos laterales sobre un paño de un metro de longitud que se coloca en la entre-fila. Posteriormente, con los cambios tecnológicos ocurridos en el sistema productivo (cambio de cultivares, siembra directa y espaciamiento entre líneas) se recomendó el paño vertical (Drees y Rice, 1985), que resultó más eficiente que el método anterior (Stürmer *et al.*, 2012). Comparaciones realizadas de los diferentes métodos relativos de muestreo: paño horizontal, paño vertical y red entomológica, cotejados con un método de muestreo de densidad absoluta en soja, demostraron que el paño vertical es la técnica de muestreo más eficiente y precisa para el muestreo de lepidópteros, hemípteros fitófagos y predadores que habitan el follaje del cultivo de soja en siembra directa y con menor espaciamiento (menor o igual a 0,52 m) (Guedes *et al.*, 2006; Gamundi, 1995).

1.1.1.4. Umbrales de acción para el control químico

La presencia de las chinches en el cultivo de soja está directamente relacionada con la aparición de las vainas, momento en que salen de diapausa o migran hacia la soja desde hospederos alternativos, incrementando progresivamente la densidad durante la fase reproductiva, aunque en ciertos casos pueden colonizar el cultivo hacia fines de la etapa vegetativa e inicios de floración (Corrêa Ferreira y Panizzi, 1999). El período de mayor sensibilidad de la soja abarca el inicio del fructificación y el punto de máxima acumulación de materia seca en el grano (Panizzi *et al.*, 2000; Gazzoni, 1998; Brier y Rogers, 1991; Schumann y Todd, 1982; Vicentini y Jiménez, 1977).

La decisión del momento adecuado de control químico de chinches, al igual que el de otras plagas, se basa en el Nivel de daño económico (NDE) y el Umbral de daño económico (UDE) propuestas por Stern *et al.* (1959). Según este autor, el NDE es "la densidad poblacional mínima que puede causar daño económico", siendo el daño económico la cantidad de perjuicio que justificaría el costo de medidas artificiales de control. Southwood y Norton (1973) propusieron una ecuación

matemática que clarifica este concepto $C(a) = Y[s(a)] \times P[s(a)] - Y(s) \times P(s)$ donde: Y = rendimiento, P = precio por unidad de rendimiento, s = nivel del daño por la plaga, a = acción de control [$s(a)$] es el nivel de daño en cuanto es modificado por la acción de control y C = costo de la acción de control.

El Umbral de daño económico fue definido como "la densidad de población a la cual debe ser iniciada determinada acción de control para impedir que una creciente población de la plaga alcance un nivel de daño económico" (Stern *et al.*, 1959). Este índice depende del NDE, la fenología de la planta, el estado de desarrollo, la tasa de crecimiento y del daño da la plaga y de las demoras de tiempo asociadas a la práctica de control (disponibilidad de maquinaria). Algunos autores utilizaran los términos de Umbral de Acción (UA), Nivel de Acción (NA) y Umbral de Control o Tratamiento, en reemplazo del UDE (Pedigo *et al.*, 1986; Cancelado y Radcliffe, 1979).

En soja, los umbrales que se utilizan para decidir el control de chinches son muy bajos (Iannone, 2005) ya que éstas causan daño económico aún a bajas densidades (Zerbino, 2010) afectando directamente el rendimiento. Los umbrales utilizados dependen, entre otros factores, de la especie de chinche, su estado de desarrollo y el estado fenológico de la soja. En relación al potencial de daño según el estado de desarrollo, el primer estadio de *P. guildinii* permanece en grupos cerca del sitio de oviposición sin alimentarse (Panizzi y Slansky, 1985). Estudios realizados en *N. viridula* han demostrado que el primer estadio no se alimenta y el número de picaduras de las ninfas de cuarto y quinto estadio es similar al de los adultos (Bowling, 1980). En función de esta capacidad de perjuicio, los NDE y los UDE se definen teniendo en cuenta la densidad de adultos y ninfas a partir de tercer estadio, cuando tienen completamente desarrollado el aparato bucal y causan daños (Cruz Junior, 2004). En cultivos de soja destinados a la producción de semilla, los niveles tolerables son menores que en los destinados a cosecha de grano. En general, los umbrales para la toma de decisiones se reducen a la mitad en producción de semilla (Gamundi *et al.*, 2003; Iannone y Leiva, 1994; Panizzi *et al.*, 1979; Vicentini y Jiménez, 1977). En este caso, la ubicación de la lesión es más importante que el número de picaduras, ya que una picadura sobre el hipocótilo anula la germinación

mientras que varias lesiones en los cotiledones afectan el vigor, la sanidad y la emergencia (Jensen y Newsom, 1972).

Diversos estudios concuerdan en que el período crítico del daño de chinches en soja corresponde a la etapa comprendida entre los estados fenológicos R4 (plena fructificación; plantas con al menos una vaina de 2 cm en alguno de los cuatro nudos superiores) hasta R5.5 (llenado de granos; 75-100% de llenado de granos) (Boethel *et al.*, 2000; Corrêa Ferreira y Panizzi, 1999; Brier y Rogers 1991; McPherson *et al.*, 1979; Panizzi *et al.*, 1979; Todd y Turnipseed 1974; Daugherty *et al.*, 1964).

Los umbrales de daño recomendados en el sur de Estados Unidos varían entre 3 y 3,3 chinches por metro (Catchot, 2008; Boethel *et al.*, 2000). Dada las dificultades para su control, el umbral usado en soja en Louisiana para *P. guildinii* es más bajo (6 individuos cada 25 golpes de red) que el usado para otras especies (9 insectos cada 25 golpes de red) (Baldwin *et al.*, 2009; Levy *et al.*, 2009). En Brasil, el umbral usado en la actualidad para el control de chinches desde R3 hasta R5.5 es de 2 individuos por metro en cultivos destinados a la producción de grano y de 1 individuo por metro cuando se destina a la producción de semilla (Bueno *et al.*, 2013). Estudios recientes en dicho país, determinaron que los umbrales establecidos para control de chinches en soja siguen vigentes y no varían con el hábito de crecimiento del cultivar evaluado (Bueno *et al.*, 2015).

En Argentina, Iannone y Leiva (1994) definieron diferentes umbrales de daño según especie y estado fenológico, sugiriendo para *N. viridula* durante R3, R4, R5 y R6: 0,8; 1; 1,8 y 7-8 individuos por metro respectivamente y 0,5; 0,7; 1 y 4 chinches por metro para *P. guildinii* durante los mismos períodos, cuando el cultivo era destinado a producción de grano. Posteriormente Gamundi *et al.* (2003) definieron umbrales de control diferentes según hábito de crecimiento y espaciamiento entre surcos, recomendando para el período que abarca R1-R6: 0,4; 0,7 y 1 chinches por metro respectivamente para espaciamientos de 26-35, 52 y 70 cm para grupos de madurez cortos (GM III, IV y V) y el doble para grupos de madurez largos (GM VI y VII). Estos mismos autores definieron para el período R6-R7: 1,2;

En Uruguay, el umbral de tratamiento recomendado para cultivares del grupo de madurez V es de entre 1 y 1,5 individuos mayores de 0,5 cm por metro de surco (Zerbino, 2010); sin embargo, la mayoría de los productores se guían por los citados umbrales recomendados para Argentina, considerablemente más bajos.

1.2. ENEMIGOS NATURALES EN EL CULTIVO DE SOJA

En la naturaleza es frecuente el control ejercido por insectos y otros artrópodos, con potencial de mantener en niveles razonablemente bajos las poblaciones de numerosas insectos y ácaros fitófagos. En los agroecosistemas, el mantenimiento de predadores, parasitoides y entomopatógenos es de fundamental importancia como factor de equilibrio dinámico de las poblaciones de especies de artrópodos plagas (Degrande *et al.*, 2002; Parra, 2000). Los enemigos naturales disminuyen la necesidad de intervención del hombre en el control de plagas, pero en la agricultura actual, solamente en algunas situaciones pueden ejercer un control eficaz sin la complementación de insecticidas (Degrande *et al.*, 2002).

Las chinches son atacadas por una variedad de enemigos naturales, incluidos microorganismos, parasitoides y predadores (Panizzi, 1987). En el agroecosistema de soja en particular, los enemigos naturales presentes no son eficientes para mantener las poblaciones de chinches por debajo de los umbrales de acción durante todo el ciclo del cultivo (Ribeiro, 2007), pero sí ejercen un rol importante en la primera etapa de colonización de la plaga retrasando el momento de la primera aplicación. Por otro lado, la acción de los biocontroladores en este cultivo resulta clave para mantener el nivel de las poblaciones de otros insectos y ácaros fitófagos, manteniendo a las plagas secundarias (tisanópteros y ácaros fitófagos) por debajo de los umbrales de daño económico tanto en soja como en pasturas forrajeras y otros cultivos en los cuales ciertos enemigos naturales son compartidos (Ribeiro, 2010).

Debido a una combinación de gran movilidad y susceptibilidad a bajas concentraciones de insecticidas, parasitoides y predadores pueden ser más afectados por insecticidas persistentes que sus presas u hospederos (Boyd y Boethel, 1998).

Dada la mencionada potencialidad de los enemigos naturales para el control de plagas, resulta fundamental implementar el uso de prácticas racionales efectivas que puedan ser utilizadas en estrategias de manejo integrado de plagas, combatiendo los insectos plaga y al mismo tiempo, preservando los organismos benéficos.

1.2.1. Predadores

Dentro del complejo de predadores asociado al cultivo dela soja, generalmente predominan los hemípteros y las arañas, quienes podrían ser responsables de hasta un 90 % de la predación de insectos del cultivo (Aaron y Yeargan, 1998). En Brasil, Gazzoni *et al.* (1999) citan a *Orius* sp., *Callida* sp., návidos, geocóridos y arácnidos como los grupos más frecuentes en parcelas experimentales. En dicho país, los predadores más frecuentes en soja fueron *Tropiconabis capsiformis* (Germar), *Tropiconabis* spp., *Nabis* sp., *Geocoris ventralis* (Fieber), *Geocoris* spp., *Orius* sp., *Podisus nigrispinus* (Dallas), *Chrysoperla* sp., *Cycloneda sanguinea* (L.) y arácnidos (Corso *et al.*, 1999; Medeiros *et al.*, 1998; Panizzi y Corrêa Ferreira, 1997). En Uruguay Ribeiro (2010) cita a las arañas como el grupo más abundante además de *T. capsiformis*, *Orius tristicolor* y *Orius insidiosus*, *Eriopis connexa*, *C. externa*, *Geocoris pallipes* y véspidos. Ribeiro y Castiglioni (2008) encontraron en soja, aproximadamente un 10% de predación de huevos de chinches asociados a *G. pallipes*, *T. capsiformis*, *O. tristicolor*, *O. insidiosus* y larvas de Chrysopidae. La importancia de los artrópodos predadores radica principalmente en la gran voracidad y la amplia diversidad de especies presa (Corrêa Ferreira *et al.*, 1984a, 1984b). Sin embargo, según Panizzi y Slansky (1985), la referencia a predadores en el control de plagas son escasas debido fundamentalmente a su dieta polífaga, que lleva a que sea difícil asociar a determinado predador con una presa específica.

1.2.2. Parasitoides

Los parasitoides predominantes del cultivo de soja pertenecen a los Órdenes Diptera (Tachinidae) e Hymenoptera (Braconidae, Chalcididae, Ichneumonidae y Platygastoridae) (Corrêa Ferreira, 1986; Corrêa Ferreira, 1979). Los parasitoides de huevos son considerados los principales enemigos naturales de los pentatómidos,

constituyendo en muchos casos los agentes de mortalidad más importantes de este grupo de insectos (Corrêa Ferreira, 2002; Pacheco y Corrêa Ferreira, 2000). Los más frecuentes son microhimenópteros de la familia Platygastriidae (Austin *et al.*, 2005; Pacheco y Corrêa Ferreira, 2000; Corrêa Ferreira, 1986). En Uruguay, las especies encontradas en posturas de *P. guildinii* fueron *Telenomus podisi*, *Trissolcus basalis* y *Trissolcus brochymenae* (Castiglioni *et al.*, 2010; Ribeiro, 2007; Ávila, 2006). Estos parasitoides atacan huevos de distintas especies de chinches (Sujii *et al.*, 2002). Este comportamiento favorece su uso como agente de biocontrol en soja, donde diversos pentatómidos ocurren simultáneamente (Corrêa Ferreira, 2002), ya que sus poblaciones logran mantenerse y crecer utilizando varias especies como hospederos alternativos (Thomas Jr., 1972).

Otras especies de parasitoides en Uruguay resultan claves para el control de lagartas defoliadoras, tal es el caso de *Copidosoma trucantellum* (Dalman) (Hymenoptera: Encyrtidae), principal enemigo natural de *Rachiplusia nu* (Chiaravalle, 1996). Los taquínidos cumplen un papel importante en la disminución de poblaciones de lepidópteros (Bentancourt y Scatoni, 2001) y Ribeiro *et al.* (2015) citan a *Trathala* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae) como parasitoide de *Crocidosema aporema*.

1.2.2.1. *Telenomus podisi* (Ashmead) (Hymenoptera: Platygastriidae)

En Uruguay, al igual que en Brasil, *T. podisi* es el parasitoide más frecuente de *P. guildinii* (Ribeiro, 2007; Godoy *et al.*, 2005; Pacheco y Corrêa Ferreira, 2000), pudiendo lograr desde 10 a 100% de parasitismo (Castiglioni *et al.*, 2010; Ribeiro, 2007; Godoy y Ávila, 2000; Panizzi y Smith, 1976). Este parasitoide se encuentra presente desde los primeros estadios de la soja y puede lograr un alto porcentaje de parasitismo de huevos, aunque comúnmente no impide que *P. guildinii* alcance los umbrales de daño económico habitualmente usados (Ribeiro, 2007).

1.2.3. Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos son los microorganismos más frecuentemente asociados con los insectos y ácaros plaga en soja (Sosa Gómez *et al.*, 2001). En condiciones normales *Nomuraea rileyi* puede controlar más del 90 % de las poblaciones de ciertos lepidópteros plaga, como *Anticarsia gemmatalis* (Moscardi, 1984), lepidóptero que también es afectado por *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ángel Sahagún *et al.*, 2005). *Lecanicillium* spp. afecta al nemátodo del quiste de dicho cultivo (*Heterodera glycines*) (Meyer *et al.*, 1997) y *L. attenuatum* es un eficiente controlador natural de áfidos y aleyródidos en diversos cultivos (Hall, 1981). Dado el potencial que presentan para el control de plagas, se han desarrollado numerosos productos comerciales en base a estos microorganismos (Alves y Pereira, 1989; McCoy y Couch, 1982). Recientemente se ha registrado una formulación comercial de *Lecanicillium lecanii* (Lecafol) en Uruguay (Paullier, 2013).

Las chinches, entre tanto, son naturalmente resistentes a las infecciones por hongos entomopatógenos, debido a un aldehído que forma parte de las sustancias de defensa y actúa como agente antimicótico (Sosa Gómez *et al.*, 1997). Sin embargo, aunque en porcentajes bajos, las poblaciones de *Nezara viridula* son infectadas naturalmente por hongos, especialmente *Metarhizum anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin y *B.bassiana* (Sosa Gómez y Moscardi, 1998). En Brasil, *P. guildinii* es afectada naturalmente por *B. bassiana* (Tonet y Salvadori, 2002). Estudios realizados en ambas especies *P. guildinii* presentó mayor susceptibilidad a *B. bassiana* y *M. anisopliae* en comparación con *N. viridula* (Sosa Gómez y Moscardi 1998, Sosa Gómez y Alves 2000). En Uruguay, Castiglioni *et al.* (2006) encontraron que este hongo afectó en condiciones naturales al 0,09 % de ninfas y 0,27 % de adultos de *P. guildinii*. Sosa Gómez y Moscardi (1998) evaluando aislamientos de *M. anisopliae* y *B. bassiana* en condiciones de campo, lograron un nivel de infección de 48 %, en *P. guildinii*, al día 30 post aplicación. En inoculaciones artificiales de *B. bassiana* en condiciones controladas de laboratorio (90% HR y 22°C) se obtuvieron porcentajes de esporulación del 100 % en ninfas de quinto ínstar y adultos de *P. guildinii* (Sosa Gómez y Alves 2000).

1.3. INSECTICIDAS DISPONIBLES PARA EL CONTROL DE CHINCHES EN SOJA

El control de chinches fitófagos en soja a nivel mundial se basa exclusivamente en el uso de insecticidas cuya eficacia es variable. Generalmente se utilizan productos de amplio espectro de acción y en altas dosis, dada la baja susceptibilidad de estos insectos (Zerbino y Alzugaray, 2003; Alzugaray y Ribeiro, 2000), ocasionando un impacto negativo en el medio ambiente y afectando particularmente a especies no objetivo (Castiglioni, 2004). Por otra parte, existe una baja disponibilidad de insecticidas eficaces, lo que obliga a la realización de aplicaciones repetidas con los mismos productos u otros que poseen igual modo de acción, aumentando la presión de selección sobre las poblaciones de estos insectos induciendo la generación de resistencia y por ende la pérdida de eficacia de dichos agroquímicos.

Hasta el año 2004, el único principio activo disponible para el control de chinches en el país era el endosulfán, insecticida ciclodieno organoclorado (IRAC, 2015), que presentaba baja selectividad hacia especies benéficas. A partir del año 2002, fueron detectadas fallas en la eficacia de control de este insecticida y estudios posteriores constataron cambios de susceptibilidad generados en poblaciones de *P. guildinii* expuestas a una alta presión de selección provocadas por el uso repetido de este insecticida (Castiglioni *et al.*, 2008). La elevada persistencia del endosulfán y su alta toxicidad para animales de sangre caliente, determinaron que a partir del año 2007 el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP, 2007) restringiera su uso y posteriormente, por decreto del Poder Ejecutivo (MVOTMA, 2011), este insecticida fue prohibido para cualquier tipo de uso en todo el territorio nacional.

Actualmente, existen otras alternativas para el manejo de esta plaga basadas en productos mezcla de neonicotinoides o carbamatos con piretroides. Adicionalmente, existe registros vigentes para triclorfón y acefato, insecticidas pertenecientes al grupo de los organofosforados, de relativa baja persistencia y que presentan modo y sitio de acción diferentes a los anteriores, resultando en una alternativa interesante para la

rotación de principios activos. En otros países de la región, se han registrado productos en base a spirotetramato, principio activo perteneciente al grupo de los ácidos tetrónicos, que actúa inhibiendo la síntesis de lípidos y que presenta doble sistemia (vía xilema y floema) (Kühnhold *et al.*, 2008).

En los predios comerciales, debido a los bajos umbrales de acción definidos para el control de chinches, es común realizar una, dos y hasta tres aplicaciones con insecticidas mezcla de neonicotinoides y piretroides. En concordancia con este empleo, en los últimos años se han registrado en el país numerosas formulaciones constituidas por combinaciones de dicha mezcla en diferentes concentraciones [ej. tiametoxan (141gr/l) + lambdacialotrina (106 gr/l), tiametoxan (110 gr./l) + deltametrina (50gr./l), imidacloprid (200 gr/l) + lambdacialotrina (100 gr/l), imidacloprid (100 gr/l) + beta-ciflutrina (12,5 gr/l), Imidacloroprid (100 gr/l) + bifentrin (30gr/l)] (MGAP-DGSSAA 2015). Si bien estos productos provienen de distintos fabricantes y son formulados con diferentes principios activos, están constituidos por los mismos dos grupos químicos y, por ende, presentan la misma combinación de modos de acción: los neonicotinoides son agonistas de los receptores postsinápticos nicotinérgicos de la acetilcolina y los piretroides son moduladores de los canales de sodio en las membranas de las neuronas (Yu, 2014). Por este motivo, la realización de aplicaciones sucesivas con estos insecticidas, favorece el desarrollo de resistencia de los insectos (Omoto, 2000) y ello conduce a la pérdida de eficacia de los mismos.

En la actualidad existe a nivel nacional información acerca de la eficiencia en el uso de los insecticidas comúnmente utilizados para el control de *P. guildinii* en soja (Zerbino, 2008). Los trabajos disponibles acerca del impacto de los mismos sobre los enemigos naturales son limitados y, en muchos casos, pertenecen a empresas privadas (Binnewies y Giani 2006).

