

## EFECTO DE LA ALIMENTACIÓN DE CINCO ESPECIES DE CHINCHES (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE, COREIDAE) EN FRUTOS DE NOGAL PECANERO

SOCORRO HÉCTOR TARANGO RIVERO<sup>1</sup>, MÓNICA LILIANA GARCÍA BAÑUELOS<sup>2</sup>  
y MARÍA DEL CARMEN CANDIA PLATA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Campo Experimental Delicias-INIFAP; Cd. Delicias, Chihuahua, México.

<sup>2</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.; Cd. Cuauhtémoc, Chihuahua, México.

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de Sonora; Hermosillo, Sonora, México.

**RESUMEN.** En campo mediante la técnica de inclusión-exclusión de insectos y en laboratorio con el análisis de isoenzimas digestivas se evaluó el efecto de la alimentación de cinco especies de chinches (Heteroptera: Pentatomidae y Coreidae) sobre brotes o frutos del nogal pecanero, en distintas fases fenológicas del crecimiento y desarrollo de la nuez, en Chihuahua, México. *Brochymena sulcata* Van Duzee no causó caída de frutos ni manchado de la almendra; en cambio, *Leptoglossus zonatus* (Dallas), *Leptoglossus clypealis* Heidemann y *Chlorochroa ligata* (Say) sí causaron caída de nueces, cuya intensidad varió según la fase de crecimiento y desarrollo del fruto. Durante todo el periodo de llenado de la almendra y apertura del ruezno, *L. zonatus* y *C. ligata* causaron un fuerte manchado de la almendra, mientras que *Euschistus servus* (Say) lo hizo sólo de manera leve. El análisis de isoenzimas digestivas de *B. sulcata* mostró la presencia de isoenzimas de masa molecular similar a las del brote del nogal y la ausencia de bandas similares a las del ruezno o la almendra; en la digesta de *L. zonatus* se encontraron isoenzimas similares a las de la almendra de la nuez, pero no a las del brote. Los estudios demostraron que *B. sulcata* no es una plaga de la nuez, mientras que *L. zonatus*, *L. clypealis* and *C. ligata* son plagas potenciales durante la fase final de crecimiento del fruto, en el llenado de la almendra y hasta la cosecha de la nuez. *E. servus* es una especie de importancia menor en las nogaleras de Chihuahua.

**PALABRAS CLAVE:** *Brochymena*, *Leptoglossus*, *Chlorochroa*, *Euschistus*, calidad, isoenzimas.

**ABSTRACT.** Field techniques, consisting in including-excluding stink bugs or leaf-footed bugs in pecan shoot terminals, and laboratory techniques that determined the digestive track content of the bugs through electrophoretical analysis, were applied to evaluate the feeding damage that five different potential bug species pests (Heteroptera: Pentatomidae and Coreidae) cause on pecan nuts at different fruit phenological stages. *Brochymena sulcata* did not produce fruit drop or staining on pecan kernel, a perceived damaging pest on pecans in Chihuahua, Mexico. *Leptoglossus zonatus*, *L. clypealis*, and *Chlorochroa ligata* produced intensive damage that was related with the nut development phase. During the period comprising nut filling to shuck opening, *L. zonatus* and *C. ligata* produced most of the damage to the kernel, while *Euschistus servus* only had a slight effect in this period. Electrophoretical analysis showed that no isoenzymes closely related to the nut shuck or kernel were found in the digestive fluids of *B. sulcata*, while for *L. zonatus* closely resembling kernel isoenzymes were found, but not those similar to shoot tissue, which indicate that *B. sulcata* does not feed on pecans, as indicated also by the 3-y field studies, while *L. zonatus* was identified as a pecan kernel feeder by these two techniques. The practical implications of these studies indicate that *L. zonatus*, *L. clypealis* and *C. ligata* are potential pests during the late development stage of the nut and their importance increases as the fruit matures until harvest. *B. sulcata* and to some extent *E. servus* should not be considered as important pecan pests in Chihuahua.

### INTRODUCCIÓN

El nogal pecanero *Carya illinoensis* (Wang.) K. Koch se cultiva en más de 45,000 ha en el estado de Chihuahua (SAGARPA 2007), donde la plaga

principal de este frutal son los áfidos *Monellia caryella* (Fitch), *Monelliopsis pecanis* Bissell y *Tinocallis caryaefoliae* (Davis) (Homoptera: Aphididae) [Tarango 2005]. En segundo lugar



aparecen el barrenador del ruezno *Cydia caryana* (Fitch) (Lepidoptera: Tortricidae) y el barrenador de la nuez *Acrobasis nuxvorella* Neunzing (Lepidoptera: Pyralidae) [Tarango et al. 2003a]. En los últimos años la presencia de varias especies de chinches (Heteroptera: Pentatomidae y Coreidae) ha aumentado en las huertas y su daño ha afectado de manera significativa la calidad de la nuez, por lo que ya son consideradas plagas importantes (Tarango et al. 2003b).

Yates *et al.* (1991) citan los primeros estudios que describen el daño que las chinches causan a la nuez pecanera. Estos insectos pueden atacar los frutos en crecimiento rápido, durante el estado acuoso; dos días después la cáscara se torna necrótica y el interior del fruto lo hace a los cuatro o cinco días, tiempo en el cual cae. Después de que la cáscara ha endurecido el daño es causado a la almendra en desarrollo o completamente llena, y se manifiesta con manchas oscuras y amargas en dicho tejido. El pico de las chinches (apestosas y de patas laminadas) tiene la capacidad de penetrar la cáscara endurecida de la nuez, por lo que pueden dañar la almendra aun después de que el ruezno ha abierto. Según Smith 1998, la incidencia económicamente importante de las chinches ocurre en la época de llenado de almendra y apertura del ruezno.

