

Efecto de *Metharizium robertsii* asociado al lufenuron en la mortalidad de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae)

Effect of *Metharizium robertsii* associated with lufenuron on the mortality of *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae)

 MARCOS ARTURO FERREIRA AGÜERO^{1*},  PEDRO MANUEL OLIVEIRA JANEIRO NEVES²,  PAULO SERGIO GIMENEZ CREMONEZ³,  DIEGO MANUEL MARQUEZ FERNÁNDEZ¹

¹ Universidad Nacional de Asunción, Amambay, Paraguay. ingeniero.ferreira1@gmail.com, diegomarqz10@gmail.com

² Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. pedro@neves.uel.br

³ University of Georgia, Georgia, USA. paulogimz@uga.edu

* Autor de correspondencia

Departamento de Protección Vegetal, Entomología. Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Agrarias sede Pedro Juan Caballero. Lomas Valetinas y República de Cuba, Amambay, Paraguay. ingeniero.ferreira1@gmail.com

Citación sugerida

Ferreira Agüero, M. A., Neves Janeiro Oliveira, P. M., Gimenez Cremonez, P. S., & Marquez Fernández, D. M. (2023). Efecto de *Metharizium robertsii* asociado al lufenuron en la mortalidad de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 49(2), e12679. <https://doi.org/10.25100/socolen.v49i2.12679>

Recibido: 22-Dec-2022

Aceptado: 27-Jun-2023

Publicado: 19-Oct-2023

Revista Colombiana de Entomología

ISSN (Print): 0120-0488

ISSN (On Line): 2665-4385

<https://revistacolombianaentomologia.univalle.edu.co>

Open access



BY-NC-SA 4.0
creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Publishers: Sociedad Colombiana de Entomología
SOCOLEN (Bogotá, D. C., Colombia)
<https://www.socolen.org.co>
Universidad del Valle (Cali, Colombia)
<https://www.univalle.edu.co>

Resumen: Se evaluó la compatibilidad, patogenicidad, eficiencia e interacción de *Metarhizium robertsii* (antes *M. anisopliae*) con el insecticida lufenuron para el control de *Nezara viridula*. Se realizaron dos bioensayos en el laboratorio. En el primero se probó el efecto de dos concentraciones de lufenuron sobre la germinación, unidades formadoras de colonias (UFC), crecimiento vegetativo y producción de conidios de *M. robertsii*. En el segundo, se determinó la patogenicidad a través de las concentraciones letales CL y los tiempos letales TL de *M. robertsii* así como su eficacia e interacción asociada a lufenuron, en la mortalidad de *N. viridula*. Los resultados indican que *M. robertsii* y lufenuron, en las concentraciones más bajas, son compatibles, sin embargo, altas concentraciones del insecticida pueden reducir la germinación y el número de UFC. Mayores concentraciones de *M. robertsii* aumentan el porcentaje de mortalidad de las ninfas de *N. viridula* y disminuyen el tiempo de letalidad. Las interacciones de las combinaciones de *M. robertsii* y lufenuron son eficientes y tienen efectos aditivos, mostrando su potencial para su uso de forma integrada en el control de ninfas de *N. viridula*.

Palabras clave: Control asociado, hongo entomopatógeno, insecticida regulador de crecimiento, manejo integrado de plagas, Pentatomidae.

Abstract: The compatibility, pathogenicity, efficiency, and interaction of *Metarhizium robertsii* (formerly *M. anisopliae*) with lufenuron on *Nezara viridula* control were evaluated. Two bioassays were conducted in the laboratory. The first bioassay tested the effect of two concentrations of lufenuron on germination, colony forming units (CFU), vegetative growth and conidia production of *M. robertsii*. In the second bioassay, the pathogenicity through lethal concentrations (LC) and lethal time (LT) on *M. robertsii* as well as their efficiency and interaction associated with lufenuron on the mortality of *N. viridula* was determined. The results indicate that *M. robertsii* and lufenuron, in lower concentrations are compatible, however, high concentrations of the insecticide may reduce the germination and CFU number. Higher concentrations of *M. robertsii* increase the percentage mortality of *N. viridula* nymphs and reduce the lethal time. The interactions of *M. robertsii* with lufenuron are efficient with additive effects and show potential for use in integrated management of *N. viridula* nymphs.

Keywords: Alternative control, entomopathogenic fungi, insect growth disruptors, integrated pest management, Pentatomidae.

Introducción

La chinche *Nezara viridula* (L., 1758) (Heteroptera: Pentatomidae) es una plaga polífaga cosmopolita que causa pérdidas económicas a varias especies de plantas cultivadas (Knight & Gurr, 2007). En campo, para reducir la población de chinches, se utilizan comúnmente insecticidas químicos sintéticos de alta toxicidad, donde se reportan fallas de control y alta resistencia (Ferreira-Agüero et al., 2018; Sosa-Gómez et al., 2001). La asociación de agentes de control (entomopatógeno + insecticida sintético) puede ser una estrategia para superar este problema, al aumentar la probabilidad de éxito en el manejo de poblaciones de chinches y plagas en general.

En Brasil y toda América Latina en el cultivo de soja para la producción de granos, los niveles de acción para el control de los pentatómidos son de dos adultos o ninfas de chinches del tercer estadio/m lineal y para la producción de semillas es de apenas 1 chinche/m lineal (Bueno et al., 2013; Corrêa-Ferreira & Panizzi, 1999). Las chinches adultas son más difíciles de controlar con entomopatógenos en comparación con las formas juveniles, lo que demuestra aún más, que los niveles de infección pueden aumentar si las ninfas eclosionan antes de la aplicación, sin embargo, evaluar los efectos de la aplicación de hongos en las ninfas es todo un desafío (Sosa-Gómez & Moscardi, 1998).

Las interacciones entre hongos entomopatógenos e insecticidas deben ser consideradas en los programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP), ya que la conservación de los entomopatógenos en el agroecosistema es una estrategia sencilla y económica cuando se utilizan insecticidas selectivos (Maciel & Bueno, 2022; Silva et al., 2005). Las poblaciones de *N. viridula* están naturalmente infectadas por hongos entomopatógenos, especialmente *Metarhizium robertsii* (Metschnikoff) Sorokin, también por *Beauveria bassiana* (Balsamo-Crivelli) Vuillemin e *Isaria fumosorosea* (Wize) (Brown & Smith, 1904). Si bien, las epizootias naturales suelen ser de baja incidencia, estos hongos pueden usarse como biopesticidas en forma inundativa, al minimizar los efectos adversos sobre los insectos benéficos (Sosa-Gómez & Moscardi, 1998; Sosa-Gómez et al., 2005).