1.4. OBJETIVOS

El objetivo general del presente trabajo fue:

Contribuir a la sustentabilidad del agro-ecosistema de soja en Uruguay mediante la evaluación de la eficacia de insecticidas en el control de chinches y el impacto sobre enemigos naturales.

Siendo los objetivos específicos:

1. Evaluar a campo la efectividad de los insecticidas tiametoxan+lambdacialotrina, imidacloprid+betacyflutrina, acetamiprid+cipermetrina, imidacloprid+carbaril, tiametoxan, imidacloprid, tiametoxan+spirotetramat y triclorfón en el control de chinches en soja.
2. Determinar a campo el impacto de estos insecticidas sobre artrópodos predadores presentes en el follaje.
3. Determinar la toxicidad de dichos insecticidas sobre larvas de *Telenomus podisi* desarrollándose en huevos de *Piezodorus guildinii*, a campo y en laboratorio.
4. Evaluar *in vitro* el efecto de los insecticidas tiametoxan+lambdacialotrina, imidacloprid+betacyflutrina, tiametoxan y triclorfón sobre el crecimiento micelial y la producción de conidios de *Beauveria bassiana* (ILB 204) y *Lecanicillium attenuatum* (ILB 257).

La estructura central de la tesis está integrada por dos artículos científicos. El primer artículo reúne los tres primeros objetivos, “**Effectiveness of insecticides against soybean stink bugs and side-effects on *Telenomus podisi* and generalist predators**”, constituye el segundo capítulo y se enviará a la revista Journal of Applied Entomology. El segundo artículo corresponde al cuarto objetivo, “**Compatibilidad de *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium attenuatum* con insecticidas comúnmente usados en soja**”, constituye el tercer capítulo y será enviado a la revista Agrociencia Uruguay.

EFFECTIVENESS OF INSECTICIDES AGAINST SOYBEAN STINK
BUGS AND SIDE-EFFECTS ON *Telenomus podisi* AND GENERALIST
PREDATORS

S. L. Abbate^{1,2,*}, A. F. Ribeiro², H. Silva², O. Bentancur³ and E. Castiglioni^{4,2}.

¹ Polo Agroalimentario y Agroindustrial Paysandú. Centro Universitario Paysandú. Universidad de la Repùblica. Ruta 3 km 363. 60000 Paysandú. Uruguay

² Departamento de Protección Vegetal. Facultad de Agronomía. Est. Exp. “Dr. Mario A. Cassinoni”. Universidad de la Repùblica. Paysandú. Uruguay

³ Departamento de Estadística. Est. Exp. “Dr. Mario A. Cassinoni”. Facultad de Agronomía. Universidad de la Repùblica. Paysandú. Uruguay

⁴ Centro Universitario de la Región Este. Universidad de la Repùblica. Rocha. Uruguay

*Corresponding Author: Tel 00598 47227950. E-mail: abbate@fagro.edu.uy

Short title: Effectiveness and side-effects of insecticides on soybean insects

2.1. SUMMARY

Stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) are a major pest of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. Natural control agents are not able to reduce populations to acceptable levels so complementation with selective insecticides becomes necessary for integrated pest management. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of thiamethoxam+lambda-cyhalothrin, imidacloprid+beta-cyfluthrin, acetamiprid+cypermethrin, imidacloprid+carbaryl, trichlorfon, thiamethoxam, imidacloprid and spirotetramat+thiamethoxam on the control of phytophagous stink bugs and their impact on the egg parasitoid *Telenomus podisi* (Ashmead) (Hymenoptera: Platygastridae) and generalist predators under field and laboratory conditions. In two years, effectiveness of control and impact on predators were assessed in soybean small-plot field trials until 18 days after insecticide spraying. The side-effects of insecticides on the emergence of *T. podisi* larvae were tested after 20 days, at laboratory and field conditions. In laboratory, parasitized eggs of *Piezodorus guildinii* (Westwood) were dipped for five seconds in pesticide solutions at recommended concentrations. In field, during two years, masses of parasitized egg were pinned to soybean pods at small field-plots and returned to the laboratory 24 h after exposure to insecticide sprays. Thiamethoxam+lamda-cyhalothrin presented the highest control of stink bugs but negatively affected generalist predators. Adult emergence of *T. podisi* in laboratory was significantly lower when exposed to trichlorfon, imidaclorpid+carbaryl and the mixtures of neonicotinoids and pyrethroids. In contrast, under filed conditions, insecticides at recommended dose for stink bugs control no affect *T. podisi* emergence.

Key words: Hemiptera: Pentatomidae, *Piezodors guildinii*, IPM, Hymenoptera: Platygastridae, biological control.

2.2. INTRODUCTION

Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] is the primary oilseed crop consumed in the world (Wilcox 2004). Stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) are considered a major pests of this crop in many countries (Turnipseed and Kogan 1976, Panizzi and Slansky 1985). Pentatomids directly affect crop productivity, causing yield losses and reduction in grain quality and germination (Daugherty et al. 1964, Todd and Turnipseed 1974, McPherson et al. 1979). Among the stink bugs complex, the redbanded stink bug, *Piezodorus guildinii* (Westwood) is the most harmful species to soybean seeds in South America (Corrêa Ferreira and Azevedo 2002).

The control of stink bugs in soybean is based exclusively on the use of insecticides that have variable effectiveness. The high doses required due to the low susceptibility of stink bugs (Temple 2011) and the broad spectrum of action of the products (pyrethroid component) commonly used, cause a negative impact on non-target species such as parasitoids and predators, who play an important role in regulating the populations of secondary pests of this and other crops whose beneficial species are shared (Bentancourt and Scatoni 2001). Among the beneficial insects present in soybean, *Telenomus podisi* (Ashmead) (Hymenoptera: Platygastriidae) is a solitary egg parasitoid who limits the numerical increase of *P. guildinii* in the Neotropical region (Corrêa Ferreira and Moscardi 1995, Ribeiro and Castiglioni et al. 2008, Castiglioni et al. 2010). Despite the importance of biological methods for insect control, the use of insecticides is still necessary within the current agricultural system. In this context, multiple tactics have been stressed within the integrated pest management (IPM) concept, demonstrating that when pesticides are used in a compatible manner, the effectiveness of biological control methods may be improved (Croft 1990).

Limited information exists on the susceptibility of *P. guildinii* (Baur et al. 2010) and other stink bugs to insecticides. Good control efficacy of certain combinations of neonicotinoids and pyrethroids has been reported (Baur et al. 2010), but the repeated use of these products may promote the selection of resistant populations. Scarce literature is available about their effects on beneficial insects in field conditions but it

would be expected that the pyrethroid component of commercial formulations may impact negatively on natural enemies present at soybean agroecosystem. There is much information about toxicity bioassays on certain beneficial species but relatively few studies have been carried out on parasitoids belonging to the genus *Telenomus*. The combinations of imidacloprid+beta-cyfluthrin, the pyrethroids gamma-cyhalothrin and bifenthrin and the organophosphates, acephate and chlorpyrifos were harmful to *Telenomus remus* (Nixon) adults that had contacted dry insecticide residues at bioassays (Carmo et al. 2010). *T. podisi* developing in *Euschistus servus* (Say) showed significant mortality when exposed to lambda-cyhalothrin and thiamethoxam both at laboratory and field bioassays (Koppel et al. 2011).

The hypothesis is that mixtures of neonicotinoids and pyrethroids would negatively affect natural enemies. Instead, neonicotinoids alone (in higher doses) or their mixtures with carbamates or spirotetramat could be effective and selective for beneficial fauna, as well as trichlorfon alone, which also may be useful to rotate the mode of action and reduce the selection pressure for resistance. The first aim of this study was to evaluate the effectiveness of different insecticides on the control of phytophagous bugs and their impact on soybean generalist predators in field conditions. The second objective was to determine, under laboratory and field conditions, the toxicity of these insecticides on larvae of *T. podisi* developing in *P. guildinii* eggs.

2.3. MATERIAL AND METHODS

2.3.1. Control efficacy of insecticides and side-effects on generalist predators

In 2012, a field trial was installed on an experimental soybean area (cv. Don Mario 6.2i) at Paysandú ('Dr Mario A. Cassinoni' Experimental Station, 58°03'W, 32°55'S), planted in December 2011, at 35 cm row spacing. In 2013 another field trial was installed on a commercial crop of soybean (cv. IPB 6001) planned for grazing, at Pueblo Gallinal (57°29', 31°50'S), planted in November 2012, at 35 cm row spacing. Experiments were installed when plants reached the full pod stage of

development (R5) (Fehr and Caviness 1977). Plot size was 4 x 10 m, in both experiments, with four repetitions, arranged in design randomized complete block experimental. Insecticides were applied with an experimental CO₂ sprayer (Herbicat® Ltda., São Paulo, Brazil), equipped with flat fan nozzles (XR TeeJet®), in a spray volume of 110 L/ ha.

Number and species of phytophagous stink bugs were determined. Only nymphs of 3rd, 4th and 5th instar and adults were considered for effectiveness evaluation, because from 3rd instar they have fully developed mouthparts and cause damage (Cruz Junior 2004). Number of generalist predators was recorded (insects considered at the lowest taxa level possible and spiders as a unique group), discriminating adults and immature. Samples of one linear meter were taken before the application of the insecticides, and two (three during 2013), six, ten, 15 and 18 days after spraying with a sampling cloth (Drees and Rice 1985) and repeated three times per plot. With this sampling method only foliage predators could be recorded. To calculate control efficacy, mortality of pentatomids was corrected using the formula proposed by Henderson and Tilton (1955).

2.3.1.1. Insecticides

Eight treatments, including commercially available formulations of one or two active ingredients, were evaluated (Table 1). Doses were those recommended in commercial labels for stink bug control on soybean. Control corresponded to unsprayed plots.

2.3.1.2. Statistical analysis

Since the variables studied (number of stink bugs per meter, insect predators, spiders, and insect predators plus spiders per meter) have Poisson or Negative binomial distribution, a generalized model with repeated measures over time was used, with logarithm as link function and modeling error correlations and variances to choose the best fit, by applying the following model $\ln \mu_{ijk} = \beta_0 + \zeta_i + \beta_j + \delta_k + \zeta \delta_{ik}$. Where ζ_i was insecticide effect, β_j block effect and δ_k day effect. Data were analyzed using GLIMMIX procedure of the statistical software SAS version 9.2, (SAS

Institute, Cary, NC). Means were compared using Dunnett's test and considered significantly different if P<0.05.

Table 1. Trademark, formulations, active ingredients, chemical groups and dose per hectare of insecticides assessed for effectiveness on stink bugs control and side-effects on egg parasitoid *Telenomus podisi* and generalist predators

Insecticides Trade mark	Formulation**	Active ingredient (a.i.)		Chemical group		Dose (g a.i./ha)	
		1	2	1	2	1	2
Engeo	247 SC	thiamethoxam	lambda-cyhalothrin	Neonicotinoid	Pyrethroid	28.2	21.2
Imitrin	115 SC	imidacloprid	beta-cyfluthrin	Neonicotinoid	Pyrethroid	60.0	9.0
NC*/Twister	20 SL/25 EC	acetamiprid	cypermethrin	Neonicotinoid	Pyrethroid	54.0	25.0
Ariete	SC	imidacloprid	carbaryl	Neonicotinoid	Carbamate	93.7	562.5
Triclocib	500 SL	trichlorfon		Organophosphate		750.0	
Escorial	25 SC	thiamethoxam		Neonicotinoid		56.4	
Spingard	35 F	imidacloprid		Neonicotinoid		150.0	
NC*/Escorial	100 SC/25 SC	spirotetramat	thiamethoxam	Cetoenol	Neonicotinoid	30.0	28.2

*NC: not registered in Uruguay.

**SC: suspension concentrate, SL: soluble concentrate, EC: emulsifiable concentrate, F: flowable liquid

2.3.2. Insecticide toxicity on *Telenomus podisi* under field and laboratory conditions

2.3.2.1. Parasitoid culture

Piezodorus guildinii eggs parasitized by *T. podisi* were used in this study. Host eggs were obtained from a laboratory colony of stink bugs under controlled conditions ($25 \pm 0.5^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ HR and 16:8 L:D) and fed with green pods of *Phaseolus vulgaris* (L.) and *Glycine max* (L.) pre hydrated beans. To obtain parasitoids, *T. podisi* founders were field collected from *P. guildinii* parasitized eggs. Parasitized eggs were placed in glass tubes (40 x 10 mm) with a few drops of honey in a rearing chamber ($26 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ HR and 16:8 L:D) until parasitoid emergence. Emerged female adults were allowed to copulate and then 2-3 days old eggs masses of *P. guildinii* were offered to continue multiplying the laboratory colony.

2.3.2.2. Laboratory bioassays

Mated female adults of *T. podisi* were individually isolated in glass tubes (50 x 10 mm) and honey fed. These females were offered newly laid *P. guildinii* eggs (embryos killed with UV) glued with arabic gum on 1 cm² of a white paper card (each egg mass with approximately 15 eggs) for a period of 24 hours. After parasitism, used females (alive) were discarded and the egg cards were transferred to clean vials (50 x 10 mm). These cards were held at the same controlled conditions described above for 72 hours to stimulate the development of *T. podisi* to the second larvae stage, when the different treatments were applied.

The side-effects of the same insecticides, at the same doses tested in field conditions (Table 1) were used for laboratory bioassays, using distilled water as a control. Insecticide solutions were prepared in 1.5 l of distilled water in an equivalent proportion to commonly used field volume of 110 l per hectare. After formulation, 500 ml of each insecticide solution were poured into separate jars. Egg masses in each repetition were randomly assigned treatment levels, in a randomized complete block experimental design, and were dipped for 5 seconds in the insecticide solutions, according to the method described by Cônsoli et al. (1998). After dipping, the cards were kept on filter paper at room temperature until the excess of liquid dried, and were then transferred to clean vials and kept in a rearing chamber.

Vials containing parasitized eggs treated, as described above, were monitored daily for parasitoid emergence over 20 days. *T. podisi* adults generally emerged from eggs 14 days after the beginning of parasitation. On the 20th day after the initial parasitism, emergence of parasitoids was assessed under a binocular microscope and recorded. Eggs that failed to yield wasps were dissected to determine whether they had reached or not an advanced developmental stage. According to Bayram et al. (2010) eggs with dead adults or immature parasitoids remaining inside, as well as eggs with partially chewed exit holes, were considered as failed emergence. Each treatment was replicated ten times, and complete bioassays were repeated three times. In total, 3585 parasitized *P. guildinii* eggs were dipped in insecticides in the

laboratory bioassays (1195 ± 247 per assay) and additional 457 parasitized eggs were used in total as control (152 ± 28.7 per assay).

2.3.2.3. Field experiments

Field experiments were conducted to assess the selectivity of insecticides to *T. podisi* in 2012 and 2013 at ‘Dr Mario A. Cassinoni’ Experimental Station, Paysandú. During 2012, the evaluation was performed in three blocks at the experiment designed to test the effectiveness of insecticides described previously. In 2013, a plot experiment (experimental units 40 x 10 mm) with three replicates, arranged in a randomized complete block experimental design, was installed in soybean (Don Mario 6,2i RR) planted on December 2012. Blocks were separated by one meter wide line. Each plot within a block was randomly assigned a treatment. The same insecticides evaluated at the experiment designed to test their effectiveness were used (Table 1). Plots without application were the control groups. Experiments were installed when plants reached the full pod stage of development R5 (Fehr and Caviness 1977). *P. guildinii* eggs were parasitized in the same way as described for the laboratory test. Parasitized eggs were brought to the field when parasitoids reached the second larval stage. A *P. guildinii* egg mass on 1 cm² of a white paper card was pinned in a soybean pod of the middle top of the canopy two hours before the spray. After 24 h, egg masses were retrieved, placed individually into a glass tube (40 x 10 mm), and maintained in a growth chamber. After 20 days, parasitoid emergence was assessed in the same way as described for laboratory bioassay. There were 1314 parasitized *P. guildinii* eggs during 2012 (146 ± 9.7 per treatment) and 2118 during 2013 (235 ± 10.7 per treatment). Each treatment repetition consisted of four (2012) and six (2013) *P. guildinii* egg masses, and there were three repetitions per treatment group each year.

2.3.3.4. Statistical analysis

Statistical analyses of laboratory and field trials data were done by using generalized linear modeling with the GLIMMIX procedure of the statistical software SAS version 9.2 (SAS Institute, Cary, NC). The three laboratory experiments were analyzed together assuming binomial distribution of emerged individuals in relation

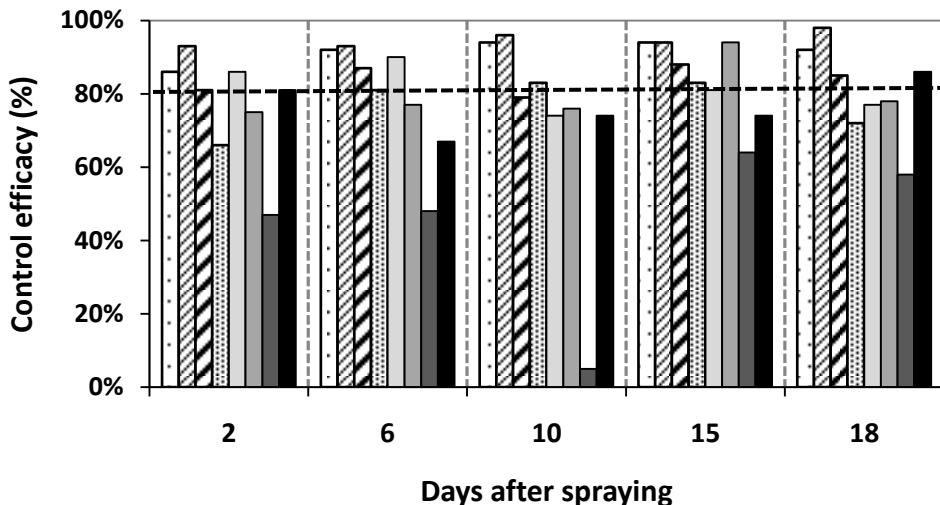
to total eggs. The following model with a *logit* link function was used $\ln(P/P_1 \cdot P) = \beta_0 + \zeta_i + \epsilon_j + \zeta \epsilon_{ij}$ for laboratory tests, where ζ_i was insecticide effect and ϵ_j experiment effect. The same model was used for field experiments but included block effect (β_j) nested in experiment. Means were compared using Tukey-Kramer's test and considered significant if $P < 0.05$.

