

Manejo de *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) en cultivo de *Hedychium coronarium* (Koenig) con *Heterorhabditis amazonensis* (Andaló et al.) cepa HC1

Mayra G. Rodríguez-Hernández^{1*} , Idania Hernández-Sabourin², Ileana Miranda-Cabrera¹ ,
Ligia Carolina Rosales-Amado³ , María A. Martínez-Rivero¹ 

¹Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Dirección de Sanidad Vegetal. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. ²ETICA Mayabeque-Pinar del Río, Centro de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos "Pablo Noriega". Quivicán, Grupo Empresarial AZCUBA, Cuba. ³Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). Maracay, Venezuela. Correo electrónico: mrguez@censa.edu.cu

RESUMEN

En Cuba, el cultivo de la mariposa (*Hedychium coronarium* K.) es afectado por la cochinilla *Dysmicoccus brevipes*. El objetivo del estudio fue determinar la efectividad del nematodo entomopatógeno (NEP) *Heterorhabditis amazonensis* cepa HC1, sobre este insecto en tres condiciones: laboratorio, semi-controladas y campo. *In vitro*, se aplicaron tres dosis de juveniles infectivos (JI) del NEP: 1; 1,5 y 2×10^2 JI·mL⁻¹ sobre adultos de la cochinilla. ii) En condiciones semi-controladas, rizomas de mariposa fueron plantados en macetas de 5 kg e infestados con 10 - 12 adultos de *D. brevipes*. Se aplicaron cuatro tratamientos de NEP (1; 1,5 y 2×10^5 JI·maceta⁻¹) más el testigo. c) En campo se seleccionaron 60 plantas infestadas y se aplicaron 2×10^5 JI·planta⁻¹. Los datos se analizaron con ANOVA y la eficacia de los mismos se determinó mediante la fórmula de Abbot. En los ensayos *in vitro* se produjo 100 % de mortalidad de *D. brevipes* a las 72 h. Las macetas que recibieron NEP exhibieron poblaciones significativamente menores que las del testigo y la eficacia del control de las cochinillas estuvo por encima del 80 %. En campo se produjo una disminución de la población inicial, de unos 100 - 150 insectos por plantón, a una media de 9,6 a los 15 días y a valores no apreciables, 45 días después de la aplicación de NEP. La cepa cubana (HC1) de *H. amazonensis* parasitó a *D. brevipes* en laboratorio, condiciones semi-controladas y campo, evidenciando su potencialidad para el manejo de la plaga.

Palabras clave: cochinilla harinosa de la piña, flor mariposa blanca, flor nacional de Cuba, nematodos entomopatógenos, ornamentales

Management of *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) in *Hedychium coronarium* (Koenig) crop with *Heterorhabditis amazonensis* (Andaló et al.) strain HC1

ABSTRACT

In Cuba, the culture of the butterfly (*Hedychium coronarium* K.) is affected by the mealybug *Dysmicoccus brevipes*. The objective of the study was to determine the effectiveness of the entomopathogenic nematode (NEP) *Heterorhabditis amazonensis* strain HC1, on this insect under three conditions: laboratory, semi-controlled and field. *In vitro*, three infective juveniles (JI) doses of NEP were applied: 1; 1.5, and 2×10^2 JI·mL⁻¹ on adults of the mealybug. ii) Under semi-controlled conditions, butterfly rhizomes were planted in 5 kg pots and infested with 10 - 12 adults of *D. brevipes*. Four NEP treatments were applied (1, 1.5, and 2×10^5 JI·pot⁻¹) plus the control. c) In field, 60 infested plants were selected and 2×10^5 JI·plant⁻¹ were applied. The data were analyzed with ANOVA and their efficacy was determined using the Abbot formula. *In vitro* tests produced 100 % mortality of *D. brevipes* at 72 h. The pots that received NEP exhibited significantly lower populations than those of the control and the effectiveness of the control of mealybugs was above 80 %. In the field, there was a decrease in the initial population, from about 100 - 150 insects per seedling, to an average of 9.6 at 15 days and to non-appreciable values, 45 days after the application of NEP. The Cuban strain (HC1) of *H. amazonensis* parasitized *D. brevipes* in the laboratory, semi-controlled conditions and in the field, evidencing its potential for pest management.