Por otro lado, el lufenuron es un insecticida regulador del crecimiento (IRC) que inhibe la biosíntesis de quitina, recomendado para el control de orugas (Cremonese et al., 2019; Moriello et al., 2004), sin embargo, se han reportado alteraciones en el testículo, reducción de la actividad alimentaria, disminución de la reproducción y 65 % de mortalidad en ninfas de quinto instar de *E. heros* (Cremonese et al., 2019; Roggia et al., 2011). Este producto es selectivo para mamíferos y de baja toxicidad, cuyo uso es más sostenible frente a otros insecticidas sintéticos.

La combinación del hongo *M. robertsii* con insecticidas es un componente importante del MIP (Alves et al., 2011; Jaramillo et al., 2005). Existen algunos estudios sobre la asociación de *M. robertsii* con insecticidas botánicos, reguladores de crecimiento, o con tierra de diatomeas, bacterias y nematodos que muestran la compatibilidad y el efecto aditivo de esa combinación. Sin embargo, los insecticidas neonicotinoides, piretroides, organofosforados pueden inhibir la germinación de conidios (Alexandre et al., 2008; Michalaki et al., 2006; Mohamed et al., 2011; Neves et al., 2001). En este contexto, se debe priorizar el efecto aditivo de la asociación de concentraciones bajas de insecticidas y concentraciones mayores de patógenos y otros agentes de control biológico para reducir

los riesgos al productor y el medio ambiente. Además, minimizar la aparición de plagas resistentes a los principios activos y los costos de producción (Alexandre et al., 2008).

Algunos experimentos sobre el efecto de hongos entomopatógenos en chinches pentatómidos son reportados por Sosa-Gómez et al. (1997), al probar en laboratorio y campo aislados de *M. robertsii* y *B. bassiana* en la infección de *N. viridula*, *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) y *Euschistus heros* (Fabricius, 1974). De igual manera, Martins et al. (2004), observaron resultados de 52,6 % y 61,8 % de plaga controlada del chinche del tallo *Tibraca limbativentris* Stål, 1860 (Hemiptera: Pentatomidae) en arroz irrigado con la aplicación de *M. robertsii*. Asimismo, investigaciones de laboratorio en Japón demostraron la infectividad de aislados de *M. robertsii* para chinches pentatómidos de la fruta: *Plautia stali* Scott, 1874, *Glaucias subpunctatus* (Walker, 1867) y *Halyomorpha halys* Stål, 1855 (Ihara et al., 2008). Además de los estudios sobre plagas, también se ha evaluado en laboratorio el efecto de *M. robertsii* sobre el depredador *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae), sugiriendo que las ninfas pueden ser más susceptibles que los adultos y que se debe ser juicioso en el uso integrado para preservar el control ejercido por ambos (França et al., 2006). Eso justifica la importancia de utilizar concentraciones eficientes para el control de plagas con el menor impacto sobre los organismos benéficos y evitar casos de incompatibilidad (Abir & Maha, 2020).

En América latina, la información existente sobre el uso de IRC lufenuron y el entomopatógeno *M. robertsii* para el manejo de la población de chinches se limita a la investigación científica, ya que ambos agentes carecen de registro para el manejo de *N. viridula*. Sin embargo, debe explorarse su potencial de control debido a las ventajas que representa el uso de organismos biológicos junto con productos selectivos de menor toxicidad y priorizar sus efectos sinérgicos o aditivos. Así, el objetivo de este estudio fue verificar la compatibilidad, patogenicidad, eficiencia e interacción de *M. robertsii* con el insecticida lufenuron para el control de ninfas de tercer instar de *N. viridula*.

Materiales & métodos

Se realizaron dos bioensayos en el laboratorio de Control Microbiano de Insectos de la Universidad Estadual de Londrina - UEL, en Estado de Paraná, Brasil. En el primer experimento se evaluó la compatibilidad del hongo *M. robertsii* cepa UEL50 (cepa no comercial, producida y mantenida en la UEL desde 1995) con el insecticida lufenuron (Match® 50 EC, Syngenta Prot. Cult., São Paulo, Brasil) en el segundo se evaluó la patogenicidad del hongo *M. robertsii* cepa UEL50, el efecto de la combinación de los agentes y la eficiencia en el control de ninfas de tercer estadio (aproximadamente 15 días después de la eclosión) de *N. viridula*. Las chinches hedióndas fueron utilizadas de una colonia establecida mantenida en el laboratorio, libre de pesticidas durante al menos un año.

Bioensayo 1. Compatibilidad de *M. robertsii* con el insecticida lufenuron

Se probó el efecto de lufenurón sobre el hongo *M. robertsii* cepa UEL50. Se evaluaron dos concentraciones subletales del insecticida (producto comercial): 7,5 mL i.a./L y 15 mL i.a./L. El criterio para elegir las concentraciones se basó en las

recomendaciones del fabricante para las polillas *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebididae) en soja y para *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz. La selección de las dosis para este estudio se basó en una cuidadosa consideración, tomando en cuenta el hecho de que el lufenuron carece registro para el control de insectos hemípteros. Sin embargo, la recomendación se basa en el control de plagas lepidópteras que también están presentes en el campo durante los ataques de chinches a los cultivos de soja y maíz.

Para la evaluación de la germinación, UFC, crecimiento vegetativo y producción de conidios, se adoptó un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones para cada tratamiento. Los tratamientos consistieron en dos concentraciones de lufenuron (7,5 y 15 mL i.a./L) y el control, recibió solo agua destilada + 0,02 % Tween. Todos los tratamientos se mantuvieron en cámara climática DBO (25 ± 1 °C 70 ± 5 % HR y 14 h de fotofase). Los datos obtenidos fueron transformados a la raíz de (x+1), sometidos a análisis de varianza y comparación de medias por la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad.

Producción de conidios de *Metarhizium robertsii*

La cepa utilizada fue UEL50, producido en medio de cultivo completo en cajas de Petri (9 cm de diámetro). Después de la inoculación, el hongo se incubó en cámara climática.

Germinación

Para la evaluación de la germinación, en cada placa se inoculó 0.1 mL de suspensión fúngica que contenía 1x10⁷ conidios mL⁻¹ con el medio completo y se esparció con un aza de Drigalski. Inmediatamente, con una pipeta, se aplicó 0,1 mL de insecticida/placa, en las concentraciones descritas anteriormente y se esparcieron sobre las mismas placas con un aza de Drigalski. Después de 24 h de incubación, se cuantificaron los conidios germinados y no germinados mediante la observación con un microscopio estereoscópico, con un aumento de 40x. Se dividió cada placa en cuatro cuadrantes y se contaron al menos 100 conidios de *M. robertsii* por cuadrante. El criterio adoptado para considerar la germinación fue que el tubo germinativo sea como mínimo el doble del tamaño del conidio.

Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

Para la evaluación de UFC, se esparció 0,1 mL de suspensión de conidios (1x10³ mL⁻¹) con un aza de Drigalski sobre placas de Petri con medio completo. Luego, con una pipeta, se aplicó 0,1 mL del insecticida/placa y, con un aza de Drigalski, se extendió sobre la misma en ambas concentraciones. Después de siete días de incubación, se cuantificó visualmente el número de UFC.