En las diferentes regiones productoras de nuez pecanera de Estados Unidos las especies de chinches que se registran como plagas importantes son: *Euschistus servus* (Say), *Nezara viridula* (L.), *Chlorochroa ligata* (Say), *Acrosternum hilare* (Say), *Leptoglossus phyllopus* (L.) y *L. oppositus* (Say) [Dutcher y Todd 1983, Yates et al. 1991, Mizell et al. 1997, Smith 1998, McPherson y McPherson 2000, Cottrell et al. 2002]. En la región centro-sur de Chihuahua se ha determinado que la chinche gris *Brochymena sulcata* Van Duzee es la más abundante y se encuentra durante todo el ciclo vegetativo en las nogaleras, aparece a principios de marzo, su mayor densidad poblacional ocurre de mediados de mayo a finales de junio y permanece

en los nogales hasta mediados de octubre. La chinche de patas laminadas *Leptoglossus zonatus* (Dallas) es otra especie común que llega a las huertas en agosto, exhibe un pico poblacional a principios de septiembre y se encuentra en los árboles hasta mediados de octubre. La conchuela *Chlorochroa ligata* (Say) se presenta a principios de septiembre, su mayor densidad poblacional se detecta a mediados de octubre y se localiza en las huertas hasta fines de este mes. La chinche café *Euschistus servus* (Say), la verde *Nezara viridula* (L.) y las de patas laminadas *L. clypealis* Heidemann, *L. phyllopus* (Linneo) y *L. oppositus* (Say) se presentan de manera esporádica y en bajo número en las huertas de nogal (Tarango et al. 2003b).

No obstante ser insectos de importancia económica, en las regiones nogaleras de Chihuahua es muy poco el conocimiento bioecológico que se tiene de las chinches asociadas al nogal pecanero. En las huertas cualesquier especie de chinche se combate de manera discrecional con plaguicidas, aun cuando se desconoce el tipo de daño que causa cada una; además, no se tienen métodos de muestreo ni umbrales de acción. Cabe señalar que la implementación exitosa de programas de manejo integrado de plagas (MIP) requiere información suficiente sobre fenología y potencial productivo de los cultivos, biología y ecología de las plagas y de sus enemigos naturales, relación de las plagas con el cultivo y con los factores biológicos y físicos del ecosistema, potencial de daño económico de las plagas, métodos de muestreo, umbrales de acción y manejo y aplicación de las diferentes técnicas de control (Henneberry et al. 1991, Gut 1993). En este trabajo se comenzó por definir de cuál parte del nogal se alimentan las principales especies de chinches que concurren a las nogaleras y la época en que causan daño importante. De manera particular se estudió la relación trófica de *B. sulcata* con el nogal, por ser la especie más abundante en las huertas y sobre la que no hay referencias en la literatura de plagas del nogal. Para ello se utilizó



la técnica de exclusión e inclusión de insectos con jaulas para los estudios de campo (Dutcher y Todd 1983, Coombs 2000). Para los estudios de laboratorio se empleó la técnica de electroforesis, que permite determinar cuál es la fuente de alimento de un amplio número de especies de insectos mediante la detección de isoenzimas en su tracto digestivo (Luck et al. 1999, Amalin et al. 2000).

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Estudio de campo.** El trabajo se realizó durante los años 2000, 2001 y 2002, en la Huerta Santa María, en Delicias, Chihuahua. Se utilizaron 10 nogales (repeticiones) de 12 años de edad, vigorosos y con abundante fructificación, de las variedades Western y Wichita. La unidad experimental fue un brote fructífero de 20 a 30 cm de longitud, el cual se cubrió con una jaula de tergalina de 20 cm de diámetro y 60 cm de longitud. Los tratamientos fueron: 1) testigo sin chinches (mediante exclusión) y n2) diferentes especies de chinches (mediante inclusión). En cada jaula se incluyeron dos adultos de cada especie evaluada, los cuales permanecieron 10 días en contacto con el brote, hojas y frutos. En cada árbol se colocó una jaula de cada uno de los tratamientos, escogiendo un brote de la misma longitud y con el mismo número de frutos para cada uno de ellos.

Se evaluó el efecto de la alimentación de las especies *B. sulcata*, *C. ligata*, *L. zonatus*, *L. clypealis* y *E. servus*. En los diferentes años los insectos se incluyeron cuando el fruto tenía distinto grado de avance de las fases fenológicas de crecimiento y desarrollo, según los criterios de Herrera (1988) y Tarango (1988); en el pie de los cuadros de resultados se muestra la fecha que corresponde a cada fase fenológica. Cada experimento incluyó las especies de chinches fácilmente disponibles en la fecha de su establecimiento. Los insectos de *B. sulcata* se recolectaron básicamente en la misma nogalera, y en algunos casos en árboles de pinabete (*Tamarix* sp.) y de huizache (*Acacia farnesiana* L.

Willd) vecinos a las huertas. Los de *L. zonatus* se obtuvieron de una nogalera de Rosales, Chihuahua. Los de *C. ligata* se recolectaron en mezquites (*Prosopis* sp.) y en nogales. Los de *L. clypealis* se obtuvieron de árboles de pistacho (*Pistacia vera* L.). Los de *E. servus* se tomaron de campos de maíz (*Zea mays* L.).

Una vez terminado el periodo de exclusión o inclusión se retiraba la jaula y las chinches, y a los 1, 15 y 30 días después se contaba el número de frutos retenidos (tratamientos de junio, julio y agosto). Para los tratamientos de septiembre y octubre las nueces se cosecharon en madurez fisiológica, se curaron a la sombra (para fijar el color del integumento de la almendra) y se midió el número de nueces con manchas (de punción por chinches) por racimo y el número de manchas por almendra. Los datos se analizaron según un diseño experimental completamente aleatorizado, con el paquete estadístico SAS 6.03 (SAS Institute 1988).

**Estudio de laboratorio.** Consistió en analizar y comparar los perfiles de esterasas y peroxidasas del tracto digestivo de las chinches y de tejidos de nogal (brote, ruezno y almendra). El trabajo se hizo en 2002, en la Huerta Santa María y en el Laboratorio de Bioquímica del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., en Cd. Cuauhtémoc, Chihuahua.

**Insectos.** En dos nogales variedad Western se cubrieron varios brotes con racimo de 4 o 5 nueces, con jaulas de tergalina. En cada jaula se incluyeron 10 adultos de una misma especie de chinche, durante tres días. Luego se cortaron los brotes con la jaula y se transportaron al laboratorio, donde las chinches permanecieron dos días más. Un grupo control se mantuvo en jaulas de plástico y tapa de tergalina, y fue alimentado con una solución de sacarosa al 20%, proporcionada en bolitas de algodón de 1.5 cm de diámetro. Las especies evaluadas fueron *B. sulcata*, *L. zonatus* y *C. ligata*.