Key words: pineapple mealybug, white butterfly Ginger Lily, Cuban national flower, entomopathogenic nematodes, ornamental

INTRODUCCIÓN

La planta *Hedychium coronarium* (Koenig) (Zingiberales: Zingiberaceae), conocida como “mariposa”, crece en numerosas partes del mundo. Se utiliza ampliamente en medicina tradicional en diferentes zonas del Himalaya (Tailor y Goyal 2015), por sus efectos antibacterianos, antioxidantes, citotóxicos y antiinflamatorios (Hartati *et al.* 2014). Se reconoce como la “flor nacional” de Cuba desde 1936 (González 2015).

La mariposa (*H. coronarium*) se cultiva en diversas zonas del país, para la obtención de flores de corte, en sistemas de agricultura urbana, suburbana y familiar. Por su ubicación, dentro o en la periferia de ciudades y pueblos, las fincas donde se producen estas flores deben utilizar el manejo agroecológico de plagas, sin usar plaguicidas químicos (Companioni *et al.* 2016).

En Cuba resulta muy escasa la información acerca de las características del cultivo y las plagas que lo afectan, contando sólo con informes aislados acerca de la presencia de algunas plagas de artrópodos (De la Torre y Rodríguez 2010, Hernández y Martínez 2012) y hongos (Martínez y Hernández-Sabourin 2013); sin embargo, en fincas de producción de flores en la capital del país, durante el verano, se producen afectaciones por la presencia de altas poblaciones de chinches harinosas o cochinillas harinosas, identificadas como *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) (Hemiptera: Pseudococcidae) (Hernández y Martínez 2012). La duración aproximada del ciclo de vida es de 60 días y cada hembra puede dar origen a más o menos 144 ninfas (Manjushree y Chellappan 2019). Las ninfas se alimentan en el rizoma de las plantas de mariposa, causando mermas en la producción. Reiteradamente los agricultores solicitan alternativas para el manejo de esta plaga, donde los nematodos entomopatógenos pudieran ser una de las opciones a utilizar.

En Cuba, los nematodos entomopatógenos se utilizaron con éxito en el manejo de diversas plagas que afectan partes aéreas y subterráneas, en condiciones de campo, en col de repollo (*Brassica oleracea* L.), camote o boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), café (Coffea spp.), entre otros cultivos (Infante 2005, Rodríguez 2015, San-Blas *et al.* 2019). La especie *Heterorhabditis amazonensis* (Rhabditida: Heterorhabditidae) descrita en Brasil (Andaló *et al.* 2006), se encuentra también en Cuba y Venezuela

(San-Blas *et al.* 2019). Las especies del complejo Pseudococcidae que afectaron el café en regiones del oriente en Cuba, resultaron susceptibles a la cepa HC1 de *H. amazonensis* (Rodríguez *et al.* 1998), pero se desconoce si pueden ser utilizados, de forma efectiva, en el manejo de *D. brevipes* en el cultivo de mariposa. Esta cepa de nematodos se produce masivamente en decenas de Centros de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos en Cuba (Rodríguez 2015) lo que hace que este organismo esté disponible para una parte importante de los productores de flores y otros cultivos.

El objetivo de este estudio fue determinar las potencialidades *H. amazonensis* cepa HC1 para el manejo de *D. brevipes* en plantaciones de mariposa (*H. coronarium*) en La Habana, Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se efectuó en tres condiciones: laboratorio, semi-controladas y campo. Las dos primeras se desarrollaron en instalaciones del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) 22°59'29.3634"N; 82°9'5.292"O, en la provincia de Mayabeque. El estudio de campo se efectuó en la Finca Barroso 23°4'52.896"N; 82°21'53.9994"O (2,3 ha) perteneciente a la Cooperativa de Créditos y Servicios “Fructuoso Rodríguez” del Municipio Arroyo Naranjo, Provincia Ciudad Habana, Cuba.

Los especímenes (*D. brevipes*) que se utilizaron en los ensayos *in vitro* y en condiciones semi-controladas se obtuvieron a partir de plantas infestadas naturalmente, procedentes de la Finca Barroso. Los insectos se recolectaron junto a rizomas y el suelo que los circundaba en puntos de la finca y se colocaron en bolsas de papel para su traslado al laboratorio.

Con los insectos recolectados se estableció una colonia en laboratorio de Entomología del CENSA utilizando un insectario (caja de madera y cristal, cerrada en la parte superior con malla anti-áfidos). Se colocó como sustratos, frutos íntegros de calabaza (*Cucurbita* sp.) y tubérculos de papas (*Solanum tuberosum* L.) con brotes, previamente desinfectados superficialmente, con solución clorada (1 %), durante 15 minutos. Luego se enjuagaron con agua y se secaron al aire. En el laboratorio, donde se mantuvo el insectario, las condiciones fueron T = 25 ± 2 °C, 80 % de HR y foto-período de 12 h (Martínez 1996).