Crecimiento vegetativo y producción de conidios

Para las pruebas de crecimiento vegetativo y producción de conidios, se esparcieron 0,1 mL de lufenuron (7,5 y 15 mL i.a./L) con un aza de Drigalski sobre placas de Petri que contenían medio de cultivo. Luego se aisló la cepa UEL50 sobre las mismas placas en tres puntos, 14 días después de la inoculación, se calculó el área de cada colonia con el promedio de sus diámetros perpendiculares de una colonia al azar. De estas mismas colonias se evaluó la productividad de conidios mediante el recorte del centro de las mismas con un punzón circular (1 cm de diámetro). Los discos del medio de

cultivo con el hongo removido se suspendieron en una solución acuosa de Tween al 0,02 % y se sometieron a agitación por 15 s en un agitador tipo vortex. Luego de las diluciones necesarias, se cuantificó el número de conidios mediante el uso de una cámara de Neubauer.

Índice biológico

La clasificación toxicológica se realizó en base los valores medios de porcentaje de crecimiento vegetativo, esporulación y germinación de los conidios, calculándose los porcentajes con relación al testigo según la siguiente fórmula:

$$IB = 47 (CV) + 43 (ESP) + 10 (GER) \div 100, \text{ donde}$$

IB = Índice biológico

CV = Porcentaje de crecimiento vegetativo en relación con el testigo

ESP = Porcentaje de esporulación de las colonias con relación al testigo

GER = Porcentaje de germinación de conidios

Clasificación de productos según valores de BI: (T) tóxico 0-41, (MT) moderadamente tóxico 42-66 y (C) compatible > 66 (Rossi-Zalaf et al., 2008).

Bioensayo 2. Prueba de patogenicidad, concentraciones letales LC₅₀, LC₉₀, y tiempos letales TL₅₀, TL₉₀ del aislado UEL50 de *M. robertsii*, eficiencia e interacción con lufenuron para el control de ninfas de tercer estadio de *N. viridula*

Recolección de insectos y producción de conidios

Se recolectaron adultos de *N. viridula* del cultivo de soja y se criaron en condiciones de ambiente controlado en una cámara climática (25±1 °C, 70 ± 5 % HR y 14 h de fotofase). Para los bioensayos, se utilizaron ninfas de tercer instar y de segunda generación (F2). La producción de conidios de *M. robertsii* se realizó como se describió previamente en el bioensayo 1.

Aplicación de concentraciones de *Metarhizium robertsii*, lufenuron solo y *Metarhizium robertsii* + lufenuron en combinación

En un diseño completamente al azar, se probaron 10 tratamientos con tres repeticiones, seis concentraciones del aislado UEL50 *M. robertsii* (1x10⁴, 1x10⁵, 1x10⁶, 1x10⁷, 1x10⁸ y 1x10⁹ conidios mL⁻¹) para preparación de suspensiones de conidios con Tween® (0,02 %), una concentración del insecticida lufenuron, correspondiente a la concentración letal media CL₅₀ estimada en estudios preliminares, para ello se preparó una mezcla insecticida con 1,25 mL i.a./L. Para los tratamientos en asociaciones se utilizaron dos concentraciones del hongo 1x10⁴ y 1x10⁷ conidios mL⁻¹+lufenuron (1,25 mL i.a./L). Se decidió utilizar una baja concentración de insecticida con el fin de reducir su costo y mostrar posibles interacciones con el hongo entomopatógeno. En el testigo se utilizó únicamente agua destilada con Tween (0,02 %) como se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Tratamientos con concentraciones de *Metarhizium robertsii*, combinación de *Metarhizium robertsii* + lufenuron, lufenuron solo y testigo

Tratamientos	Concentración conidios mL ⁻¹	Dosis de Lufenuron mL i.a./L	
Hongo entomopatógeno	<i>Metarhizium robertsii</i>	1x10 ⁴	
	<i>Metarhizium robertsii</i>	1x10 ⁵	
	<i>Metarhizium robertsii</i>	1x10 ⁶	
	<i>Metarhizium robertsii</i>	1x10 ⁷	
	<i>Metarhizium robertsii</i>	1x10 ⁸	
	<i>Metarhizium robertsii</i>	1x10 ⁹	
Hongo entomopatógeno + Insecticida	<i>Metarhizium robertsii</i>	1x10 ⁴	Lufenuron 1,25
	<i>Metarhizium robertsii</i>	1x10 ⁷	Lufenuron 1,25
Insecticida			Lufenuron 1,25
Testigo (Agua destilada)			

Las aplicaciones se realizaron tópicamente sobre los insectos con una pipeta, se distribuyó 1 mL de cada tratamiento en 10 ninfas de *N. viridula* de tercer instar (3 repeticiones) en cajas acrílicas tipo Gerbox que contenían legumbres de frijol *Phaseolus vulgaris* L., maní *Arachis hypogaea* L., girasol *Helianthus annuus* L., y frutos de ligustro *Ligustrum lucidum* W. T. Ait.

Luego de las aplicaciones, las cajas de acrílico con los insectos fueron trasladadas e incubadas en una cámara climática DBO a 25 ± 1 °C, HR 75 ± 10 % y 14 h de fotofase. Las evaluaciones de mortalidad de las ninfas se realizaron diariamente durante 10 días. Los insectos muertos (cadáveres), que entraron en contacto con el aislado UEL50 de *M. robertsii*, fueron lavados en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 %, separados y mantenidos en cámara húmeda para confirmar la mortalidad del hongo por la proliferación del patógeno sobre el cuerpo del insecto. La infección del aislado fue confirmada por la presencia de una masa micelial blanca al inicio de la conidiogénesis y la producción de conidios de color verde.

Análisis estadísticos

Los resultados de mortalidad acumulada fueron corregidos mediante la fórmula de Abbott, sometidos a análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de Scott-Knott (p < 0,05). Para estimar la concentración y tiempo letal CL yTL del hongo entomopatógeno, solamente se seleccionaron los tratamientos con el aislado UEL50 a las concentraciones ensayadas y sometidos a análisis Probit.

Las interacciones de posibles efectos sinérgico, antagónico o aditivo se realizaron mediante la prueba de chi-cuadrado (Finney, 1964), y son: $X^2 = (MO - ME)^2/ME$, donde MO: mortalidad observada; ME: mortalidad esperada, donde $ME = Mf + Mi(1-Mf)$, donde Mf: mortalidad del hongo entomopatógeno solo; Mi: mortalidad del insecticida solo. Si el X^2 calculado es mayor que el valor tabulado (42,55) para 29 grados de libertad, P < 0,05) el efecto es no aditivo, es decir, puede ser de sinergismo o de antagonismo. Si la diferencia MC - ME (donde MC es la mortalidad de la combinación de entomopatógeno e insecticida) es positiva, el efecto es de sinergismo y cuando es negativo, de antagonismo. Si el X^2 calculado es menor que el valor tabulado, el efecto será aditivo (Koppenhöfer et al., 2000; Finney, 1964; Mcvay et al., 1977).