**Material vegetal.** En septiembre se recolectaron brotes del año y frutos de nogal de la variedad



Western. Una vez cortado, dicho material fue inmediatamente lavado y colocado en hielo a 4°C para su transporte al laboratorio, donde fue congelado con nitrógeno líquido y almacenado a -80°C hasta su análisis.

*Extracción de proteínas de insectos.* Para realizar el análisis del contenido de esterasas y peroxidasas intestinales de los insectos se siguió la metodología utilizada por Amalin *et al.* (2000). Para ello, el tracto digestivo de las chinches fue disecado íntegramente y la extracción de las proteínas tisulares, así como las contenidas en la digesta fue realizada mediante la homogenización del tracto digestivo en buffer TBE (Tris-borato 0.09 y EDTA 0.002 M, pH 8.3, con Tritón X-100 al 0.2% y sucrosa al 10%) y una mezcla de inhibidores de proteasas (tripsina y quimiotripsina 0.02 M). Posteriormente, el extracto proteico crudo fue centrifugado a 35,000 g por 20 min a 4°C y el sobrenadante fue separado y mezclado con un volumen igual de buffer muestra 2X (Tris-sulfato 100 mM, glicerol al 20%, azul de bromofenol al 0.05%, pH 6.5), para realizar el ensayo electroforético.

*Extracción de proteínas de tejidos de nogal.* Se procesaron muestras de la corteza y las primeras capas de madera del brote, del ruezno y de la almendra, de acuerdo con la metodología reportada por García *et al.* (2000), que consiste en extraer las proteínas mediante la homogenización de 4 g de tejido rebanado en 12 ml de buffer de extracción (Trizma base 50 mM, ácido cítrico 7 mM, ácido ascórbico al 0.1%, MgCl<sub>2</sub> 10 mM, ácido dietilditiocarbámico 10 mM, mercaptoetanol 1 mM y polietilenglicol Mr 3500 al 1%, pH 8) y 0.5 g de PVPP. El homogenizado fue centrifugado durante 20 min a 25,000 g a 4°C; el sobrenadante se separó y se centrifugó por 12 min en las mismas condiciones. El extracto proteico fue usado inmediatamente para el análisis electroforético o almacenado a -20°C hasta su utilización.

*Electroforesis de isoenzimas y comparación de los patrones electroforéticos.* Las proteínas extraídas

del tracto digestivo de las chinches y del brote, ruezno y almendra, fueron separadas mediante electroforesis en geles de poliacríamida bajo condiciones nativas (PAGE), usando una minicámara de electroforesis (Bio Rad®) a 4°C y 60 V por 2.5 h, con un sistema de geles continuos del tipo superior al 5% de poliacríamida en buffer Tris-sulfato 100 mM, pH 6.5 y geles de separación al 10% o 12% de poliacríamida con buffer Tris-HCl 300 mM, pH 8.3. Como buffer cámara se empleó una solución de Tris-Base 37 mM y glicina 40 mM, pH 8.9 y como buffer cámara inferior Tris-HCl 63 mM, pH 7.5. Las concentraciones de proteína aplicadas a los geles se ajustaron de acuerdo con la actividad y claridad de las bandas. Las muestras fueron aplicadas al gel mezcladas con un volumen igual de buffer muestra (Tris-sulfato 100 mM, glicerol al 20%, azul de bromofenol al 0.05%, pH 6.5). Para estimar la masa molecular de las isoenzimas se usaron estándares de proteínas de 14,200 a 545,000 kDa (Sigma Chemical Co., St. Louis MO.). Al finalizar la corrida electroforética, los geles fueron incubados en la oscuridad y a temperatura ambiente, en soluciones amortiguadoras conteniendo los sustratos enzimáticos alfa y beta naphthyl acetato para esterasas y 3-amino 9 etil carbazol para peroxidasas. La reacción se detuvo mediante la adición a los geles de solución fijadora (ácido acético al 10% y metanol al 25%). Los patrones de isoenzimas detectados fueron visualmente identificados y digitalizados con un escáner HP ScanJet 3300C.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Estudio de campo*

#### Caída de frutos

Está reportado que el grado de daño por chinches varía según la fase de desarrollo del fruto del nogal que ataque el insecto (Dutcher y Todd 1983, Coombs 2000), por ello el efecto de la alimentación



de cinco especies de heterópteros se evaluó en distintas fases fenológicas del fruto. En el cuadro 1 se muestra que cuando empieza el crecimiento rápido de la nuez y la fase líquida del endospermo (estado acuoso), a mediados de junio, la presencia de *B. sulcata* no tiene ningún efecto en la caída del fruto, tanto en la variedad Western como en la Wichita. En parte estos resultados son similares a los reportados por Coombs (2000), de que *N. viridula* no causa caída de las nueces Western y Wichita en pospolinización, cuando éstas comienzan su desarrollo.

En un estado más avanzado de desarrollo del fruto se observó que cuando la nuez está en plena fase de crecimiento rápido y del estado acuoso, de finales de junio a principios de julio, *B. sulcata* no causa caída de frutos, pero más notable es que tampoco lo hace la conchuela *C. ligata*, en las dos variedades de nogal evaluadas (cuadro 2). Al respecto, se ha demostrado que en esta época *N. viridula* sí causa caída de nueces (Dutcher y Todd 1983), pero también que un 12% a 16% de frutos picados por la chinche no caen (Coombs 2000). Lo anterior sugiere que el fruto del nogal al inicio de su crecimiento rápido no es un alimento de preferencia para las chinches o que éstas tienen otras fuentes de alimentación más accesibles en dicha época del año. En términos de programas MIP esto significa que durante la primera parte del crecimiento de la nuez el muestreo de las chinches no es una práctica necesaria en las nogaleras.