Los nematodos entomopatógenos (*H. amazonensis*) cepa HC1 ([GenBank -BankIt1899363 Hamaz_HC1 KU870321](#)) se reprodujeron *in vivo*, utilizando larvas del último instar de *Galleria mellonella* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae) siguiendo los procedimientos establecidos en el Laboratorio de Nematología Agrícola del CENSA (Sánchez *et al.* 2001, Enrique *et al.* 2006). Los nematodos se recolectaron, utilizando Trampas White (White 1927), 12 días después de la inoculación, recolectando nematodos en las primeras 72 h y colocándolos en bandejas con agua destilada a 25 ± 2 °C. Para los experimentos en laboratorio y condiciones semi-controladas, se utilizaron juveniles infectivos (JI) recién emergidos provenientes de las bandejas; mientras que, para el experimento de campo, los JI se colocaron en bolsas de polietileno transparente con una porción de esponja, a razón de cinco millones de JI·bolsa⁻¹ (Sánchez *et al.* 2001) para su traslado al campo. La concentración de JI en la solución y cálculo de las dosis, se determinaron por el método descrito por Glazer y Lewis (2000).

Evaluación de virulencia de nematodos entomopatógenos sobre *D. brevipes* (*in vitro*)

Como tratamientos, se utilizaron tres dosis de JI: 1; 1,5 y 2×10^2 JI·mL⁻¹, aplicando 1 mL de la solución de JI por placa Petri de 90 mm de diámetro. Las placas se forraron internamente con papel de filtro a manera de cámara húmeda y se colocaron 10 individuos adultos de *D. brevipes* (unidad experimental), utilizando cinco repeticiones por tratamiento, para un total de 50 individuos por tratamiento. En el tratamiento testigo, se aplicó agua destilada y se emplearon igual número de repeticiones.

Se contabilizaron los individuos muertos y vivos a las 24, 48 y 72 h posteriores a la aplicación de los nematodos y los datos se sometieron a un análisis de comparaciones de proporciones, utilizando el programa de Infostat versión 1.1 (Di Rienzo *et al.* 2017). Los especímenes de chinches muertos se disecaron, transcurridos cinco días de la inoculación, bajo microscopio estereoscópico Stemi DV4® para corroborar las causas de la mortalidad.

Evaluación en condiciones semi-controladas

Para este ensayo se utilizó suelo de la Finca Barroso, que se trasladó al Laboratorio de Nematología (CENSA), y se esterilizó al vapor (121 °C, 60 min). Con

el objetivo de garantizar un mejor desarrollo vegetativo de las plantas se efectuó una aplicación de FitomaS-E® (2 mL en 998 mL de agua), bionutriente foliar producido en Cuba (ACPA 2010).

Se llenaron 40 macetas de 5 kg de capacidad y se plantaron en ellas rizomas de *H. coronarium* libres de agentes nocivos. Las macetas se colocaron en aisladores biológicos (casas de mampostería, mallas anti-áfidos y techos plásticos) del CENSA, con temperaturas entre 27 - 32 °C y HR de 75 - 82 % de, donde permanecieron dos meses, con riego en días alternos, hasta que los tallos alcanzaron 0,50 - 0,70 m de altura.

A partir de este momento se infestaron las plantas de cada maceta, colocando en la base del tallo, una porción de rizoma infestado con 10 - 12 insectos adultos. A los 45 días de infestadas las plantas, se tomaron cuatro macetas y se realizó un conteo poblacional, auxiliándose de una lupa de 10x. Utilizando un diseño completamente aleatorizado, las 36 macetas restantes se dividieron en cuatro tratamientos con nueve réplicas; tres tratamientos, donde se aplicaron los nematodos en suspensión acuosa, al suelo en la base de las plantas de la siguiente manera: T1: 1×10^5 JI·maceta⁻¹, T2: $1,5 \times 10^5$ JI·maceta⁻¹, T3: 2×10^5 JI·maceta⁻¹ y T4: tratamiento testigo donde solo se aplicó agua.

El experimento se evaluó 30 días después de la aplicación de los nematodos y se determinó el número de individuos vivos (población total) en cada tratamiento/ replicas. Se tomaron muestras de suelo de los tratamientos aplicados con nematodos y se trasladaron al laboratorio para determinar la permanencia de poblaciones de estos nematodos en el suelo, con el uso de *G. mellonella* como trampa (Bedding y Akhurst 1975).