Resultados y discusión

Los valores promedios de porcentaje de germinación de conidios (1x10³ conidios/mL) y número de unidades formadoras de colonias (1x10⁷ conidios/mL) del hongo *M. robertsii* en contacto con 7,5 y 15 mL i.a./L del insecticida lufenuron, se presentan en la Tabla 1. Nótese que no hubo diferencia entre los porcentajes de germinación en el testigo (98,2 %) en relación con el tratamiento lufenuron a la concentración más baja (96,0 %), sin embargo, hubo una reducción de 39,10 % en la germinación de conidios cuando estos entraron en contacto con 15 mL i.a./L, lo que indica que la germinación puede verse influenciada por la concentración del insecticida sintético utilizado con el que los conidios entran en contacto. Resultados similares fueron demostrados por Alves et al. (2011); mediante los mismos agentes y verificaron la compatibilidad entre ambos, en las concentraciones de 0,7 y 1g/L de lufenuron, sin embargo, con 2g/L hubo inhibición en la germinación de conidios. También observaron que a la concentración más baja hubo un aumento en la velocidad inicial de germinación, lo que indica la ocurrencia de hormesis (baja dosis de estimulación).

En cuanto al número medio de unidades formadoras de colonias (UFC), se encontró que, en las concentraciones ensayadas, lufenuron redujo el número de colonias respecto al control, se alcanzó una reducción del 41,95 % de las UFC en la concentración más alta. En relación con su mecanismo de acción, el lufenuron puede retrasar o inhibir la síntesis de quitina en el exoesqueleto de los insectos y en la pared celular del hongo (Alves et al., 2011). Esto interrumpe el normal desarrollo del micelio y la formación de colonias.

El conidio germinado desarrolla el micelio que entra en contacto con el insecticida, que en dependencia de su concentración puede o no afectar el número de UFC en el proceso de síntesis y depósito de quitina. Sin embargo, uno de los principales parámetros a considerar en la evaluación de la compatibilidad es la germinación del hongo (Silva et al., 2005), ya que una vez que el conidio germina sobre la cutícula del insecto, probablemente el contacto con el producto será prácticamente nulo.

Valores promedio seguidos de la misma letra en la columna no difieren entre sí por la prueba de Tukey (P = 0,05). Datos transformados a x+1. CV = Coeficiente de variación. 1R = porcentaje de reducción. 2IB= Índice biológico para la clasificación del producto, 3C = Clasificación: T = tóxico 0-41, MT = moderadamente tóxico 42-66 y C = compatible > 66.

En condiciones de campo, varios autores coinciden en que la germinación de conidios debe ser considerada como el factor más importante al momento de evaluar la compatibilidad con productos químicos (Neves et al., 2001). Así, si se inhibe la germinación, la eficiencia del control se verá comprometida, ya sea en aplicaciones por inundación o si el hongo está presente de forma natural en el agroecosistema (Silva et al., 2005). Además del ingrediente activo, otras sustancias presentes en el producto comercial también pueden afectar los parámetros evaluados, lo que amerita mayores estudios para dilucidar sus posibles efectos.

1 Número total de insectos evaluados; 2 Concentración letal 50 y 90 (conidios mL⁻¹) e intervalo de confianza del 95 %; 3 Error estándar de la media; 4 valor de chi-cuadrado calculado y grado de libertad (g.l.); 5 heterogeneidad.

Con respecto al crecimiento vegetativo de la cepa UEL50 de *M. robertsii*, el insecticida lufenuron en las concentraciones ensayadas no redujo el área de colonias con respecto al testigo y no afectó la producción de conidios, con la conidiogénesis de los tratamientos fue el lufenuron similar al del testigo. Finalmente, lufenuron puede considerarse compatible con *M. robertsii* a las concentraciones ensayadas, según los valores de IB determinados (Tabla 2). Investigaciones realizadas con el mismo insecticida indicaron su compatibilidad con otros aislados de *M. robertsii*, señalando que esto puede depender de la concentración del producto utilizado (Alves et al., 2011).

Los valores de CL50 y CL90 para la cepa UEL 50 de *M. robertsii* se presentan en la Tabla 3. Se verificó que para causar 50 % y 90 % de mortalidad de ninfas de tercer instar de *N. viridula* a los 8 días de la aplicación, se necesitaron concentraciones de 3,65 x 10⁵ y 5,71 x 10⁷ de conidios/mL de *M. robertsii* respectivamente, lo que demuestra que la mortalidad de los insectos depende de la concentración de conidios aplicada, de esta forma, mayores porcentajes de mortalidad de las chinches se obtienen mayores concentraciones del hongo entomopatógeno (Tabla 6).

Estudios similares realizados en laboratorio por Xavier y Ávila (2005) mostraron una relación proporcional entre la cantidad de conidios de *M. robertsii* aplicada en la mortalidad de la chinche *Scaptocoris carvalhoi* (Becker, 1967) (Hemiptera: Cydnidae) debido a que cuanto más penetran los conidios en el insecto, más toxinas o enzimas se liberan y se incrementa la mortalidad (Fernandes & Alves, 1992). También, Ihara et al. (2008), obtuvieron mortalidades superiores al 80 % a los 10 DDA en chinches de la fruta: *G. subpunctatus*, *P. stali* y *H. halys*, al aplicar suspensiones de conidios de *M. robertsii* a concentraciones de 1x10⁷ y 1x10⁸ conidios/mL con 80 % de humedad relativa (HR), ya que con 40 % HR la tasa de mortalidad fue menor (< 60 %), principalmente cuando se utilizó la concentración más baja. Sin embargo, los autores afirmaron que la patogenicidad del hongo depende más del número de conidios que penetran en la cutícula del insecto que de la RU.

Por otro lado, fue posible estimar los tiempos letales TL50 y TL90 a partir de la concentración de 1x10⁶ conidios mL⁻¹, ya que las suspensiones con menor concentración provocaron un bajo porcentaje de mortalidad total de ninfas de *N. viridula* y los valores no ajustados al modelo Probit (Tablas 2 y 5). Sin embargo, para concentraciones de 10⁶, 10⁷, 10⁸ y 10⁹ conidios mL⁻¹, los valores de TL50 y TL90 fueron (16,41 y 33,2), (10,93 y 19,10), (7, 62 y 15,40) y (6,51 y 10,54) días, respectivamente. Así, se demostró que el tiempo requerido por el hongo para matar al insecto depende de la concentración de conidio aplicado, se registró la mortalidad de las chinches en menor tiempo a mayores concentraciones del hongo entomopatógeno.

