

Universidad de Sancti Spiritus José Martí Pérez
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Departamento de Agronomía



Título: Empleo de *Heterorhabditis indica* Poinat cepa P₂M en el manejo de la broca del café (*Hypotenemus hampei* Ferrari).

Diplomante: Estrella Figueroa González

Tutor: Ing. Yander Fernández Cancio

MSc. Marta Guzmán Martín

Curso: 2012- 2013

Índice

Índice	
Portada	
Resumen	
1. Introducción	1
2. Revisión bibliográfica	4
2.1 Origen y distribución de la broca del café	4
2.2 Daños y pérdidas en los rendimientos	4
2.3 Medidas en control de la Broca	7
2.3.1 El control cultural	7
2.3.2 El control etológico o trampeo	8
2.3.3 El control químico	8
2.3.4 El control genético	8
2.3.5 El control biológico	9
2.3.5.1 Nematodos entomopatógenos	10
2.3.5.2 Ciclo de vida y aspectos bioecológicos	11
2.3.5.3 Búsqueda y penetración	12
2.3.5.4 Proceso de infección	13
2.3.5.5 Variabilidad intraespecífica	13
2.3.5.6 Efectividad y estrategias de aplicación en plagas agrícolas	14
2.3.5.7 Rango de hospedantes	15
2.3.5.8 Permanencia de los NEPs en el suelo	16
3. Materiales y métodos	18
3.1 Determinación de la susceptibilidad de los adultos de <i>H. hampei</i> a diferentes dosis de <i>H. indica</i> cepa P ₂ M.	18
3.2 Determinación del efecto de las dosis sobre el porcentaje de mortalidad de las larvas y adultos de <i>H. hampei</i>	19
3.3 Evaluación de la factibilidad económica de los tratamientos	20

4. Resultados y discusión	21
4.1 Susceptibilidad de los adultos de <i>H. hampei</i> a diferentes dosis de <i>H. indica</i> cepa P ₂ M.	21
4.2 Efecto de las dosis sobre el porcentaje de mortalidad de las larvas y adultos de <i>H. hampei</i> .	25
4.3 Factibilidad económica	30
5. Conclusiones	32
6. Recomendaciones	33
7. Referencias bibliográficas	34

Resumen

En el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Sancti Spiritus, en los meses de marzo y abril de 2013, se realizaron una serie de experimentos con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes dosis de *Heterorhabditis indica* Poinat cepa P₂M en el manejo de la broca del café (*Hypotenemus hampei* Ferrari. En un primer experimento se realizó una aplicación directa de las concentraciones de *H. indica* a los adultos de *H. hampei* en palcas Petri y la segunda variante experimental consistió en la aplicación de las concentraciones a granos de café con larvas y adultos del insecto colocados en bolsas de nylon con suelo. Se utilizaron granos de la variedad Robusta con larva, pupa y adultos de *H. hampei*. Los adultos de *H. hampei* tuvieron una susceptibilidad de 58 y 80% en 24 horas con concentraciones de 45, 75, 100 y 200 iji/adultos *H. indica* cepa P₂M. Las larvas de la broca resultaron más susceptibles a la acción del nematodo con valores de mortalidad superiores al 84% con todos los tratamientos en solo 72 horas. En la medida que se incrementa el tiempo y *H. indica* se establece en el suelo los porcentajes de mortalidad aumentan. Con dosis de 100 y 200 iji/ adultos en condiciones de laboratorio se reducen en un 83.3% y 54.5 % respectivamente los costos/ ha de *H. indica* cepa P₂M.

Abstrac

In the Provincial Laboratory of Vegetable Sanity of Sancti Spiritus, in the months of March and April of 2013, was carried out a series of experiments with the objective of evaluating the effect of different dose of *Heterorhabditis indica* Poinat stump it indicates P2M in the handling of the drill of the coffee (*Hypotenemus hampei* Ferrari). In a first experiment he/she was carried out a direct application of the concentrations of *H. indica* the adults of *H. hampei* in palcas Petri and the second experimental variant consisted on the application from the concentrations to grains of coffee with larve and adults of the insect placed in nylon bags with floor. Grains of the Robust variety were used with larve, pustule and adults of *H. hampei*. The adults of *H. hampei* had a susceptibility of 58 and 80% in 24 hours with concentrations of 45, 75, 100 and 200 iji/adultos H. it indicates stump P2M. The larve of the drill were more susceptible to the action of the nematodo with superior values of mortality to 84% with all the treatments in single 72 hours. In the measure that is increased the time and *H. indica* he/she settles down in the floor the percentages of mortality they increase. With dose of 100 and 200 iji / adults under laboratory conditions decrease respectively in 83.3% and 54.5% the costs / there is of *H. indica* stump P2M.

1. Introducción:

Los problemas fitosanitarios en el cafeto tienen una incidencia significativa en los rendimientos de este cultivo y son característicos para las distintas regiones del país. Según Vázquez, (2005) las enfermedades causadas por hongos, los insectos, los nematodos y las malezas constituyen los grupos de organismos nocivos que mayores pérdidas ocasionan en la producción.

En el cafeto inciden 61 especies de insectos (Vázquez, 2001) y se consideran plagas importantes: la bibijagua (*Atta insularis* Guerin); los cóccidos (*Saissetia spp*); el perforador de ramas (*Xylosandrus compactus* Eichhoff) y el picudo cenizo (*Lachnopus spp.*), entre otros ocasionales (Bruner *et al.*, 1975; Mendoza y Gómez, 1982; CNSV, 2005). A finales del siglo XIX en Cuba constituyó un problema la Guagua Verde *Coccus viridis* Green y a medida que se extendió el cultivo al resto del país y se establecieron cafetales en las regiones montañosas, fue ascendiendo la significación del minador de la hoja del café (*Leucoptera coffeella* Guérin - Méneville) (Vázquez, 2005).

La broca del café *Hypothenemus hampei* Ferrari se ha convertido en la principal plaga del cultivo, distribuyéndose en la actualidad desde las áreas inicialmente infestadas en las provincias de Santiago de Cuba y Granma (Vázquez, 2001) hasta el resto del país. La broca afecta los frutos del cafeto en sus diferentes fases de desarrollo, provocando su caída y el deterioro en los granos que permanecen en la planta, derivando en una disminución del peso y calidad del producto final, pérdida en el mercado internacional, aumento en los costos del beneficio y aumento en los costos de producción, situación que se traduce en pérdidas millonarias para el sector cafetalero (Borbón, 2001). Ocasiona pérdidas importantes en los rendimientos por cosecha que van desde un 5% hasta un 24% según la infestación que se presente, en casos extremos se reportan pérdidas hasta del 50% de la cosecha (Ramírez y Mora, 2001).

Estudios realizados por Funes *et al.*, (2001), demostraron que una de las vías de reducción del empleo de plaguicidas es la introducción de los medios de control biológico que inicialmente comenzó a utilizar una cepa nacional (LBb-32) de *Beauveria bassiana* que se emplea para otros coleópteros y que resulta efectiva contra esta plaga (CNSV, 2005). Más recientemente, se han realizado introducciones desde Tapachula, Chiapas, México, de los parasitoides *Cephalonomia staphanoderis* Betrem y *Phymastichus coffeae* La Salle para la lucha contra la Broca.

En investigaciones recientes se han utilizado los nematodo entomopatógenos en el control de plagas debido a que tienen un amplio rango de hospedantes con más de 200 especies de insectos pertenecientes a casi todos los órdenes. En el Programa de Defensa Nacional de la Broca se establece el uso de los nematodos con dosis que varían entre 200 y 250 mil individuos juveniles infestiles (iji) por ruedo.

Estos nematodos pueden ser ingeridos por insectos que poseen un aparato bucal masticador y se activan en el canal digestivo del hospedante, el cual atraviesan para pasar a la cavidad del cuerpo del insecto, donde con ayuda de las bacterias simbióticas del genero *Xenorhabdus* matan al individuo hospedante en el transcurso de pocos días hasta dos semanas. Estas bacterias disuelven los tejidos del insecto atacado y posteriormente el nematodo se reproduce como un nematodo parásito teniendo dentro del insecto varias generaciones. Las larvas duraderas abandonan posteriormente al hospedante muerto. También se conoce que la bacteria al disolverlos tejidos del hospedante produce una sustancia que evita la infección de otros microorganismos como es el caso de las infecciones causadas por hongos y bacterias; posibilitando de esta forma que el nematodo pueda desarrollarse mejor dentro del hospedante, siendo las especies más usadas en el mundo: *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis heliothidis* (Wetzel, 1995).

El éxito en el manejo y control de la broca del café depende de la acción conjunta entre una buena asesoría técnica, el desarrollo de las medidas de control preventivas y el uso de alternativas viables como es el Manejo Integrado, el cual consiste en integrar de manera armoniosa los diversos métodos culturales, uso de trampas, utilización de los medios biológicos (parasitoides, hongos, nematodos entomopatógenos) y control químico, este último cuando no quede otra alternativa (CNSV, 2005).

Situación problemática:

El Programa de Defensa Nacional de la Broca del cafeto establece el manejo integrado de las plagas, en el cual, para el control de *H. hampei* se emplean altas dosis de nematodos entomopatógenos incurriendo en gastos elevados, lo cual no deja margen económico para la utilización de otros medios biológicos.

Problema científico:

Altas dosis de nematodos entomopatógenos en el control de *H. hampei* con costos muy elevados.

Hipótesis:

Con la utilización de 20, 45, 75, 100 y 200 iji de *H. indica*/insecto se favorece el control de *H. hampei* reduciendo los costos.

Objetivo general:

Evaluar el efecto de diferentes dosis de *H. indica* en el manejo de *H. hampei* en condiciones de laboratorios.

Objetivos específicos:

1. Determinar la susceptibilidad de los adultos de *H. hampei* a diferentes dosis de *H. indica* cepa P₂M.
2. Determinar el efecto de las dosis sobre el porcentaje de mortalidad de las larvas y adultos de *H. hampei*.
3. Evaluar la factibilidad económica de los tratamientos.