Los datos fueron procesados a través de Análisis de Varianza simple (ANOVA) y las medias comparadas con Duncan y la eficacia de los nematodos se determinó a través de la fórmula de Abbott (1925) que establece que:

$$Mc = \left(\frac{M_{tto} - M_{test}}{100 - M_{test}} \right) \times 100$$

donde Mc = Mortalidad corregida; M_{tto} = Mortalidad Tratamiento; M_{test} = Mortalidad en el testigo.

Efecto de la aplicación de nematodos entomopatógenos sobre *D. brevipipes* en condiciones de campo

Se seleccionaron dos campos en la finca Barroso, uno se utilizó como testigo sin aplicación (0,09 ha) y en el segundo (0,12 ha), se aplicaron nematodos entomopatógenos (*H. amazonensis* cepa HC1).

Para determinar la existencia o no de nematodos entomopatógenos nativos en la finca Barroso, se tomaron muestras de suelo en cinco puntos de ambos campos, que se tamizaron y colocaron en placas (de 90 mm) con 10 larvas del último instar de *G. mellonella*, como cebo (Bedding y Akhurst 1975).

Se determinó inicialmente el índice de infestación por chinches harinosas de cada uno de los dos campos, utilizando el método descrito por Martínez (1996). Para ello, se tuvo en consideración la presencia de plantas con follaje más claro o cloróticas, que se presentan en franjas o zonas elipsoidales (Figuras 1A y 1B), reflejo del tipo de dispersión de estos organismos (Martínez 1996).

En el campo que se trataría con *H. amazonensis* cepa HC1 se seleccionaron cinco puntos (al azar) dentro de las franjas sintomáticas y se marcaron 10 - 12 plantas (réplicas) para un total de 50 - 60 plantas donde se aplicaron JI y a las que se realizó, antes del tratamiento, el conteo de cochinillas, inclinando y sacando ligeramente las mismas, sin levantarlas totalmente del suelo. En las raíces afectadas se puede observar el deterioro de las mismas



Figura 1A. Síntomas en follaje asociados a la presencia de *Dysmicoccus brevipipes* en plantación de *Hedychium coronarium* en una finca en Ciudad de la Habana, Cuba: Franja o zona de plantas con clorosis



Figura 1B. Síntomas en follaje asociados a la presencia de *Dysmicoccus brevipipes* en plantación de *Hedychium coronarium* en una finca en Ciudad de la Habana, Cuba: Plantas cloróticas y de menor tamaño.

causadas por la alimentación de las colonias de cochinillas (Figuras 2 A y B).

El tratamiento, consistió en la aplicación de nematodos entomopatógenos a razón de 2×10^5 JI·planta⁻¹, utilizando una mochila (asperjadora) de 16 L de capacidad (MATABÍ®). Las evaluaciones se realizaron a los 15, 30 y 45 días después de la aplicación, cuantificando los niveles de población en ambos campos, mediante un muestreo destructivo, pues se sacaron plantones



Figura 2A. Raíces y rizoma de *Hedychium coronarium* con poco deterioro con una infestación inicial por *Dysmicoccus brevipipes*.



Figura 2B. Rizomas de *Hedychium coronarium* con avanzado deterioro y colonias de escamas harinosas

y se contaban los individuos con una lupa de 10x. Los datos se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) y las medias comparadas por Duncan, utilizando el programa Infostat, versión 1.1 (Di Rienzo *et al.* 2017).

Para determinar la supervivencia en suelo de los nematodos entomopatógenos, se tomaron muestras alrededor de cada punto, en las mismas fechas en que se evaluaron las poblaciones de chinches, las que se llevaron al laboratorio y se procesaron por el método de cebo (Bedding y Akhurst 1975).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de virulencia de nematodos entomopatógenos sobre *D. brevipes* (*in vitro*)

En el ensayo de laboratorio, se produjo mortalidad de las chinches desde las 24 h posteriores a la aplicación (sin diferencia entre los tratamientos que recibieron JI) y transcurridas 72 h, el 100 % de los especímenes estaban muertos en los tres tratamientos. Esto se corresponde con lo esperado en experimentos *in vitro*, donde no hay barreras entre los nematodos y sus hospedantes, condiciones en las que, prácticamente, todos los insectos son susceptibles a nematodos entomopatógenos. Esto concuerda con lo señalado con Zart *et al.* (2021), quienes utilizando el aislado NEPET11 de *H. amazonensis* indicaron una mortalidad de 88 % en *D. brevipes*, a una concentración de 25 IJ·cm⁻².