2.4. RESULTS

2.4.1. Control efficacy of stink bugs

In 2012, the experiment was installed with an average of 3.1 (± 0.5) stink bugs (nymphs of 3rd, 4th and 5th stage and adults) per linear meter. In 2013, the experiment was installed with a population density of 6.5 (± 0.5) individuals per linear meter. Prior to insecticide application, phytophagous stink bugs complex during 2012 was conformed of 53% *P. guildinii*, 17% *Nezara viridula* (L.), 17% *Edessa meditabunda* (F.) and 13% *Dichelops furcatus* (F.) while in 2013, the predominant stink bug was *P. guildinii* (92%), and 6% and 2% corresponded to *D. furcatus* and *E. meditabunda*, respectively. No *N. viridula* specimens were found at any sample during 2013.

a)



b)

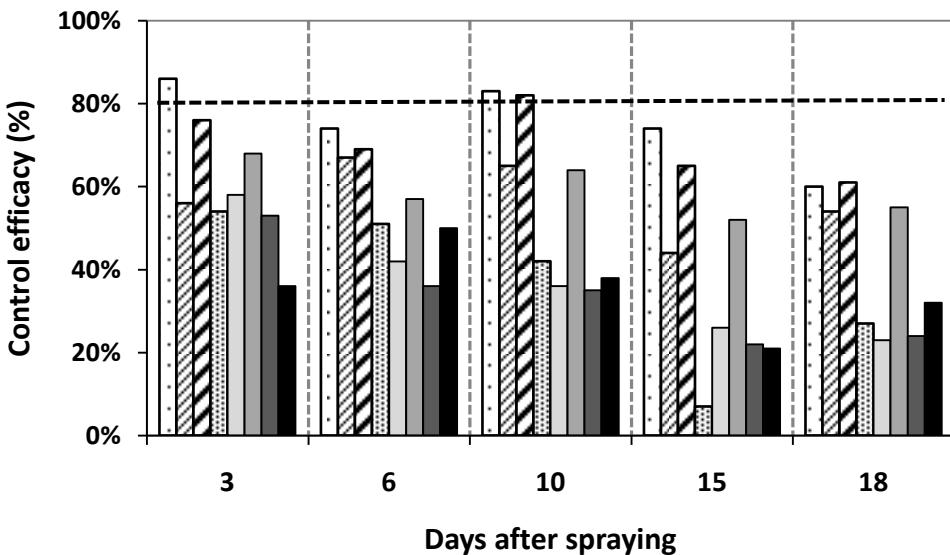


Figure 1. Stink bugs (Adults and nymphs >0.5 cm) control efficacy in soybean under field conditions. Data corrected by Henderson and Tilton (1955). a) Site 1, 2012. b) Site 2, 2013. Thiamethoxam+lambda-cyhalothrin (□); Imidacloprid+beta-cyfluthrin (▨); Acetamiprid+cypermethrin (▨); Imidacloprid+carbaryl (▨); Trichlorfon (□); Thiamethoxam (▨); Imidacloprid (■); Spirotetramat+thiamethoxam (■)

- - Minimum satisfactory efficacy rate for stink bugs in soybeans (Borges and Lourençao 2004)

Table 2. Average number of stink bugs (Adults and nymphs \geq 3rd. instar, Mean \pm SE) per meter, before spraying (bs) and at different days after spraying (das) of different insecticides in two consecutive years (2012 and 2013) at soybean field experiments

Insecticides	2012							2013						
	bs	2das	6das	10das	15das	18das	Average	bs	3das	6das	10das	15das	18das	Average
Control	2,3 \pm 1,3	4,0 \pm 1,7	6,9 \pm 2,3	6,1 \pm 2,2	7,7 \pm 2,4	8,1 \pm 2,5	5,4 \pm 1,9	7,4 \pm 1,7	11,8 \pm 2,2	10,5 \pm 2,0	12,1 \pm 2,2	12,4 \pm 2,2	14,8 \pm 2,4	11,2 \pm 1,6
Imidacloprid	1,7 \pm 1,1	1,6 \pm 1,1	2,7 \pm 1,4	4,4 \pm 1,8	2,1 \pm 1,2	2,6 \pm 1,4	2,4 \pm 1,2	7,0 \pm 1,7	5,2 \pm 1,4	6,3 \pm 1,6	7,5 \pm 1,7	9,1 \pm 1,9	10,5 \pm 2,0	7,4 \pm 1,3
Spirotetramat + thiamethoxam	4,1 \pm 1,8	1,3 \pm 1,0	4,0 \pm 1,7	2,8 \pm 1,5	3,6 \pm 1,7	2,0 \pm 1,2	2,8 \pm 1,3	5,9 \pm 1,5	6,0 \pm 1,5	4,1 \pm 1,3	6,0 \pm 1,5	7,9 \pm 1,8	8,0 \pm 1,8	6,2 \pm 1,2
Thiamethoxam	3,1 \pm 1,5	1,3 \pm 1,0	2,1 \pm 1,3	2,0 \pm 1,2	0,7 \pm 0,7	2,4 \pm 1,3	1,7 \pm 1,1	7,5 \pm 1,7	3,9 \pm 1,2 *	4,6 \pm 1,3	4,4 \pm 1,3 *	5,8 \pm 1,5	6,7 \pm 1,6	5,3 \pm 1,1
Trichlorfon	3,5 \pm 1,6	0,8 \pm 0,8	1,1 \pm 0,9	2,5 \pm 1,4	2,2 \pm 1,3	2,8 \pm 1,5	1,9 \pm 1,1	5,3 \pm 1,5	3,6 \pm 1,2 *	4,4 \pm 1,3	5,6 \pm 1,5	6,6 \pm 1,6	8,1 \pm 1,8	5,4 \pm 1,1
Imidacloprid + beta-cyfluthrin	7,1 \pm 2,3	0,8 \pm 0,8	1,4 \pm 1,0	0,8 \pm 0,8	1,3 \pm 1,0	0,4 \pm 0,6	1,2 \pm 0,9	5,7 \pm 1,5	4,0 \pm 1,3 *	2,7 \pm 1,0 *	3,3 \pm 1,1 *	5,4 \pm 1,5	5,3 \pm 1,5 *	4,2 \pm 1,0 *
Imidacloprid + carbaryl	2,8 \pm 1,5	1,7 \pm 1,1	1,6 \pm 1,1	1,2 \pm 1,0	1,6 \pm 1,1	2,7 \pm 1,4	1,8 \pm 1,1	6,2 \pm 1,6	4,6 \pm 1,3	4,3 \pm 1,3	5,9 \pm 1,5	9,7 \pm 2,0	9,0 \pm 1,9	6,3 \pm 1,2
Acetamiprid + cypermethrin	2,6 \pm 1,4	0,8 \pm 0,8	1,0 \pm 0,9	1,4 \pm 1,0	1,0 \pm 0,9	1,3 \pm 1,0	1,3 \pm 0,9	12,4 \pm 2,2	4,6 \pm 1,4	5,5 \pm 1,5	3,7 \pm 1,2 *	7,3 \pm 1,7	9,7 \pm 2,0	6,6 \pm 1,3
Thiamethoxam + lambda-cyhalothrin	3,1 \pm 1,5	0,7 \pm 0,7	0,7 \pm 0,7	0,5 \pm 0,6	0,6 \pm 0,7	0,8 \pm 0,8	0,9 \pm 0,8	3,7 \pm 1,2	0,8 \pm 0,6 *	1,3 \pm 0,7 *	1,0 \pm 0,6 *	1,6 \pm 0,8 *	2,9 \pm 1,1 *	1,6 \pm 0,6 *

Treatments in columns highlighted in gray and followed by an asterisk differ statistically from control ($p < 0.05$, adjusted using Dunnett's test) at each sampling day

In 2012, mixtures of neonicotinoids and pyrethroids reached 79% of control efficacy [considered 80% as the minimum satisfactory level for stink bugs control in soybeans according to Borges and Lourençao (2004)] throughout the sampling period (until 18 days after spraying) (Figure 1). Imidacloprid+carbaryl were effective six, 10 and 15 days after spraying while trichlorfon and thiamethoxam had an efficacy above 74% during the entire evaluation period. In 2013, thiamethoxam+lambda-cyhalothrin reached 80% of control efficacy 3 and 10 days after spraying and achieve an average of efficacy over all sampling dates of 75.4%, while the other treatments did not reach a satisfactory efficacy level. In 2013 Dunnett's test ($P<0.05$, Table 2) for stink bugs per linear meter indicated a lower average number of stink bugs in thiamethoxam+lambda-cyhalothrin treatment in all sampling dates and in imidacloprid+beta-cyfluthrin treatment at 3, 6, 10 and 18 days after spraying, than in control plots.

2.4.2. Generalist predators

Average number of generalist predators (insect and spiders) before insecticide application was 3.4 and 1.9 (± 0.2) per linear meter in 2012 and 2013 respectively. In 2012, predators' populations on control plots declined towards the end of the evaluation period, when reached an average of 0.4 (± 0.2) individuals per meter. In contrast, predators populations at control plots increased to an average of 5.6 (± 0.9) per meter at 18 days after spraying in 2013 (Table 3).

Before the application of insecticides, spiders represented a higher proportion than the insects within the predators registered in both years (76 and 70%, in 2012 and 2013, respectively). Among insects, *Geocoris pallipes* Stal (Hemiptera: Geocoridae) (85%), *Lebia concinna* L. (Coleoptera: Carabidae) (8%) and *Eriopis connexa* Germar (Coleoptera: Coccinellidae) (4.5%) were the predominant species in 2012. In 2013, predominant insects were *E. connexa* (23%), *Tropiconabis capsiformis* Germar (Hemiptera: Nabidae) (20%), *Orius* sp. (Hemiptera: Anthocoridae) (19%), *G. pallipes* (18.7%), *Chrysoperla externa* Hagen (Neuroptera: Chrysopidae) (17%) and *Podisus nigrispinus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae) (1.7%).

Two days after spraying, the number of predators per linear meter was significantly lower in thiamethoxam+lamda-cyhalothrin and imidacloprid+beta-cyfluthrin than in the control plots (Dunnett's test, $P<0.05$, Table 3). Six days after spraying the total number of generalist predators at the control plots was 4.1 times higher than thriclorfon and thiamethoxam+lamda-cyhalothrin sprayed plots and 3.6 times higher than imidacloprid+beta-cyfluthrin and imidacloprid+carbaryl sprayed plots (Dunnett's test, $P<0.05$, Table 3). From 10 to 18 days after spraying, predators decreased significantly in all plots, including the control plots, and there were no significative differences between treatments (Dunnett's test, <0.05 , Table 3).

In 2013, generalist predators in control plots were 2.5 to 4.9 times higher than thiamethoxam+lamda-cyhalothrin plots at all sampling dates (Dunnett's test, $P<0.05$, Table 3). Six days after spraying, the number of predators were significantly lower in the plots sprayed with thiamethoxam+lamda-cyhalothrin (77.2%), imidacloprid+beta-cyfluthrin (66.7%), thiamethoxam (63.2%) and acetamiprid+cypermethrin (54.4%) than in control plots (Dunnett's test, $P<0.05$, Table 3). The average number of predators of all 2012 sampling dates was not significantly different between treatments, while in 2013, they were significantly lower for thiamethoxam+lamda-cyhalothrin and acetamiprid+cypermethrin than in the control (Dunnett's test, $P<0.05$, Table 3).

Table 3. Average number of predators (Adults and immatures, Mean±SE) per meter, before spraying (bs) and at different days after spraying (das) of different insecticides for the control of soybean stink bugs in two consecutive years (2012 and 2013) at soybean field experiments

Insecticides	2012							2013						
	Bs	2das	6das	10das	15das	18das	Average	bs	3das	6das	10das	15das	18das	Average
Control	3.7 ± 0.8	1.8 ± 0.5	2.9 ± 0.7	0.6 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.2	1.1±0,2	2.0 ± 0.5	3.4 ± 0.7	5.7 ± 0.9	5.2 ± 0.9	5.9 ± 0.9	5.6 ± 0.9	4,3±0,4
Imidacloprid	2.4 ± 0.6	1.0 ± 0.3	1.8 ± 0.5	0.5 ± 0.2	0.9 ± 0.3	0.3 ± 0.2	0,9±0,2	1.6 ± 0.4	2.4 ± 0.5	4.8 ± 0.8	2.6 ± 0.6	4.8 ± 0.8	4.5 ± 0.8	3,2±0,4
Spirotetramat + thiamethoxam	3.2 ± 0.7	1.8 ± 0.5	2.1 ± 0.5	0.3 ± 0.2	0.7 ± 0.3	0.3 ± 0.2	1,0±0,2	2.9 ± 0.6	4.0 ± 0.7	3.1 ± 0.6	3.8 ± 0.7	3.2 ± 0.6	4.1 ± 0.8	3,5±0,4
Thiamethoxam	3.0 ± 0.7	0.8 ± 0.3	1.6 ± 0.4	1.1 ± 0.3	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.3	1,1±0,2	2.7 ± 0.6	2.0 ± 0.5	2.1 ± 0.5 *	3.5 ± 0.7	4.4 ± 0.8	2.7 ± 0.6	2,8±0,3
Trichlorfon	4.5 ± 1.0	1.9 ± 0.5	0.7 ± 0.3 *	0.6 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.3	1.0±0,2	1.6 ± 0.4	4.0 ± 0.7	4.0 ± 0.7	4.7 ± 0.8	6.1 ± 1.0	4.9 ± 0.8	3,9±0,4
Imidacloprid + beta-cyfluthrin	2.6 ± 0.6	0.4 ± 0.2 *	0.8 ± 0.3 *	0.8 ± 0.3	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.3	0.7±0,1	2.4 ± 0.5	3.1 ± 0.6	1.9 ± 0.5 *	3.8 ± 0.7	4.9 ± 0.8	3.7 ± 0.7	3,2±0,3
Imidacloprid + carbaryl	3.4 ± 0.8	1.1 ± 0.3	0.8± 0.3 *	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.8±0,2	1.2 ± 0.4	1.6 ± 0.4	4.2 ± 0.8	3.6 ± 0.7	4.7 ± 0.8	3.1 ± 0.6	2,7±0,3
Acetamiprid + cypermethrin	3.6 ± 0.8	0.5 ± 0.2	1.1 ± 0.3	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.7±0,1	1.3 ± 0.4	1.9 ± 0.5	2.6 ± 0.6 *	3.6 ± 0.7	4.1 ± 0.7	3.3 ± 0.7	2,6±0,3 *
Thiamethoxam + lambda-cyhalothrin	3.5 ± 0.8	0.4 ± 0.2 *	0.7± 0.3 *	0.8 ± 0.3	0.6 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0,7±0,1	1.8 ± 0.5	0.8 ± 0.3 *	1.3 ± 0.4 *	1.2± 0.4 *	1.2 ± 0.4 *	2.2± 0.5 *	1,4±0,2 *

Treatments in columns highlighted in gray and followed by an asterisk differ statistically from control ($p < 0.05$, adjusted using Dunnett's test) at each sampling day.

2.4.3. Side effects of insecticides on *Telenomus podisi*

Telenomus podisi emergence in the laboratory was significantly reduced (Tukey's test, P<0.05) by the organophosphate trichlorphon, imidacloprid+carbaryl and the pyrethroids formulated with neonicotinoids (imidacloprid+beta-cyfluthrin, imidacloprid+carbaryl, acetamiprid+cypermethrin, thiamethoxam+lambda-cyhalothrin) (Tukey's test, P<0.05, Table 4) (46, 82, 67, 94 and 100%, related to control, respectively). The proportion of parasitoids that developed inside the egg but did not emerge was also significantly higher in those treatments than in the control group (Tukey's test, P<0.05, Table 4).

Table 4. Percentage of emergence and percentage of parasitoids developed but not emerged [Mean±SE and 95% confidence interval (IC) correspond to the analysis of 3 trials] of *Telenomus podisi* after immersion of parasitized *Piezodorus guildinii* eggs in insecticide solutions in laboratory (26 ± 2°C, 70 ± 5% HR and 16:8 L:D)

Insecticides	N*	Parasitoid emergence		Parasitoids developed not emerged	
		Mean ± SE	IC (95%)	Mean ± SE	IC (95%)
Control	457	83 ± 0.04 ^a	74 - 89	3 ± 0.02 ^a	1 - 13
Imidacloprid	415	78 ± 0.05 ^a	67 - 86	6 ± 0.03 ^a	2 - 14
Thiamethoxam	465	70 ± 0.05 ^a	59 - 80	13 ± 0.04 ^a	7 - 22
Spirotetramat+thiamethoxam	409	67 ± 0.06 ^{ab}	55 - 78	21 ± 0.05 ^{ab}	13 - 33
Trichlorfon	431	45 ± 0.06 ^{bc}	34 - 57	43 ± 0.06 ^{bc}	33 - 54
Imidacloprid+beta-cyfluthrin	492	27 ± 0.06 ^c	17 - 40	50 ± 0.06 ^{cd}	39 - 61
Imidacloprid+carbaryl	459	15 ± 0.06 ^{cd}	6 - 31	61 ± 0.06 ^{cd}	50 - 72
Acetamiprid+cypermethrin	455	5 ± 0.02 ^d	2 - 12	74 ± 0.05 ^{de}	62 - 83
Thiamethoxam+lambda-cyhalothrin	460	0	-	86 ± 0.04 ^e	76 - 92

Treatments in columns followed by different letters are significantly different (p<0.05, adjusted by Tukey-Kramer test). *(N) Total number of eggs

Under field conditions, neither parasitoid emergence nor number of parasitoids developed but not emerged were affected by the insecticides (Tukey's test, P<0.05, Table 5).

Table 5. Percentage of emergence and percentage of parasitoids developed but not emerged [Mean \pm SE and 95% confidence interval (IC)] of *Telenomus podisi* after insecticides sprayed for the control of stink bugs in soybean field experiments (2012 and 2013)

Insecticides	2012					2013				
	N*	Parasitoid emergence		Parasitoid developed not emerged		N	Parasitoid emergence		Parasitoids developed not emerged	
		Mean \pm SE	IC (95%)	Mean \pm SE	IC (95%)		Mean \pm SE	IC (95%)	Mean \pm SE	IC (95%)
Control	170	83 \pm 0.05 ^a	69 - 92	7 \pm 0.04 ^a	2 - 24	249	72 \pm 0.08 ^a	51 - 87	4 \pm 0.03 ^a	0 - 19
Imidacloprid	170	67 \pm 0.07 ^a	50 - 81	5 \pm 0.03 ^a	1 - 18	265	90 \pm 0.05 ^a	75 - 96	2 \pm 0.02 ^a	0 - 15
Thiamethoxam	102	70 \pm 0.1 ^a	46 - 86	9 \pm 0.07 ^a	1 - 39	223	94 \pm 0.04 ^a	80 - 98	1 \pm 0.01 ^a	0 - 10
Spirotetramat + thiamethoxam	121	73 \pm 0.07 ^a	55 - 86	7 \pm 0.04 ^a	2 - 26	177	75 \pm 0.08 ^a	54 - 89	1 \pm 0.01 ^a	0 - 10
Trichlorfon	159	84 \pm 0.05 ^a	70 - 93	7 \pm 0.04 ^a	2 - 24	267	88 \pm 0.05 ^a	73 - 95	4 \pm 0.03 ^a	0 - 21
Imidacloprid + beta-cyfluthrin	160	80 \pm 0.06 ^a	65 - 90	6 \pm 0.03 ^a	1 - 20	259	89 \pm 0.05 ^a	74 - 96	2 \pm 0.02 ^a	0 - 12
Imidacloprid + carbaryl	102	93 \pm 0.04 ^a	78 - 98	3 \pm 0.03 ^a	1 - 17	232	85 \pm 0.06 ^a	68 - 94	2 \pm 0.02 ^a	0 - 12
Acetamiprid + cypermethrin	158	87 \pm 0.05 ^a	74 - 94	4 \pm 0.03 ^a	1 - 16	194	87 \pm 0.06 ^a	69 - 95	2 \pm 0.02 ^a	0 - 15
Thiamethoxam + lambda-cyhalothrin	172	65 \pm 0.07 ^a	48 - 80	7 \pm 0.04 ^a	2 - 24	252	81 \pm 0.07 ^a	63 - 92	1 \pm 0.01 ^a	0 - 11

Treatments in columns followed by different letters are significantly different ($p<0.05$, adjusted by Tukey-Kramer test). *(N) Total number of eggs

2.5. DISCUSSION

Differences in insecticides efficacy of control of stink bug were found, depending on the year. In 2012, when the initial infestation of stink bugs was low (3.1 per meter), and more heterogeneous in species, the combinations of neonicotinoids and pyrethroids were effective all over the sampling period. In 2013, when the initial infestation was high (6.5 per meter), and *P. guildinii* was the main species and the surrounding area favoured the re-infestation of experimental plots, only the mixture of thiamethoxam+lambda-cyhalothrin had an acceptable control efficacy (above 74%) until 15 days after spraying. This insecticide showed a negative impact for the generalist predators in both years. Trichlorfon and mixtures of neonicotinoids with pyrethroids or carbamate were toxic to *T. podisi* larvae in laboratory dipping test, but this was not validated at field spraying conditions, where none of the insecticides showed to be toxic to the parasitoid. As it was hypothesized, trichlorfon and imidacloprid+carbaryl could be both effective and selective options to control stink bugs, but this was found only when populations of pentatomids was low and *P. guildinii* was not the predominant species. The results for trichlorfon are interesting because of the contribution of its different mode of action in a planned rotation of insecticides. Instead, neonicotinoids alone or mixed with spirotetramat, were confirmed to be safe to beneficial insects, as it is well known, but they were not effective for the control of stink bugs.