2. Revisión bibliográfica:

2.1 Origen y distribución de la broca del cafeto

En 1867, hace 146 años, un taxónomo de apellido Ferrari describió por primera vez a la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Sin saberlo, Ferrari había dado a conocer a la humanidad uno de los insectos más temibles para la agricultura tropical. Todo fue cuestión de tiempo; no importaron océanos, montañas, desiertos, ni selvas de por medio, desde África, su lugar de origen, la broca invadió lenta pero inexorablemente cada una de las más importantes regiones cafetaleras del planeta Bustillo, (2005).

Según Vásquez *et al.*, (2005) este pequeño insecto hizo su primera aparición como plaga en 1901 en Gabón (África); muy pocos años después, en 1913, su presencia fue confirmada en Brasil. Después de un tiempo relativamente largo en Sudamérica, en 1971 la broca fue detectada en Centroamérica (Guatemala) y en 1978 en Norte América (México) y el Caribe (Jamaica). Actualmente la gran mayoría de países cafetaleros de América padecen del acoso de esta plaga, y sus daños son sinónimo de disminución del rendimiento y demérito de la calidad del aromático grano; incluso, ahora se sabe que la broca pueden ser una amenaza para la salud humana por el riesgo potencial que representa la ocratoxina A, una potente toxina producida por el hongo *Aspergillus ochraceus* Wilh., el cual puede crecer en los granos afectados por la plaga.

2.2 Daños y pérdidas en los rendimientos

La broca afecta los frutos del cafeto en sus diferentes fases de desarrollo, provocando su caída y el deterioro en los granos que permanecen en la planta, derivando en una merma del peso y calidad del producto final, pérdida en el mercado internacional, aumento en los costos del beneficio y aumento en los costos de producción, situación que se traduce en pérdidas millonarias para el sector cafetalero (Borbón, 2001).

Las hembras de la broca del café penetran en el interior de la cereza por un punto de la cicatriz floral, conocida por ombligo o disco, haciendo una galería a través del mucílago, pergamino y semilla, en cuyo interior pone sus huevecillos cuando los granos han alcanzado suficiente desarrollo, aproximadamente 120 días después de ocurrir la floración hasta los maduros Bustillo (2005). Al cabo de 5 a 9 días emergen las larvas blanco-amarillentas, que empupan de 15 a 19 días más tarde en el interior de la cereza. Después de 5 a 9 días salen los adultos jóvenes. El número de mudas larvarias es de una para los machos y dos para las hembras. Las larvas destruyen los frutos con su actividad masticadora (Borbón, 2001).

La broca destruye tanto los frutos tiernos como los granos maduros o cerezas. En los frutos jóvenes, el insecto perfora los granos que aún se encuentran en estado blando-lechoso, lo que produce su caída al suelo o la pudrición de los mismos. El daño principal ocurre desde que el endospermo empieza a tomar mayor consistencia hasta que la cereza está madura. En este estado, el insecto es capaz de reproducirse en el interior de las semillas y causa su destrucción parcial o total (INISAV, 2005). Vázquez *et al.*, (2005) estimaron la población residual de frutos en post-cosecha en los granos que quedan en el suelo y en las plantas. Se observó, en frutos residuales de la planta, un mayor nivel de infestación, debido a que en la planta los frutos presentan mejores condiciones, lo que favorece un mayor desarrollo de las poblaciones de la plaga pues las hembras adultas buscan continuamente frutos que les ofrecen las mayores posibilidades de supervivencia. Los estudios realizados en Cuba señalan que la plaga sobrevive en la época de post-cosecha en los granos que quedan en el suelo y en las plantas.

La broca del fruto del café puede implicar pérdidas importantes en los rendimientos por cosecha que van desde un 5% hasta un 24% según la infestación que se presente, en casos extremos se reportan pérdidas hasta del 50% de la cosecha (Ramírez y Mora, 2001). Estos autores señalan que la tasa de

adaptación de las pérdidas recomendadas para el manejo integrado de la broca es variable posiblemente influenciado por la diferencia social, económica, ambiental y el factor institucional.

Ejemplos de pérdidas se presentaron en Uganda en 1926, donde durante una grave infección resultaron atacados el 80 % de los frutos contabilizados en una sola hacienda. En Malasia en 1929 fueron afectados el 90% de los frutos en una localidad. En la región de Stanleyville (Congo) en 1934 se reportan datos de un 80% de frutos verdes atacados y un 96% de aquellos más maduros. En Tanzania la plaga atacó el 90% de los frutos, y en dos años se perdió el 76 % en valor del cultivo. En Brasil (Sao Paulo) en 1929 se reportaron pérdidas del 60 al 80% en plantaciones en las que no se emplearon medidas de control (Le Pelley, 1973). En Angola en el transcurso de 1952 a 1958, la media de café producida se estimó en 76 931 Toneladas, de las cuales 7 693 fueron las pérdidas totales producidas por el ataque del insecto (Hernández, 1982). Bustillo, (1991) señala que el daño del insecto al atacar el fruto del café y reproducirse internamente en el endospermo, causa la pérdida total del grano y en muchos casos su caída prematura, además reduce la calidad del producto final.

Con la aparición en Cuba de la Broca del Café *Hypothenemus hampei* Ferrari en el año 1995, los rendimientos del cafeto se han afectado gradualmente, detectándose en los municipios de Guamá y Buey Arriba en la provincia de Granma, aunque fueron tomadas todas las medidas pertinentes y una serie de directivas para que este insecto plaga no se extendiera por el resto del territorio nacional, atendiendo a su resistencia y a los daños que este podía ocasionar, en la actualidad se encuentra reportada en todo el país y según Grillo *et al.*, (2004).

2.3 Medidas en control de la Broca

Según Pierre, (2008) el control de la broca del Café debe enmarcarse dentro de una estrategia general de manejo integrado de plagas que comprende varias tácticas y opciones de control como el control cultural, el biológico y el etológico o trampeo. En un esfuerzo por reducir estas pérdidas, los países afectados llevan a cabo campañas o programas en contra de esta temible plaga. Asimismo, realizan investigaciones para generar conocimientos y tecnologías que contribuyan a crear o fortalecer estrategias y tácticas de manejo. el cultivo del cafeto es un rubro de la agricultura cubana en que la investigación científica ha tenido aportes importantes, debido entre otras razones a la estrecha vinculación entre los científicos, los especialistas que dirigen técnicamente el cultivo y los productores, todos integrados bajo programas nacionales de ciencia y técnica.

Hasta la fecha ningún método por si sólo ha sido eficiente en el control de esta plaga, resultando necesario buscar alternativas que ayuden a implementar un mejor esquema de manejo integrado. En un estudio realizado en Cuba GEAM, (2009) considera que aún los índices de infestación que se manifiestan son altos, no se completa el saneamiento, la colocación de trampas para la captura del insecto y la aplicación de medios biológicos, por ello resulta necesario continuar los estudios sobre el tema, trazando nuevas estrategias, relacionadas con la investigación del Manejo Integrado de la Broca (MIB) según INSAV, (2005).

2.3.1 El control cultural

Empíricamente se manifiesta que las labores denominadas “prácticas de control cultural”, constituyen un 80% del éxito en el control global de la broca incluye la cosecha sanitaria, el registro de floraciones, el corte de frutos prematuros y el manejo agronómico. Estudios realizados han comprobado que entre un 64% y 75% de la población del insecto llega al beneficio durante la cosecha (Moreno *et*

al., 2001). El control cultural comprende la aplicación oportuna de las tecnologías apropiadas de manejo del cultivo, especialmente la regulación de sombra, la poda, el deshierbe la fertilización y la recolección de frutos brocados (INSAV, 2005).

2.3.2 El control etológico o trampeo

Se realiza utilizando trampas cebadas con atrayentes (Kairomos) para capturar las hembras colonizadora. Estas deben colocarse después de realizada la poda, y su retiro del cafetal debe ser antes del inicio de la cosecha, la inspección debe efectuarse cada 8- 10 días, destruyéndose todo lo capturado, utilizando de 15-20 por hectárea (Mora, 2003; Bustillo, 2004 ; CNSV, 2008). En Cuba se han realizado ensayos con diferentes tipos de trampas y atrayentes, y todas mostraron un nivel aceptable de captura, se utilizan las trampas Rústicas (Frasco plástico) con atrayente artesanal, obtenido de la mezcla de café maduro molido y etanol, también se ensayó la altura más adecuada para la colocación de las mismas en la planta de café y resultó ser más específica en la captura de *H hampei* las de 0.5 a 1.0 m (CNSV, 2008)

2.3.3 El control químico

El uso de insecticidas solo se recomienda cuando técnicamente se requieren, y como último recurso para reducir poblaciones de *H. hampei* que han superado los umbrales de daño económico, debido a estos son costosos y altamente tóxicos cuando se trata de eliminar la plaga y representan elementos contaminantes del medio (INISAV, 2005).

2.3.4 El control genético

Según Schuller, (2005), esta como otra vía para el control efectivo de esta plaga, cuando expresa que existen características genéticas de cultivares de café que pueden ser aprovechadas en el marco de una estrategia de Manejo Integrado de Plagas como son: plantas con mayor uniformidad de floración que permitirían

concentrar la cosecha e introducir un período más largo de descanso, lo que desfavorece el desarrollo de la broca. Otra es la utilización de algunos cultivares de *Coffea canephora* los cuales han mostrado mayor susceptibilidad en pruebas de brocamiento en condiciones de laboratorios, y podrían ser utilizadas como plantas trampa.

2.3.5 El control biológico

Está basado en la liberación en los cafetales, de diferentes especies de parasitoides y la aplicación de hongos entomopatógenos. Estudios realizados por Funes *et al.*, (2001), demostraron que una de las vías de reducción del empleo de plaguicidas es la introducción de los medios de control biológico. Los microorganismos constituyen un grupo importante de elementos biológicos de uso fitosanitario, debido a su diversidad, su relativamente fácil producción masiva y la posibilidad de crear epizootias, que en ocasiones logran mantener las plagas y enfermedades por debajo del umbral de daño, sin necesidad de nuevas aplicaciones, uno de los principales componentes del manejo integrado de plagas lo constituye el control biológico. Este método se refiere a la represión de las plagas mediante parásitos, predadores y patógenos. Entre los patógenos se consideran algunos hongos, bacterias, nematodos y virus, los cuales son microorganismos que ocasionan la muerte de los insectos.