En un estudio que reúne los resultados de investigaciones desarrolladas en América Latina en los últimos años, se expuso que decenas de especies de insectos fueron susceptibles a nematodos entomopatógenos en condiciones de laboratorio (San-Blas *et al.* 2019). El uso de estos nematodos para el control de escamas harinosas ha sido estudiado y al aplicar *H. amazonensis* en diferentes concentraciones sobre *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae), se encontró que las hembras fueron más susceptibles con un 90 % de mortalidad. Los estadios ninfales tuvieron una mortalidad que varió de 20 a 60 % en dependencia de la concentración de los nematodos, lo que demostró que *H. amazonensis* puede ser considerado como un potencial bicontrolador de la cochinilla rosada (Fuenmayor *et al.* 2020).

Los individuos de *D. brevipes* parasitados por los nematodos, cambiaron de color del blanco-rosado, que presentan las chinches cuando están sanas, al rojizo-marrón, descrito para los insectos muertos a causa de esta especie de nematodos (Rodríguez 2015). Al disectar los cadáveres en agua, se observaron adultos y juveniles del nematodo que estaban dentro (Figura 3).

Stuart *et al.* (1997) determinaron, en condiciones de laboratorio, *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar), parasitó a *Dysmicoccus vaccinii* (Miller y Polavarapu),

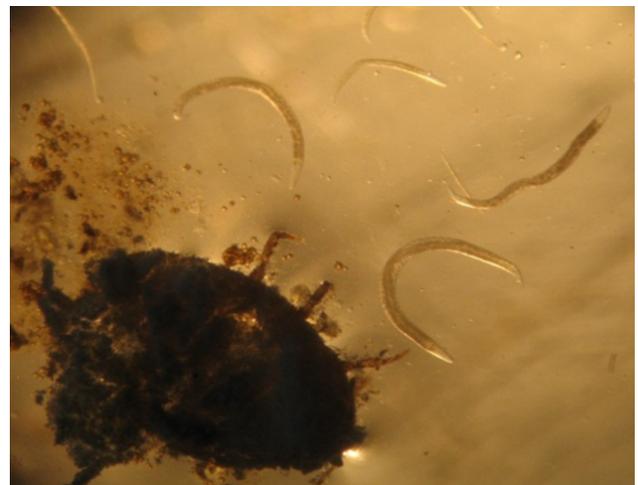


Figura 3. Adultos y juveniles infectivos de *Heterorhabditis amazonensis* (cepa HC1) que se encontraban en el interior del cadáver de un adulto de *Dysmicoccus brevipes* proveniente de placas tratadas con juveniles infectivos del nematodo, en condiciones de laboratorio

plaga de las raíces del arándano (*Vaccinium corymbosum* L., 1753) señalando que, para el manejo de la plaga en campo, las aplicaciones de los nematodos entomopatógenos debían ser inundativas. Por otra parte, nematodos del género *Heterorhabditis* fueron altamente virulentos, en condiciones de laboratorio, frente a la chinche de la raíz del cafeto (*Dysmicoccus texensis* (Tinsley)) (Alves *et al.* 2009).

De igual modo, *D. brevipennis* resultó susceptible a *H. bacteriophora* HP88, *Heterorhabditis mexicana* (Nguyen *et al.* 2004), las cepas LPP22 y LPP30 de *Heterorhabditis indica* Poinar *et al.* 1992, *Heterorhabditis baujardi* Phan *et al.* 2003, *Steinernema carpocapsae* (Weiser 1955) Wouts *et al.* 1982, *Steinernema rarum* (de Doucet 1986) Mamiya 1988 y *Steinernema feltiae* (Filipjev 1934) Wouts *et al.* 1982, causando mortalidad significativamente mayor, en comparación con el tratamiento control (sin nematodos); donde *H. indica* LPP30 evidenció poseer gran potencial para el control de la especie de chinche (Ferreira *et al.* 2015).

Guide *et al.* (2016) evaluaron la eficacia de 15 aislados de nematodos entomopatógenos sobre la chinche de la raíz de la yuca (*Dysmicoccus* sp.) en condiciones de laboratorio e invernadero. En laboratorio, evaluaron cinco tratamientos (dosis): 0, 5, 10, 20 y 50 JI por cm², utilizando vasos con arena estéril y los aislados NEPET11 (*Heterorhabditis* sp.) and RSC05 (*H. amazonensis*) mostraron ser los más virulentos con porcentajes de mortalidad de 93 y 90 %, respectivamente.

Evaluación en condiciones semi-controladas

Las mayores poblaciones de chinches harinosas se registraron en el testigo sin aplicación y las más bajas donde se aplicó la concentración mayor de nematodos, con diferencias significativas (Figura 4).