The number of stink bugs at the moment of the insecticides application, was twice higher in 2013 than in 2012. At that condition, the low levels of control efficacy could be explained because of a re-entry of stink bugs from the untreated field to the experimental plots that could have occurred during the sampling period, due to the grazing purpose for dairy cattle of the surrounding soybean area. Furthermore, *P. guildinii* was the predominant species in both years, but in 2013 it constituted 92% of the total of the stink bugs complex. This species is less susceptible than other stink bugs to insecticides commonly used on soybean (Baur et al. 2010). This could also explain the differences in control efficacy between years. At the evaluated doses, neonicotinoids alone did not show acceptable levels of

control, in concordance with Baur et al. (2010) and Temple (2011). In 2012, good control levels for imidacloprid+carbaryl from 6 to 15 days after spraying are in accordance with the effectiveness of carbaryl (Baur et al. 2010). The good control level found for trichlorfon, under this condition, agrees with the high effectiveness of other organophosphates such as acephate (Temple 2011). The highest control efficacy registered with the mixtures of neonicotinoids+pyrethroids especially with thiamethoxam+lambda-cyhalothrin have been also recorded in field experiments in Brazil (Baur et al. 2010) and in Louisiana (Temple 2011). These mixtures are widely used by farmers, but the lack of an effective alternative could induce the selection of resistant populations. In this sense, frequent crop scouting for number of stink bugs is essential to determine the correct moment to apply trichorfon as an alternative in the rotation of insecticide mode of action.

Insecticides impact on foliage-dwelling arthropod predators at field conditions was not clearly detected (except for thiamethoxam+lambda-cyhalothrin), in contrast with the vast information obtained under laboratory conditions (Stark and Banks 2003, Desneux et al. 2007, Schneider et al. 2009). The low number of generalist predators during 2012, associated with decreasing temperature and crop senescence, could have prevented to detect the effects of insecticides. Also, foliage-dwelling predators do aggregate to patches of foliage-dwelling herbivore species in soybean fields (Pearce and Zalucki 2006), so the lack of suitable prey (defoliating caterpillars) within the plots may have discouraged predators from recolonizing. Furthermore, predators are very mobile, so inner rows between plots could have not been broad enough to prevent inter plots movements as was proposed by Macfadyen and Zalucki (2012). However, these effects did not seem to occur in 2013, when a higher number of generalist predators were verified and differences between treatments were found. Negative effect of thiamethoxam+lambda-cyhalothrin on predators in 2013 could be due to the high proportion of hemipterans in the community of predators, which could have been negatively affected by this effective insecticide for the control of their order level related pentatomids. In this sense, White et al. (1992) reported that *T. capsiformis* was adversely affected by lambda-cyhalothrin. Negative effect of imidacloprid+beta-cyfluthrin was detected, but imidacloprid applied alone did not

significantly affect the number of predators in the present study. This does not agree with Prabhaker et al. (2011) who found that imidacloprid residues were found to be toxic to *O. insidiosus* and *G. punctipes*, when these insects came in contact with them on citrus leaves. In field conditions, predators' exposure to insecticides may have been avoided or the effective doses that reached them at crop spraying would have been sub lethal. These results confirm that pesticide toxic effects at field conditions would be less than in laboratory assays (Hassan et al. 1985). Nevertheless, in the present study thiamethoxam+lambda-cyhalothrin, which had the highest efficacy on stink bugs, also affected arthropod predators in the field experiment.

Mixtures of neonicotinoids and piretroids also diminished *T. podisi* emergence in laboratory, in agreement to Bayram et al. (2010), who found that cyfluthrin and deltamethrin reduced the rate of emergence of *Telenomus busseolae* (Hymenoptera: Platygastridae) developed inside *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) under controlled conditions. Trichlorfon was also harmful, agreeing to the results reported by Carmo et al. (2009), where the organophosphate chlorpyrifos reduced 100% of all larvae and pupae of *T. remus* (Hymenoptera: Platygastridae) developed inside *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). In contrast, both neonicotinoids (thiamethoxam and imidacloprid) alone and formulated with spirotetramat were innocuous, which is not consistent with Koppel et al. (2011), who found that thiamethoxam (at a lower dose of 0.36 g/liter) affected the emergence of *T. podisi* developed in *E. servus* eggs, dipped for 1 second in laboratory conditions. Differences in insecticide toxicity could be associated to the anatomy of host eggs. In this sense, the present results suggest that anatomical features of *P. guildinii* eggs are a major barrier probably because of the longest micropylar processes of this species compared to other stink bug eggs (Bundy and McPherson 2000) making the pesticide entry more difficult. In concordance, none of *T. podisi* adults developed inside the eggs dipped in thiamethoxam+lambda-cyhalothrin could emerge, but most of those eggs had an initial emerging hole made by the adult parasitoid, which needs to bite the chorion to emerge and probably could come into contact with the insecticide at this moment. In contrast, insecticide spraying directly on eggs that are developing stink bugs does not affect them (Koppel et al. 2011) probably because nymphs

emerge by pressing the chorion, instead of biting it. Thus, insecticide applications aiming the egg stage would not be effective to control stink bugs while they would be harmful to the development of parasitoids.

In contrast to the results obtained in the laboratory, under field conditions all insecticides were harmless to *T. podisi*. Koppel et al. (2011) found, under field conditions, that thiamethoxam (at 60g ai/ha) and lambda-cyhalothrin (at 180g/ha) caused more than 98% of mortality to the same parasitoid developing in *E. servus* eggs. Differences could be attributed to the different position of the eggs on each study, as Koppel at al. (2011) placed the eggs on the underside of a soybean leaf of the top third of the canopy and in the present study eggs were pinned to the soybean pods of the middle top of the canopy which decreases the contact surface, determining that sublethal doses could have effectively reached them. Furthermore, host eggs in the field are concealed laid between leaf sheaths, pods and stalks, which provide an additional protection. Instead, the egg immersion procedure in laboratory ensures a greater exposure of parasitoids to insecticides. Also, at field conditions, environmental factors such as sunlight might degrade insecticides compounds rapidly (Matsumura 1982, Ebert and Downer 2008) and break them down to nontoxic compounds by the time when parasitoids bite the chorion to emerge. Field results showed that laboratory tests overestimated toxicity effects of insecticides sprayed at the field. As *T. podisi* is not able to hold stink bugs bellow economic injury levels during the soybean growing season, insecticide complementation is necessary. In this sense, all the insecticides evaluated in this study could be used at an integrated pest strategy with the aim of preserve spontaneous populations of *T. podisi* or in an applied biological control program.

At the present study only pre-imago effects were evaluated, but it needs to be considered that *T. podisi* has a free life as adult, which usually is the more sensible stage to agrochemicals, compared to those phases that occur protected within the egg (Hassan 1992). Thus, further studies of insecticides compatibility should be done with adult parasitoids, considering also sublethal effects, such as parasitism rate, longevity, egg viability or behavior (Ruberson et al. 1998).

2.6. CONCLUSIONS

Thiamethoxam+lamda-cyhalothrin presented the highest control of stink bugs. This insecticide negatively affected predators but did not cause negative effect on *Telenomus podisi* larvae at field conditions. Trichorfon showed acceptable efficacy control of stink bugs and did not affect *T. podisi*, but its effects on predators were not consistent. Insecticides showed to be inefficient when initial stink bug populations were high, *P. guildinii* was the predominant species and re-infestation occurred from the surrounding area, so they should be evaluated and used in lower population levels, closer to economic thresholds. It is necessary to generate further information about the toxic effects on parasitoid adult stage for inundative releasing programs.

Acknowledgment

We thank sincerely Mr. Pedro Lemes for allowing us to install and maintain experimental plots in his field. We also thank Med. Vet. PhD. Carolina Viñoles for her helpful contributions and comments on the manuscript.

2.7. REFERENCES

- Baur ME, Sosa Gómez DR, Ottea J, Leonard BR, Corso IC, Da Silva JJ, Temple J, Boethel DJ, 2010. Susceptibility to insecticides used for control of *Piezodorus guildinii* (Heteroptera: Pentatomidae) in the United States and Brazil. *J. Econ. Entomol.* 103, 869–876.
- Bayram A, Salerno G, Onofri A, Conti E, 2010. Lethal and sub lethal effects of preimaginal treatments with two pyrethroids on the life history of the egg parasitoid *Telenomus busseolae*. *BioControl*. 55, 697–710.
- Bentancourt CM, Scatoni IB, 2001. Enemigos Naturales: Manual ilustrado para la agricultura y forestación. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur. Montevideo.
- Borges EP, Lourençao LF, 2004. Contrôle de *Piezodorus guildinii*, *Euschistus heros* e *Nezara viridula* na cultura da soja. In: XXVI Reunião De Pesquisa De Soja Da Região Central Do Brasil. Brasil: Embrapa. 234–225
- Bundy ACS, McPhersonRM, 2000. Morphological examination of stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) eggs on cotton and soybeans, with a key to genera. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 93, 616–624.
- Carmo EL, Bueno AF, Bueno RCOF, Vieira SS, Gobby AG, Vasco FR, 2009. Seletividade de diferentes agrotóxicos usados na cultura da soja ao parasitoide de ovos *Telenomus remus*. *Ciência Rural*. 39, 2293–2300.
- Carmo EL, Bueno AF, Bueno RCOF, 2010. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. *BioControl*. 55, 455–464.
- Castiglioni E, Giani G, Binnewies C, Bentancur O, 2008. Susceptibilidad de la chinche *Piezodorus guildinii* Westwood (Hemiptera: Pentatomidae) al insecticida Endosulfán. *Agrociencia Uruguay*. 12(1), 31-34.
- Castiglioni E, Ribeiro A, Alzugaray R, Silva H, Ávila I, Loiácono M, 2010. Prospección de parasitoides de huevos de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) en el litoral oeste de Uruguay. *Agrociencia Uruguay*. 14, 22-25.
- Cônsoli FL, Parra JRP, Hassan SA, 1998. Side-effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.

- Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). *J. Appl. Entomol.* 122, 0-4.
- Corrêa Ferreira BS, Moscardi F, 1995. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. *BioControl*. 5, 196-202.
- Corrêa Ferreira BS, de Azevedo J, 2002. Soybean seed damage by different species of stink bugs. *Agric. For. Entomol.* 4, 145-150.
- Croft BA, 1990. Sublethal influences. In: Arthropod biological control agents and pesticides. Wiley Interscience. New York, 157-183
- Cruz Junior JFA, 2004. Danos causados por *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) e *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Hemiptera: Pentatomidae) emmaçãs de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2004. Dissertação de Mestrado em Entomologia. [WWW document]. URL <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-20072004-152631>.
- Daugherty D M, Neustadt MH, Gehrke CW, Cavanah LE, Williams LF, Green DE, 1964. An evaluation of damage to soybeans by brown and green stink bugs. *J. Econ. Entomol.* 57, 719-722.
- Desneux N, Decourtey A, Delpuech J, 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Ann. Rev. Entomol.* 74, 81–106.
- Drees B M, Rice ME, 1985. The vertical bean sheet: a new device for sampling soybean insects. *J. Econ. Entomol.* 78, 1507–1510.
- Ebert T, Downer R, 2008. Insecticide Application: The dose transfer process. In: Encyclopedia of entomology. Ed. by Capinera JL, University of Florida. Springer, Berlin, Heidelberg, 1958-1974.
- Fehr WR, Caviness CE, 1977. Stages of soybean development. Iowa State University Special Report. 80, 11pp.
- Hassan SA, Bigler F, Blaisinger P, Bogenschütz H, Brun J, Chiverton P, Dickler M, Easterbrook MA, Edwards PJ, Englert WD, Firth SI, Huang P, Inglesfield C, Klingauf F, Kühner C, Ledieu MS, Naton E, Oomen PA, Overmeer WPJ, Plevoets P, Reboulet JN, Rieckmann W, Samsøe-Petersen L, Shires SW, Staübli A, Stevenson J, Tuset JJ, Vanwetswinkel G, van Zon AQ, 1985. Standar methods to

test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WPRS Working Group 'Pesticides an Natural Enemies', Bulletin OEPP/EPPO Bulletin.15, 214-255.

Hassan SA, 1992. Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficials organisms: Description of test methods. Meeting of the Working Group "Pesticide and Beneficial Organisms". In: Guidelines for Testing the Effects of Pesticides on Beneficials Organism. Ed. by Hassan SA., International Union of Biological Sciences. IOBC/WPRS Bulletin. 15 (3), 186 pp.

Henderson CF, Tilton EW, 1955. Tests with acaricides against the brow wheat mite. J. Econ.Entomol. 48, 157–161.

Koppel AL, Herbert DA, Kuhar TP, Malone S, Arrington M, 2011. Efficacy of selected insecticides against eggs of *Euschistus servus* and *Acrosternum hilare* (Hemiptera: Pentatomidae) and the egg Parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae). J. Econ. Entomol. 104, 137–142.

Macfadyen S, Zalucki MP, 2012. Assessing the short-term impact of an insecticide (Deltamethrin) on predator and herbivore abundance in soybean *Glycine max* using a replicated small-plot field experiment. Insect Sci. 19, 112–120.

Matsumura F, 1982. Biodegradation of Pesticides. In: Biodegradation of Pesticides. Ed. by Matsumura F, Murti CRK, Springer US, New York, 67–87.

McPherson RM, Newsom LD, Farthing BF, 1979. Evaluation of four stink bug species from the genera affecting soybean yield and qualityin Louisiana. J. Econ.Entomol. 72, 188–194.

Panizzi AR, Slansky F, 1985. Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. Fla. Entomol. 68, 184–214.

Pearce S, Zalucki MP. 2006. Do predators aggregate in response to pest density in agroecosystems? Assessing within-field spatial patterns. J. Appl. Ecol. 43, 128–140.

Prabhaker N, Castle SJ, Naranjo SE, Toscano NC, Morse JG, 2011. Compatibility of two systemic neonicotinoids, Imidacloprid and Thiamethoxam, with various natural enemies of agricultural pests. J. Econ.Entomol. 104, 773–781.

- Ribeiro A, Castiglioni E, 2008. Caracterización de las poblaciones de enemigos naturales de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae). *Agrociencia Uruguay.* 12, 48–56.
- Ruberson JR, Nemoto H, Hirose Y, 1998. Pesticides and conservation of natural enemies in pest management. In: *Conservation Biological Control.* Ed. by Press A, San Diego, CA, USA, 207–220
- SAS Institute, Inc. 2008. *SAS/STAT® 9.2 User's Guide.* Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schneider M, Sanchez N, Pineda S, Chi HRA, 2009. Impact of glyphosate on the development, fertility and demography of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): ecological approach. *Chemosphere.* 76, 1451–1455.
- Stark J, Banks J, 2003. Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annu. Rev.Entomol.* 48, 505–519.
- Temple JH, 2011. Redbanded stink bug, *Piezodorus guildinii* (Westwood): Pest status, control strategies, and management in Louisiana soybean. Ph. D. dissertation. [WWW document] <http://etd.lsu.edu/docs/available/etd-11092011-110630/unrestricted/DissertationJHTFinal.pdf>
- Todd JW, Turnipseed SM, 1974. Effects of southern green stink bug damage on yield and quality of soybeans. *J. Econ.Entomol.* 67, 421–426.
- Turnipseed S, Kogan M, 1976. Soybean entomology. *Annu. Rev. Entomol.* 21, 247–282.
- White JS, Brown RA, Bettencourt AL, Soares CMS, 1992. Lambda-cyhalothrin: effects on natural pest control in Brazilian soybeans. In: *Brighton Crop Protection Conference, Pestsand Diseases.* Brighton: British Crop Protection Society, 811–816.
- Wilcox JR, 2004. World distribution and trade of soybeans. In: *Soybean: Improvement, Production, and Uses.* Ed. by Boerma H, Specht J, American Society of Agronomy, Inc, Madison, WI, 1–13.

3. COMPATIBILIDAD DE *Beauveria bassiana* Y *Lecanicillium attenuatum* CON INSECTICIDAS USADOS EN SOJA

Abbate Silvana^{1,2}, Rivas Federico³, Altier Nora³, Ribeiro Adela², Bentancur Oscar⁴ y Castiglioni Enrique^{5,2}.

1. Polo Agroalimentario y Agroindustrial Paysandú. Centro Universitario Paysandú. Universidad de la República. Ruta 3 km 363. 60000 Paysandú. Uruguay.
2. Departamento de Protección Vegetal. Est. Exp. “Dr. Mario A. Cassinoni” Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Ruta 3 km 363. 60000 Paysandú. Uruguay.
3. Laboratorio de Bioproducción. INIA Las Brujas. Ruta 48 km 10. 90100 Rincón del Colorado. Canelones. Uruguay.
4. Departamento de Estadística. Est. Exp. “Dr. Mario A. Cassinoni” Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Ruta 3 km 363. 60000 Paysandú. Uruguay.
5. Centro Universitario de la Región Este. Universidad de la República. Rutas 9 y 15. 27000 Rocha. Uruguay.

Autor por correspondencia: Abbate, S. abbate@fagro.edu.uy

Título corto: Compatibilidad de insecticidas y hongos entomopatógenos

3.1. RESUMEN

Para implementar un programa de Manejo Integrado de Plagas (MIP) en el cultivo de soja (*Glycine max*) que incluya el uso de entomopatógenos, resulta clave la utilización de insecticidas compatibles con estos organismos. El objetivo de este estudio fue evaluar *in vitro* la compatibilidad de los hongos *Beauveria bassiana* (ILB 204) y *Lecanicillium attenuatum* (ILB 257) con insecticidas utilizados para el control de chinches (Hemiptera: Pentatomidae) en soja, a las dosis recomendadas a campo, a la mitad y al doble de la misma. Se determinó el efecto de tiametoxan+lambdacialotrina, imidacloprid+betacyflutrina, tiametoxan y triclorfón, agregados en medio sólido (PDA), sobre el crecimiento micelial (seis y 14 días post inoculación) y la producción de conidios de los hongos entomopatógenos. Existen numerosos estudios de compatibilidad de agroquímicos con entomopatógeos, pero no se han estudiado dichos efectos con insecticidas comúnmente utilizados para el control de pentatómidos en soja. En las dosis utilizadas a campo, sólo tiametoxan no afectó significativamente el crecimiento micelial de ambas cepas catorce días post inoculación. Los insecticidas mezcla de neonicotinoides y piretroides, en las dosis recomendadas, redujeron la conidiogénesis de ambos entomopatógenos, mientras que triclorfón, en dicha dosis, inhibió a *L. attenuatum*. Siguiendo el modelo “T” de clasificación, todos los insecticidas en las dosis recomendadas para el control de chinches resultaron compatibles con las cepas en estudio.

PALABRAS CLAVE: hongos entomopatógenos, *Glycine max*, control microbiano, conservación de enemigos naturales

3.2. COMPATIBILITY BETWEEN *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium attenuatum* WITH INSECTICIDES USED IN SOYBEAN

SUMMARY

To implement an Integrated Pest Management (IPM) program in soybean (*Glycine max*), the use of selective insecticides is important in order to minimize the impact to natural enemies or to combine them with bioinsecticides. The aim of this study was to evaluate *in vitro* the compatibility of *Beauveria bassiana* (ILB 204) and *Lecanicillium attenuatum* (ILB 257) with insecticides commonly used to control stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) in soybean at three concentration [field recommended doses (FD), half and twice FD]. Effects of thiamethoxam + lambda-cyhalothrin, imidacloprid + beta-cyfluthrin, thiamethoxam and trichlorfon on vegetative growth (six and 14 days after inoculation) and conidial production of both isolates growing on potato dextrose agar (PDA), were assessed. Several studies evaluated effects of pesticides on entomopathogenic fungi, but scarce have tested the insecticides commonly used against soybean stink bugs. At FD, only thiamethoxam did not significantly affect the mycelial growth of both strains 14 days after inoculation. At FD, the mixture of neonicotinoids and pyrethroids reduced the conidiogenesis of both strains and trichlorfon affected negatively *L. attenuatum*. According to "T" classification index, all insecticides at FD were compatible with the strains studied.

INDEX WORDS: entomopathogenic fungi, *Glycine max*, microbial control, conservation of natural enemies

Short Title: Compatibility of insecticides and entomopathogenic fungus

3.3. INTRODUCCIÓN

La soja (*Glycine max* L.) es el séptimo cultivo en términos de producción mundial (FAOSTAT, 2015). La producción del mismo, en sistemas de siembra directa, es altamente dependiente de agroinsumos, lo que históricamente ha generado preocupaciones acerca de su impacto ambiental (Gudynas, 2008; Pengue, 2005; Fearnside, 2001; van den Bosch, 1978). La implementación de programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) (Kogan, 1998), la conservación de agentes de control natural y el uso de bioinsecticidas, contribuirían a disminuir el uso de insecticidas de síntesis, mejorando la sustentabilidad del agroecosistema del cultivo de soja (Carmo *et al.*, 2010; Bueno *et al.*, 2009). La compatibilidad entre los hongos entomopatógenos y los insecticidas sintéticos resulta clave en este sentido (Todorové *et al.*, 1998).