Para la lucha contra la broca inicialmente se comenzó a utilizar una cepa nacional (LBb-32) de *Beauveria bassiana* que se emplea para otros coleópteros y que resulta efectiva contra esta plaga; Más recientemente, se han realizado introducciones desde Tapachula, Chiapas, México, de los parasitoides *Cephalonomia staphanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethyridae) y *Phymastichus coffeae* La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) para la lucha contra la Broca del café, los que se encuentran en diferentes fases del proceso de post- introducción, antes de su liberación en las áreas cafetaleras del país, considerándose hasta el presente como muy promisorios para la lucha contra esta plaga, al igual que los

nematodos entomopatógenos, que se están generalizando en la práctica (CNSV, 1998).

2.3.6_1 Nematodos entomopatógenos

Los nematodos son gusanos cilíndricos no segmentados, que poseen una cutícula exterior acelular bajo la cual se encuentra la epidermis seguida por las fibras musculares longitudinales, carecen de peritoneo, razón por la cual se incluyen dentro de los pseudocelomados. Tienen sistema excretor, nervioso, digestivo, reproductivo y muscular, pero sin sistema circulatorio y respiratorio (Kaya y Stock, 1997).

Según Woodring y Kaya, (1988) y Elher, (1998) la clasificación taxonómica de los nematodos entomopatógenos los ubica en el Orden *Rhabditida*, Suborden: *Rhabditina* Superfamilia *Rhabditoidea*; a esta superfamilia pertenecen las familias *Steinernematidae* y *Heterorhabditidae* Poinar (1976) y Rosales *et al.*, (1999) encontrándose en asociación simbiótica con bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*.

La familia *Steinernematidae* comprende los géneros *Neosteinerinema* Nguyen y Smart, (1994) y *Steinernema* Travassos, (1927) citados por Marrero, (2003). La familia *Heterorhabditidae* tiene como único representante al género *Heterorhabditis* (Poinar, 1976).

Las características más relevantes que han propiciado que los nematodos sean atractivos como agentes biocontroladores son las siguientes:

- a) Poseen un amplio rango de hospedantes (Stock, 2004).
- b) Son fácilmente aplicables con los equipos estándar (Valdés, 2003).
- c) Es factible la selección genética (Valdés, 2003).

- d) Son compatibles con muchos insecticidas químicos y con otros agentes biorreguladores (Hara y Kaya, 1993).
- e) Son ambientalmente seguros tanto para plantas, vertebrados y otros organismos (Boemare *et al.*, 1996; Ehler, 1998).

Ellos infestan selectivamente muchos insectos y otros pequeños artrópodos, son inocuos al hombre, a los mamíferos y a las plantas. La relativa rapidez con que causan la muerte a los insectos hospedantes (24 - 48 horas) y la alta variabilidad de su acción ha despertado gran interés en su uso en el control biológico como agente en el manejo integrado de plagas (Woodring y Kaya, 1988; Certis, 2003).

2.3.6_2 Ciclo de vida y aspectos bioecológicos

Tanto la familia *Steinernematidae* como *Heterorhabditidae* tienen un ciclo de vida similar y simple que incluye el huevo, cuatro fases juveniles: J₁, J₂, J₃ y J₄ (separadas por mudas) y el adulto. La fase infestiva es el estado juvenil J₃, el cual posee la región cefálica con armadura, a manera de diente dorsolateral o subventral y tiene células vivas de su bacteria simbionte en el intestino, llevándola de hospedante a hospedante. Los infestivos juveniles (ijs) generalmente son envainados dentro de la cutícula del J₂ que no se desprende de la misma al pasar al ijs₃, pero está separado e intacto de esta segunda pared. Esta extracutícula le confiere una importancia en la resistencia a las condiciones medioambientales desfavorables, aunque la fisiología de estos le confiere resistencia, (Woodring y Kaya, 1988). Ellos pueden ser efectivamente producidos y almacenados por largos periodos (Grewal y Georgis, 1999).

Los ijs son los únicos de vida libre fuera del hospedante y capaces de moverse de un insecto a otro. Ellos contienen reservas de energía en carbohidratos, no se alimentan y pueden sobrevivir cuando las condiciones son favorables (humedad,

temperatura apropiada y oxígeno disponible). Miden de 400 a 1500 micras dependiendo del largo de las especies (Woodring y Kaya, 1988).

El ciclo descrito requiere de 10 a 14 días para *S. Sterneinerma feltiae* en los últimos instares de *Galleria mellonella* L. En pequeños insectos puede permitir solamente una generación. El ciclo de vida de *Heterorhabditis* es esencialmente igual al de *Steinernema* (Grewal y Georgis, 1999).

2.3.6_3 Búsqueda y penetración

Estos nematodos poseen dos estrategias básicas para encontrar al hospedante (Kaya y Gaugler, 1993; Lewis *et al.*, 1993). Algunas especies manifiestan el tipo de “espera pasiva” (ambusher) en la que los individuos permanecen cerca o en la superficie del suelo e infestan a los insectos móviles que se alimentan en la interfase del suelo y los que tienen una estrategia de “búsqueda activa” (cruiser) como ocurre en *H. bacteriophora* que tienden a ser muy móviles y responden a las emanaciones químicas de los hospedantes, infestando fundamentalmente a los insectos menos móviles.

Esta atracción de los nematodos a estímulos químicos es atribuida a menudo a la orientación Klinotáctica. Según Gaugler *et al.*, (1980) los juveniles infestivos de *Steinernema carpocapse*.

Los nematodos penetran en el hospedante por las aberturas naturales (boca, ano o espiráculos) y en el caso de *Heterorhabditis* también pueden penetrar directamente a través del tegumento intersegmental (Beeding y Molineux, 1982). La habilidad de los juveniles infestivos para penetrar dentro del hospedante es un paso esencial en su ciclo de vida, sin embargo la posibilidad de que esto ocurra exitosamente en condiciones naturales es baja (Gaugler *et al.*, 1990), lo que

puede ser una de las razones que explican sean necesarias grandes cantidades de nematodos para lograr el éxito en las aplicaciones en el campo.

Los juveniles infestivos del tercer estadio acarrean las células de su bacteria simbiote en el tracto alimentario, las que se localizan en una porción ventricular modificada del intestino en *Steinernema* mientras que en *Heterorhabditis* también pueden encontrarse en el lumen intestinal y esporádicamente en el lumen faringeal (Poinar, 1990). Los nematodos penetran en el hospedante por las aberturas naturales (boca, ano, o espiráculos) en el caso de *Heterorhabditis* también pueden penetrar directamente a través del tegumento Inter-segmental (Beeding y Molineux, 1982).

2.3.6_ 4 Proceso de infección

Una vez que el nematodo se instala en el hemocele, libera las células de la bacteria a través del ano, las que proliferan y matan al insecto a partir de las primeras 24 h, modificando los tejidos y creando condiciones para permitir el desarrollo de los nematodos, que se alimentan tanto de los tejidos semidegradados como de las propias células bacterianas. Rápidamente ocurre el paso al cuarto estadio los que darán origen a adultos hermafroditas (*Heterorhabditis*) o machos y hembras (*Steinernema*). Una o más generaciones anfimicticas pueden ocurrir en el hospedante hasta que escasea el alimento, momento en que los juveniles infestivos abandonan el cadáver y buscan de un nuevo insecto (Poinar, 1990; Kaya *et al.*, 1993).

2.3.6_ 5 Variabilidad intraespecífica

En la actualidad ha sido bien documentada la existencia de diferencias entre aislados de una misma especie de nematodos entomopatógenos (Bedding *et al.*, 1983; Gaugler *et al.*, 1989; Hashhmi y Gaugler, 1998; Hay y Richardson, 1995; Shapiro *et al.*, 1997; Yoshida *et al.*, 1998).

Una vez obtenidos los aislamientos resulta necesario seleccionar los de mejores atributos y simplificar a la vez el número con que se trabajará (Bedding, 1998). Ensayos tales como la mortalidad que provocan en distintos insectos, incluido *Galleria mellonella*, pueden aportar información suficiente para la selección preliminar.

Una vez seleccionado el o los aislados promisorios debe profundizarse en el conocimiento de los aspectos tales como infestividad sobre una especie de insecto o grupos de ellos, persistencia, factibilidad de cultivo y almacenamiento, tolerancia a temperaturas extremas e insecticidas, resistencia a la desecación u otros aspectos bioecológicos que resulten de interés para su aplicación práctica (Bedding, 1998).

2.3.6_ 6 Efectividad y estrategias de aplicación en plagas agrícolas

Los nematodos entomopatógenos son compatibles con algunos insecticidas clorinados, carbamatos y órgano fosforados en solución acuosa (Kaya, 1985). Ciertos funguicidas, acaricidas, insecticidas y herbicidas no afectan o tiene poco efecto sobre los infestivos juveniles, potencialmente es factible su aplicación combinada, como lo demuestran los resultados de Rovesti *et al.*, (1989); Zimmerman y Cranshaw, (1990) y Head *et al.*, (2000).

En cuanto a los medios biológicos Kaya y Burlando, (1989) descubrieron que *Bacillus thuringiensis* (Bt) también puede ser combinado con los nematodos entomopatógenos, ellos observaron que los infestivos juveniles de *Steinernema carpocapsae* penetraron igualmente insectos infestados por Bt que los sanos, pero que los primeros murieron más rápido.

En experimentos de campo muchas plagas han sido controladas con éxito, entre las que se encuentran, *Cylas formicarius* L. (Tetuán del boniato) (Jansson, 1991);

Pachnaeus litus (Germ.) (Picudo verde –azul de los cítricos) (Georgis y Hague, 1991); *Plutella xillostela* L. (polilla de la col); *Spodoptera frugiperda* (Smith) (palomilla del maíz); *Heliothis virescens* F (cogollero del tabaco) (Marrero, 2003).