Resultados similares fueron reportados por Ihara et al. (2008), al evaluar la susceptibilidad de chinches adultos a *G. subpunctatus*, *P. stali* y *H. halys*, con la aplicación de 1x10⁸ conidios mL⁻¹ de *M. robertsii* obtuvieron valores de TL50 (4,7), (4,4) y (10,4) días, respectivamente, para cada especie, fue *H. halys* menos sensible a la infección de hongos. Esta diferenciación en la susceptibilidad entre especies también fue verificada por Sosa-Gómez y Moscardi (1998). En condiciones de campo, obtuvieron mortalidades promedias de 15 %, 17 % y 20 % para *P. guildinii*, *N. viridula* y *E. heros* a los 30 días de la aplicación de *M. robertsii* en la concentración de 1,45x10¹³ conidios ha⁻¹, inferien que la baja tasa de mortalidad se debió a la baja HR (< 75 %), también indicaron que *M. robertsii* fue más virulento para estas especies en comparación con *B. bassiana*.

Tabla 2. Porcentaje de germinación, número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), crecimiento vegetativo y número de conidios (media ± SE) de *Metarhizium robertsii* en contacto con dos concentraciones del insecticida lufenuron CE en laboratorio

Tratamiento (mL i.a/L)	Germinación %	R ¹ %	UFC N	R %	Crecimiento vegetativo cm ²	R %	Número de conidios (X x 10 ⁶)	R %	IB ²	C ³
Testigo	98,2 ± 0,58 a	0,00	92,0 ± 2,19 a	0,00	1,28 ± 0,13 a	0,00	4,90 ± 0,20 a	0,00	-	-
lufenuron CE 7,5	96,0 ± 0,70 a	-2,24	68,0 ± 2,38 b	-26,08	1,04 ± 0,19 a	-18,75	4,32 ± 0,17 a	-11,83	85,87	C
lufenuron CE 15	59,8 ± 1,35 b	-39,1	53,4 ± 4,08 c	-41,95	0,84 ± 0,13 a	-33,59	4,79 ± 0,49 a	-2,24	79,33	C
CV (%)		1,38		5,15		8,72		7,11		

Tabla 3. Valores de concentraciones letales CL50 y CL90 de *Metarhizium robertsii* para el control de ninfas de tercer instar de *Nezara viridula* determinadas por análisis Probit en laboratorio (25 ± 1 °C, 70 ± 5 % HR y 14 h de fotofase), 8DAA, Londrina, PR.

Especie	Concentración conidios/mL	n ¹	CL ₅₀ (IC 95 %)²	CL ₉₀ (IC 95%)²	Coefficiente Angular (± EPM³)	χ²(g.l.)⁴	h⁵
<i>Nezara viridula</i>	1x10 ⁴	210	65x10 ⁵ (1,46x10 ⁵ a 11,72x10 ⁵)	71 x 10 ⁷ (1,11x10 ⁷ a 88,2 x10 ⁷)	0,584±0,083	2,98	0,74

Tabla 4. Valores de tiempo letal (días) TL50 y TL90 de *Metarhizium robertsii* para el control de ninfas de tercer instar de *Nezara viridula* determinados por análisis Probit en laboratorio

Especie	Concentración conidios mL ⁻¹	n ¹	TL ₅₀ (IC 95 %) ²	TL ₉₀ (IC 95 %) ²	Coefficiente Angular (±EPM) ³	χ ² (g.l.) ⁴	h ⁵
<i>Nezara viridula</i>	1x10 ⁴	210	-	-	4,21± 1,83	2,23	0,28
	1x10 ⁵		-	-	1,33±0,54	1,41	0,18
	1x10 ⁶		16,41 (12,14 a 53,60)	33,21 (19,01 a 329,24)	4,18±1,31	1,5	0,18
	1x10 ⁷		10,93 (9,63 a 14,08)	19,10 (14,63 a 34,68)	5,29±1,06	1,51	0,19
	1x10 ⁸		7,62 (6,83 a 8,87)	15,40 (12,24 a 23,11)	4,19± 0,62	6,4	0,91
	1x10 ⁹		6,51 (5,65 a 8,10)	10,54 (8,36 a 19,96)	6,12±0,90	11,62	1,93

¹ Número total de insectos probados; ² Tiempo letal 50 y 90 (días) e intervalo de confianza del 95%; ³ Error estándar de la media; ⁴ valor de chi-cuadrado calculado y grado de libertad (d.l.); ⁵ Heterogeneidad.

En todos los tratamientos donde se observó mortalidad por la acción combinada del insecticida lufenuron (1,25 mL/L) y el hongo entomopatógeno (1x10⁴ y 1x10⁷/mL), se observaron interacciones con efectos aditivos, es decir, no hubo efectos antagónico o sinérgico. Los resultados demuestran que sólo hubo una suma de mortalidades causadas por el insecticida y el hongo (Tabla 5). Es importante señalar que se utilizaron bajas concentraciones del insecticida y el hongo para que se pueda evidenciar el efecto aditivo de las asociaciones, en caso de ocurrir, ya que a altas concentraciones la suma de las mortalidades de los agentes superaría el 100 %, lo que dificulta su interpretación. Los efectos aditivos se verificaron a partir del séptimo al décimo día de evaluación.

Tanto la reducción de insecticidas sintéticos como la concentración de conidios es interesante para reducir costos, además de favorecer la población de organismos benéficos, ya que incluso los agentes de control biológico o los insecticidas sintéticos selectivos, en altas concentraciones, pueden afectar a la población de enemigos naturales. Por ejemplo, França et al. (2006) encontraron mortalidades de (12,3 %) para adultos y (49,8 %) para ninfas del depredador *P. nigrispinus*, cuando se trataron tópicamente con 1x10⁷ conidios/mL de *M. robertsii*. Sin embargo, cuando se trataron caminando sobre las plantas, las mortalidades fueron menores (13,7 %) para adultos y (16,7 %) para ninfas. Por ingestión fue cero para adultos 0 % y 7,5 % para ninfas. Una de las precauciones a considerar puede ser la aplicación del hongo en concentraciones que no afecten al depredador, pero que tengan un efecto deletéreo sobre la plaga objetivo.

En la Tabla 6 se pueden observar los valores medios de mortalidad de ninfas de *N. viridula* de tercer instar a diferentes concentraciones del hongo, solamente el insecticida y las asociaciones hongo + insecticida. Se lograron resultados satisfactorios de mortalidad a partir de los 7 DDA con la aplicación de *M. robertsii* con 1x10⁸, 1x10⁹ conidios/mL y en mezcla 1x10⁷ conidios/mL + 1,25 mL i.a/L lufenuron, cuyos porcentajes de mortalidad corregidos acumulados fueron similares entre sí, diferenciándose estos del control y de los demás tratamientos. También se verificó que la asociación del hongo 1x10⁷ conidios mL⁻¹ con 1,25 mL i.a/L de lufenuron incrementó significativamente la mortalidad corregida acumulada de las ninfas en comparación con el tratamiento con el hongo solo a la misma concentración.