Los hongos entomopatógenos son importantes agentes de control de numerosas plagas (Carruthers y Hural, 1990). *Beauveria bassiana* (Metschnikoff) Sorokin y *Lecanicillium attenuatum* (Zimmerman) Zare y W. Gams (Hypocreales: Clavicipitaceae) son capaces de infectar a un amplio rango de insectos plagas bajo condiciones naturales (Leland *et al.*, 2005; Zare y Gams, 2001; Hajek y St Leger, 1994; Storey y Gardner, 1986) y de suprimir diferentes nemátodos y hongos fitófagos (Ownley, *et al.*, 2009, Goettel *et al.*, 2008). El desarrollo y la reproducción de los entomopatógenos pueden ser inhibidos por insecticidas incompatibles (Malekan *et al.*, 2010; Alizadeh *et al.*, 2007), por lo cual la elección de productos selectivos es una importante estrategia en la implementación de programas de MIP. Por otra parte, diversos autores han encontrado sinergismo en aplicaciones conjuntas de insecticidas con hongos entomopatógenos (Alves *et al.*, 1998a; Batista Filho *et al.*, 1995). Los productos compatibles pueden incrementar la eficacia de control de dichos microorganismos, disminuyendo la necesidad de control químico y por ende minimizando los riesgos de contaminación ambiental y la expresión de plagas resistentes (Moino y Alves, 1998; Quintela y McCoy, 1998).

En soja, las chinches fitófagas (Hemiptera: Pentatomidae) ocasionan importantes pérdidas de rendimiento y de calidad de granos en diversas partes del mundo (Sosa Gómez y Moscardi, 1995; Turnipseed y Kogan, 1976). *Piezodorus guildinii* (Westwood) y *Nezara viridula* (Linnaeus) son las especies más dañinas asociadas al cultivo en América del Sur (Panizzi y Slansky, 1985). Ambas son afectadas naturalmente por *B. bassiana* y *M. anisopliae* (Tonet y Salvadori, 2002; Sosa Gómez y Alves, 2000; Sosa Gómez y Moscardi, 1998), aunque en baja incidencia debido a la resistencia natural que presentan (Sosa Gómez *et al.*, 1997). En soja, *B. bassiana* es un importante regulador de lepidópteros plaga, como *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) (Ángel Sahagún, *et al.*, 2005). *Lecanicillium* spp. infecta al nemátodo del quiste de de dicho cultivo (*Heterodera glycines*) (Meyer *et al.*, 1997) y *L. attenuatum* es un eficiente controlador natural de áfidos y alegródidos en diversos cultivos (Hall, 1981). Dado el potencial que presentan para el control de plagas, se han desarrollado numerosos productos comerciales en base a estos microorganismos (Alves y Pereira, 1989; McCoy y Couch, 1982). Recientemente se ha registrado una formulación comercial de *Lecanicillium lecanii* (Lecafol) en Uruguay (Paullier, 2013).

El efecto de insecticidas sobre *B. bassiana* y *Lecanicillium* spp. ha sido ampliamente estudiado (Gurulingappa *et al.*, 2011; Alizadeh *et al.*, 2007; Gardner y Storey, 1985; Clark *et al.*, 1982) pero no se han encontrado trabajos que evalúen el efecto de las formulaciones mezcla de piretroides y neonicotinoides comúnmente utilizadas para el control de chinches. Estos productos son ampliamente utilizados para el control de pentatómidos, y en altas dosis, por lo que afectan a los biocontroladores naturalmente presentes en el cultivo. El objetivo de este estudio fue evaluar *in vitro* la compatibilidad de tiameoxan+lambdacialotrina, imidacloprid+betacyflutrina, tiameoxan y triclorfón con dos cepas de los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *L. attenuatum*.

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1. Cepas e insecticidas utilizados

Se utilizaron las cepas ILB 204 de *B. bassiana* e ILB 257 de *L. attenuatum*, proporcionadas por el Laboratorio de Bioproducción de INIA Las Brujas, Canelones. Estas cepas se mantuvieron en un medio sólido de agar, dextrosa y papa (PDA) esterilizado en autoclave a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y 12 horas de luz, durante 20 días, para la obtención de los conidios necesarios para los bioensayos.

En el Laboratorio de Fitopatología de la Estación Experimental “Dr. Mario A. Cassinoni” (EEMAC) de la Facultad de Agronomía, Paysandú, se realizaron los bioensayos de compatibilidad de los entomopatógenos con los insecticidas que se detallan en la Tabla 1. Las dosis utilizadas fueron: la recomendada para el control de chinches (DC), la mitad (0,5 DC) y el doble de la misma (2 DC) (De Olivera y Neves, 2004), considerando un volumen de caldo equivalente a 110 litros/hectárea. Los insecticidas, en su formulación comercial, fueron diluidos en agua destilada estéril.

Tabla 1. Características de los insecticidas evaluados

Nombre comercial	Formulación*	Ingrediente activo (g ia/l)	Grupo químico	Dosis Campo (g ia./ha)
Engeo	247 SC	tiametoxan (141) + lambdacialotrina (106)	neonicotinoide + piretroide	28,2 + 21,2
Imitrín	115 SC	imidacloprid (100) + betaciflutrina (15)	neonicotinoide + piretroide	60,0 + 9,0
Escorial	25 SC	tiametoxan (250)	Neonicotinoide	56,4
Triclocib	500 SL	triclorfón (500)	Organofosforado	750,0

*SC: suspensión concentrada, SL: concentrado soluble

3.4.2. Crecimiento micelial

Se utilizó la metodología propuesta por Alves *et al.* (1998b), mediante la cual las diferentes soluciones insecticidas se adicionaron al medio de papa dextrosa agar

(PDA), esterilizado en autoclave, una vez que la temperatura del mismo alcanzó los 40 ± 5 °C. El medio fue mezclado con auxilio de una barra magnética hasta su completa homogenización. Aproximadamente 30 ml de cada uno de los medios preparados fue vertido en placas de Petri de 9 cm de diámetro. El testigo correspondió al mismo volumen de medio de cultivo sin insecticida (De Olivera y Neves, 2004). Una vez solidificado el medio, cada placa fue inoculada con 10 ul de una solución de esporas (10^6) en agar agua con Tween 20 al 0,02% en el centro de la placa. Cada tratamiento fue repetido 10 veces. Las placas, selladas con parafilm, fueron dispuestas en incubadora (24 ± 1 °C y 12 horas de luz), en un diseño en bloques completos al azar, con cuatro bloques. El diámetro del cultivo fue medido con calibre en dos ejes a los 6 y 14 días posteriores a la inoculación (DDI).

3.4.3. Producción de conidios

A los catorce días posteriores a la inoculación se trajeron con un sacabocados porciones de 1 cm de diámetro de cada colonia, que se colocaron individualmente en placas de Petri de vidrio selladas con parafilm y se conservaron en heladera (4°C). Para contabilizar los conidios, cada disco fue introducido en un tubo Eppendorf (1,5 ml) con agua destilada estéril con Tween® 80 (concentración 80%, 0,01% v/v) y luego de un minuto se utilizó un pincel para desprendere por completo los conidios de la superficie del disco. Se agitó la solución dentro del Eppendorf en Vortex durante dos minutos, realizando las disoluciones necesarias para efectuar el conteo bajo microscopio, en cámara de recuento Neubauer (Alves *et al.*, 1998b).

Los datos de crecimiento micelial y producción de conidios se expresaron como porcentaje de inhibición de cada cepa (Hokkanen y Kotiluoto, 1992) a través de la fórmula: $X = (Y - Z)/Y \times 100$, donde X= porcentaje de inhibición, Y= crecimiento micelial/producción de conidios del entomopatógeno en el testigo y Z= crecimiento micelial en el medio tratado con insecticida.

Para clasificar la compatibilidad del producto con los entomopatógenos, se utilizó el modelo T (Alves *et al.*, 1998b), desarrollado para caracterizar la compatibilidad de hongos entomopatogénos con productos insecticidas en estudios *in vitro*, en medio

de cultivo sólido. Para ello, se calcularon los valores porcentuales promedio de conidiogénesis y crecimiento vegetativo de las colonias de los hongos con relación al testigo (100%), aplicándose para cada concentración del producto, la fórmula: $T = [20(CV) + 80(ESP)]/100$. Donde: T = valor corregido del crecimiento vegetativo y esporulación para clasificación del producto; CV = porcentaje de crecimiento vegetativo relativo al testigo; ESP = porcentaje de esporulación relativo al testigo. Los insecticidas se clasificaron por su efecto sobre los hongos entomopatógenos según el valor de T: 0 a 30 (muy tóxico), del 31 al 45 (tóxico), del 46 al 60 (moderadamente tóxico) y > 60 (compatible). Los insecticidas clasificados como muy tóxicos y tóxicos son considerados incompatibles y los moderadamente tóxicos se consideran moderadamente compatibles en un programa de MIP.

3.4.4. Análisis estadístico

Se analizó el efecto de los insecticidas y las dosis sobre el crecimiento micelial para cada género y fecha de evaluación (6 y 14 DDI) mediante un modelo lineal general transformando la variable de respuesta al logaritmo natural [$\ln(Y + 0,5)$] para estabilizar las varianzas. Las medias entre tratamientos fueron comparadas utilizando el test de Tukey ($P < 0,05$). Para el análisis de producción de conidios también se ajustó un modelo lineal general, y se usó una transformación logarítmica [$\log_{10}(x)$] y se incluyeron las estimaciones de las distintas varianzas usando el método de mínimos cuadrados generalizados. Las medias entre tratamientos fueron comparadas utilizando el test de Tukey Kramer ($P < 0,05$). Para el análisis de ambas variables se usó el procedimiento Mixed del Software estadístico SAS versión 9.2 (SAS Institute, 2008).

3.5. RESULTADOS

3.5.1. *Beauveria bassiana*

A los seis días después de la inoculación (DDI) todos los insecticidas, a excepción de tiometoxan a la menor dosis evaluada (0,5 DC), inhibieron significativamente el crecimiento micelial de las colonias. A los 14 DDI tiometoxam

+ lambdacialotrina en la dosis 0,5 DC y tiametoxan en 0,5 y 1 DC no afectaron significativamente el crecimiento ($P < 0,05$, Tabla 2). La producción de conidios a los 14 DDI fue afectada pos las tres dosis evaluadas de imidaclorpid + betaciflutrina, las dosis mayores de tiametoxam + lambdacialotrina (1 y 2 DC) y triclorfón en la dosis mayor (2 DC) ($P < 0,05$, Tabla 2). En general, tanto el crecimiento micelial como la conidiogénsis decrecieron al incrementar la dosis de cada insecticida evaluado.

Tabla 2. Diámetro micelial ($\bar{x} \pm SD$) 6 y 14 días después de la inoculación (DDI) y producción de conidios ($\bar{x} \pm SD$) 14 DDI de *Beauveria bassiana*, creciendo en PDA con diferentes dosis de insecticidas y porcentaje de inhibición

		<i>Beauveria bassiana</i>					
		Cto. Micelial		Prod. Conidios			
		6 DDI	14 DDI	$\log_{10}(x)$	Red.		
		\emptyset (cm)	Red. (%)	\emptyset (cm)	Red. (%)	$(\bar{x} \pm SE)$	(%)
TESTIGO		$2,5 \pm 0,17a$	-	$5,9 \pm 0,52a$	-	$8,46 \pm 0,04a$	
Tiametoxan +	0,5 DC	$1,4 \pm 0,10bc$	45%	$4,7 \pm 0,46ab$	20%	$8,15 \pm 0,10ab$	4%
Lambdacialotrina	DC	$0,9 \pm 0,08de$	63%	$1,7 \pm 0,16e$	71%	$7,71 \pm 0,10bcd$	9%
	2 DC	$0,8 \pm 0,07de$	69%	$1,4 \pm 0,14ef$	77%	$7,78 \pm 0,10bcd$	8%
Imidaclorpid +	0,5 DC	$0,9 \pm 0,11cde$	63%	$1,9 \pm 0,24de$	68%	$7,25 \pm 1,2cde$	14%
Betaciflutrina	DC	$0,8 \pm 0,06de$	69%	$1,6 \pm 0,17e$	72%	$6,56 \pm 0,13ef$	22%
	2 DC	$0,6 \pm 0,06e$	75%	$1,2 \pm 0,12ef$	79%	$6,42 \pm 0,09f$	24%
Tiametoxan	0,5 DC	$1,9 \pm 0,15ab$	23%	$5,0 \pm 0,44ab$	16%	$8,30 \pm 0,36abc$	2%
	DC	$1,7 \pm 0,13b$	32%	$4,3 \pm 0,42abc$	27%	$8,36 \pm 0,47abcd$	1%
	2 DC	$1,7 \pm 0,12b$	34%	$3,3 \pm 0,34bc$	43%	$7,43 \pm 0,30abcdef$	12%
Triclorfón	0,5 DC	$1,4 \pm 0,12bc$	45%	$2,8 \pm 0,30cd$	52%	$7,95 \pm 0,33abcd$	6%
	DC	$1,1 \pm 0,09cd$	58%	$1,9 \pm 0,21de$	69%	$8,23 \pm 0,30abc$	3%
	2 DC	$0,9 \pm 0,07de$	65%	$1,0 \pm 0,09f$	83%	$6,59 \pm 0,33def$	22%

Medias en columnas seguidas por letras iguales no difieren significativamente (Tukey, $P < 0,05$).

DC: dosis recomendada de campo; 0,5 DC: la mitad de la dosis recomendada de campo y 2DC: el doble de la dosis recomendada de campo.

3.5.2. *Lecanicillium attenuatum*

Seis y catorce días post inoculación, el diámetro micelial de las colonias de *L. attenuatum* no fue afectado por tiametoxan, y tiametoxam + lambdacialotrina en las tres dosis evaluadas y por triclorfón en la menor dosis (0,5 DC). La producción de conidios tampoco fue inhibida por tiametoxan en las tres dosis y por triclorfón en la dosis menor (0,5 DC) ($P < 0,05$) (Tabla 3). La mezcla de imidacloprid + betaciflutrina, en las dosis evaluadas, produjo la mayor inhibición de crecimiento micelial y producción de conidios.

Tabla 3. Diámetro micelial ($\bar{x} \pm SD$) 6 y 14 días después de la inoculación (DDI) y producción de conidios ($\bar{x} \pm SD$) 14 DDI de *Lecanicillium attenuatum*, creciendo en PDA con diferentes dosis de insecticidas porcentaje de inhibición

<i>Lecanicillium attenuatum</i>						
	Cto. Micelial				Prod. Conidios	
	6 DDI		14 DDI		$\log_{10}(x)$	Red.
	\emptyset (cm)	Red. (%)	\emptyset (cm)	Red. (%)	($\bar{x} \pm SE$)	(%)
TESTIGO		$1,9 \pm 0,10$ a		$3,8 \pm 0,25$ a		$8,43 \pm 0,04$ a
Tiametoxan +	0,5 DC	$1,6 \pm 0,07$ ab	18%	$3,0 \pm 0,16$ ab	20%	$7,85 \pm 0,08$ c
Lambdacialotrina	DC	$1,2 \pm 0,06$ c	39%	$2,7 \pm 0,16$ bc	28%	$7,65 \pm 0,08$ cd
	2 DC	$1,1 \pm 0,05$ c	44%	$2,2 \pm 0,13$ cd	42%	$7,51 \pm 0,08$ cde
Imidacloprid +	0,5 DC	$0,6 \pm 0,04$ de	67%	$1,0 \pm 0,08$ ef	73%	$6,87 \pm 0,21$ ef
Betaciflutrina	DC	$0,6 \pm 0,04$ e	69%	$0,8 \pm 0,07$ fg	79%	$6,12 \pm 0,23$ fg
	2 DC	$0,6 \pm 0,04$ e	69%	$0,6 \pm 0,05$ g	83%	$5,58 \pm 0,20$ g
Tiametoxan	0,5 DC	$1,8 \pm 0,08$ a	4%	$3,4 \pm 0,17$ ab	10%	$8,34 \pm 0,04$ ab
	DC	$1,8 \pm 0,1$ a	4%	$3,8 \pm 0,24$ a	0%	$8,24 \pm 0,06$ ab
	2 DC	$1,7 \pm 0,07$ ab	13%	$3,4 \pm 0,18$ ab	11%	$8,35 \pm 0,05$ ab
Triclorfón	0,5 DC	$1,5 \pm 0,08$ ab	20%	$2,8 \pm 0,17$ abc	25%	$7,81 \pm 0,4$ abcde
	DC	$1,3 \pm 0,08$ bc	29%	$2,0 \pm 0,13$ d	47%	$7,41 \pm 0,28$ bcde
	2 DC	$0,8 \pm 0,04$ d	58%	$1,2 \pm 0,08$ e	69%	$7,01 \pm 0,23$ def

Medias en columnas seguidas por letras iguales no difieren significativamente (Tukey, $P < 0,05$).

DC: dosis recomendada de campo; 0,5 DC: la mitad de la dosis recomendada de campo y 2DC: el doble de la dosis recomendada de campo.

3.5.3. Clasificación de toxicidad de los insecticidas para los hongos entomopatógenos

De acuerdo con el modelo T de clasificación de insecticidas para entomopatógenos, en las dosis evaluadas, los productos a las dosis utilizadas resultaron compatibles con las cepas de *B. bassiana* y *L. attenuatum*, excepto imidacloprid + betaciflutrina, en la dosis mayor (2 DC). En esta dosis, la mezcla resultó moderadamente compatible con *L. attenuatum*. En general, el valor T disminuyó con el aumento de la concentración evaluada.

Tabla 5. Clasificación de compatibilidad entre los insecticidas, a las dosis evaluadas, y los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium attenuatum* (modelo T, Alves *et al.*, 1998b).

	Tiametoxam + Lambdacialotrina	<i>B. bassiana</i>		<i>L. attenuatum</i>	
		Valor T	Clasif.	Valor T	Clasif.
Imidacloprid + Betaciflutrina	0,5 DC	93,1	C	90,5	C
	DC	78,7	C	87,0	C
	2 DC	78,2	C	82,8	C
Triclorfón	0,5 DC	74,9	C	70,6	C
	DC	67,6	C	62,2	C
	2 DC	64,9	C	56,3	MC
Tiametoxam	0,5 DC	95,3	C	97,1	C
	DC	93,6	C	98,1	C
	2 DC	81,6	C	97,0	C
	0,5 DC	84,9	C	89,0	C
	DC	84,1	C	80,9	C
	2 DC	65,6	C	72,6	C

MC: Moderadamente compatible; C: Compatible.

3.6. DISCUSIÓN

En un programa de Manejo Integrado (MIP) en soja, resulta clave conocer la compatibilidad de los agroquímicos utilizados comercialmente con los controladores naturales, con el objetivo de maximizar la conservación de los agentes presentes en el agroecosistema o ante la posibilidad de aplicaciones con biosinsecticidas (Cuthbertson *et al.*, 2005) en estrategias de control biológico aplicado. Los efectos inhibitorios potenciales de los insecticidas sobre los hongos entomopatógenos varían entre las especies, las cepas (Alizadeh *et al.*, 2007; Anderson *et al.*, 1989; Olmert y Kenneth, 1974) y la naturaleza del agroquímico (Jeong y Kyu, 2007).

El crecimiento micelial, según diversos autores, es el estado de desarrollo de los hongos entomopatógenos más sensible a la acción de los agroquímicos (Akbar *et al.*, 2012; Coremans Pelseneer y Tillemans, 1988; Tuset, 1985). Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con dicha afirmación, donde los insecticidas evaluados provocaron una mayor inhibición del crecimiento micelial en relación al efecto causado sobre la producción de conidios.