Castellanos, (2000) estudió en condiciones de laboratorio el parasitismo de los nematodos entomopatógenos *H. bacteriophora* (HC₁) y *Steinernema spp.* (SC₁) sobre varias especies del Orden Homoptera: *Coccus viridis* Green (Coccidae), *Aphis gossypii* (Aphididae), *Aleuroglandulus malangae* y *Bemisia tabaci* (Aleyrodidae). En la evaluación realizada a las 72 horas se determinó que *H. bacteriophora* resultó más eficiente que *Steinernema spp.* sobre las especies de insectos evaluadas con más de 80% de mortalidad en todas las especies excepto en *tabaci* con un 38,9%.

Para la incorporación de los nematodos entomopatógenos en los programas de control de plagas pueden extrapolarse conceptos aplicados a otros agentes de control lo que ampliaría considerablemente las posibilidades de éxito. Dentro de ellos, considera posible su empleo en la desinfección de material vegetativo para propagación, el empleo de plantas trampas o cebos que atraigan a los insectos y la posterior aplicación de nematodos en ella, activadores químicos de su acción, aplicaciones inoculativas y la combinación de especies de nematodos con otros agentes de control ya sean biológicos o químicos (Kaya, 1996).

Giblin *et al.*, (1996) obtuvieron buenos resultados con *Steinernema carpocapsae* en el control de larvas y pupas de *Metamasius hemipterus* (Oliver) importante plaga que afecta al plátano y plantaciones de caña de azúcar en la Florida y otros estados de los Estados Unidos.

2.3.6_ 7 Rango de hospedantes

Más de 100 especies de insectos pertenecientes a los órdenes Coleóptera, Díptera, Hymenóptera, Lepidóptera, Orthóptera, Isóptera, Thysanóptera,

Homóptera y Hemíptera, entre otros han resultado ser hospedantes de los nematodos entomopatógenos en condiciones de laboratorio y campo (Poinar, 1990; Doucet y Giayetto, 1994; Alatorre y Hernández, 2000).

A pesar de que se considera que prácticamente no existen especies de insectos que no sean susceptibles a los nematodos entomopatógenos, lo cierto es que según Grewal y Georgis, (1999), las barreras de comportamiento provocan una reducción de la eficacia de los nematodos para seleccionar pocos hospedantes o grupos de ellos, de ahí que una vez que son aplicados (al suelo o follaje) en condiciones de campo, las especies (aislamientos) se comporten de manera diferente.

El complejo nematodo-bacteria ocasiona al insecto la muerte tan rápidamente que no existe forma de que se produzca entre el complejo patogénico y el insecto hospedante una relación altamente especializada e íntima. La rápida mortalidad permite al nematodo explotar una variedad de hospedantes tan amplia que alcanza a casi todo los órdenes de insectos, espectro de actividad que va más allá de la que exhiben otros agentes microbianos (Grewal y Georgis, 1999).

En los experimentos ejecutados en laboratorios utilizando placas de Petri, casi todas las especies de insectos resultan susceptibles a nematodos entomopatógenos, pues en esas condiciones el contacto entre nematodos y hospedantes está asegurado, no existen barreras de comportamiento para la infección y las condiciones ambientales son adecuadas (8T, HR, no radiación solar, etc.).

2.3.6_ 8 Permanencia de los NEPs en el suelo

Según Liens *et al.*, (1998) el suelo es un medio de cultivo. En él viven organismos que realizan un conjunto de procesos necesarios para la continuación de la vida. Forman parte de este grupo de organismos los nematodos entomopatógenos, muy

importantes en la lucha biológica, destacándose el género *Heterhabditis*, el cual es de gran importancia en el control de plagas e integrante de la fase biológica del suelo.

Se ha demostrado que la mayor cantidad de nematodos en el suelo se encuentra a unos 10 cms de profundidad aproximadamente, apreciándose una diferencia a los 5 y 15 cms. El hecho de que los mejores resultados se hayan obtenidos a los 10 cms de profundidad tiene su fundamentación biológica en que estos organismos descienden buscando la humedad. A una profundidad de 5 cms hay menor permanencia de estos debido a la influencia de las altas temperaturas y una elevada incidencia de los rayos solares que provocan que los nematodos se deshidraten y mueran, en tanto a los 15 cms de profundidad existe un déficit de oxígeno, por lo cual las poblaciones de nematodos disminuyen (*Liens et al.*, 1998).

3. Materiales y métodos:

El trabajo se realizó en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal (LAPROSAV) de Sancti Spiritus, con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes dosis de *H. indica* cepa P₂M en el manejo de *H. hampei* en condiciones de laboratorios, para el cual se realizaron dos experimentos en los meses de marzo y abril de 2013. Se utilizaron granos de la variedad Robusta con larva, pupa y adultos de *H. hampei* procedentes del Centro de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE) de Condado, Trinidad.

3.1 Determinación de la susceptibilidad de los adultos de *H. hampei* a diferentes dosis de *H. indica* cepa P₂M

Experimento 1:

Se colocaron 10 adultos de *H. hampei* en placas de Petri (9cm de diámetro) sobre un papel de filtro y se le aplicaron 5 concentraciones de *H. indica* cepa P₂M por ml de agua destilada. Se contó con siete repeticiones por tratamiento dejando un tratamiento como control absoluto sin aplicación de nematodos y para mantener la humedad en las placas se adicionaron 0.5 ml de agua destilada cada 24 horas. Las evaluaciones se realizaron a las 24, 48 y 72 horas determinando el estado de los insectos y a los cadáveres se les realizó la prueba "White" y la necrosis para verificar la muerte de los mismos por nematodos entomopatógenos (NEPs).

Tratamientos:

1. Control absoluto (H₂O destilada) a 1ml/ placa.
2. 20 individuos juveniles infestiles (iji)/ insecto a 1ml/ placa
3. 45 iji/ insecto a 1ml/ placa
4. 75 iji/ insecto a 1ml/ placa
5. 100 iji/ insecto a 1ml/ placa
6. 200 iji/ insecto a 1ml/ placa

Las concentraciones de nematodos se calcularon por las fórmulas de Woodring y

Kaya, (1988):
$$S = N * \frac{1}{M} * (x + 1)$$

Dónde:

N= Número de nematodos observados por conteo bajo el microscopio.

M= Número de mililitros en que se llevó a cabo el conteo.

X+1= Factor de dilución.

S= Concentración (nematodos/ml.) de la solución inicial.

Para calcular esta cantidad de nematodos por adultos se aplica la siguiente

fórmula (Woodring y Kaya, 1988):
$$A = \frac{D * C}{B}$$

Dónde:

A= Mililitros de la suspensión de concentración conocida para ser diluida.

B= Número de nematodos/ml de la suspensión que va a ser diluida.

C= Volumen final que se necesita calcular.

D= Mililitros de agua a añadir a la nueva dilución.

Lo que se necesita calcular es el valor de C, y se obtiene por despeje.

Para la interpretación de los resultados se realizó un análisis de varianza simple de las medias de adultos muertos en el paquete estadístico SPSS 15.0 para Windows

3.2 Determinación del efecto de las dosis sobre el porcentaje de mortalidad de las larvas y adultos de *H. hampei*.

En el experimento 1 se realizaron evaluaciones a las 72 horas, 5 días y 10 días y se determinó el porcentaje de adultos muertos y se realizó una comparación entre los adultos muertos expuestos de forma directa a los tratamientos con los del experimento 2.

Experimento 2:

Se colocaron 15 granos de café con larvas y adultos de *H. hampei* en bolsas de polietileno negras (23cm de alto/ 15cm de diámetro) con suelo Pardo sialítico

carbonatado (Hernández *et al.*, 1999) procedente de un área de producción cafetalera y se le aplicaron 5 dosis de *H. indica* cepa P₂M (experimento 1) y un control absoluto (H₂O destilada). Las bolsas fueron cubiertas con mallas antiáfidos para evitar el traslado de los adultos y la posible incidencia en los resultados. Se utilizaron 5 réplicas por tratamientos analizando 5 granos a las 72 horas, 5 días y 10 días y se determinó el porcentaje de mortalidad de los adultos y las larvas. Este experimento se realizó bajo condiciones de temperatura y humedad relativa ambiente (condiciones semicontroladas).

Para la interpretación de los resultados se realizó un análisis de varianza simple de las medias de adultos muertos en el paquete estadístico SPSS 15.0 para Windows y se establecieron comparaciones entre las evaluaciones en palcas y en bolsas

3.3 Evaluación de la factibilidad económica de los tratamientos

Para la evaluación de la factibilidad económica de los tratamientos se realizó una comparación entre los costos de las dosis en estudios y la dosis establecida en el Programa de Defensa de la Broca del café (PROMABROCA, 2008) según CNSV, (2008).

4. Resultados y discusión

4.1 Susceptibilidad de los adultos de *H. hampei* a diferentes dosis de *H. indica* cepa P₂M.

La figura 1 muestra la mortalidad de los adultos de *H. hampei* a diferentes concentraciones de *H. indica* cepa P₂M a las 24 horas (h). El tratamiento que provocó mayor porcentaje de mortalidad de *H. hampei* fue el de 200 iji/adultos con un 79,7%, esta concentración no tuvo diferencias significativas con respecto a las dosis de 75 y 100 iji/adultos las cuales tuvieron un porcentaje de mortalidad superior al 73,0 % en 24h (tabla 1). Las concentraciones de 20, 45 iji/adultos y el control presentaron diferencias significativas entre ellos y con demás tratamientos, siendo el control el de menor porcentaje de mortalidad.