Ante la ausencia de efecto en los frutos por la alimentación de *C. ligata* (cuadro 2), en el año 2002 se repitió el experimento en la época de plenitud de crecimiento y del estado acuoso (mediados de julio). Se encontró que *B. sulcata* no causa caída de nueces, y que tampoco lo hizo *L. zonatus*. Sin embargo, en comparación con el testigo, *C. ligata* causó esta vez un 35% de caída de frutos, diferencia altamente significativa (cuadro 3). Esto sugiere que en la segunda parte del periodo de crecimiento la nuez se va haciendo susceptible al daño por la

### Cuadro 1.

Efecto de *Brochymena sulcata* en la fase de inicio de crecimiento rápido de fruto e inicio de estado acuoso<sup>1</sup>, en dos variedades de nogal. Delicias, Chihuahua. 2000

| Tratamiento                            | Nueces retenidas/brote |                   |       |       |
|--|------------------------|-------------------|-------|-------|
|  | PI <sup>2</sup>        | 1DDI <sup>3</sup> | 15DDI | 30DDI |
| Variedad Western                       |                        |                   |       |       |
| Sin chinches <sup>4</sup>              | 4                      | 4                 | 4     | 3.6   |
| <i>Brochymena sulcata</i> <sup>5</sup> | 4                      | 4                 | 4     | 3.5   |
| <b>Pr&gt;F</b>                         |                        | 1.0               | 0.458 | 0.943 |
| Variedad Wichita                       |                        |                   |       |       |
| Sin chinches                           | 5                      | 4.6               | 4.6   | 4.6   |
| <i>Brochymena sulfata</i>              | 5                      | 4.9               | 4.8   | 4.7   |
| <b>Pr&gt;F</b>                         |                        | 0.413             | 0.359 | 0.324 |

<sup>1</sup>Periodo de <sup>4</sup>exclusión e <sup>3</sup>inclusión = 12 al 20 de junio de 2000.

<sup>2</sup>PI= previo a inclusión.

<sup>3</sup>DDI= días después de la inclusión o la exclusión.

alimentación de las chinches, época en la cual es justificable realizar el muestreo y en su caso aplicar medidas de control.

Un cuarto experimento mostró que al final del crecimiento e inicio del estado mucilaginoso de la nuez Wichita, finales de julio a principios de agosto, *B. sulcata* no causa caída de frutos, en cambio *C. ligata* lo hace en un 49% y *L. clypealis* en un 64% (cuadro 4). Este resultado muestra que durante la fase de llenado de la almendra, cuando el fruto tiene altas necesidades nutrimentales (Herrera 1988), la punción por insectos causa el aborto de la nuez. Una respuesta diferencial al daño por chinches ya ha sido observada por Coombs (2000), quien encontró que durante toda la época de crecimiento de la nuez la alimentación de *N. viridula* causó un alto porcentaje de caída en la variedad Western, pero en Wichita se retuvo el 90% de los frutos con punción por este insecto en el último tercio de dicha fase fenológica.

**Cuadro 2.**

Efecto de dos especies de chinches en la fase de plenitud de crecimiento rápido de fruto y plenitud de estado acuoso<sup>1</sup>, en dos variedades de nogal. Delicias, Chihuahua. 2001

| Tratamiento                            | Nueces retenidas/brote |                   |       |       |
|--|------------------------|-------------------|-------|-------|
|  | PI <sup>2</sup>        | 1DDI <sup>3</sup> | 15DDI | 30DDI |
| Variedad Western                       |                        |                   |       |       |
| Sin chinches <sup>4</sup>              | 4.7                    | 4.7               | 4.6   | 4.1   |
| <i>Brochymena sulcata</i> <sup>5</sup> | 4.7                    | 4.7               | 4.7   | 4.3   |
| <i>Chlorochroa ligata</i> <sup>5</sup> | 4.7                    | 4.7               | 4.5   | 4.1   |
| <b>Pr&gt;F</b>                         |                        | 1.0               | 0.683 | 0.860 |
| Variedad Wichita                       |                        |                   |       |       |
| Sin chinches                           | 4                      | 4                 | 4     | 4     |
| <i>Brochymena sulfata</i>              | 4                      | 3.9               | 3.9   | 3.8   |
| <i>Chlorochroa ligata</i>              | 4                      | 3.9               | 3.9   | 3.9   |
| <b>Pr&gt;F</b>                         |                        | 0.926             | 0.926 | 0.775 |

<sup>1</sup>Periodo de <sup>4</sup>exclusión e <sup>5</sup>inclusión = 27 junio al 6 julio de 2001.

<sup>2</sup>PI= previo a inclusión y exclusión.

<sup>3</sup>DDI= días después de la inclusión y la exclusión.

**Cuadro 3.**

Efecto de tres especies de chinches en la fase de plenitud de crecimiento rápido de fruto y plenitud de estado acuoso<sup>1</sup>, en la variedad Western. Delicias, Chihuahua. 2002

| Tratamiento                              | Nueces retenidas/brote |                    |
|--|------------------------|--------------------|
|  | PI <sup>2</sup>        | 1DDI <sup>3</sup>  |
| Sin chinches <sup>4</sup>                | 5                      | 4.8 a <sup>6</sup> |
| <i>Brochymena sulcata</i> <sup>5</sup>   | 5                      | 3.9 ab             |
| <i>Chlorochroa ligata</i> <sup>5</sup>   | 5                      | 3.1 b              |
| <i>Leptoglossus zonatus</i> <sup>5</sup> | 5                      | 3.8 ab             |
| <b>Pr&gt;F</b>                           |                        | 0.019              |

<sup>1</sup>Periodo de <sup>4</sup>exclusión e <sup>5</sup>inclusión= 11 al 22 de julio de 2002.

<sup>2</sup>PI= previo a inclusión.

<sup>3</sup>DDI= días después de inclusión.

<sup>6</sup>Medias con misma letra no son estadísticamente diferentes al 0.05 (Tukey).

**Cuadro 4.**

Efecto de tres especies de chinches en la fase de fin de crecimiento rápido de fruto e inicio de estado mucilaginoso<sup>1</sup>, la variedad Wichita. Delicias, Chihuahua. 2002.

| Tratamiento                                | Nueces retenidas/brote |                   |        |        |
|--|------------------------|-------------------|--------|--------|
|  | PI <sup>2</sup>        | 1DDI <sup>3</sup> | 15DDI  | 30DDI  |
| Sin chinches <sup>4</sup>                  | 4                      | 4 a <sup>6</sup>  | 3.9 a  | 3.9 a  |
| <i>Brochymena sulcata</i> <sup>5</sup>     | 4                      | 3.8 ab            | 3.8 a  | 3.8 a  |
| <i>Chlorochroa ligata</i> <sup>5</sup>     | 4                      | 2.6 cb            | 2.1 b  | 2.0 b  |
| <i>Leptoglossus clypealis</i> <sup>5</sup> | 4                      | 2.2 c             | 1.6 b  | 1.4 b  |
| <b>Pr&gt;F</b>                             |                        | 0.0007            | 0.0001 | 0.0001 |

<sup>1</sup>Periodo de <sup>4</sup>exclusión e <sup>5</sup>inclusión= 22 julio al 2 agosto de 2002.