Tiametoxan, en todas las dosis evaluadas, no afectó el crecimiento micelial de *L. attenuatum*, ni la producción de conidios de ambos hongos. En este sentido, Batista Filho *et al.* (2001) encontraron, *in vitro*, que este insecticida no afectó el crecimiento de *Lecanicillium* spp. y *B. bassiana* y generó una mayor producción de conidios de *Lecanicillium* spp. en relación al testigo. Además, estos autores encontraron que tiametoxan no interfirió con el potencial de inóculo de *B. bassiana* cuando se aplicó en hojas de *Phaseolus vulgaris* previamente pulverizadas con dicho microorganismo. La compatibilidad de tiametoxan con *B. bassiana* también fue indicada por Neves *et al.* (2001). Sin embargo, Gurulingappa *et al.* (2011) encontraron que tiametoxan (50 y 100 g de principio activo por hectárea) afectó el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *L. lecanii*. Estas discrepancias podrían deberse a las diferentes formulaciones utilizadas (suspensión concentrada, polvo floable y granulado dispersable) ya que el nivel de toxicidad de los insecticidas depende no sólo del ingrediente activo, sino también de los ingredientes inertes de la

formulación, pudiendo maximizar o minimizar el efecto tóxico del principio activo (Ware, 1994). Diferencias en la toxicidad para *B. bassiana* de distintas marcas comerciales de dimetoato fueron observadas por Tamai *et al.* (2002), sugiriendo que los resultados obtenidos en este trabajo no pueden extrapolarse a otros productos de diverso origen o con diferente formulación.

Las mezclas de neonicotinoides y piretroides, a pesar de haber causado reducciones significativas del crecimiento micelial y la producción de conidios en relación al testigo, resultaron compatibles de acuerdo al modelo T (excepto la mayor dosis de mezcla de imidaclorpid + betaciflutrina con *L. attenuatum*). Los resultados pueden diferir cuando se evalúan los componentes de estas mezclas por separado. En este sentido, imidacloprid resultó compatible con *B. bassiana* (Alizadeh, *et al.*, 2007; James y Elzen, 2001; Neves *et al.*, 2001) y con *Lecanicillium spp.* (Panahi *et al.*, 2012; Gurulingappa *et al.*, 2011; Jeong y Kyu, 2007). Sin embargo, existen discrepancias en los resultados obtenidos con diferentes piretroides. Deltametrina resultó incompatible con *B. bassiana* (Batista Filho *et al.*, 2001) pero no afectó el crecimiento micelial ni la germinación de *L. attenuatum*. Alfa cipermetrina y ciflutrina resultaron compatibles con *B. bassiana* a pesar de haber afectado su crecimiento micelial (Oliveira *et al.*, 2003).

En el presente estudio, triclorfón afectó negativamente el crecimiento micelial de ambas cepas, aunque debido al bajo efecto negativo en la producción de conidios, todas las dosis evaluadas resultaron compatibles con las mismas, de acuerdo al modelo T. Contrariamente, existen trabajos que señalaron efectos nocivos de diferentes fosforados en *B. bassiana*. En este sentido, clorpirimifós inhibió por completo la germinación (Oliveira *et al.*, 2003), monocrotofós resultó incompatible (Batista Filho *et al.*, 2001) y profenofós fue indicado como altamente tóxico por Amutha *et al.* (2010) para dicho entomopatógeno.

Dado que los efectos de compuestos químicos varían según los factores ambientales (James y Elzen, 2001), los resultados obtenidos en laboratorio y expresados en términos de compatibilidad por el modelo T deben corroborarse a

campo (Neves *et al.*, 2001). *In vitro* los hongos son expuestos a concentraciones máximas de insecticidas, lo que generalmente no sucede en condiciones reales. En el campo, luego de la aplicación, las moléculas de agroquímicos quedan expuestas a la acción de múltiples factores climáticos, como la luz solar, aumentando la velocidad de descomposición de los compuestos tóxicos (Ebert y Downer, 2008; Matsumura, 1982). En esas condiciones, si la detención del crecimiento debido al insecticida es temporal, los hongos podrían recuperarse a medida que la concentración del agente tóxico disminuye. Por este motivo, si un producto químico resulta selectivo en ensayos de laboratorio, también será selectivo en condiciones de campo. En contraste, la alta toxicidad *in vitro*, aunque probablemente se manifieste también a campo (Alves *et al.*, 1998b), no siempre lo hará con la misma magnitud (Butt y Brownbridge, 1997).

Teniendo en cuenta que la germinación de conidios es el primer paso del proceso de infección de los hongos a campo (Oliveira *et al.*, 2003), evaluar la compatibilidad de los insecticidas sobre dicho parámetro resultará de gran importancia para determinar si los mismos son compatibles con programas de MIP (Hirose *et al.*, 2001; Neves *et al.*, 2001).

3.7. CONCLUSIONES

Los insecticidas mezcla de neonicotinoides y piretroides evaluados (tiame toxan+lambdacialotrina, imidacloprid+betacyflutrina), en las dosis comerciales, afectaron el crecimiento y producción de conidios de *B. bassiana* (ILB 204) y *L. attenuatum* (ILB 257). Sin embargo, de acuerdo al modelo T de compatibilidad, en las dosis comerciales, tanto estos productos, como tiame toxan y triclorfón, resultaron compatibles con dichas cepas. Dado que en los bioensayos *in vitro* los entomopatógenos son sometidos a condiciones de máxima exposición a las concentraciones de los insecticidas, estos resultados sugieren la selectividad de estos productos, en relación a las cepas estudiadas, en condiciones de campo.

Agradecimientos

Agradecemos al Laboratorio de Bioproducción de INIA las Brujas por facilitarnos las instalaciones para realizar el entrenamiento de la metodología y proporcionarnos las cepas utilizadas. A la Sra. Beatriz Dini por la colaboración en los trabajos de laboratorio. Al Dr. Luís Francisco Angeli Alves, PhD. Carlos Pérez e Ings. Agrs. Horacio Silva, Roberto Bernal y Pablo Nuñez por sus valiosos aportes.

3.8. BIBLIOGRAFÍA

- Akbar S, Shoaib F, Asifa H, Hafiza TG, Muhammad A, Muhammad N, Muhammad M, Muhammad N, Bismillah K.** 2012. Compatibility of *Metarhizium anisopliae* with different insecticides and fungicides. African Journal of Microbiology Research, 6(17): 3956-3962.
- Alizadeh A, Samih MA, Khezri M, Riese RS.** 2007. Compatibility of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. with several pesticides. International Journal of Agriculture and Biology, 9: 31-34.
- Alves SB, Almeida JEM, Salvo S.** 1998a. Associação de produtos fitossanitários com *Beauveria bassiana* no controle da broca e ferrugem do cafeiro. Manejo Integrado de Plagas, 48: 18-24.
- Alves SB, Moino Jr. A, Almeida JEM.** 1998b. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. En Alves SB. [Ed.]. Controle microbiano de insetos. 2ed. Piracicaba: FEALQ. 217-238.
- Alves SB, Pereira RM.** 1989. Produção do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sook e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill em Bandejas. Ecossistema. 14: 188–192.
- Amutha M, Banu GJ, Surulivelu T, Gopalakrishnan N.** 2010. Effect of commonly used insecticides on the growth of white Muscardine fungus, *Beauveria bassiana* under laboratory conditions. Journal of Biopesticides, 3(1): 143-146.
- Anderson TE, Hajek AE, Roberts DW, Preisler K, Robertson JL.** 1989. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): Effects of combinations of

- Beauveria bassiana* with insecticides. Journal of Economic Entomology, 82(1): 83-89.
- Ángel Sahagún CA, Lezama-Gutiérrez R, Molina-Ochoa J, Galindo-Velasco E, López-Edwards M, Rebolledo-Domínguez O, Cruz-Vázquez C, Reyes-Velázquez WP, Skoda SR, Foster JE.** 2005. Susceptibility of biological stages of the horn fly, *Haematobia irritans*, to entomopathogenic fungi (Hyphomycetes). Journal of Insect Science, 5: 50-58.
- Batista Filho A, Almeida JEM, Clóvis L.** 2001. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. Neotropical Entomology, 30: 437-447.
- Batista Filho A, Leite LG, Raga A, Sato ME.** 1995. Enhanced activity of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. associated with mineral oil against *Cosmopolites sordidus*(Germar) adults. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 24: 405-408.
- Bueno RCOF, Parra JRP, Bueno AF.** 2009. Biological characteristics and thermal requirements of a Brazilian strain of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* reared on eggs of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatalis*. Biological Control, 51: 355-361.
- Butt TM, Brownbridge M.** 1997. Fungal pathogens of thrips. In: Lewis T. [Ed.]. Thrips as crop pests. Wallingford, UK: CAB international. 399-433.
- Carmo EL, Bueno AF, Bueno RCOF.** 2010. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. BioControl, 55: 455-464.
- Carruthers RI, Hural K.** 1990. Fungi as naturally occurring entomopathogens. Symposia on Molecular and Cellular Biology, 112: 115-138.
- Clark RA, Casagrande RA, Wallace DB.** 1982. Influence of pesticides on *Beauveria bassiana* a pathogen of the Colorado potato beetle. Environmental Entomology, 11: 67-70.
- Coremans Pelseneer J, Tillemans F.** 1988. Effect of seven phytosanitary products on the growth of the entomopathogenic fungus *Beauveria*. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Universiteit Gent, 53 (3a): 967-971.

- Cuthbertson A, Walters K, Deppe, C.** 2005. Compatibility of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* and insecticides for eradication of sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Mycopathologia*, 160: 35-41.
- De Olivera RC, Neves PMOJ.** 2004. Biological control compatibility of *Beauveria bassiana* with acaricides. *Neotropical Entomology*, 33: 353–8.
- Ebert T, Downer R.** 2008. Insecticide Application: The dose transfer process. En: Capinera JL. [Ed.]. *Encyclopedia of Entomology*. Florida, USA: Springer. 1959–1973.
- FAOSTAT 2015.** FAOSTAT Agriculture data. FAO, Rome, Italy. [En línea] Consultado 22 junio 2015. Disponible en: http://faostat3.fao.org/browse/rankings/commodities_by_regions/E.
- Fearnside P M.** 2001. Soybean cultivation as a threat to the environment in Brazil Environmental Conservation. Foundation for Environmental Conservation, 28 (1): 23–38.
- Gardner WA, Storey GK.** 1985. Sensitivity of *Beauveria bassiana* to selected herbicides. *Journal of Economic Entomology*, 78: 1275-1279.
- Goettel MS , Masanori K, Jeong JK, Daigo A, Ryoji S, Brodeur J.** 2008. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98: 256–261.
- Gudynas E.** 2008. Development. Society for International Development, 51(4): 512–518.
- Gurulingappa P, Mc Gee P, Sword GA.** 2011. *In Vitro* and *In Planta* compatibility of insecticides and the endophytic entomopathogen, *Lecanicillium lecanii*. *Mycopathologia*, 172: 161–168.
- Hajek AE, St Leger RJ.** 1994. Interaction between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*, 39: 293–332.
- Hall RA.** 1981. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. En: Burges HD. [Ed.]. *Microbial Control of Pests and Plants Disease*. New York, USA: Academic Press. 483-498.
- Hirose E, Neves PMOJ, Zequi JAC, Martins LH, Peralta CH, Moino Jr A.** 2001. Effect of biofertilizers and Neem oil on the entomopathogenic fungi *Beauveria*

- bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. Brazilian Archives of Biology and Technology, 44(4): 419-423.
- Hokkanen HMT, Kotiluoto R.** 1992. Bioassay of the side effects of pesticides on *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*: standardized sequential testing procedure. IOBC/WPRS Bulletin, 21(3): 148-151.
- James RR, Elzen GW.** 2001. Antagonism between *Beauveria bassiana* and imidaclopridae when combined for *Bemisia argentifolii* (Hom.: Aleyrodidae) control. Journal of Economic Entomology, 94:357–361.
- Jeong JK, Kyu CK.** 2007. Compatibility of entomopathogenic fungus *Lecanicillium attenuatum* and pesticide to control Cotton Aphid, *Aphis gossypii*. International Journal of Industrial Entomology, 14(2):143–146.
- Kogan M.** 1998. Integrated Pest Management: Historical perspectives and contemporary developments. Annual Review of Entomology, 43: 243-270.
- Leland JE, McGuire MR, Grace JA, Jaronski ST, Ulloa M, Park YH, Plattner RD.** 2005. Strain selection of a fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* for control of plant bugs (*Lygus* spp) (Heteroptera: Miridae). Biological Control, 35: 104–14.
- Malekan N, Ebadi R, Ebadi B.** 2010. Effect of imidacloprid on the germination of conidia and mycelial growth of *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium muscarium* under laboratory conditions. Applied Entomology and Phytopathology. 78(1): 113–120.
- Matsumura F.** 1982. Biodegradation of Pesticides. En Matsumura F, Murti CRK. [Eds.]. Biodegradation of Pesticides. USA: Springer. 67–87.
- McCoy CW, Couch TI.** 1982. Microbial control of the citrus rust mite with the mycoacaricide, Mycar®. Florida Entomologist, 65: 116–26.
- Meyer SLF, Johnson G, Dimock M, Fahey JW, Huettel RN.** 1997. Field efficacy of *Verticillium lecanii*, sex pheromone, and pheromone analogs as potential management agents for soybean cyst nematode. Journal of Nematology, 29: 282–288.
- Moino Jr. AR, Alves SB.** 1998. Efeito de Imidacloprid e Fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. E *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no

- comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagem). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 27: 611-619.
- Neves PMOJ, Hirose E, Techujo PT, Moino Jr. A.** 2001. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. Neotropical Entomology, 3: 263-268.
- Oliveira GN, Neves PMOJ, Kawazoe LS.** 2003. Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. Scientia Agricola, 60(4): 663-667.
- Olmert I, Kenneth RG.** 1974. Sensitivity of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, and *Verticillium* sp. to fungicides and insecticides. Environmental Entomology, 3: 33-38.
- Ownley B, Gwinn KD, Vega FE.** 2009. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. BioControl, 55:113-128.
- Panahi O, Hosseinzadeh J, Delkhoon S, Zahra L.** 2012. Compatibility of *Lecanicillium longisporum* with acetamipride and imidaclopride under laboratory conditions. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 45(17): 2009-2013.
- Panizzi AR, Slansky F.** 1985. Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. The Florida Entomologist, 68(1): 184-214.
- Paullier J.** 2013. Primer bioinsecticida producido en Uruguay. En: Jornada de divulgación. INIA Las Brujas, 11 de noviembre de 2013 Resultados experimentales en sanidad de tomate y morrón. Canelones. Uruguay: INIA. Serie Actividades de Difusión, 723. Pp 55-56. Consultado 30 de Junio. Disponible en: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/1838/1/128221141113143111.pdf>
- Pengue, WA.** 2005. Transgenic crops in Argentina: the ecological and social debt. Bulletin of Science, Technology & Society, 25(4): 1-9.
- Quintela ED, McCoy CW.** 1998. Synergistic effect of imidacloprid and two entomopathogenic fungi on the behavior and survival of larvae of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in soil. Journal of Economic Entomology, 91: 110-122.
- S.A.S. Institute Inc. 2008.** SAS/STAT® 9.2 User's Guide: Statistics. Cary, NC.

- Sosa Gómez DR, Alves SB.** 2000. Temperature and relative humidity requirements for conidiogenesis of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes: Moniliaceae). Anais de Sociedade Entomológica do Brasil, 29: 515-521.
- Sosa Gómez DR, Moscardi F.** 1998. 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. Journal of Invertebrate Pathology, 71: 115–120.
- Sosa Gómez DR, Boucias DG, Nation JL.** 1997. Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the southern green stink bug *Nezara viridula* cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids aldehydes. Journal of Invertebrate Pathology, 69: 31-39.
- Sosa Gómez DR, Moscardi F.** 1995. Retenção foliar diferencial em soja provocada por percevejos (Heteroptera: Pentatomidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 24: 401–404.
- Storey GK, Gardner WA.** 1986. Sensitivity of the entomogenous fungus *Beauveria bassiana* to selected plant growth regulators and spray additives. Applied and Environmental Microbiology, 52(1): 1-3.
- Tamai MA, Alves SB, Lopes RB, Faion M, Padulla LFL.** 2002. Toxicidade de productos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (Bals.) Viull. Arquivos do Instituto Biológico, 69: 89-96.
- Todorove SI, Coderre D, RM Duchesne RM, Côté JC.** 1998. Compatibility of *Beauveria bassiana* with selected fungicide and herbicides. Environmental Entomology, 27: 427–33.
- Tonet GL, Salvatori JR.** 2002. Identificação de espécies de percevejos e avaliação do seu parasitismo, na cultura de soja. Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil: EMBRAPA Trigo Documentos on line. [En línea]. Consultado 24 junio 2015. Disponible en: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do12_23.htm.
- Turnipseed SG, Kogan M.** 1976. Soybean entomology. Annual Review of Entomology. 21: 247-282.
- Tuset, JJ.** 1985. *Verticillium lecanii* (Zimm) Viegas (Moniliaceae Hyphomycetes). OEPP/EPPO Bulletin, 15 (1): 236-237.

- Van den Bosch.** 1978. The pesticide conspiracy. University of California press, Ltd. Oxford, England. 226p.
- Ware GW.** 1994. The pesticide book, 4th ed. Thomson Publications, Fresno, California. 386p.
- Zare R, Gams, W. 2001.** A revision of *Verticillium* section Prostrata. V. The genus Pochonia, with notes on Rotiferophthora. Nova Hedwigia, 73: 5 1-86.

4. CONCLUSIONES

El insecticida mezcla de tiametoxan+lambdacialotrina presentó la mayor eficacia de control de chinches en ensayos parcelarios a campo, durante dos años de evaluación. En 2012, con una población inicial menor (promedio de 3,1 chinches por metro), y más heterogénea [*Piezodorus guildinii* (53%), *Nezara viridula* (17%), *Edessa meditabunda* (17%) y *Dichelops furcatus* (13%)], las mezclas de imidacloprid+betacyflutrina, acetamiprid+cipermetrina, imidacloprid+carbaril y triclorfón también presentaron eficacia de control satisfactoria (mayor a 80%). En 2013, con una población inicial mayor (promedio de 6,5 chinches por metro), con predominio de *P. guildinii* (92% del total de las especies) y un alto porcentaje de re-infestación, sólo la mezcla de tiametoxan+lambdacialotrina manifestó una efectiva reducción de chinches, en comparación con el testigo sin aplicación de insecticidas. Los neonicotinoides (imidacloprid y tiametoxan), en las dosis estudiadas, no fueron eficaces para el control de chinches.

Los efectos de los insecticidas sobre predadores generalistas de hábito aéreo, evaluados durante los dos años en ensayos parcelarios a campo, no fueron consistentes. Las arañas predominaron durante ambos años de estudio, superando el 70% del total de predadores. La mezcla de tiametoxan+lambdacialotrina, 2 y 6 días post aplicación de insecticidas en 2012 y en todas las fechas de evaluación de 2013 tuvieron efectos negativos sobre los artrópodos predadores.

En los ensayos de laboratorio, el porcentaje de emergencia de *Telenomus podisi* (larvas desarrollándose dentro de posturas de *P. guildinii* sumergidas en las diferentes soluciones de los insecticidas), resultó afectado negativamente por las mezclas de neonicotinoides+piretroides y triclorfón. Estos resultados no fueron ratificados a campo, donde la emergencia de *T. podisi* dispuestas en vainas del estrato medio del follaje de la soja no resultó afectada significativamente por ninguno de los insecticidas, a las dosis recomendadas comercialmente para el control de chinches en soja. No fue evaluado el impacto sobre la fase adulta, de vida libre, de

los parasitoides, lo que se sugiere como una información complementaria importante al presente estudio.

Tiametoxan+lambdacialotrina, imidacloprid+betacyflutrina y triclorfón, en las dosis comerciales recomendadas para el control de chinches en soja, afectaron el crecimiento micelial de *Beauveria bassiana* (ILB 204) y *Lecanicillium attenuatum* (ILB 207) a los 14 días luego de que los mismos fueron inoculados en medio sólido (PDA) con el agregado de los insecticidas. Tiametoxan, en las dosis comercial recomendada no inhibió la producción de conidios de ambas cepas y triclorfón, en la dosis comercial, no afectó la conidiogénesis de *L. attenuatum*. El crecimiento micelial fue la fase de desarrollo de los hongos más sensible al efecto de los insecticidas. Siguiendo el modelo T de compatibilidad, todos los insecticidas evaluados resultaron compatibles a las dosis recomendadas para el control de chinches en soja con las cepas en estudio. El efecto de los insecticidas sobre la germinación de los conidios no fue evaluado, considerándose un punto importante para ser estudiado en futuros ensayos.