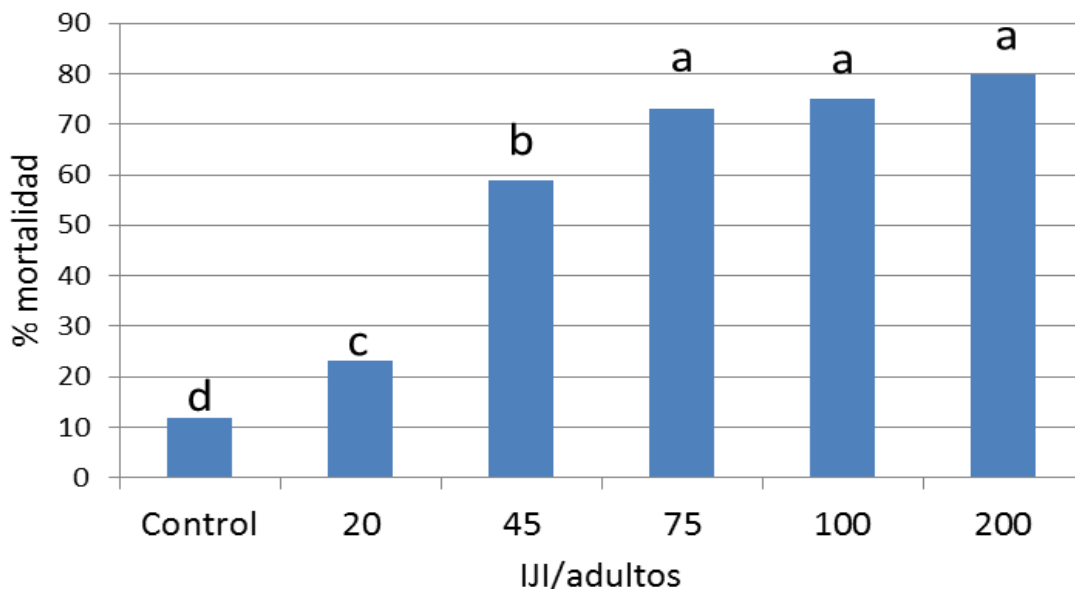


Figura 1. Porcentaje de mortalidad de adultos de *H. hampei* a diferentes concentraciones de *H. indica* cepa P₂M a las 24 horas. * Letras no comunes difieren según Duncan ($p > 0.05$).

Según Poinar, (1989) los nematodos pueden ocasionar diferentes efectos deletéreos sobre sus hospederos, que pueden ir desde reducción en la fecundidad, esterilidad y longevidad, disminución en la actividad, retraso en el desarrollo, cambios fisiológicos, morfológicos y de comportamiento y hasta la muerte citado por Castellanos, (2000).

Estos resultados coinciden con lo planteado por varios autores quienes se refieren a la habilidad para buscar e introducir sus bacterias simbióticas dentro del cuerpo del insecto, matándolo por septicemia dentro de las 24 a 72 horas, aunque según Fernández, (2001) en insectos pequeños, la mortalidad del hospedero puede ocurrir en minutos.

La determinación del porcentaje de mortalidad de adultos de *H. hampei* a diferentes concentraciones de *H. indica* cepa P₂M a las 48 horas evidenció que la dosis 200 iji/adultos presentó un 82.57 % de mortalidad, este tratamiento no tuvo diferencias significativas con respecto a las dosis de 75 y 100 iji/adultos, el tratamiento de 45 iji/adultos a pesar de tener diferencias estadísticas con estos tres tratamientos el porcentaje de mortalidad fue superior al 60 %. El tratamiento de menor % de mortalidad fue el de 20 iji/adultos. El control presentó diferencias significativas con respecto a todos los tratamientos.

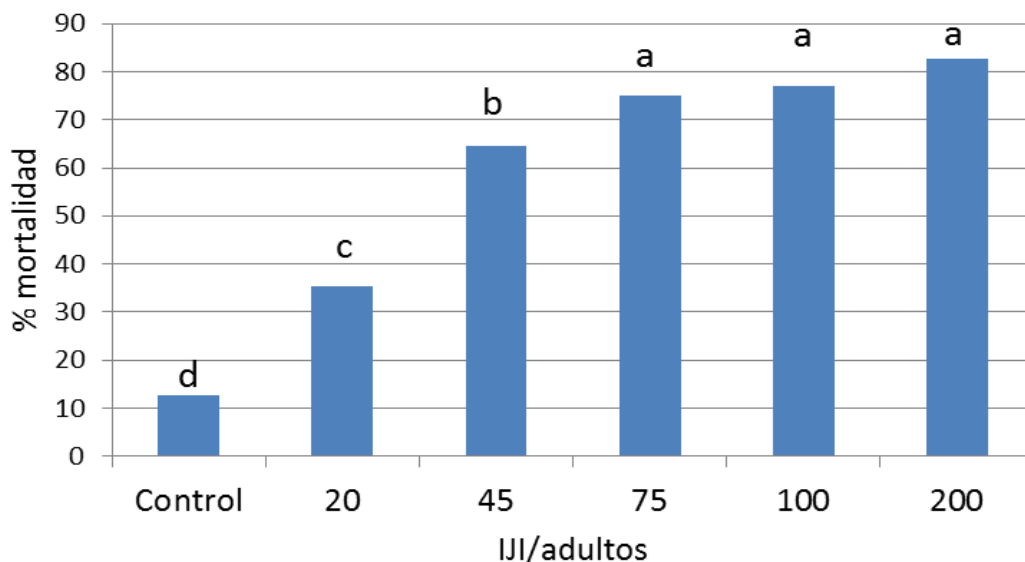


Figura 2. Porcentaje de mortalidad de adultos de *H. hampei* a diferentes concentraciones de *H. indica* cepa P₂M a las 48 horas. * Letras no comunes difieren según Duncan ($p > 0.05$).

La relativa rapidez con que causan la muerte a los insectos hospedantes (24 - 48 horas) y la alta variabilidad de su acción ha despertado gran interés en su uso en el control biológico como agente en el manejo integrado de plagas (Woodring *et al.*, 1988 y Certis, 2003).

Los iji son los únicos de vida libre fuera del hospedante y capaces de moverse de un insecto a otro. Ellos contienen reservas de energía en carbohidratos, no se alimentan y pueden sobrevivir cuando las condiciones son favorables (humedad, temperatura apropiada y oxígeno disponible (Woodring y Kaya, 1988) (citado por Pozo, 2005).

La figura 3 muestra el porcentaje de mortalidad de adultos de *H. hampei* a diferentes concentraciones de *H. indica* cepa P₂M. Los tratamientos de 45, 75, 100 y 200 iji/adultos fueron los que mayor porcentaje de mortalidad tuvieron, siendo la dosis de 75 iji/adultos la mayor con un 86.28 %. Los tratamientos con 75, 100 y 200 iji/adultos difieren de los demás tratamientos, aunque las concentraciones de

100 y 200 iji/adultos no difieren de la concentración de 75 iji/adultos. A las 72 h de iniciado el experimento se evidenció que a medida que incrementa el tiempo de exposición de los adultos del insecto a la dosis de 200 iji/adultos comienza a decrecer debido a la competencia intraespecífica de la especie en este caso por el espacio y el alimento. El tratamiento de 20 iji/adultos presentó diferencias significativas con el resto de las concentraciones y con el tratamiento control siendo este último el de menor porcentaje de mortalidad inferior al 20%.

Lemire, (1996) destaca que cuando las poblaciones han alcanzado un umbral de cierta densidad y las reservas nutricionales disminuyen el ciclo de vida se ve afectado y puede ser completado, con o sin hospedante intermediario (Marrero 2003).

Estos resultados coinciden con lo referido por otros autores en trabajos realizados en el control de insectos con nematodos entomopatógenos condiciones de laboratorio. Castellanos, (2000) en investigaciones realizadas determinó que a las 72 horas *H. sp* resultó más eficiente que *Steinernema spp* sobre las especies de insectos evaluadas con más de 80% de mortalidad.

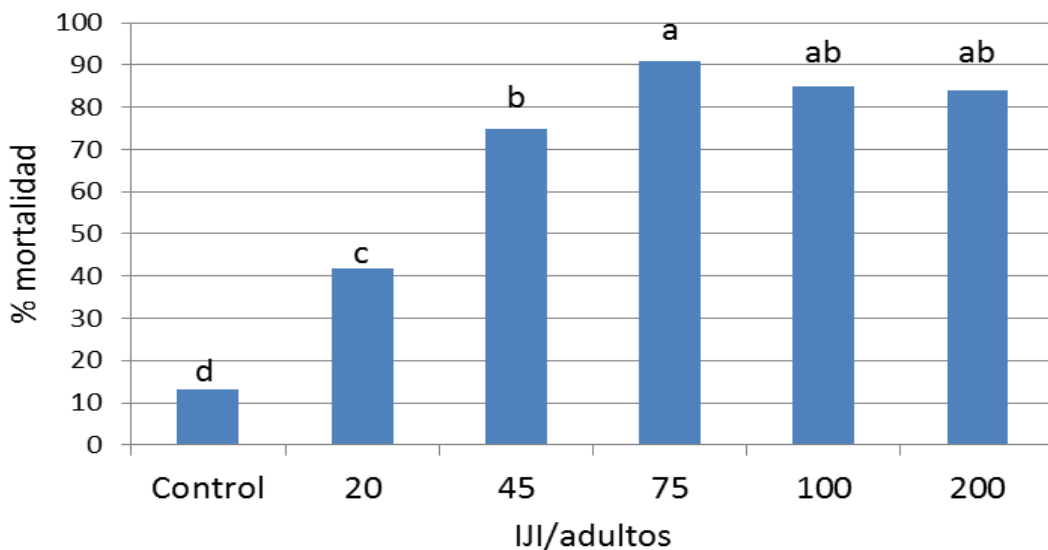


Figura 3. Porcentaje de mortalidad de adultos de *H. hampei* a diferentes concentraciones de *H. indica* cepa P₂M a las 72 horas. * Letras no comunes difieren según Duncan (p> 0.05).

Según Ehlers, (1998) los nematodos entomopatógenos son seguros al ambiente y a su aplicador, presentan gran diversidad de hospedantes y presentan la ventaja de que buscan a su hospedante, lo localizan y penetran a través del integumento y partes abiertas de su cuerpo para causarles la muerte (citado por Castellano, 2000).

Tabla 1: Comparación de medias. ANOVA.

Tratamientos	24 horas		48 horas		72 horas	
Control	11.71	d	12.57	d	13.28	d
20	23.28	c	35.42	c	41.85	c
45	58.85	b	64.57	b	75	b
75	73	a	75	a	86.28	a
100	75	a	77	a	84.85	ab
200	79.71	a	82.57	a	84.14	ab
EE (x)±	0.77		0.80		0.96	
CV %	9.31		7.73		6.24	

*Letras no comunes difieren según Duncan (p> 0.05).