<sup>2</sup>PI= previo a inclusión y exclusión.

<sup>3</sup>DDI= días después de la inclusión y la exclusión.

<sup>6</sup>Medias en columnas con la misma letra no son estadísticamente diferentes al 0.05 (Tukey).

Se ha señalado que una nuez dañada por un heteróptero cae a los 4 o 5 días después de la punción (Woodroof y Woodroof citados por Yates et al. 1991); no obstante, en este efecto también hay una amplia variación, pues como se observa en el cuadro 4 una nuez Wichita dañada por chinches puede tardar hasta 16 a 30 días para caer. Por otro lado, *L. clypealis* se muestra como una especie con potencial de plaga importante, dada su capacidad de daño alta (cuadro 4), aunque su localización en Chihuahua ha sido en unas cuantas nogaleras del centro-sur del estado (Tarango et al. 2003b). Su importancia económica ya ha sido demostrada en pistachos, donde con dos días de estar en contacto con ellos puede causar de 23 a 40% de manchado de la almendra y un 33% de caída de frutos (Bolkan et al. 1984).

De los resultados de este estudio y de los de Dutcher y Todd (1983) y Coombs (2000), puede inferirse que la caída de una nuez dañada por un heteróptero depende de varios factores: avance de la fase de crecimiento del fruto (y posiblemente de



su estado nutricional), especie de chinche y variedad de nogal. También, un hallazgo importante de este trabajo es que *Brochymena sulcata* no causa caída de nueces, no obstante que es la especie más abundante y permanente en las huertas; además, su población es eficazmente regulada por un conjunto de parasitoides de huevos y de adultos (Tarango et al. 2003b). Las referencias alimenticias de esta chinche indican que se alimenta en el tronco de manzanos y moreras (Ruckes citado por Welter y Purcell 1987), en el pistachero lo hace de ramas y raquis, pero no de los pistachos (Welter y Purcell 1987), y Eger (1981) menciona que esta especie se mantiene en laboratorio con ramas de sauce como alimento.

#### Manchado de la almendra

En el cuadro 5 se muestra que en plenitud de la fase fenológica de llenado de almendra de las variedades Western y Wichita, de principios a mediados

de septiembre, *B. sulcata* no causó manchas en la almendra. De manera notoria se encontró que la alimentación de *E. servus* dio lugar a un manchado muy leve, lo cual en parte puede deberse a que esta especie no tolera el cautiverio, pues al final de la inclusión sólo había 0.4 insectos vivos por jaula (de dos introducidos); aunque también puede significar que la chinche café es menos dañina para el nogal en la región. En cambio, en 10 días de contacto con la nuez *L. zonatus* manchó del 75% al 81% de los frutos de un racimo, con un promedio de 2 a 3 manchas por almendra. Un potencial de daño diferente entre especies de chinches sugiere que la determinación de umbrales de acción debería ser específica para cada una de ellas. El experimento se repitió en 2002 en la variedad Western, encontrando que *B. sulcata* no causó daño, mientras que *C. ligata* y *L. zonatus* mancharon más del 80% de las nueces de un racimo con más de 3 manchas por almendra (cuadro 6).

### Cuadro 5.

Efecto de tres especies de chinches en la fase de plenitud de llenado de almendra<sup>1</sup>, en dos variedades de nogal. Delicias, Chihuahua. 2001

| Tratamiento                              | Nuez caída (%) | Nueces con manchas por racimo (%) | Manchas por almendra |
|--|----------------|-----------------------------------|----------------------|
| Variedad Western                         |                |                                   |                      |
| Sin chinches <sup>2</sup>                | 0              | 0 a <sup>4</sup>                  | 0 a                  |
| <i>Brochymena sulcata</i> <sup>3</sup>   | 0              | 0 a                               | 0 a                  |
| <i>Euschistus servus</i> <sup>3</sup>    | 0              | 8.3 a                             | 0.3 a                |
| <i>Leptoglossus zonatus</i> <sup>3</sup> | 0              | 75.1 b                            | 3.05 b               |
| Pr>F                                     |                | 0.0001                            | 0.0001               |
| Variedad Wichita                         |                |                                   |                      |
| Sin chinches                             | 0              | 0 a                               | 0 a                  |
| <i>Brochymena sulcata</i>                | 0              | 0 a                               | 0 a                  |
| <i>Euschistus servus</i>                 | 0              | 12.0 a                            | 0.65 a               |
| <i>Leptoglossus zonatus</i>              | 0              | 81.1 b                            | 2.35 b               |
| Pr>F                                     |                | 0.0001                            | 0.01                 |

<sup>1</sup>Fecha de <sup>2</sup>exclusión e <sup>3</sup>inclusión= 10 al 24 de septiembre de 2001.

<sup>4</sup>Medias en columnas con la misma letra no difieren estadísticamente al 0.05 (Tukey).

**Cuadro 6.**Efecto de tres especies de chinches en la fase de plenitud de llenado de almendra<sup>1</sup>, en la variedad Western. Delicias, Chihuahua. 2002

| Tratamiento                              | Nuez caída (%) | Nueces con manchas por racimo (%) | Manchas por almendra |
|--|----------------|-----------------------------------|----------------------|
| Sin chinches <sup>2</sup>                | 0              | 0 a <sup>4</sup>                  | 0 a                  |
| <i>Brochymena sulcata</i> <sup>3</sup>   | 0              | 0 a                               | 0 a                  |
| <i>Chlorochroa ligata</i> <sup>3</sup>   | 0              | 83.3 b                            | 3.1 b                |
| <i>Leptoglossus zonatus</i> <sup>3</sup> | 0              | 88.3 b                            | 3.4 b                |
| Pr>F                                     |                | 0.0001                            | 0.0001               |

<sup>1</sup>Periodo de <sup>2</sup>exclusión e <sup>3</sup>inclusión= 9 al 19 de septiembre de 2002.<sup>4</sup>Medias en columnas con la misma letra no difieren estadísticamente al 0.05 (Tukey).