En el caso de los tratamientos que recibieron las dosis media y alta de nematodos entomopatógenos, equivalente a $1,5$ y 2×10^5 JI·maceta⁻¹ respectivamente, las poblaciones de cochinillas casi desaparecieron, indicativo de la efectividad de estos organismos para manejar las poblaciones de la plaga en el suelo.

En el suelo, los nematodos de esta especie, cuya estrategia de búsqueda es activa (Sánchez 2002), responden a señales volátiles que se disuelven en las películas de agua que circundan a los hospedantes o a su ambiente inmediato (Lewis *et al.* 2006), lo que

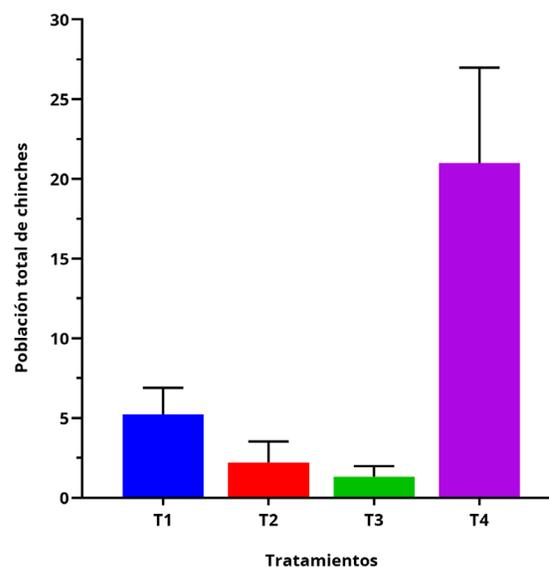


Figura 4. Efecto de tres dosis de juveniles infectivos (JI) de *Heterorhabditis amazonensis* cepa HC1 sobre la población de *Dysmicoccus brevipennis* en plantas de la mariposa (*Hedychium coronarium*) en experimento en macetas con suelo. T1: 1×10^5 JI·maceta⁻¹, T2: $1,5 \times 10^5$ JI·maceta⁻¹, T3: 2×10^5 JI·maceta⁻¹ y T4: tratamiento testigo donde solo se aplicó agua.

los hace muy favorables para el manejo de este tipo de plagas de suelo.

El ambiente protegido en que se desarrollan las chinches harinosas en el rizoma y la base del tallo de la planta de mariposa (Figuras 2 A y B), impone condiciones difíciles para su manejo, por lo que resulta muy adecuado haber seleccionado como agente de control biológico a los nematodos entomopatógenos. Estos organismos son capaces de moverse en el suelo, hallar a sus hospedantes y parasitarlos (Ishibachi y Kondo 1990), lo que no se logra con el empleo de otros agentes microbianos, artrópodos benéficos e insecticidas de contacto.

Estos resultados coinciden con los obtenidos en condiciones semi-controladas por diversos autores (Rodríguez *et al.* 1998, Andaló *et al.* 2004, Alves *et al.* 2009), donde los nematodos evidenciaron su efectividad en el manejo de escamas harinosas de los géneros *Planococcus* y *Dysmicoccus*.

Las tres dosis evaluadas produjeron mortalidades por encima de 80 % (Figura 5), lo que confirmó la efectividad de los tratamientos, resultado superior a

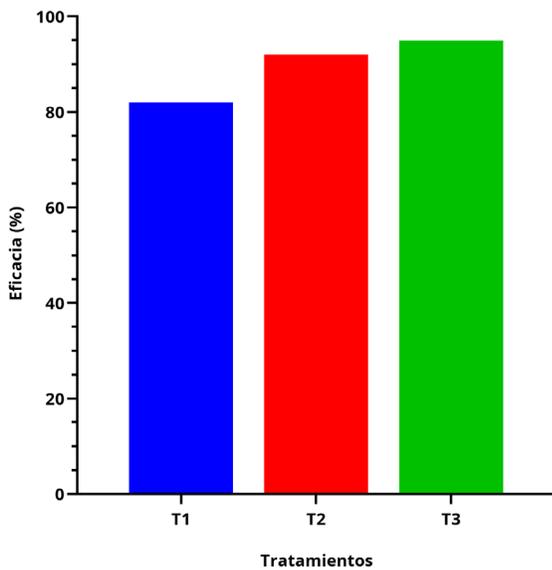


Figura 5. Eficacia de los tratamientos con tres dosis nematodos entomopatógenos aplicadas a poblaciones de *Dysmicoccus brevipes* que infectaron plantas de *Hedychium coronarium* en condiciones semicontroladas. T1: 1×10^5 JI·maceta⁻¹, T2: $1,5 \times 10^5$ JI·maceta⁻¹, T3: 2×10^5 JI·maceta⁻¹

los obtenidos por Alves et al. (2009) en su estudio de *Heterorhabditis* sp. (Cepa JPM 3) en experimentos en casas de vegetación, que obtuvieron 68 % de control de *Dysmicoccus texensis* Tinsley (1900) en café.