4.2 Efecto de las dosis sobre el porcentaje de mortalidad de las larvas y adultos de *H. hampei*.

El efecto de las diferentes dosis de *H. indica* cepa P₂M sobre el insecto en las placas y las bolsas evidenciaron que en las placas Petri el porcentaje de mortalidad fue superior con respecto a las bolsas de nylon, debido a la exposición directa de los insectos a los nematodos (figura 4). En las dos variantes experimentales se constató que el porcentaje de mortalidad de los insectos fue superior al 40 % con todas las concentraciones del nematodo. Los resultados obtenidos en las bolsas de nylon mostraron que las concentraciones de 100 y 200 iji/adultos provocaron una mayor mortalidad de los insectos superior al 64%. Estos

resultados coinciden con lo planteado por PROMABROCA (2012), que refiere la utilización de dosis altas de nematodos en suelo para lograr el éxito en su establecimiento.

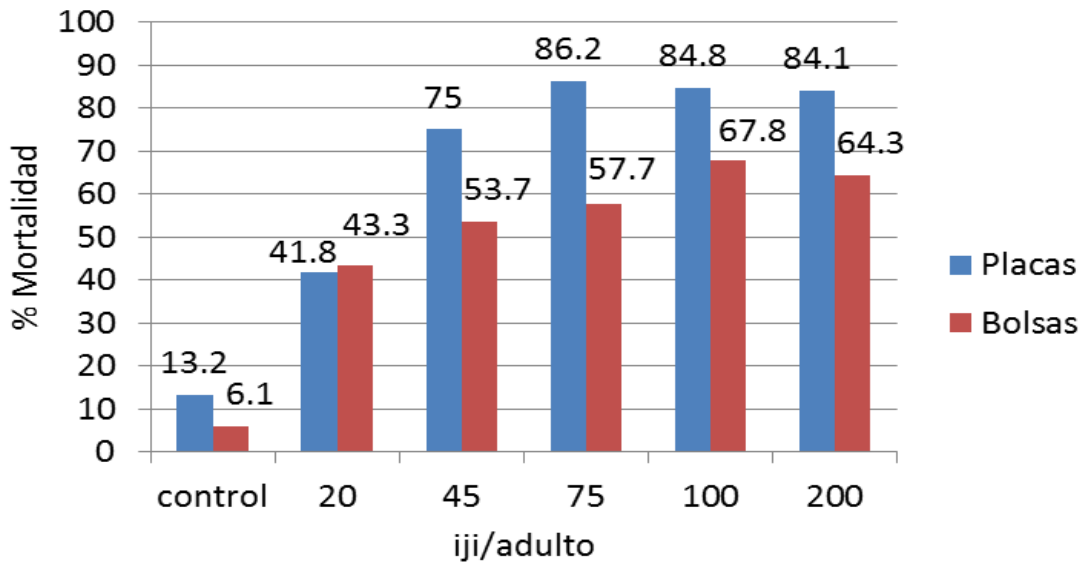


Figura 4. Porcentaje de mortalidad de adultos de *H. hampei* en placas Petri y bolsas de nylon a diferentes concentraciones de *H. indica* cepa P₂M a las 72 horas.

Según Jansson, (1991) y citado por Castellano, (2000) en experimentos de campo varias plagas insectiles han sido controladas con la utilización de *H. indica*, entre las que se encuentran, *Cylas formicarius* L. (Tetuán del boniato).

El porcentaje de mortalidad de los insectos a los 5 días de iniciado el experimento evidenció que en las dos variantes experimentales las concentraciones en estudio provocaron la muerte de más del 69% de los adultos del insecto. La figura 5 muestra como la variante en bolsas de nylon mostró un porcentaje de mortalidad superior con respecto a las placas Petri alcanzado un porcentaje de mortalidad superior al 80 % con todas las dosis, lo que evidencia el establecimiento de los nematodos en el suelo de las bolsas de nylon. En el tratamiento control el porcentaje de mortalidad en ambas variantes experimentales fue inferior al 15%.

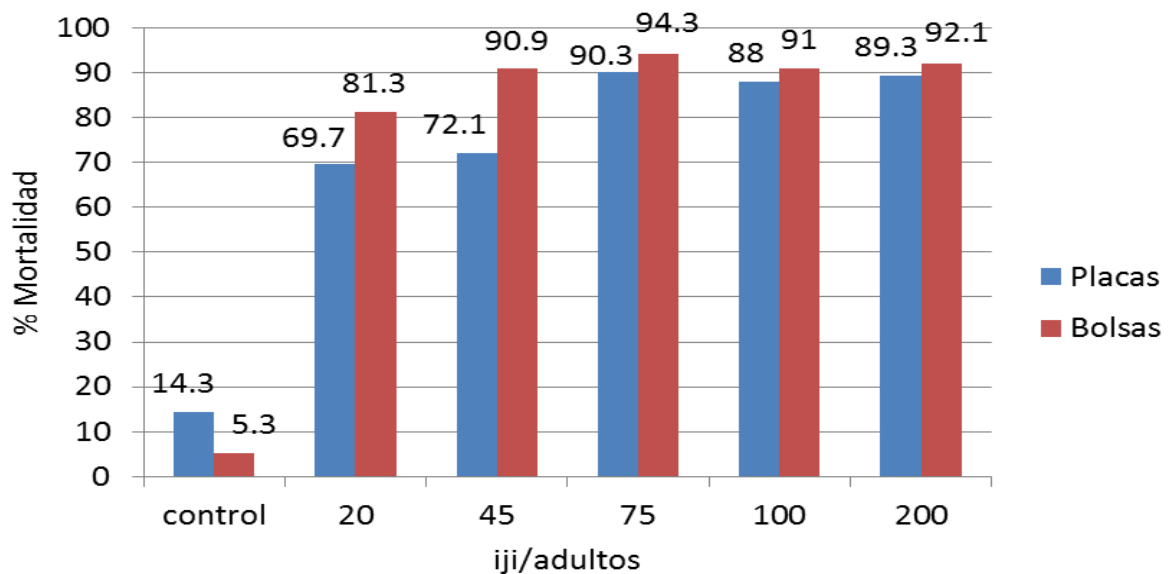


Figura 5. Porcentaje de mortalidad de adultos de *H. hampei* en placas Petri y bolsas de nylon a diferentes concentraciones de *H. indica* cepa P₂M a los 5 días.

Varios autores resaltan la virulencia de las especies de los nematodos del género *Heterorhabditis spp*, así como la susceptibilidad de algunas especies insectiles. Estudios realizados por Georgis *et al.*, (1991) en *Pachnaeus litus* (Germ.) (Picudo verde –azul de los cítricos) utilizando nematodos para su control obtuvieron resultados similares pasadas las 72 h, lo cual coincide con estos resultados.

La figura 6 muestra el porcentaje de mortalidad de adultos de *H. hampei* en placas Petri y bolsas de nylon a diferentes concentraciones de *H. indica* cepa P₂M a los 10 días de iniciado los experimentos, todos los tratamientos alcanzaron valores de mortalidad superiores al 76 % para ambas variantes experimentales. Las concentraciones de *H. indica* a 45, 75, 100 y 200 iji/adultos utilizadas en la aplicación al suelo mostraron los mejores resultados con un porcentaje de mortalidad superior al 90 %. Estos resultados resaltan la capacidad de establecimiento del nematodo en el sustrato cuando las condiciones de humedad son favorables, incluso cuando las dosis empleadas sean inferiores a las

establecidas en sistema estatal de sanidad vegetal y en el manejo integrado de las plagas.

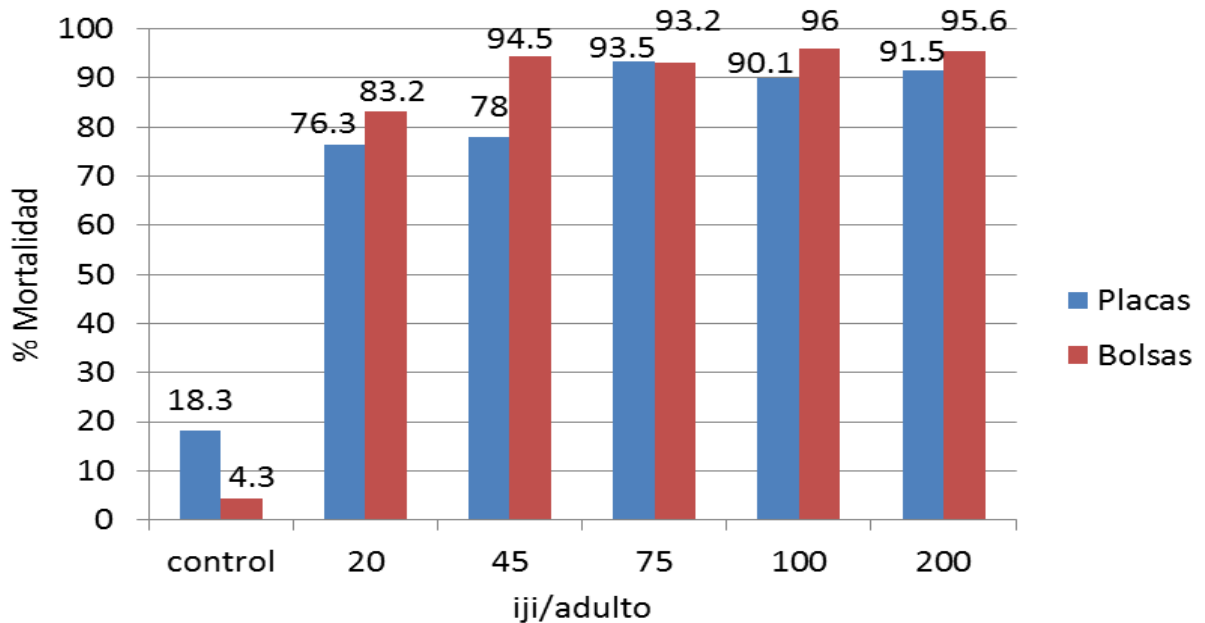


Figura 6. Porcentaje de mortalidad de adultos de *H. hampei* en placas Petri y bolsas de nylon a diferentes concentraciones de *H. indica* cepa P₂M a los 10 días.

Los nematodos penetran en el hospedante por las aberturas naturales (boca, ano, o espiráculos) en el caso de *Heterorhabditis* también pueden penetrar directamente a través del tegumento Inter-segmental según Beeding y Molineux, (1982) citado por Marrero 2003.