Al finalizar el llenado de la almendra y comenzar la apertura del ruezno, de finales de septiembre a principios de octubre, *B. sulcata* no mancha la nuez. El número de frutos manchados por *C. ligata* y por *L. zonatus* se reduce, pero el número de manchas por almendra es más de 2.5 (cuadro 7). Esto sugiere que una almendra bien llena provee más alimento a las chinches, requiriendo éstas menos nueces pero un número similar de punciones a la almendra para su alimentación. Esta observación sugiere que el umbral de acción no sólo variaría entre especies de chinches, sino también con la fase fenológica del fruto.

Una vez que la almendra completa su llenado y la mayoría de las nueces han abierto su ruezno, a mediados de octubre, *C. ligata* puede manchar 4 nueces de cada 10 y *L. zonatus* 8 de cada 10, con más de 3 manchas por almendra en promedio en ambas especies (cuadro 8). Es decir, la nuez es susceptible de daño por chinche aun sin ruezno que la cubra, cuando está lista para la cosecha. Por su parte, la chinche gris *B. sulcata* no causa daño en esta época.

Los últimos cuatro experimentos muestran que la nuez puede ser dañada por punción por heteropteros durante toda la fase de llenado

**Cuadro 7.**Efecto de tres especies de chinches en la fase de fin de llenado de almendra<sup>1</sup> e inicio de apertura de ruezno, en la variedad Western. Delicias, Chihuahua. 2002

| Tratamiento                              | Nuez caída (%) | Nueces con manchas por racimo (%) | Manchas por almendra |
|--|----------------|-----------------------------------|----------------------|
| Sin chinches <sup>2</sup>                | 0              | 0 a <sup>4</sup>                  | 0 a                  |
| <i>Brochymena sulcata</i> <sup>3</sup>   | 0              | 0 a                               | 0 a                  |
| <i>Chlorochroa ligata</i> <sup>3</sup>   | 0              | 27.5 b                            | 2.8 b                |
| <i>Leptoglossus zonatus</i> <sup>3</sup> | 0              | 43.6 b                            | 2.6 b                |
| Pr>F                                     |                | 0.0001                            | 0.0001               |

<sup>1</sup>Periodo de <sup>2</sup>exclusión e <sup>3</sup>inclusión= 24 septiembre al 3 octubre de 2002.<sup>4</sup>Medias con misma letra son iguales al 0.05 (Tukey).



## Cuadro 8.

Efecto de tres especies de chinches en la fase de plenitud de apertura de ruezno<sup>1</sup>, en la variedad Western. Delicias, Chihuahua. 2002

| Tratamiento                              | Nuez caída (%) | Nueces con manchas por racimo (%) | Manchas por almendra |
|--|----------------|-----------------------------------|----------------------|
| Sin chinches <sup>2</sup>                | 0              | 0 a <sup>4</sup>                  | 0 a                  |
| <i>Brochymena sulcata</i> <sup>3</sup>   | 0              | 0 a                               | 0 a                  |
| <i>Chlorochroa ligata</i> <sup>3</sup>   | 0              | 41.6 b                            | 3.2 b                |
| <i>Leptoglossus zonatus</i> <sup>3</sup> | 0              | 88.3 c                            | 3.4 b                |
| Pr>F                                     |                | 0.0001                            | 0.0001               |

<sup>1</sup>Periodo de <sup>2</sup>exclusión e <sup>3</sup>inclusión= 14 al 21 octubre de 2002.<sup>4</sup>Medias con misma letra son iguales al 0.05 (Tukey).

de almendra y de apertura de ruezno. Así, el periodo crítico de muestreo y protección contra ciertas especies de chinches abarca del inicio de llenado de almendra hasta la recolección de la nuez. Como actualmente no hay plaguicidas convencionales que puedan aplicarse en dichas fases fenológicas del nogal pecanero, por problemas de residuos en la nuez, es necesario el desarrollo de herramientas y/o métodos alternativos de control para estos insectos.

*Estudio de laboratorio*

Se comparó el patrón electroforético de esterasas de la almendra, ruezno y brote (figura 1, carriles 2, 3 y 4, respectivamente) con el patrón electroforético de la digesta de *L. zonatus* y *B. sulcata* alimentadas de brotes fructíferos del nogal. El patrón de esterasas endógenas del tracto digestivo (figura 1, carriles 5 y 8) fue obtenido con el análisis de la digesta de chinches alimentadas con sacarosa. En el caso de *L. zonatus* alimentada de tejidos del nogal (figura 1, carril 6) se detectaron tres bandas similares a las encontradas en la almendra de la nuez (figura 1, carril 2), de masa molecular 146, 119 y 87 kDa, mientras que en la digesta de *B. sulcata* alimentada de tejidos del nogal (figura 1, carril 7) no se observaron bandas comparables a las del brote, ruezno o almendra.

Por otro lado, la comparación del patrón electroforético de los tejidos de nogal, originado por la detección de peroxidasas, con respecto del patrón obtenido con la digesta de las chinches *L. zonatus*, *C. ligata* y *B. sulcata* (figura 2), demostró la presencia de una banda en la digesta de *C. ligata* (figura 2, carril 6) de masa molecular aproximada a 128 kDa comparable con una de las detectadas en el patrón generado de brotes del nogal (figura 2, carril 4). De manera similar a lo encontrado en la detección de esterasas, el análisis de la digesta de *L. zonatus* alimentada de tejidos del nogal (figura 2, carril 9) mostró dos bandas principales que no aparecen en la digesta de las chinches testigo alimentadas con sacarosa (figura 2, carril 10) y que son similares a dos bandas del patrón electroforético de la almendra y del ruezno (figura 2, carriles 2 y 3). En el caso de las isoenzimas extraídas de *B. sulcata* se observó un patrón similar al generado a partir del análisis del brote del nogal (figura 2, carril 4), con preponderancia de una banda de masa estimada en 202 kDa (figura 2, carril 8).