Se constató la presencia de nematodos entomopatógenos en el suelo 45 días después de su aplicación en las macetas a través de la técnica de cebo, con porcentajes de mortalidad en *G. mellonella* de 37, 22 y 43 % en las tres dosis evaluadas. Al respecto, Wilson y Gaugler (2004) señalaron que las poblaciones de nematodos en el suelo se reducen con el tiempo luego de ser aplicados; pero que, de manera general, ciertas densidades poblacionales se reciclan en ese ambiente.

Los resultados de este estudio coinciden con los hallazgos de Guide et al. (2016), quienes informaron que, cuando aplicaron los aislados *H. amazonensis* (RSC05) y *Heterorhabditis* sp. (NEPET11), como suspensiones al suelo y a una dosis de 100 JI·cm⁻² a macetas de 5 L, con fragmentos de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) cv. Caiuã, con *Dysmicoccus* sp., el porcentaje de eficacia fue de 65,8 % para la cepa NEPET11 y de 44,7 % con la cepa RSC05, lo que indicó, según esos autores, que se redujeron las colonias en el suelo.

Los estudios en condiciones de casa de vegetación (aisladores biológicos) resultan imprescindibles, pues indican las posibilidades de una cepa o aislado para tener éxito en campo, pues se coloca a los nematodos en el ambiente suelo, lo que no se logra en los estudios in vitro en laboratorios; permitiendo, además, seleccionar las dosis a utilizar en los ensayos de campo.

Considerando que los mejores resultados del experimento en condiciones semi-controladas se alcanzaron con la dosis de 2×10^5 JI·maceta⁻¹ y de que Denno et al. (2008) comentaron, en una revisión de artículos en bases de datos internacionales, que las concentraciones utilizadas en experimentos en campo deben ser altas, se determinó que esa fuera la dosis empleada en campo.

Efecto de la aplicación de nematodos entomopatógenos sobre *D. brevipes* en condiciones de campo

No se encontraron nematodos entomopatógenos nativos en el suelo de la Finca Barroso, de ahí que los resultados obtenidos se pueden atribuir a las aplicaciones de *H. amazonensis* cepa HC1.

Numerosos ensayos se emplearon para determinar la eficiencia en campo de los nematodos entomopatógenos y aunque los métodos varían grandemente, tienen en común el hecho de que deben ser efectuados muestreos previos, con el objetivo de determinar la presencia de poblaciones naturales de estos organismos, las que podrían interferir en los resultados de los experimentos (Koppenhofer 2000).

En la parcela seleccionada para las aplicaciones de nematodos entomopatógenos se observaron plantas cloróticas dispuestas en forma de zonas circulares o elipsoidales, en cuyos rizomas se presentaban hendiduras con colonias de chinches harinosas (*D. brevipes*) (Figura 1).

Según Panis (1969) los daños de las cochinillas sobre las plantas pueden ser directos o indirectos. El daño directo se produce en el proceso de alimentación, cuando el estilete se introduce en el tejido vegetal y, adicionalmente, algunas especies inyectan toxinas en las plantas que atacan (Gullan y Martín 2009, Frank y Barker 2019), durante la succión de la savia. Ello conduce a un efecto expoliatriz, fitotóxico e irritante en las plantas que da lugar a una clorosis inicial que desencadena en necrosis (Panis 1969).

En Cuba *D. brevipes*, además de causar daños directos a la piña (*Ananas comusus* (L.) Merr, 1917), es agente trasmisor (virus) de la enfermedad denominado Wilt, las plantas fuertemente atacadas presentan cierto agotamiento, que las hace menos productivas a causa de la gran cantidad de savia que le es succionada por las chinches; las hojas atacadas cambian su color de verde a amarillo rojizo y acaban por marchitarse totalmente (Martínez *et al.* 2006). La presencia de esta especie de escama en los campos de *H. coronarium* en La Habana pudiera ser causa de los daños y pérdidas que citan los productores de esas áreas, debiéndose evaluar los daños por especialistas en Entomología.