A las 72 h de iniciado el experimento en bolsa las concentraciones de 100 y 200 iji/adultos mostraron diferencias significativas con el resto de los tratamientos alcanzando más del 95 % de mortalidad de las larvas (tabla 2). Este es un resultado importante ya que evidencia la acción de los nematodos tanto en los adultos como en las larvas con valores superiores al 80% de mortalidad a los 72 h. La habilidad de los juveniles infectivos para penetrar dentro del hospedante es un paso esencial en su ciclo de vida, sin embargo la posibilidad de que esto ocurra

exitosamente en condiciones naturales es baja (Gangler *et al.*, 1990), lo que puede ser una de las razones que explican sean necesarias grandes cantidades de nematodos para lograr el éxito en las aplicaciones en el campo.

En los resultados del porcentaje de mortalidad a los 5 días (tabla 2) se observan que la dosis de 100 iji/adultos fue el mejor tratamiento con diferencias significativas con respecto al tratamiento de 200 iji/adultos con valores de mortalidad de las larvas superiores al 97%. Los tratamientos de 20, 45 y 75 iji/adultos no difieren entre ellos, ni con la dosis de 100 iji/adultos. En la tabla 2 que muestra el porcentaje de mortalidad de las larvas de *H. hampei* en granos de café a los 10 días de iniciado el experimento, no existieron diferencias estadísticas entre los tratamientos, alcanzando valores de mortalidad superiores al 85%.

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad de las larvas de *H. hampei* en granos de café.

Tratamientos	72 horas	5 días	10 días
T. Control	6,4 c	4,2 c	6,8 c
20 iji/adulto	84,67 b	94,2 ab	88,7 ab
45 iji/adulto	85,13 b	94,2 ab	93,6 ab
75 iji/adulto	84,89 b	97,01 a	98,3 a
100 iji/adulto	98,41 a	97,13 a	96,38 a
200 iji/adulto	95,34 ab	90,0 b	94,6 ab
EE (x) ±	0,87	0,76	0,65
CV =	8,70	9,31	7,20

* Letras no comunes difieren según Duncan ($p > 0.05$).

Estos resultados destacan la susceptibilidad las larvas al nematodo con porcentajes de mortalidad superiores a los obtenidos con los adultos. En trabajos realizados por Marrero, (2003) en el control de *Plutella xillostela* L. (polilla de la col) con nematodos entomopatógenos obtuvo un 87% de mortalidad a los 5 días.

Además plantea que las larvas de *Heliothis virescens* (cogollero del tabaco) fueron más susceptibles a *H. indica* que los adultos de esta especie, lo cual coincide con lo expuesto por Gómez, (1981) y citado por Marrero, (2003) que expone “las larvas jóvenes resultan más susceptibles que las larvas viejas y los adultos a la acción de los patógenos”.

En evaluaciones realizadas por Marrero, (2003) con cepas *Heterorhabditis spp* en el control de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (palomilla del maíz) demostró que la cepa P2M fue la de mayor porcentaje de mortalidad de las larvas a las 72 horas.

4.3 Factibilidad económica

En el análisis del costo de la cantidad de nematodos/ha⁻¹ que se muestra en la tabla 3 se observa como con las dosis de 100 y 200 iji/ adultos se reducen en un 83.3% y 54.5 % respectivamente el valor de adquisición de *H. indica* cepa P₂M. Este análisis se fundamenta a partir de que con la dosis de 200 000 iji/ruedo (PROMABROCA, 2008) según CNSV, (2008) se incurre en un gasto de \$1610.25 ha, ya que el costo de 1 000 000 de nematodos es de \$5.00 y la variedad robusta tiene una densidad de 1600 plantas/ ha⁻¹ con un marco de plantación de 3m x 2m. Según estudios realizados por el Centro Nacional de Referencia Buey Arriba, (2007) la dosis de 200 000 iji/ruedo pretende alcanzar una concentración aproximada como promedio en un ruedo de 360 iji/insecto.

Tabla 3: Análisis del costo de la cantidad de nematodos/ha⁻¹.

	Dosis (iji/insecto)	Dosis (iji/ruedo)	Valor <i>H. indica</i> /ha ⁻¹ (\$)
*PROMABROCA	360	200 000	1610.25
Tratamientos	-----	-----	-----
C1	20	10 900	89.45
C2	45	24 530	201.28
C3	75	40 870	335.46

C4	100	54 500	447.29
C5	200	109 000	894.58

* Propuesta del Programa Nacional de Defensa de la Broca del Cafeto 2012.

Estos resultados tienen un impacto importante para la producción cafetalera, puesto que constituye un ahorro del presupuesto destinado por el estado cubano en el programa nacional de defensa de la broca para el saneamiento postcosecha. La decisión de aplicar nematodos para el manejo de la broca es poco valorada por los fitosanitarios, pues deja poco margen económico para el empleo de otros medios biológicos importantes en manejo integrado del cultivo.

5. Conclusiones

1. Los adultos de *H. hampei* tuvieron una susceptibilidad de 58 y 80% en 24 horas con concentraciones de 45, 75, 100 y 200 iji/adultos *H. indica* cepa P2M.
2. En la medida que se incrementa el tiempo, *H. indica* se establece en el suelo y los porcentajes de mortalidad aumentan.
3. El tratamiento con mejor efecto sobre el porcentaje de mortalidad de las larvas de la broca fue el de 100 iji/adulto.
4. Con dosis de 100 y 200 iji/adultos en condiciones de laboratorio se reducen en un 83.3% y 54.5 % respectivamente los costos/ ha de *H. indica* cepa P2M.

6. Recomendaciones

1. Continuar las evaluaciones utilizando otras dosis que nos permitan calcular el CL_{50} y TL_{50} .
2. Realizar aplicaciones en condiciones de campo que permitan evaluar el efecto sobre los adultos y otros estados de desarrollo del insecto.

7. Referencias bibliográfica

1. Alatorre – Rosas, R.; M.A. Hernández. 2000. The use of *Heterorhabditis* for white grub control. *Nematropica* 30(2): 113. (Abstr.).
2. Beeding, R. A.; A.S. Molyneux; R.J.Akhurst. 1983. *Heterorhabditis* spp., *Neoaplectana* spp., and *Steinernema kraussei* : Interspecific and intraespecific differences in infectivity for insects. *Exp. Parasitol.* 55(22): 249-257.
3. Beeding, R. A. and A.S. Molyneux. 1982. Penetration of insect cuticule by infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. (Heterorhabditidae: Nematoda). *Nematologica* 28: 354-359.
4. Boemare, N., C. Laumond and H. Mauleon. (1996). The entomopathogenic nematode- bacterium complex: Biology, life cycle and vertebrate safety. *Biocontrol Sci. Technol.* 6 (3): 333-345.
5. Borbón, O. 2001. Situación actual de la broca del café en Costa Rica (*H.hampei* Ferrari) julio 20 pag.
6. Bruner S. C., A. R. Otero y L. Scaramuzza. 1975. Catálogo de los insectos que atacan a las plantas económicas de Cuba. Segunda Edición. Academia de Ciencias de Cuba. p 400.
7. Bustillo, A. E. 2005. La comunicación en insectos. ¿Reciben mensajes de las plantas?: El caso de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). En: Memorias XXXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Ibagué, 27-29 de julio, p. 57-85.
8. Bustillo, A. E. 2004. ¿Cómo participa el hongo *Beauveria bassiana* en el manejo integrado de la broca del café? . Cenicafé. Brocarta No. 37. Enero de 2004. 4 p.
9. Bustillo, A. E.; F. Posada. 1991. Evaluación de *Neumoraea rileyi* (Farlow) en el control, de cogolleros del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Spodoptera frugiperda* (el gusano cogollero en sorgo, maíz y otros cultivos) SOCOLEN. Memorias, p 85-85.

10. Castellanos, L. L. (2000). Efectividad de los nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis bacteriophora* (HC₁) y *Steinernema* sp (SC₁) en el control de insectos del Orden Homoptera (pulgones coccidios y moscas blancas) en condiciones de laboratorio. *Centro Agrícola* 27 (1): 25-30 p.
11. Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV). 2002. Plagas más importantes de los principales cultivos. Ciclo biológico, reconocimiento, métodos de control. Subdirección Desarrollo y Servicios Técnicos. p. 26.
12. Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV). 2005. Programa de Defensa de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari). MINAGRI. Dirección Nacional de Café y Cacao, 25 p.
13. Centro Nacional de Sanidad Vegetal. (CNSV). 2008. Programa de Defensa de la broca del café, *Hypothenemus hampei* Ferrari. MINAGRI. Dirección Nacional de Café y Cacao, 23 p.
14. Certis. (2003). Productos a base de nematodos insecticidas para la protección del cultivo. En página Web: www.certis.com.mx/nematode.html.
15. Cintrón, B. y Grillo, H. 2005. Ecología de la broca del café (*Hyphotenemus hampei* Ferrari) (*Coleoptera, Scolytidae*) en la localidad de Jibacoa (Manicaragua, Villa Clara) durante el desarrollo del fruto del café. Libro de Resúmenes del III Simposio Internacional de Café y Cacao. Cubacafé 05. 98 pp.
16. Doucet, M. A. y A. Giayetto. 1994. Gama de huéspedes y especificidad en *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Heterorhabditidae: Nematoda) . *Nematol. Medit.* 22: 171-178.
17. Ehlers R. U. (1998). Entomopathogenic nematodes. –Save biocontrol agents for sustainable systems. *Rev. Phitoprotection* 79 (suppl.): 94-103.
18. Fernandez, E., L. Vazquez y J. Ovies. (2004). Alcance de Manejo Integrado de Plagas en Cuba. Manejo Integrado de Plagas en una Agricultura Sostenible. Intercambio de Experiencias entre Cuba y Perú. 225 pp.