A los 8, 9 y 10 DDA, los porcentajes de mortalidad acumulada corregida fueron más expresivos, difieren significativamente según la concentración de conidios y las combinaciones utilizadas. Para los 9 DDA, el tratamiento con *M. robertsii* 1x10⁹ conidios mL⁻¹ alcanzó el 100 % de mortalidad,

valor superior a los demás tratamientos y similar solamente al tratamiento con el hongo 1x10⁸ conidios mL⁻¹ con 73,3 % de mortalidad (Tabla 6).

A los 10 DDA, la mortalidad corregida acumulada de ninfas obtenida con la asociación de 1x10⁴ conidios/mL + 1.25 mL i.a/L de lufenurón fue 40 % superior a las mortalidades en el testigo, el insecticida solo y las suspensiones de hongos hasta la concentración de 1x10⁶ conidios/mL, sin embargo, fue similar a la mortalidad lograda por el tratamiento con *M. robertsii* 1x10⁷ conidios/mL (Tabla 6). El aumento de la eficiencia por la asociación hongo + insecticida también fue reportado por Mohamed et al. (2011), lo que refuerza el argumento de Joshi et al. (1992), que consideran que el IRC puede debilitar la cutícula y reducir la resistencia a la penetración de hongos, resultando en una mayor eficiencia de control. Asimismo, con la asociación (1x10⁷conidios mL⁻¹ + 1,25 mL i.a/L de lufenurón) se alcanzó un 63,3 % de mortalidad, valor estadísticamente similar a los niveles más altos de mortalidad alcanzados en este estudio (83,3 % y 100 %) cuando se trató con *M. robertsii* 1x10⁸ y 1x10⁹ conidios mL⁻¹, respectivamente (Tabla 6).

Los resultados presentados en este experimento son similares a los obtenidos por Mohamed et al. (2011), en la evaluación de la eficiencia de la asociación de teflubenzuron + *M. robertsii* para el control de ninfas de cuarto y quinto instar de la langosta del desierto *Schistocerca gregaria* Forskål, 1775 (Orthoptera: Acrididae) en condiciones de semicontroladas, observándose hasta un 100 % de mortalidad a los 14 DDA. Los mismos autores mencionan que en esta asociación se pueden alcanzar altos niveles de mortalidad, incluso con dosis bajas de teflubenzurón y aún se incrementa la velocidad de acción de ambos agentes.

Así, se evidencia que existe un aumento significativo en el porcentaje de mortalidad corregida acumulada de ninfas de *N. viridula* cuando el hongo se asocia con el insecticida (Tabla 6). Por lo tanto, se deben considerar los efectos aditivos de las asociaciones de estos agentes de control (Tabla 4), que permitan utilizar concentraciones más bajas de insecticida y hongo para obtener un porcentaje eficiente de mortalidad. El uso de combinaciones de agentes de control a bajas concentraciones es importante en el contexto del MIP, con el objetivo de llegar a la reducción de insectos plaga con productos de diferentes mecanismos de acción, minimizan el riesgo de selección de poblaciones resistentes y los posibles impactos negativos a los organismos, el hombre y el medio ambiente. Sin embargo, se deben realizar nuevos estudios de campo para confirmar estos resultados.

Tabla 5. Interacciones entre el entomopatógeno *Metarrhizium robertsii* y el insecticida lufenuron CE, días después de las aplicaciones (DDA) sobre ninfas de tercer instar de *Nezara viridula* en laboratorio

Tratamiento	Días post Aplicación	Mortalidad (%±EP)		X ² Calculado	Efecto de Interacción ³
		Observada ¹	Esperada *		
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁴	7 DPA	3,33	-	-	-
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁷		20,00	-	-	-
lufenuron 1,25 mL i.a/L		10,00	-	-	-
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁴ + lufenuron 1,25 mL i.a/L		10,00	12,99	0,69	aditivo
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁷ + lufenuron 1,25 mL i.a/L		36,66	28,00	2,67	aditivo
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁴		3,33	-	-	-
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁷	8 DPA	23,33	-	-	-
lufenuron 1,25 mL i.a/L		10,00	-	-	-
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁴ + lufenuron 1,25 mL i.a/L		13,33	12,99	0,08	aditivo
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁷ + lufenuron 1,25 mL i.a/L		36,66	30,97	1,04	aditivo
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁴		3,33	-	-	-
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁷		26,66	-	-	-
lufenuron 1,25 mL i.a/L	9 DPA	20,00	-	-	-
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁴ + lufenuron 1,25 mL i.a/L		33,33	22,66	5,01	aditivo
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁷ + lufenuron 1,25 mL i.a/L		43,33	41,32	0,09	aditivo
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁴		13,33	-	-	-
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁷		43,33	-	-	-
lufenuron 1,25 mL i.a/L		10 DPA	23,33	-	-
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁴ + lufenuron 1,25 mL i.a/L	40,00		33,55	1,24	aditivo
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁷ + lufenuron 1,25 mL i.a/L	63,33		56,55	0,81	aditivo

Mortalidad observada corregida por la fórmula de Abbott (1925).

* Mortalidad esperada (Me) = $Mf + Mi (1 - Mf/100)$, donde Mf y Mi corresponden a las mortalidades observadas causadas por el hongo y el insecticida solo respectivamente (Finney, 1964). ³Si la diferencia de MC - ME (donde MC es la mortalidad de la combinación de entomopatógeno e insecticida) es positiva, el efecto es de sinergismo y cuando es negativo, de antagonismo. Si el X² calculado es menor que el valor tabulado, el efecto será aditivo. X² tabulado = 42,55, grados de libertad = 29, p ≤ 0,05.

Finalmente, en cuanto al porcentaje de mortalidad confirmada de ninfas, se observa que el número de cadáveres que presentaron esporulación fúngica aumentó en función de las concentraciones de conidios de *M. robertsii* aplicadas, por ejemplo, en la concentración más baja 1x10⁴ conidios mL⁻¹ no hubo confirmación de mortalidad por el hongo, ya que con la concentración de 1x10⁹ conidios mL⁻¹ el porcentaje de mortalidad confirmada fue de 83,33 % (Tabla 6). En trabajos similares, Martins et al. (2004) al evaluar el control de la chinche del tallo en arroz irrigado *T. limbaritensis* mediante la aplicación de una suspensión de 7.2 x 10¹³ conidios/ha, mostró eficiencias de 48,2 % y 61,8 % de mortalidad de ninfas y adultos, en forma de suspensión de esporas con granos de arroz, 15DAA. Sin embargo, el nivel de confirmación de infección detectado en el laboratorio fue bajo, alcanzó un máximo del 20 %, diferenciándose de los resultados obtenidos en este experimento ya que varios factores pueden influir en la esporulación. En algunos casos, el crecimiento vegetativo del hongo ocurre solo en el interior del insecto (Silva et al., 2005).