Este estudio confirma la limitada disponibilidad de opciones eficaces disponibles para el control de chinches en soja, en las condiciones de evaluación a campo de estos dos años. En contrapartida, los resultados son alentadores en relación a los impactos sobre los biocontroladores comunes del ambiente de ese cultivo.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Aaron CA, Yeargan KV. 1998. Influence of soybean canopy closure on predator abundance and predation on *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs. Environmental Entomology, 27(6): 1488-1495.
- Akbar S, Shoaib F, Asifa H, Hafiza TG, Muhammad A, Muhammad N, Muhammad M, Muhammad N, Bismillah K. 2012. Compatibility of *Metarhizium anisopliae* with different insecticides and fungicides. African Journal of Microbiology Research, 6(17): 3956-3962.
- Alizadeh A, Samih MA, Khezri M, Riese RS. 2007. Compatibility of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. with several pesticides. International Journal of Agriculture and Biology, 9: 31–34.
- Álvarez D, Abbate S. 2013. Nuevos problemas de plagas en soja; *Helicoverpa gelotopoeon* (lagarta bolillera). En: Simposio Nacional de Agricultura (3er., 2013, Paysandú). No se llega si no se sabe a dónde ir. Paysandú Uruguay: Hemisferio Sur. pp 133-143.
- Alves SB, Almeida JEM, Salvo S. 1998a. Associação de produtos fitossanitários com *Beauveria bassiana* no controle da broca e ferrugem do cafeeiro. Manejo Integrado de Plagas, 48: 18-24.
- Alves SB, Moino Jr. A, Almeida JEM. 1998b. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. Em: Alves SB. (Ed.). Controle microbiano de insetos. (2da edición). Piracicaba: FEALQ. 217-238.
- Alves SB, Pereira RM. 1989. Produção do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sook e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill em Bandejas. Ecossistema, 14: 188–192.
- Alzugaray R, Ribeiro A. 2000. Insectos en pasturas. En: Zerbino MS, Ribeiro A (Eds.). Manejo de plagas en pasturas y cultivos. Montevideo: INIA, Serie Técnica, 112: 13-30.
- Amutha M, Banu GJ, Surulivelu T, Gopalakrishnan N. 2010. Effect of commonly used insecticides on the growth of white Muscardine fungus, *Beauveria bassiana* under laboratory conditions. Journal of Biopesticides, 3(1): 143-146.

- Anderson TE, Hajek AE, Roberts DW, Preisler K, Robertson JL. 1989. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): Effects of combinations of *Beauveria bassiana* with insecticides. Journal of Economic Entomology, 82(1): 83-89.
- Ángel Sahagún CA, Lezama Gutiérrez R, Molina Ochoa J, Galindo Velasco E, López Edwards M, Rebolledo Domínguez O, Cruz Vázquez C, Reyes Velázquez WP, Skoda SR, Foster JE. 2005. Susceptibility of biological stages of the horn fly, *Haematobia irritans*, to entomopathogenic fungi (Hyphomycetes). Journal of Insect Science, 5: 50-58.
- Aragón J, Flores F. 2006. Control integrado de plagas en soja en el sudeste de Córdoba (en línea) Marcos Juárez INTA. Consultado 3 Julio 2015. Disponible en: http://inta.gob.ar/documentos/control-integrado-de-plagas-en-soja-en-el-sudeste-de-cordoba/at_multi_download/file/%C2%A0Control%20integrado%20de%20plagas%20en%20soja%20en%20el%20sudeste%20de%20C%C3%B3rdoba.pdf
- Arbeletche P, Ferrari JM, Souto G, Escudero J. 2008. Impacto socioeconómico de la soja en Uruguay (en línea). Consultado 3 julio 2015. Disponible en: http://www.mesadeoleaginosos.org.uy/encuentro_soja/4-La_expansion_de_la_Soja_-Una_aproximacion_a_sus_impactos_socioeconomicos.pdf
- Austin AD, Johnson NF, Dowton M. 2005. Systematics, evolution and biology of scelionid and platygastrid wasps. Annual Review of Entomology, 50: 553-582.
- Ávila I. 2006. Parasitismo de huevos de chinche (*Piezodorus guildinii*), en soja. Tesis ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 46p.
- Baldwin J, Davis J, Leonard BR. 2009. Control soybean insect pest. LSU AgCenter Pub. 2211. Consultado 3 julio 2015. Disponible en: <http://www.lsuagcenter.com/NR/rdonlyres/906FB494-4396-4949-A825-D416DD08B17D/56550/pub2211soybeaninsects2009HIGHRES.pdf>
- Batista Filho A, Almeida JEM, Clóvis L. 2001. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. Neotropical Entomology, 30: 437-447.
- Batista Filho A, Leite LG, Raga A, Sato ME. 1995. Enhanced activity of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. associated with mineral oil against *Cosmopolites*

- sordidus*(Germar) adults. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 24: 405-408.
- Baur ME, Sosa Gómez DR, Ottea J, Leonard BR, Corso IC, Da Silva JJ, Temple J, Boethel DJ. 2010. Susceptibility to insecticides used for control of *Piezodorus guildinii* (Heteroptera: Pentatomidae) in the United States and Brazil. Journal of Economic Entomology, 103: 869–876.
- Bayram A, Salerno G, Onofri A, Conti E, 2010. Lethal and sub lethal effects of preimaginal treatments with two pyrethroids on the life history of the egg parasitoid *Telenomus busseolae*. BioControl, 55: 697–710.
- Bentancourt CM, Scatoni IB. 2010. Guía de insectos y ácaros de importancia agrícola y forestal. (3ra. edición). Montevideo: Editorial Hemisferio Sur. 589p.
- Bentancourt CM, Scatoni IB. 2001. Enemigos Naturales: Manual ilustrado para la agricultura y forestación. Montevideo: Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur. 169p.
- Binnewies, C.; Giani, G. 2006. Efecto de diferentes tratamientos químicos para el control de insectos plaga en soja sobre los enemigos naturales. Tesis ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 52 p.
- Boethel DJ, Russin JS, Wier AT, Layton MB, Mink JS, Boyd ML. 2000. Delayed maturity associated with southern green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) injury at various soybean phonological stages. Journal of Economic Entomology, 93 (3): 707-712.
- Borges EP, Lourenço LF, 2004. Contrôle de *Piezodorus guildinii*, *Euschistus heros* e *Nezara viridula* na cultura da soja. Brasil: EMBRAPA soja. Documentos 234. pp 225.
- Bowling CC. 1980. The stylet sheath as an indicator of feeding activity by the southern green stink bug on soybean. Journal of Economic Entomology, 73:1-3.
- Boyd ML, Boethel DJ. 1998. Residual toxicity of selected insecticides to heteropteran predaceous species (heteroptera: Lygaeidae, nabidae, Pentatomidae) on soybean. Environmental Entomology, 27(1): 154-160.

- Boyer WP, Dumas BA. 1969. Plant shaking methods for soybean insect survey in Arkansas. En: Survey methods for some economic insects. USA: Departement of Agriculture, Agricultural Reserch Service, 92-94.
- Brier H.1993. Extent of bug damage in soybeans dependent on species. Northern Focus. 4-5.
- Brier H, Rogers J. 1991 Susceptibility of soybean to damage by *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) and *Riptortus serripes* (F.) (Hemiptera: Alydidae) during three stage of pod development. Journal of Australian Entomological Society, 30: 123-128
- Bruno A. 2007. Plaguicidas usados en el cultivo de soja. Evolución de su uso y estimación de su impacto ambiental Presentación en Río Negro, 7 de junio de 2007 (En línea). Consultado 3 julio 2015. Disponible en: http://www.caf.org.uy/IMG/pdf/Alfredo_Bruno.pdf
- Bueno AF, Bortolotto OC, Pomari-Fernandes A,de Barros França-Neto J. 2015. Assessment of a more conservative stink bug economic threshold for managing stink bugs in Brazilian soybean production. Crop Protection, 71:132-137.
- Bueno AF, Paula-Moraes SV, Gazzoni DL, Pomari AF. 2013. Economic thresholds in soybean-integrated pest management: old concepts, current adoption, and adequacy. Neotropical Entomology, 42: 439-447.
- Bueno RCOF, Parra JRP, Bueno AF. 2009. Biological characteristics and thermal requirements of a Brazilian strain of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* reared on eggs of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatalis*. Biological Control, 51: 355-361.
- Bundy ACS, McPhersonRM, 2000. Morphological examination of stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) eggs on cotton and soybeans, with a key to genera. Annals of the Entomological Society of America, 93, 616–624.
- Butt TM, Brownbridge M. 1997. Fungal pathogens of thrips. In: Lewis T. (Ed.). Thrips as crop pests. Wallingford, UK: CAB international, 399-433.
- Cancelado RE, Radcliffe EB. 1979. Action thresholds for green peach aphid on potatoes in Minnesota. Journal of Economic Entomology, 72: 606-609.

- Carmo EL, Bueno AF, Bueno RCOF, 2010. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. BioControl, 55: 455–464.
- Carmo EL, Bueno AF, Bueno RCOF, Vieira SS, Gobby AG, Vasco FR, 2009. Seletividade de diferentes agrotóxicos usados na cultura da soja ao parasitoide de ovos *Telenomus remus*. Ciência Rural, 39: 2293–2300.
- Carruthers RI, Hural K. 1990. Fungi as naturally occurring entomopathogens. In: Symposia on Molecular and Cellular Biology New Directions In Biological Control: Alternatives For Suppressing Agricultural Pests And Diseases (1ro., 1990, Los Angeles). Proceedings. Los Angeles, Calif.: University of California, Los Angeles. 112: 115-138.
- Castiglioni E, Perini CR, Chiaravalle W, Arnemann JA, Ugalde G, Guedes JVC. "de próxima aparición". Primer registro de ocurrencia de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) en soja, en Uruguay.
- Castiglioni E, Ribeiro A, Alzugaray R, Silva H, Ávila I, Loiácono M. 2010. Prospección de parasitoides de huevos de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) en el litoral oeste de Uruguay. Agrociencia Uruguay, 14(2): 22-25.
- Castiglioni E, Giani G, Binnewies C, Bentancur O. 2008. Susceptibilidad de la chinche *Piezodorus guildinii* Westwood (Hemiptera: Pentatomidae) al insecticida Endosulfán. Agrociencia Uruguay, 12(1): 31-34.
- Castiglioni E, Ribeiro A, Silva H, Cristina M. 2006. Prospección de factores naturales de mortalidad de *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae) en Uruguay. En: Congresso Brasileiro de Entomologia (21º, 2006, Recife, P.E., BR). Resumos. Recife, Brasil. Sociedade Entomológica do Brasil. Disco compacto 8 mm.
- Castiglioni E. 2004. La soja avanza sobre el paisaje y la chinche avanza sobre la soja. Cangüe, 26: 2-6.
- Catchot A. 2008. Insect Control Guide for Corn, Cotton & Soybeans 2008. Mississippi State University Extension, 2008. Mississippi State (2471). 64p.
- Chiaravalle W. 1996. *Rachiplusia nu* (Guenée). Lagarta del girasol. En: Bentancourt CM, Scatoni IB (Eds.). Lepidópteros de importancia económica. Reconocimiento,

- biología y daño de las plagas agrícolas y forestales. Montevideo: Editorial Hemisferio Sur. Facultad de Agronomía. 99-106.
- Chyen D, Wetzstein ME, McPherson RM, Givan WD. 1992. An economic evaluation of soybean stink bug control alternatives for the Southeastern United States. Southern Journal of Agricultural Economics, 24: 83-94.
- Clark RA, Casagrande RA, Wallace DB. 1982. Influence of pesticides on *Beauveria bassiana* a pathogen of the Colorado potato beetleEnvironmental Entomology, 11: 67-70.
- Cônsoli FL, Parra JRP, Hassan SA, 1998. Side-effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym. Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). Journal of Applied Entomology, 122: 0-4.
- Coremans Pelseneer J, Tillemans F. 1988. Effect of seven phytosanitary products on the growth of the entomopathogenic fungus *Beauveria*. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Universiteit Gent, 53 (3a): 967-971.
- Corrêa Ferreira BS. 2005. Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 40(11): 1067-1072.
- Corrêa Ferreira BS. 2002. *Trissolcus basalis* para o controle de percevejos da soja. En: Parra JRP, Botelho PSH, Corrêa Ferreira BS, Bento JMS (Eds.). Controle biológico no Brasil. Parasitóides e predadores. São Paulo: Manole. 449-476.
- Corrêa Ferreira BS, Azevedo J. 2002. Soybean seed damage by different species of stink bugs. Agricultural and Forest Entomology, 4(2): 145-150.
- Corrêa Ferreira BS, Panizzi AR. 1999. Percevejos da soja e seu manejo. Londrina, Paraná, Brasil: EMBRAPA-CNPSO. Circular Técnica. 24, 45p.
- Corrêa Ferreira BS, Moscardi F, 1995. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. BioControl, 5: 196–202.
- Corrêa Ferreira BS. 1986. Ocorrência Natural do Complexo de Parasitoides de Ovos de Percevejos da Soja no Paraná. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 15(2): 189-199.

- Corrêa Ferreira BS, Moscardi F, Pollato SLB. 1984a. Eficiência de predadores na população de insetos pragas da soja: Londrina, Paraná, Brasil: EMBRAPA/CNPSOja Acervo Trigo Documentos 8, 235- 237.
- Corrêa Ferreira BS, Pollato SLB, Moscardi F. 1984b. Potencial de consumo dos principais insetos predadores ocorrentes na cultura da soja. Londrina, Paraná, Brasil: EMBRAPA/CNPSOja Acervo Trigo Documentos 8, 238-239.
- Corrêa Ferreira BS. 1979. Incidencia de parasitas em Lagartas da Soja. Londrina, Paraná, Brasil: EMBRAPA-CNPSO. Anais do I Seminário Nacional de Pesquisa de Soja. 2:79-91.
- Corso IC, Gazzoni DL, Nery ME. 1999. Efeito de doses e de refugio sobre a seletividade de inseticidas a predadores e parasitoides de pragas da soja. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 34 (9): 1529-1538.
- Croft BA, 1990. Sublethal influences. In: Croft BA. (Ed.). Arthropod biological control agents and pesticides. New York: Wiley Interscience.157–183.
- Cruz Junior JFA, 2004. Danos causados por *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) e *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Hemiptera: Pentatomidae) emmaçãs de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). Tesis de Maestría. Piracicaba. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. 41p.
- Cuthbertson A, Walters K, Deppe, C. 2005. Compatibility of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* and insecticides for erradication of sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. Mycopathologia, 160: 35-41.
- Daugherty D M, Neustadt MH, Gehrke CW, Cavanah LE, Williams LF, Green DE, 1964. An evaluation of damage to soybeans by brown and green stink bugs. Journal of Economic Entomology, 57: 719-722.
- Degrade PE, Reis PR, Carvalho GA, Belarmino LC. 2002. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. En: Parra JRP, Botelho PSM, Corrêa Ferreira BS, Bento JMS (Eds.). Controle biológico no Brasil. Parasitoides e Predadores. São Paulo: Manole. 71-93.
- De Olivera RC, Neves PMOJ. 2004. Biological control compatibility of *Beauveria bassiana* with acaricides. Neotropical Entomology, 33: 353–8.

- Desneux N, Decourte A, Delpuech J. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, 74: 81–106.
- Dipieri RA, Panizzi AR. 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.
- Drees BM, Rice ME. 1985. The vertical beat sheet: a new device for sampling soybean insects. *Journal of Economic Entomology*, 78: 1507-1510.
- Ebert T, Downer R, 2008. Insecticide Application: The dose transfer process. In: Capinera JL (Ed.). *Encyclopedia of entomology*. University of Florida. Springer, Berlin, Heidelberg. 1958-1974.
- FAOSTAT 2015. FAOSTAT Agriculture data. FAO, Rome, Italy. [En línea] Consultado 22 junio 2015. Disponible en: http://faostat3.fao.org/browse/rankings/commodities_by_regions/E
- FAOSTAT 2013. FAOSTAT Agriculture data. FAO, Rome, Italy. [En línea] Consultado 22 junio 2015. Disponible en: <http://data.fao.org/ref/262b79ca-279c-4517-93de-ee3b7c7cb553.html?version=1.0>
- Fearnside PM. 2001. Soybean cultivation as a threat to the environment in Brazil Environmental Conservation. Foundation for Environmental Conservation, 28(1): 23–38.
- Fehr WR, Caviness CE, 1977. Stages of soybean development. Iowa State University Special Report. 80, 11pp.
- Galileo MHM, Heinrichs EA. 1978. Avaliação dos danos causados às sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) por *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Hemiptera: Pentatomidae), em diferentes níveis e épocas de infestação. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil. 7:89–98.
- Gamundi JC, Andrian M, Bacigalupo D, Lago M, Lenzi L, P. Randazzo P, Bordero 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.

- Gamundi, JC, 1995. Evaluación de técnicas de muestreo de insectos plaga y depredadores en cultivos de soja con diferentes sistemas de siembra y labranza. En: Congreso Nacional de Soja, Reunión Nacional de Oleaginosos (1ro, 2do, 1995, Bolsa de cereales Pergamino). Buenos Aires: AIANBA. 43-50.
- Gardner WA, Storey GK. 1985. Sensitivity of *Beauveria bassiana* to selected herbicides. Journal of Economic Entomology, 78: 1275-1279.
- Gazzoni DL, Corso IC, Miguel M. 1999. Effect of insecticidas on predators and parasitoids of soybean pests. Pesquisa Agropecuária Gaúcha, 5(2): 255-264.
- Gazzoni DL. 1998. Efeito de populações de percevejos na produtividade, qualidade da semente e características agronómicas da soja. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 33: 1229-1237.
- Godoy KB, Ávila CJ, Galli JC. 2005. Parasitismo em ovos de percevejos da soja *Euschistus heros* (Fabricius) e *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) em São Gabriel do Oeste, MS. Ciência Rural, 35(2): 455- 458.
- Godoy KB, Ávila CJ. 2000. Parasitismo natural em ovos de dois percevejos da soja, na região de Dourados, MS. Revista de Agricultura, 75: 271-279.
- Goettel MS , Masanori K, Jeong JK, Daigo A, Ryoji S, Brodeur J. 2008. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. Journal of Invertebrate Pathology, 98: 256–261.
- Gudynas E. 2008. The New Bonfire of Vanities: Soybean cultivation and globalization in South America. Development, 51(4): 512–51
- Guedes JWC, Farias JR, Guareschi A, Roggia S, Lorentz LH. 2006. Capacidade de coleta de dois métodos de amostragem de insetos-pragas da soja em diferentes espaçamentos entre linhas. Ciência Rural, 36: 1299-1302.
- Guía sata. Consultado 3 Julio 2015. Disponible en:
<http://www.laguiasata.com/joomla/>
- Gurulingappa P, Mc Gee P, Sword GA. 2011. *In Vitro* and *In Planta* compatibility of insecticides and the endophytic entomopathogen, *Lecanicillium lecanii*. Mycopathologia, 172: 161–168.
- Hajek AE, St Leger RJ. 1994. Interaction between fungal pathogens and insect hosts. Annual Review of Entomology, 39: 293–332.

- Hall RA. 1981. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. En: Burges HD. (Ed.). Microbial Control of Pests and Plants Disease. Academic Press, New York. 483–498.
- Hassan SA, 1992. Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficials organisms: Description of test methods. OEPP/EPPO Bulletin, 15(3): 1-3.
- Hassan SA, Bigler F, Blaisinger P, Bogenschütz H, Brun J, Chiverton P, Dickler M, Easterbrook MA, Edwards PJ, Englert WD, Firth SI, Huang P, Inglesfield C, Klingauf F, Kühner C, Ledieu MS, Naton E, Oomen PA, Overmeer WPJ, Plevaerts P, Reboulet JN, Rieckmann W, Samsøe-Petersen L, Shires SW, Staübli A, Stevenson J, Tuset JJ, Vanwetswinkel G, van Zon AQ, 1985. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WPRS Working Group 'Pesticides an Natural Enemies', Bulletin OEPP/EPPO Bulletin.15, 214-255.
- Henderson CF, Tilton EW, 1955. Tests with acaricides against the brown wheat mite. Journal of Economic Entomology, 48: 157–161.
- Hirose E, Neves PMOJ, Zequi JAC, Martins LH, Peralta CH, Moino Jr A. 2001. Effect of biofertilizers and Neem oil on the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarrhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. Brazilian Archives of Biology and Technology, 44(4): 419-423.
- Hokkanen HMT, Kotiluoto R. 1992. Bioassay of the side effects of pesticides on *Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*: standardized sequential testing procedure. IOBC/WPRS Bulletin, 21(3): 148-151.
- Iannone, N. 2005. Chinches en soja: niveles de decisión para su control según especies y estados del cultivo (en línea). Consultado 3 Julio 2015. Disponible en: <http://www.manualfitosanitario.com/articulo-detalle.php?id=53>
- Iannone N, Leiva PD. 1994. Daños, toma de decisiones y control cultural de chinches en soja. Carpeta de Producción Vegetal. 13: 4p
- IRAC. 2015. Insecticide Resistance Action Committee. Consultado 5 julio de 2015. Disponible en : <http://www.irac-online.org/> .