19. Funes, F.; Garcías, M.; Baurquer Nilda y Rosset P. (2001). Transformando el campo cubano Avances de la agricultura sostenible. 1^{ra} ed Habana. Cuba.
20. Gaugler, R. 2004. Nemátodos entomopatógenos (Rhabditida: Steinernematidae y Heterorhabditidae) Department of Entomology, Rutgers University, New Brunswick, New Jersey. En página Web: <http://www.iicasaninet.net/pub/sanveg/html/biocontrol/patogenos/nematodos.html>.
21. Gaugler, R., L. Lebeck; B. Nakagaki; G. M. Boush. 1990. Orientation of the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae* to dioxide. *Environ. Entomol.* 9:649-651.
22. Georgis, R. and N. G. M. Hague. (1991). Nematodes as biological insecticides. *Pesticides Outlook* 2:29-32.
23. Giblen-Davis, R. M. ; J. E. Peña and R. E. Duncan 1996. Evaluation of an Entomopathogenic Nematode and Chemical Insecticides for Control of *Metamasius hemipterus servens* (Coleoptera: Curculionidae) *J. Entomol. SCI* 31 (3): 240-51.
24. Gómez Sousa J. (1981). *Control Biológico* 172 pp. Edit. Pueblo y Educación, La Habana.
25. Grewal, P. and R. Georgis. 1999. Entomopathogenic nematodes. pp 271-299. En *Methodos in Biotechnolgy, Vol 5. Bioinsecticides. Use and delivery*. Chapter 15, Part II. F. R.) J. Hall, .J. Menn (Eds). Humana Press nc. Totowa, New Jersey.
26. Grillo, H.; Beatriz Cintrón y Neyvis González .2004. Estudio del impacto de la Broca del Café (*Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) en Topes de Collantes. Libro de Resúmenes: Congreso Internacional de Agricultura en Ecosistemas Frágiles y Degradados, Granma, Cuba.
27. Hara, A. H and H. Kaya. 1993. Toxicity of selected organophosphate and carbamate pesticides to infective juveniles of the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Environ. Entomol.* 12(2): 496-501.

28. Hashmi; G.; R. Gaugler. 1998. Genetic diversity in insect parasitic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae). *J. invertebr. Pathol.* 72:185-189.
29. Hay, D. B., P. N. Richardson. (1995). Inter-and intraspecific variation in infectivity of *Steinernema* spp. to larvae of the mushroom fly *Lycoriella solani*. *Entomol. Exp. App.* 77: 11-15.
30. Head, J., K. F. A. Walters y S. Langton. (2000). The compatibility of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, and chemical insecticides for the control of the South American leafminer, *Liriomyza huidobrensis*. *Biocontrol.* 45(3): 345-353.
31. Hernández, H. 1982. Valoración Económica de los daños causados por *Hypothenemus hampei* (Broca del fruto), en granos de *Coffea canephora* Var. Robusta en el Municipio de Pio Vila Nova de Seles, Kuanza Sul, R.P. de Angola. *Ciencia y Técnica en la Agricultura. Serie Protección de Plantas.* 5 (1): 51-60.
32. Instituto Nacional de Sanidad Vegetal (INISAV). 2008. Programa de Defensa de la broca del café. *Hypothenemus hampei* Ferrari. MINAGRI. Dirección Nacional de café y cacao 21 p.
33. Instituto Nacional de Sanidad Vegetal (INISAV). 2005. Programa de Defensa de la broca del café. *Hypothenemus hampei* Ferrari. MINAGRI. Dirección Nacional de café y cacao 25 p.
34. Jansson, R. K. (1991). Biological control of *Cylas* spp. pp 16-201. En *Sweet Potato Pest Management: A Global Perspective*. R. K. Jansson; K. V. Raman. (Eds.) Westview Press, Boulder, Colorado, USA.
35. Kaya H. K., P. Stock. (1997). Techniques in insect nematology pp. 282-324. En *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press Limited.
36. Kaya, H. K. (1985). Entomogenous nematodes for insect control in IPM systems. p 23-302. En *Biological Control in Agricultural IPM Systems*. M. A. Hoy; D. C. Herzog (Eds.) Academic Press, New York.
37. Kaya, H. K. 1996. Contemporary issues in biological control with entomopathogenic nematodes. En *Biological Pest Control in Systems of integrated*

- Pest Management. Proc. Int. Symp.on "Theuse biological control agents under integrated pest management". (Food and Fertilizer Techonology Center for the Asian and Pacific Región.), Taipei, Taiwan. (FFTC) Serie 47: 1-13.
38. Kaya, H. K. and R. A. Bedding; R. J. Akhurst. 1993. An overview of inset- parasitic and entomopathogenic nematodes. Pp. 1-10. En *Nematodes and the Biological Control of Insect Pests*. R. Bedding; R. Akhurst; H. Kaya (Eds.) CSIRO, East Melbourne, Australia.
39. Kaya, H. K. and T. M. Burlando. (1989). Development of *Steiernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) in diseased insect hosts. J. Invertebr. Pathol. 53(2): 164-168.
40. Le Pelley, R. H. 1973. Las Plagas del Café. La Habana, Ed. Ciencia y Técnica, Instituto Cubano del Libro. 693 p. 140-170.
41. Lewis, E. E.; R. Gaugler and R. Harrison. 1993. Response of cruiser and ambusher entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) to host volatile cues. Can. J. Zool. 71:765-769.
42. Liens Blanca Rosa, Melitina Andino, Irene Expósito y Caridad Jiménez. 1998. Permanencia de *Heterorhabditis* sp. En el suelo a diferentes temperaturas. Rev. Centro Agrícola 25(1). Enero- Abril. P 43-45.
43. Marrero, P. Maria. (2003). Nematodos Entomopatógenos (*Heterorhabditis* spp.) para el control de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Plutella xylostella* (Linnaeus.) y *Heliothis virescens* (Fabricius). Tesis presentada para aspirar al título de Master en Ciencias en Agricultura Sostenible. Documento no publicado, UCLV, Santa Clara, Villa Clara, Cuba
44. Mendoza, F. y J. Gómez S. (1982). Principales insectos que atacan a las plantas económicas de Cuba. Editorial Pueblo y Educación La Habana. Cuba. 304 p.
45. Mora, E. (2003). Alimento consumido por *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera; Pyralidae) en pepino (*Cucumis sativus* L.) y melón de agua (*Citrullus lanatus* Thunb). Umbral económico en pepino y control en organopónicos. Tesis de maestria no publicada, UCLV, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

46. Moreno, D.; Bustillo, A. E.; Benavides, P.; Montoya, E. C. 2001. Escape y mortalidad de *Hypothenemus hampei* en los procesos de recolección y beneficio del café en Colombia. *Revista Cenicafé* 52 (2): 111-116.
47. Poinar, G. O.; Jr. 1976. Description and biology of a new insect parasitic rhabditoid, *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen. n. sp. (Rhabditida; Heterorhabditidae n. Fam.) *Nematologica* 21: 463-470.
48. Poinar, G. O.; Jr. 1989. Non-insect hosts for the entomogenous rhabditoid nematodes *Neoaplectana* (Steinernematidae) and *Heterorhabditis* (Heterorhabditidae). *Rev. Nematol.* 12(4): 423-428.
49. Poinar, G. O.; Jr. 1990. Biology and taxonomy. Pp 23-61. En *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. R. Gaugler, H. K. Kaya (Eds). CRC Press. Boca Raton-Ann Arbor-Boston.
50. Pozo, E. 2003. Programa de control biológico de los gusanos de las cucurbitáceas. Curso-Taller para la formación de facilitadores en provinciales en control biológico (Primer Ciclo), Santa Clara, Villa Clara. Del 15 al 19 de septiembre de 2003. INISAV. Minagri.
51. Pozo, V. E. 2004. Comunicación personal en el área del CIAP.
52. Ramírez, G y Mora, M. 2001. Boletín informativo: la broca del fruto del café nos amenaza. ICAFE. San José, Costa Rica.
53. Rosales A. L. C. y Suarez H. Z. (1998). Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control del gorgojo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar 1824) (Coleoptera: Curculionidae). *Boletín de Entomología Venezolana* 13: 123–140.
54. Rovesti, L.; E. W. Heinzpeter; F. Tagliente and K. V. Deseo. 1989 Compatibility of pesticides with the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae). *Nematologica* 34(4): 462-476.
55. Shapiro, D. I.; I. Glazer; D. Segal. 1997. Genetic improvement of heat tolerance in *Heterorhabditis bacteriophora* through hybridization. *Biol. Control* 8: 153-159.

56. Stock, P. (2004). Comunicación personal. Universidad de Arizona. Departamento de Sanidad Vegetal.
57. Valdés, R. (2003). Umbral económico de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera, Pyralidae) en pepino (*Cucumis sativus* L.) y lucha biológica con el empleo de nematodos entomopatógenos (*Heterorhabditis* spp.) en organopónicos. Trabajo de Diploma no publicado, UCLV, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.
58. Vázquez, L. L. 2005. Experiencia cubana en el manejo agroecológico de plagas en cafeto y avances en la Broca del café. Simposio sobre Situación Actual y Perspectiva de la Investigación y Manejo de la Broca del Café en Costa Rica, Cuba, Guatemala y México. Sociedad Mexicana de Entomología y el Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, Chiapas, México. p. 46-57. 2005.
59. Vázquez, L. 1999. La conservación de los enemigos naturales de plagas en el contexto de la fotoprotección. Boletín Técnico (INISAV, Ciudad de la Habana). 5(4): 1-75.
60. Vázquez, L. L. 2001. Principales Estrategias y Componentes del Programa de Manejo Integrado de Plagas del Cafeto en Cuba. En: XVII Congreso Venezolano de Entomología. Maturín, Monagas. Conferencias, p.55-63.
61. Wetzel T. 1995. Integrierter Pflanzenschutz und Agrookosysteme. p 248.
62. Woodring Jennifer L. and H. K.Kaya. 1988. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A Handbook of Biology and technique. Southern Cooperative Series. Bulletin 331, Arkansas, USA. p 32.
63. Yoshida, M., A. P. Reid, B. R. Briscoe y W. M. Hominick. (1998). Survey of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Japan. Fundam. Appl. Nematol. 21: 185-189.
64. Zimmeman, R. J. y W. S. Cranshaw. (1990). Comapability of thee entomogenous nematodes (*Rhabditid*) in aqueous solutions of pesticides used in turfgrass maintenance. J. Econ. Entomol. 83(1): 97-100.