Conclusiones

1. *Metarrhizium robertsii* y lufenuron son compatibles, sin embargo, altas concentraciones del insecticida pueden disminuir la germinación y el número de unidades formadoras de colonias del hongo.
2. Las concentraciones letales CL50 y CL90 de *M. robertsii* para el control de ninfas de tercer estadio de *Nezara viridula* son 0,36 x 10⁶ y 0,57 x 10⁸ respectivamente.
3. Los tiempos letales TL50 y TL90 para las concentraciones de 10⁶, 10⁷, 10⁸ y 10⁹ conidios mL⁻¹, variaron de (16.41 y 33.2), (10.93 y 19.10), (7.62 y 15.40) y (6.51 y 10.54) días respectivamente.
4. Mayores concentraciones de *M. robertsii* aumentan el porcentaje de mortalidad acumulada y confirmada de ninfas de *N. viridula* y disminuyen el tiempo letal.
5. Las interacciones de las combinaciones de *M. robertsii* con lufenuron mostraron efectos aditivos, incrementan la eficiencia de control de las ninfas de *N. viridula*.

Tabla 6. Mortalidad acumulada corregida (%± SE) y mortalidad confirmada (%) de ninfas de *Nezara viridula* de tercer instar después del tratamiento con diferentes concentraciones de *Metarhizium robertsii*, lufenuron a dosis bajas 50 EC y combinaciones de *M. robertsii* y lufenuron en laboratorio.

Tratamiento	corregida acumulada (%± EP) ¹										Mortalidad confirmada (%) ²	
	1 Día	2 Día	3 Día	4 Día	5 Día	6 Día	7 Día	8 Día	9 Día	10 Día		
Testigo	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	-
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁴	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	13,3 ± 2,7 b	13,3 ± 2,7 b	0,00
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁵	0,0 ± 0,0 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	6,6 ± 2,7 a	6,6 ± 2,7 a	6,6 ± 2,7 a	6,6 ± 2,7 a	6,6 ± 2,7 a	13,3 ± 2,7 b	13,3 ± 2,7 b	50,00
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁶	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	10,0 ± 0,0 a	10,0 ± 0,0 a	16,6 ± 2,7 b	16,6 ± 2,7 b	60,00
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁷	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	3,3 ± 2,7 a	10,0 ± 8,1 a	20,0 ± 12,4 a	23,3 ± 15,1 a	26,6 ± 17,8 a	43,3 ± 16,5 c	43,3 ± 16,5 c	38,46
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁸	0,0 ± 0,0 a	3,3 ± 2,7 a	6,6 ± 5,4 a	6,6 ± 5,4 a	20,0 ± 4,7 a	26,0 ± 2,7 a	40,0 ± 4,7 b	53,3 ± 15,1 b	73,3 ± 10,0 c	83,3 ± 7,2 d	83,3 ± 7,2 d	64,00
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁹	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	6,6 ± 2,7 a	10,0 ± 4,7 a	20,0 ± 8,1 a	20,0 ± 8,1 a	66,6 ± 2,7 b	80,0 ± 4,7 b	100,0 ± 0,0 c	100,0 ± 0,0 d	100,0 ± 0,0 d	83,33
lufenuron 1,25 mL i.a/L	0,0 ± 0,0 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	10,0 ± 0,0 a	10,0 ± 0,0 a	20,0 ± 4,7 a	23,3 ± 5,4 b	23,3 ± 5,4 b	-
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁴ + lufenuron 1,25 mL i.a/L	0,0 ± 0,0 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	3,3 ± 2,7 a	6,6 ± 2,7 a	6,6 ± 2,7 a	10,0 ± 4,7 a	13,3 ± 7,2 a	33,3 ± 2,7 b	40,0 ± 4,7 c	40,0 ± 4,7 c	8,33
<i>M. robertsii</i> 1x10 ⁷ + lufenuron 1,25 mL i.a/L	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	3,3 ± 2,7 a	6,6 ± 5,4 a	16,6 ± 7,2 a	16,6 ± 7,2 a	36,6 ± 7,2 b	36,6 ± 7,2 b	43,3 ± 5,4 b	63,3 ± 7,2 d	63,3 ± 7,2 d	21,05

¹ Porcentaje medio de mortalidad acumulada corregida por Abbott. ² Porcentaje de mortalidad confirmada. Datos transformados por raíz x+1. Valores promedio seguidos de la misma letra en la columna no difieren por la Prueba de Scott-Knott al 5 % de probabilidad.

Referencias

- Abir A. G., & Maha S. N. (2020). Effect of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* on the cellular immunity and biochemistry of green bug *Nezara viridula* L. *Journal of Biopesticides*, 13(2), 135-144. <https://doi.org/10.57182/jbiopestic.13.2.135-144>
- Alexandre, T. M., Neves, P. M. O. J., Santoro, P. H., & Alves, L. F. A. (2008). Controle associado de *Alphitobius diaperinus* com o fungo entomopatogênico *Beauveria* e inseticidas químicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, 75(4), 481-489. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v75p4812008>
- Alves, M. M. T. A., Orlandelli, R. C., Lourenço, D. A. L., & Pamphile, J. A. (2011). Toxicity of the insect growth regulator lufenuron on the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin assessed by conidia germination speed parameter. *African Journal of Biotechnology*, 10(47), 9661-9667. <https://doi.org/10.5897/AJB11.1253>
- Bueno, A. F., Paula-Moraes, S. V., Gazzoni, D. L., & Pomari, A. F. (2013). Economic thresholds in soybean-integrated pest management: Old concepts, current adoption, and adequacy. *Neotropical Entomology*, 42(5), 439-447. <https://doi.org/10.1007/s13744-013-0167-8>
- Corrêa-Ferreira, B. S., & Panizzi, A. R. (1999). Percevejos da soja e seu manejo. (*Circular Técnica*, 24), Londrina: Embrapa CNPSo, 45 p.
- Cremonez, P. S. G., Gouvea, S. P., Pinheiro, D. O., Falleiros, Â. M. F., Levy, S. M., Meneghin, A. M., Fonseca, I. C. de B. & Neves, P. M. O. J. (2019). Chitin biosynthesis inhibitors in *Euschistus heros* Fabr. (Hemiptera: Pentatomidae): morphometric alterations in testes and nuclei of testicular accessory cells of adults. *Journal of Agricultural Science*, 11(1), 410-417. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n1p410>
- Fernandes, P. M., & Alves, S. B. (1992). Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera - Termitidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 21(3), 319-328. <https://doi.org/10.37486/0301-8059.v21i3.795>
- Ferreira-Agüero, M. A., Vilhena-Dios, R., & Orzuza-Escobar, D. (2018). Primer registro de *Gymnocyrtia* (Diptera: Tachinidae) endoparasitoide de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) en Paraguay. *Revista Colombiana de Entomología*, 44(1), 138-140. <https://doi.org/10.25100/socolen.v44i1.6553>
- Finney, D. J. (1964). A statistical treatment of the sigmoid response curve. *Probit analysis*, 25.
- França, Í. W. B., Marques, E. J., Torres, J. B., & Oliveira, J. V. (2006). Efeitos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre o percevejo predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae). *Neotropical Entomology*, 35(3), 349-356. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2006000300009>
- Ihara, F., Toyama, M., Mishiro, K., & Yaginuma, K. (2008). Laboratory studies on the infection of stink bugs with *Metarhizium anisopliae* strain FRM515. *Applied Entomology and Zoology*, 43(4), 503-509. <https://doi.org/10.1303/aez.2008.503>
- Jaramillo, J., Borgemeister, C., Ebssa, L., Gaigl, A., Tobón, R., & Zimmermann, G. (2005). Effect of combined applications of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) strain CIAT 224 and different dosages of imidacloprid on the subterranean burrower bug *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae). *Biological Control*, 34(1), 12-20. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.03.021>
- Joshi, L., Charnley, A. K., Arnold, G., Brain, P., & Bateman. (1992). Synergism between entomopathogenic fungi *Metarhizium* species and the benzoyleurea insecticide, teflubenzuron, against the desert locust *Schistocerca gregaria*. *Proceedings / Brighton Crop Protection Conference*, 1, 369-374.
- Koppenhöfer, A. M., Brown, I. M., Gaugler, R., Grewal, P. S., Kaya, H. K., & Klein, M. G. (2000). Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against white grubs: Greenhouse and field evaluation. *Biological Control*, 19(3), 245-251. <https://doi.org/10.1006/bcon.2000.0863>
- Knight, K. M. M., & Gurr, G. M. (2007). Review of *Nezara viridula* (L.) management strategies and potential for IPM in field crops with emphasis on Australia. *Crop Protection*, 26(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.03.007>