Los resultados anteriores, que coinciden con los hallados en campo, muestran que *B. sulcata* no se alimenta de la nuez, ya que no se encontraron isoenzimas del ruezno ni de la almendra en la digesta de esta especie. En contraparte se demos-



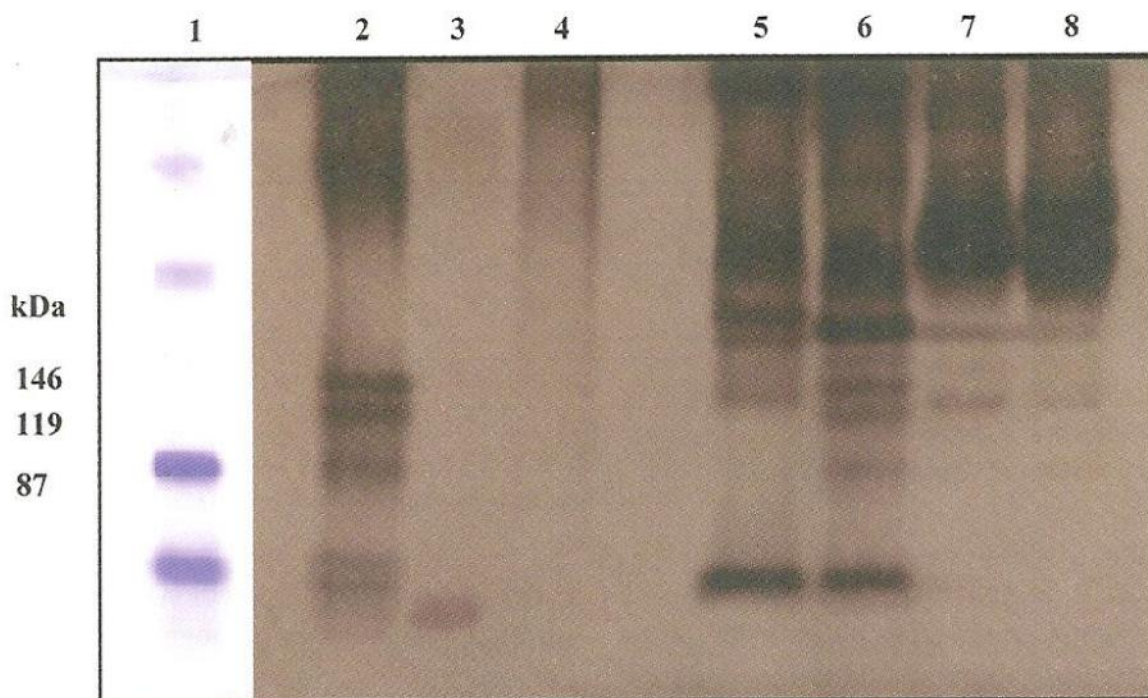


FIGURA 1. Patrón electroforético de estererasas. En el carril 1 se muestran los estándares de peso molecular (kDa). El carril 2 corresponde a isoenzimas extraídas de la almendra, el 3 del ruezno y el 4 del brote. Para *Leptoglossus zonatus* el carril 5 corresponde a isoenzimas extraídas de insectos alimentados con sacarosa (S) y el 6 de chinches alimentadas de tejidos de nogal (N). Para *Brochymena sulcata* el carril 7 es de insectos alimentados de N y el 8 de chinches alimentadas con S.

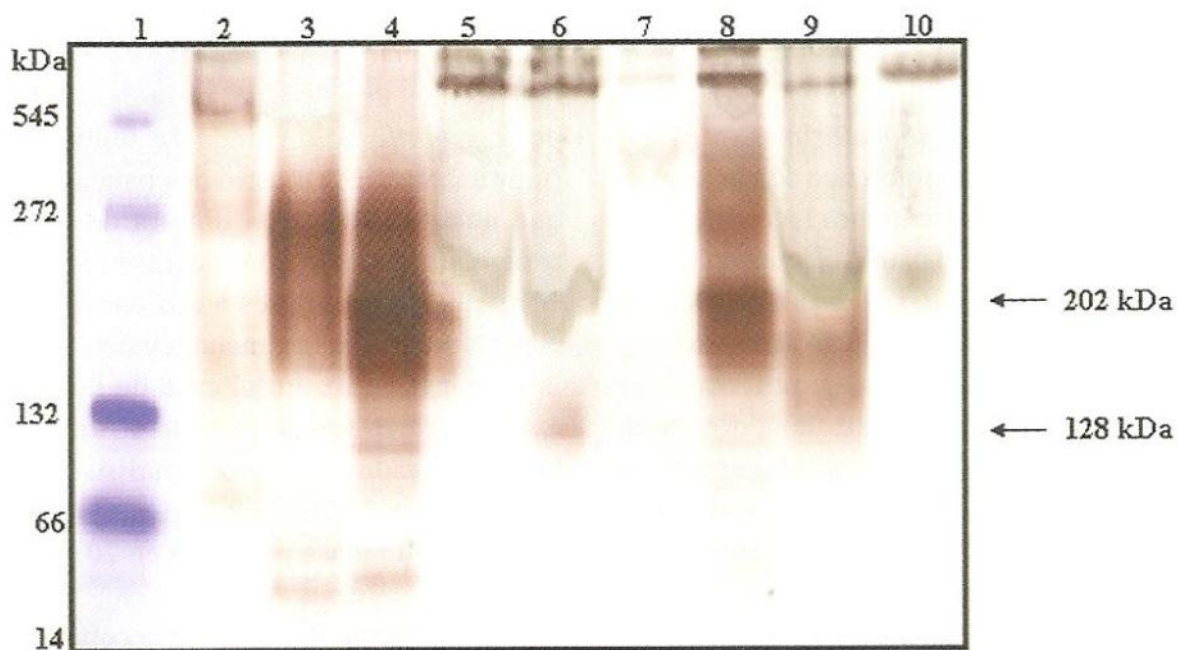


FIGURA 2. Patrón electroforético de peroxidadasas. En el carril 1 se muestran los estándares de peso molecular (kDa). El carril 2 corresponde a isoenzimas extraídas de la almendra, el 3 del ruezno y el 4 del brote. Para *Chlorochroa ligata* el carril 5 es de insectos alimentados con sacarosa (S) y el 6 de chinches alimentadas de tejidos de nogal (N). Para *Brochymena sulcata* el carril 7 es de insectos alimentados con S y el 8 de N. Para *Leptoglossus zonatus* el carril 9 es de insectos alimentados de N y el 10 con S.



tró la presencia de isoenzimas de masa similar a las del brote, lo cual coincide con las referencias de la literatura, que señalan que dicho insecto se alimenta del tallo de diferentes especies arbóreas (Eger 1981, Welter y Purcell 1987). En cambio, en la digesta de *L. zonatus* aparecieron principalmente isoenzimas de esterasas presentes en la almendra, tal como corresponde a una especie que causa fuerte daño a las nueces.