- James RR, Elzen GW. 2001. Antagonism between *Beauveria bassiana* and imidaclopridae when combined for *Bemisia argentifolii* (Hom.: Aleyrodidae) control. Journal of Economic Entomology, 94:357–361.
- Jensen RL, Newsom LD. 1972. Effect of stink bug damaged soybean seeds on germination, emergence, and yield. Journal of Economic Entomology, 65: 261–264.
- Jeong JK, Kyu CK. 2007. Compatibility of entomopathogenic fungus *Lecanicillium attenuatum* and pesticide to control Cotton Aphid, *Aphis gossypii*. International Journal of Industrial Entomology, 14(2): 143–146.
- Kamminga KL. 2008. Species survey, monitoring and management of economically important stink bug species in eastern Virginia. Tesis de doctorado. Virginia, USA. Polytechnic Institute and State University. 119p.
- Kogan M. 1998. Integrated Pest Management: Historical perspectives and contemporary developments. Annual Review of Entomology, 43: 243-270.
- Koppel AL, Herbert DA, Kuhar TP, Malone S, Arrington M, 2011. Efficacy of selected insecticides against eggs of *Euschistus servus* and *Acrosternum hilare* (Hemiptera: Pentatomidae) and the egg Parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae). Journal of Economic Entomology, 104: 137–142.
- Kühnhold J, Klueken AM, de Maeyer L, van Waetermeulen X, Brück E, Elbert A. 2008. Movento®, an innovative solution for sucking insect pest control in agriculture: field performance in fruits and vegetables. Bayer CropScience Journal, 61(2): 279-306.
- Leland JE, McGuire MR, Grace JA, Jaronski ST, Ulloa M, Park YH, Plattner RD. 2005. Strain selection of a fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* for control of plant bugs (*Lygus* spp) (Heteroptera: Miridae). Biological Control, 35: 104–14.
- Levy R, Twidwell E, Herrison S, Ferguson R, Shipp J. 2009. Soybean and feed grain Review. LSU Agcenter Pub. Consultado 3 junio 2015. Disponible en: <http://www.lsuagcenter.com/mcms/relatedfiles/%7Bb0218613-44a6-4825-9b32-dfcaadf78940%7D/soybeanfeedgrainreviewjuly2009.pdf>

- Macfadyen S, Zalucki MP, 2012. Assessing the short-term impact of an insecticide (Deltamethrin) on predator and herbivore abundance in soybean *Glycine max* using a replicated small-plot field experiment. *Insect Science*, 19: 112–120.
- Malekan N, Ebadi R, Ebadi B. 2010. Effect of imidacloprid on the germination of conidia and mycelial growth of *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium muscarium* under laboratory conditions. *Applied Entomology and Phytopathology*, 78(1):113–120.
- Matsumura F, 1982. Biodegradation of Pesticides. In: Matsumura F, Murti CRK (Eds.) *Biodegradation of pesticides*. New York: Springer US. 67–87.
- McCoy CW, Couch TI. 1982. Microbial control of the citrus rust mite with the mycoacaricide, Mycar®. *Florida Entomologist*, 65: 116–26.
- McPherson JE, McPherson RM. 2000. *Piezodorus guildinii* (Westwood). En: McPherson JE, McPherson RM. (Eds.). *Stink Bugs of Economic Importance in America North of Mexico*. Boca de ratón, FL: CRC Press. 177-179
- McPherson, RM. 1996. Relationship between soybean maturity group and the phenology and abundance of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae): Impact on yield and quality. *Journal of Entomology Science*, 31:199–208.
- McPherson RM, Todd JW, Yeargan KV. 1994. Stink bugs. En: Highley LG, Boethel DJ (Eds.). *Handbook of Soybean Insect Pests*. Lanham MD: Entomological Society of America Publication, 87-90.
- McPherson, RM, Douce GK, Hudson RD. 1993. Annual variation in stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) seasonal abundance and species composition in Georgia soybean and its impact on yield and quality. *Journal of Entomology Science*, 28:61–72.
- McPherson RM, Newsom LD, Farthing BF, 1979. Evaluation of four stink bug species from the genera affecting soybean yield and quality in Louisiana. *Journal of Economic Entomology*, 72: 188–194.
- Medeiros M A, Loiacono M, Borges M, Viruglino F, Schimidt G. 1998. Incidência natural de parasitoides em ovos de percevejos (Hemiptera: Pentatomidae) encontrados en soja do Distrito Federal. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 33: 1431-1435.

Meyer SLF, Johnson G, Dimock M, Fahey JW, Huettel RN. 1997. Field efficacy of *Verticillium lecanii*, sex pheromone, and pheromone analogs as potential management agents for soybean cyst nematode. Journal of Nematology, 29: 282–288.

MGAP-DGSSAA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca – Dirección General de Servicios Agrícolas). 2015. Consultado 28 junio, 2015. Disponible en: https://www.mgap.gub.uy/dgssaa/DivAnalisisDiagnostico/DAYD_PROFIT.htm

MGAP-DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca – Dirección de Investigaciones Estadísticas Agropecuarias). 2014. Anuario Estadístico Agropecuario 2014. Consultado 28 junio, 2015. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-anuario-2014,O,es,0>

MGAP (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca). 2007. Decretos presidenciales. Consultado 3 julio 2015. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/DGSSAA/Noticias/Com_ATyEND/2007-11-28-Endosulfan.pdf

MGAP-DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca – Dirección de Investigaciones Estadísticas Agropecuarias). 2005. Anuario Estadístico Agropecuario 2005. Consultado 28 junio, 2015. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-anuario-2005,O,es,0>

Moino Jr. AR, Alves SB. 1998. Efeito de Imidacloprid e Fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. E *Metharhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagem). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 27: 611-619.

Moscardi F. 1984. Microbial control of insect pests in grain legume crops. En: International Workshop in Integrated Pest Control for Grain Legumes (1ro., 1983, Goiania) Proceedings. Londrina, Paraná, Brasil: EMBRAPA. pp. 189-222

MVOTMA (Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente). 2011. Consultado 3 julio 2015. Disponible en: <http://www.presidencia.gub.uy/wps/wcm/connect/presidencia/portalpresidencia/normativa/decretos/decretos-12-2011>

- Neves PMOJ, Hirose E, Techujo PT, Moino Jr. A. 2001. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. *Neotropical Entomology*, 3: 263-268.
- Oerke EC, Dehne HW. 2004. Safeguarding production e losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection*, 23: 275-285
- Oliveira GN, Neves PMOJ, Kawazoe LS. 2003. Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. *Scientia Agricola*, 60(4): 663-667.
- Olmert I, Kenneth RG. 1974. Sensitivity of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, and *Verticillium* sp. to fungicides and insecticides. *Environmental Entomology*, 3: 33-38.
- Omoto, C. 2000. Modo de ação de inseticidas e resistência de insetos a inseticidas. Em: Guedes, J.C.; da Costa, I.D.; Castiglioni, E. (Org.). *Bases e técnicas do manejo de insetos*. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS. 31-49.
- Ownley B, Gwinn KD, Vega FE. 2009. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl*, 55:113-128.
- Pacheco DJP, Corrêa Ferreira BS. 2000. Parasitismo de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em populações de percevejos pragas da soja. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29: 295-302.
- Panahi O, Hosseinzadeh J, Delkhoon S, Zahra L. 2012. Compatibility of *Lecanicillium longisporum* with acetamipride and imidaclopride under laboratory conditions. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45(17): 2009-2013.
- Panizzi AR, McPherson JE, James DG, Javahery M, McPherson, RM. 2000. Stink bugs (Pentatomidae). En: Schaefer CW, Panizzi AR (Eds.). *Heteroptera of economic importance*. Boca Raton, Florida, USA: CRC. 432-434.
- Panizzi AR, Corrêa Ferreira BS. 1997. Dynamics in the insect fauna adaptatio to soybean in the tropics. *Trends in Entomology*, 1: 72-88.
- Panizzi AR. 1987. Mortalidade e preferência alimentar de *Nezara viridula* e *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae) alimentados com vagens e sementes verdes de soja. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 22: 345-347.

- Panizzi AR, Slansky F. 1985. Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. Florida Entomologist, 68(1): 184–214.
- Panizzi AR, Smith JG, Pereira, LAG, Yamashita, J. 1979. Efeito dos danos de *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) no rendimento e qualidade da soja. En: Seminario Nacional de Pesquisa Agropecuaria. (1ro, 1979, Londrina). Anais. Londrina, Paraná, Brasil: Embrapa. 2: 59-78
- Panizzi AR, Smith JS. 1976. Observações sobre inimigos naturais de *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Hemiptera, Pentatomidae) em soja. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 5(1): 11-17.
- Parra JRP. 2000. O Controle biológico e o manejo de pragas: passado, presente e futuro. En: Guedes JC, da Costa ID, Castiglioni E. (Orgs.). Bases e técnicas do manejo de inseto. Santa Maria: Pallotti. 59-71.
- Paullier J. 2013. Primer bioinsecticida producido en Uruguay. En: Jornada de divulgación. INIA Las Brujas, 11 de noviembre de 2013 Resultados experimentales en sanidad de tomate y morrón. Canelones. Uruguay: INIA. Serie Actividades de Difusión, 723. Pp 55-56. Consultado 30 de Junio. Disponible en: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/1838/1/128221141113143111.pdf>
- Pearce S, Zalucki MP. 2006. Do predators aggregate in response to pest density in agroecosystems? Assessing within-field spatial patterns. Journal of Applied Ecology, 43: 128–140.
- Pedigo LP, Hutchins SH, Higley LG. 1986. Economic injury levels in the theory and practice. Annual Review of Entomology, 31: 341-368.
- Pengue, WA. 2005. Transgenic crops in Argentina: the ecological and social debt. Bulletin of Science, Technology & Society, 25(4): 1-9.
- Pérez C, Hoffman E, Arbeletche P. 2011. El cultivo de soja en Uruguay. En: Sillón M, Muñoz R. (Eds.) Las enfermedades de la soja y su importancia en los países del MERCOSUR. Argentina, Hemisferio Sur, 29-306.
- Prabhaker N, Castle SJ, Naranjo SE, Toscano NC, Morse JG, 2011. Compatibility of two systemic neonicotinoids, Imidacloprid and Thiamethoxam, with various

- natural enemies of agricultural pests. *Journal of Economic Entomology*, 104: 773–781.
- Quintela ED, McCoy CW. 1998. Synergistic effect of imidacloprid and two entomopathogenic fungi on the behavior and survival of larvae of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in soil. *Journal of Economic Entomology*, 91: 110-122.
- Ribeiro A, Silva H, Castiglioni E, Bartaburu S, Martínez JJ. 2015. Control natural de *Crocidosema (Epinotia) aporema* (Walsingham) (Lepidoptera:Tortricidae) por parasitoides y hongos entomopatógenos en *Lotus corniculatus* y *Glycine max*. Agrociencia Uruguay. “de próxima aparición”.
- Ribeiro, A. 2010. Prospección de agentes de control natural de plagas en sistemas agrícola- pastoriles. En: Altier N, Rebuffo M, Cabrera K [Eds.]: Enfermedades y plagas en pasturas. INIA Serie técnica, 183:105-110.
- Ribeiro A, Castiglioni E. 2009. Fluctuaciones de poblaciones de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) en soja y alfalfa en Paysandú, Uruguay. Agrociencia, 13(2):30-34.
- Ribeiro A, Castiglioni E, Silva H, Bartaburu S. 2009. Fluctuaciones de poblaciones de pentatómidos (Hemiptera: Pentatomidae) en soja (*Glycine max*) y lotus (*Lotus corniculatus*). Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas, 35 (3): 429-438.
- Ribeiro A, Castiglioni E, 2008. Caracterización de las poblaciones de enemigos naturales de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae). Agrociencia Uruguay, 12: 48–56.
- Ribeiro A. 2007. Fluctuaciones de poblaciones de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) y caracterización de sus enemigos naturales en soja y alfalfa. Tesis Magister en Ciencias Agrarias. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 64 p.
- Ruberson JR, Nemoto H, Hirose Y, 1998. Pesticides and conservation of natural enemies in pest management. In: Press A. (Ed.). *Conservation Biological Control*. San Diego, CA, USA: Academic Press. 207-220.
- Russin, JS, Orr DB, Layton MB, Boethel DJ. 1988. Incidence of microorganisms in soybean seeds damaged by stink bug feeding. *Phytopathology*, 78(3): 306-310.

- Santos, CH dos. 2003. Suscetibilidade da soja, *Glycine max* (L.) Merr. aos danos causados por *Nezara viridula* (L.), *Euschistus heros* (Fabr.) e *Piezodorus guildinii* (West.) (Heteroptera: Pentatomidae) e *Neomegalotomus parvus* West. (Heteroptera: Alydidae) Tesis de doctorado. Curutiba: Universidade Federal do Paraná. 91p.
- SAS Institute, Inc. 2008. SAS/STAT® 9.2 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schneider M, Sanchez N, Pineda S, Chi HRA, 2009. Impact of glyphosate on the development, fertility and demography of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): ecological approach. Chemosphere, 76: 1451-1455.
- Schumann FW, Todd JW. 1982. Population dynamics of the southern green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) in relation to soybean phenology. Journal of Economic Entomology. 75:748-753.
- Sosa Gómez DR, Delpin, KE, Moscardi F, Farias JRB. 2001. Natural occurrence of the entomopathogenic fungi Metarhizium, Beauveria and Paecilomyces in Soybean under till and no-till cultivation systems. Neotropical Entomology, 30(3): 407-410.
- Sosa Gómez DR, Alves SB. 2000. Temperature and relative humidity requirements for conidiogenesis of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes: Moniliaceae). Anais de Sociedade Entomológica do Brasil, 29(3): 515-521.
- Sosa Gómez DR, Moscardi F. 1998. 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. Journal of Invertebrate Pathology, 71: 115–120.
- Sosa Gómez DR, Boucias DG, Nation JL. 1997. Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the southern green stink bug *Nezara viridula* cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids aldehydes. Journal of Invertebrate Pathology, 69: 31-39.
- Sosa Gómez DR, Moscardi F. 1995. Retenção foliar diferencial em soja provocada por percevejos (Heteroptera: Pentatomidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 24: 401–404.

- Southwood TRE, Norton GA. 1973. Economic aspects of pest management strategies and decisions. Ecological Society of Australia, 1: 168-184.
- Stark J, Banks J, 2003. Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. Annual Review of Entomology, 48: 505–519.
- Stern VM, Smith RF, van den Bosch R, Hagen KS. 1959. The integrated control concept. *Hilgardia*, 29: 81-101.
- Storey GK, Gardner WA. 1986. Sensitivity of the entomogenous fungus *Beauveria bassiana* to selected plant growth regulators and spray additives. Applied and Environmental Microbiology, 52(1): 1-3.
- Stürmer GR, Cargnelutti Filho A, Stefanelo, LdS, Guedes, JVC.2012. Eficiência de métodos de amostragem de lagartas e de percevejos na cultura de soja. Ciência Rural [online], 42(12): 2105-2111.
- Sujii ER, Costa MLM, Pieres CSS, Colazza S, Borges M. 2002. Inter and intra-guild interactions in egg parasitoid species of the soybean stink bug complex. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 37(11): 1541-1549.
- Tamai MA, Alves SB, Lopes RB, Faion M, Padulla LFL. 2002. Toxicidade de productos fitosanitários para *Beauveria bassiana* (Bals.) Viull. Arquivos do Instituto Biológico, 69: 89-96.
- Temple JH, 2011. Redbanded stink bug, *Piezodorus guildinii* (Westwood): Pest status, control strategies, and management in Louisiana soybean. Ph. D. dissertation. <http://etd.lsu.edu/docs/available/etd-11092011-110630/unrestricted/DissertationJHTFinal.pdf>
- Thomas JR JW. 1972. Evaluation of *Trissolcus basalis* (Wollaston) as an egg parasite of *Nezara viridula* (Linnaeus). Tesis de Maestría. Baton Rouge, Louisiana, USA: Louisiana State University. 100 p.
- Thomson LJ, Hoffman AA. 2007. Ecologically sustainable chemical recommendations for agricultural pest control? Journal of Economic Entomology, 100(6): 1741-1750.
- Todd JW, Herzog DC. 1980. Sampling phytophagous Pentatomidae on soybean. En: Kogan M, Herzog DC (Eds.). Sampling methods in soybean entomology. NY: Springer-Verlag. 438-478.

- Todd JW, Turnipseed SM, 1974. Effects of southern green stink bug damage on yield and quality of soybeans. *Journal of Economic Entomology*, 67: 421-426.
- Todd JW, Jellum MD, Leuck DB. 1973. Effects of southern green stink bug damage on fatty acid composition of soybean oil. *Environmental entomology*, 2(4): 685-690.
- Todorove SI, Coderre D, RM Duchesne RM, Côté JC. 1998. Compatibility of *Beauveria bassiana* with selected fungicide and herbicides. *Environmental Entomology*, 27: 427–33.
- Tonet GL, Salvatori JR. 2002. Identificação de espécies de percevejos e avaliação do seu parasitismo, na cultura de soja. Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil: EMBRAPA Trigo Documentos on line. [En línea]. Consultado 24 junio 2015. Disponible en: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_d012_23.htm.
- Turnipseed SG, Kogan M. 1976. Soybean entomology. *Annual Review of Entomology*, 21: 247-282.
- Tuset, JJ. 1985. *Verticillium lecanii* (Zimm) Viegas (Moniliaceae Hyphomycetes). OEPP/EPPO Bulletin, 15: 236-237.
- Van den Bosch R. 1978. The pesticide conspiracy. Los Angeles, USA: University of California press. 226p.
- Vicentini R, Jiménez, HA. 1977. El vaneo de los frutos en soja. Paraná, Argentina: INTA Serie Técnica, 47.
- Ware GW. 1994. The pesticide book, 4th ed. Thomson Publications, Fresno, California. 386p.
- White JS, Brown RA, Bettencourt AL, Soares CMS, 1992. Lambda-cyhalothrin: effects on natural pest control in Brazilian soybeans. In: Brighton Crop Protection Conference, Pests and Diseases. (1ro, 1992, Brighton, UK). Proceedings. British Crop Protection Society. pp 811-816.
- Wilcox JR, 2004. World distribution and trade of soybeans. In: Boerma H, Specht J. (Eds.). *Soybean: improvement, production and uses*. Madison, Wisconsin, USA: American Society of Agronomy, Inc. 1–13.
- Yu SJ. 2014. *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*, Second Edition. FL: CRC Press. 346p.

- Zare R, Gams, W. 2001. A revision of *Verticillium* section *Prostrata*. V. The genus *Pochonia*, with notes on *Rotiferophthora*. *Nova Hedwigia*, 73: 5 1-86.
- Zerbino E. 2010. Avances en el conocimiento para el manejo de chinches en soja. *Revista INIA*, 23: 24-27
- Zerbino E. 2008. El cloruro de sodio como potencializador de insecticidas para el control de chinches en soja. *Revista INIA*, 13: 16-19.
- Zerbino S, Alzugaray R. 2003. *Piezodorus guildinii* (Westwood). En: Bentancourt CM, Scatoni IB (Eds.). Guía de insectos y ácaros de importancia agrícola y forestal en el Uruguay. CD-Rom, Versión 1,2 Windows, Facultad de Agronomía, Montevideo (Uruguay).