- Maciel, R. M. A., & Bueno, A. F. (2022). The role of integrated pest management for sustainable food production: The soybean example. En C. M. Galanakis (Ed.), *Biodiversity, functional ecosystems and sustainable food production* (pp. 117-139). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-07434-9_4
- Mohamed, M. M., Elshafie, H. A., & Bashir, M. O. (2011). Use of teflubenzuron alone and combined with *Metarhizium anisopliae* and Phenylacetone nitrile as control agent against the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae). *Agriculture and Biology Journal of North America*, 2(9), 1293-1303.
- Michalaki, M. P., Athanassiou, C. G., Kavallieratos, N. G., Batta, Y. A., & Balotis, G. N. (2006). Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin applied alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum* Du Val larvae: Influence of temperature, relative humidity and type of commodity. *Crop Protection*, 25(5), 418-425. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.07.003>
- Martins, J. F. D. S., Botton, M., Carbonari, J. J., & Quintela, E. D. (2004). Eficiência de *Metarhizium anisopliae* no controle do percevejo-do-colmo *Tibraca limbativentris* (Heteroptera: Pentatomidae) em lavoura de arroz irrigado. *Ciência Rural*, 34(6), 1681-1688. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782004000600003>
- Mcvay, J. R., Gudauskas, R. T., & Harper, J. D. (1977). Effects of *Bacillus thuringiensis* nuclear-polyhedrosis virus mixtures on *Trichoplusia ni* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 29(3), 367-372. [https://doi.org/10.1016/S0022-2011\(77\)80045-1](https://doi.org/10.1016/S0022-2011(77)80045-1)
- Moriello, K. A., Deboer, D. J., Schenker, R., Blum, J. L., & Volk, L. M. (2004). Efficacy of pre-treatment with lufenuron for the prevention of *Microsporium canis* infection in a feline direct topical challenge model. *Veterinary Dermatology*, 15(6), 357-362. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2004.00406.x>
- Neves, P. M. O. J., Hirose, E., Tchujo, P. T., & Moino, A. J. R. (2001). Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. *Neotropical Entomology*, 30(2), 263-268. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2001000200009>
- Roggia, S., Corrêa-Ferreira, B. S., Bueno, A. F., & Alves, J. B. (2011). Efeito de inseticidas reguladores de crescimento sobre a sobrevivência, desempenho reprodutivo e atividade alimentar do percevejo marrom da soja. En Resumos da XXXII Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil - São Pedro, SP, p. 100-103.
- Rossi-Zalaf, L. S., Alves, S. B., Lopes, R. B., Silveira Neto, S., & Tanzini, M. R. (2008). Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. En S. B. Alves & R.B. Lopes (Eds.), *Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios* (pp. 279-302). Editorial FEALQ.
- Silva, R. Z. D., Neves, P. M. D. O. J., & Santoro, P. H. (2005). Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. *Semina: Ciências Agrárias*, 26(3), 305-312. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2005v26n3p305>
- Sosa-Gómez, D. R., Borges, E., Viera, I. H. T. L., Costa, F., & Oliveira, C. N. (2005). Trypanosomatid prevalence in *Nezara viridula* (L.), *Euschistus heros* (Fabricius) and *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Heteroptera: Pentatomidae) populations in Northern Paraná, Brazil. *Neotropical Entomology*, 34(2), 341-347. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000200025>
- Sosa-Gómez, D. R., Corso, I. C., & Morales, L. (2001). Insecticide resistance to endosulfan, monocrotophos and metamidophos in the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.). *Neotropical Entomology*, 30(2), 317-320. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2001000200017>
- Sosa-Gómez, D. R., Boucias, D. G., & Nation, J. L. (1997). Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the Southern green stink bug *Nezara viridula* cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids and aldehydes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 69(1), 31-39. <https://doi.org/10.1006/jipa.1996.4619>
- Sosa-Gómez, D. R., & 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(2), 115-120. <https://doi.org/10.1006/jipa.1997.4716>
- Xavier, L., M. S., & Ávila, C. J. (2005). Patogenicidade, DL50 e TL50 de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para o percevejo castanho das raízes *Scaptocoris carvalhoi* Becker (Hemiptera: Cydnidae). *Ciência Rural*, 35(4), 763-768. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000400002>

Origen y financiación

Esta investigación tuvo origen en el Programa de Pos Graduación en Agronomía de la Universidad Estadual de Londrina, Paraná Brasil, y el investigador principal contó con beca de la Coordinación de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Contribución de los autores

El autor Marcos Arturo Ferreira Agüero, concibió la investigación y realizó experimentos. Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves, orientó el estudio. Paulo Sergio Gimenez Cremonez ayudó a realizar los experimentos, Diego Manuel Marquez Fernández, ayudó a traducir y dar formato al manuscrito.

Conflictos de interés

The authors declare no conflict interests.