## CONCLUSIONES

1. Durante la época de crecimiento de la nuez el riesgo de daño por chinches es de bajo a moderado.
2. *Brochymena sulcata* no daña las nueces, se alimenta de los brotes del nogal.
3. En las fases fenológicas de llenado de almendra y de apertura del ruzno el riesgo de daño por chinches es de moderado a alto.
4. *Leptoglossus zonatus* y *Chlorochroa ligata* son las especies de heteropteros con más potencial de daño a la nuez en la región.
5. En algunas áreas *Leptoglossus clypealis* puede también ser de importancia económica.
6. Aparentemente, *Euschistus servus* es menos dañina para el nogal en la región.

## AGRADECIMIENTOS

Al Sr. Alfredo Chávez V. por permitirnos trabajar en su huerta. Por la identificación de las especies de heteropteros al Dr. Harry Braylowsky y a la M.C. Guillermina Ortega L. del Instituto de Biología-UNAM y al Dr. Edward Riley del Department of Entomology, Texas A&M University. A Nogales La Trinidad, Campuzano Hermanos, SPR Río Torio, Sr. Carlos Martínez Ch. y Sr. Óscar Rodríguez L. por su apoyo económico para realizar los estudios de electroforesis. Al Sr. Carlos Pérez F. y al Sr. Guerrero Campos G. del CEDEL-INIFAP por su excelente trabajo de campo. Al Dr. Carlos Blanco del USDA-ARS por la revisión y sugerencias al manuscrito.

## LITERATURA CITADA

- Amalin, D.M.; J.E. Peña and R. McSorley. 2000. Gut content analysis of three species of sac spiders by electrophoresis. Florida Entomol. 83(4):489-492.
- Bolkan, H.A.; J.M. Ogawa, R.E. Rice; R.M. Bostock and J.C. Crane. 1984. Leaf-footed bug (Hemiptera: Coreidae) and epicarp lesion of pistachio fruits. J. Econ. Entomol. 77:1163-1165.
- Coombs, M.T. 2000. Seasonal phenology, parasitism, and evaluation of mowing as a control measure for *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) in Australian pecans. Environ. Entomol. 29(5):1027-1033.
- Cottrell, T.E.; C.E. Yonce and B.W. Wood. 2000. Seasonal occurrence and vertical distribution of *Euschistus servus* (Say) and *Euschistus tristigmus* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae) in pecan orchards. J. Entomol. Sci. 35(4):421-431.
- Dutcher, J.D. and J.W. Todd. 1983. Hemipteran kernel damage of pecan. Misc. Public. Entomol. Soc. Amer. 13:1-11.
- Eger, J.E. 1981. Oviposition site preferences and related aspects of the parasitism of *Brochymena* spp. by *Trichopoda plumipes* in College Station, Texas. Environ. Entomol. 10:468-471.
- García B., M.L.; S.H. Tarango R.; J.J. Llamas Ll. y A.A. Gardea B. 2000. Identificación de portainjertos en pistachero mediante análisis de isoenzimas. En: Memorias. XVIII Congreso Nacional de Fitogenética. Soc. Mex. Fitogenética. P.382.
- Gut, L.L. 1993. Integrated pest management overview. In: Orchard pest management. A resource book for the Pacific Northwest. Good Fruit Grower. P.17-28.
- Herrera, E. 1988. Pecan nut development of 'Ideal' and 'Western Schley' cultivars [*Carya illinoensis* (Wang.) K. Koch] in the Mesilla Valley, New Mexico. Bulletin 737. AES-CAHE. New Mexico State University. 24 p.
- Henneberry, T.J.; E.H. Glass; R.G. Gilbert; E.G. King; R.W. Miller and C.J. Whitten. 1991. Integrated pest management, a sustainable technology. In: Agriculture and environment. The 1991 yearbook of agriculture. U.S. Government Print. Off. P.150-159.
- Luck, R.F.; B.M. Shepard and P.E. Kenmore. 1999. Evaluation of biological control with experimental methods. In: T.S. Bellows and T.W. Fischer (eds.). Handbook of biological control. Academic Press. P.225-242.
- McPherson, J.E. and R.M. McPherson. 2000. Stink bugs of economic importance in America north of Mexico. CRC Press. P.72-162.
- Mizell, R.F.; W.L. Tedders and J.A. Aldrich. 1997. Stink bug monitoring- an update. Southeast. Pecan Grow. Ass. 90:50-52.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2007. Avances de siembras y cosechas 2006. Chihuahua. www.sagarpa.gob.mx
- SAS Institute. 1988. SAS/STAT users' guide, release 6.03. SAS Institute, Cary, N.C.
- Smith, M.T. 1998. Low input management of stink bugs in pecan: combining the best of conventional control methods



- and a new trap cropping approach for cost effective IPM. Southeast. Pecan Grow. Ass. 91:52-58.
- Tarango R., S.H. 1988. Fenología de algunas variedades de nogal pecanero en Ojinaga, Chihuahua. Informe de investigación. México. CEDEL-INIFAP.
- Tarango R., S.H. 2005. Control biológico de áfidos del nogal pecanero. Folleto técnico No. 22. México. CEDEL-INIFAP. 37 p.
- Tarango R., S.H.; H. Aguilar P. y F.J. Quiñones P. 2003a. Biología, muestreo y control de los barrenadores del ruzno y de la nuez. México. Folleto técnico No. 12. CEDEL-INIFAP. 26 p.
- Tarango R., S.H.; M.L. García B. y A. González H. 2003b. Especies, daño y control natural de chinches en nogal pecanero. Folleto técnico No. 14. México. CEDEL-INIFAP. 39 p.
- Welter, S.C. and M. Purcell. 1987. A progress report on biological control of hemipteran pests and habitat manipulation in California pistachios. California Pistachio Industry. Ann. Rept. Crop Year 1986-87. P.140-146.
- Yates, I.E.; W.L. Tedders and D. Sparks. 1991. Diagnostic evidence of damage on pecan shells by stink bugs and coreid bugs. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 116(1):42-46.