La población inicial de *D. brevipes* en las plantas evaluadas en el ensayo de campo, estuvo entre 100 y 150 individuos, disminuyendo ostensiblemente en el campo tratado con una media poblacional de 9,6 individuos x plantón, a los quince días de la aplicación. A los 45 días posteriores a la aplicación de nematodos entomopatógenos se evidenció la eficacia de los nematodos en la total disminución de las poblaciones de este tipo de plaga en el suelo. En el área empleada como testigo, la población continuó creciendo de forma ascendente y significativa, alcanzando la mayor densidad a los 45 días, donde el valor medio fue de 238,7 individuos por plantón (Figura 6).

En Cuba, los nematodos entomopatógenos se utilizaron de forma efectiva en el manejo de escamas harinosas en cultivos como el café (Rodríguez *et al.* 1998, Martínez y Suris 2000) donde hay poblaciones aéreas y subterráneas. En Brasil, Alves *et al.* (2009) observaron que el aislamiento JMP3 de *Heterorhabditis* sp., aplicado en suspensión acuosa al suelo en campos de café obtuvo valores de eficiencia (65%) que difirieron, significativamente, del control de *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). Igualmente Arista (2017) aplicó entre 900 y 2700 x 10⁶ JI·ha⁻¹ en forma fraccionada (tres aplicaciones, una cada 10 días) y encontró reducción en el nivel de incidencia de *D. brevipes* en piña 20 días después de la última aplicación.

En cuanto a la supervivencia en suelo del nematodo, se constató que luego de la aplicación, el número de larvas de *G. mellonella* parasitadas disminuye a partir del primer día (evaluación 1), un 50% a los quince días, un 90% a los 30 días y sobrevivió menos de un 10%, a los 45 días (evaluación 4), donde las poblaciones del nematodo fueron casi no detectables. No obstante, aún a los 30 días había nematodos activos en el suelo, lo que coincide con lo encontrado por diferentes autores (Alves *et al.* 2009, Rodríguez *et al.* 2011) para suelos de café. Los nematodos entomopatógenos

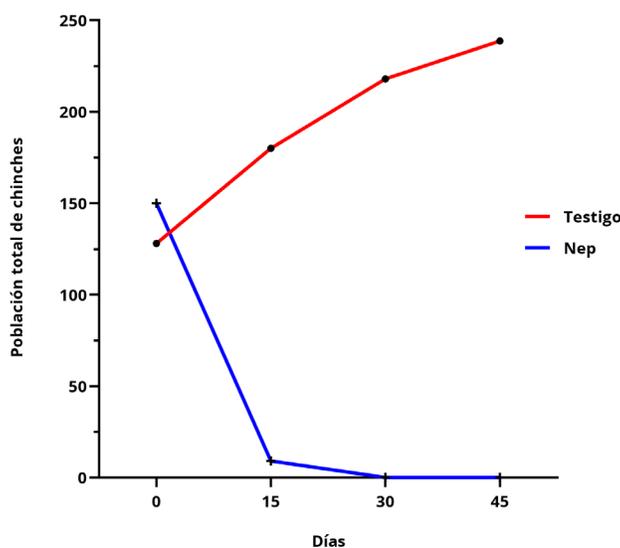


Figura 6. Comportamiento de poblaciones de *Dysmicoccus brevipes* en dos campos, uno tratado con los nematodos entomopatógenos (Nep) de la especie *Heterorhabditis amazonensis* cepa HC1 (población cubana) y otro no tratado

fueron aplicados para el manejo de *D. texensis* e *Hypothenemus hampei*, respectivamente, y los nematodos fueron encontrados en el suelo tiempo después de haber sido aplicados.

Con relación al reciclaje y permanencia de nematodos entomopatógenos, señalaron Susurluk y Ehlers (2007) que la humedad del suelo es, probablemente, uno de los factores de mayor importancia, con impacto en el establecimiento de estos organismos. Igualmente la intensidad de la labranza, es otro elemento a tomar en cuenta ya que la labranza va en contra del establecimiento de los mismos. El cultivo de mariposa recibe riego con mucha regularidad y en el caso de la Finca Barroso, se encuentra en suelo arcilloso situada en las riveras de un río, manteniendo el suelo humedad todo el año. Con respecto a la labranza, ésta no se lleva a cabo. Ambos aspectos favorecen el establecimiento de los nematodos en este caso.

Los resultados obtenidos en este estudio, donde la aplicación de nematodos entomopatógenos resultó en la disminución de *D. brevipes* en el cultivo de mariposa (*H. coronarium*), abren nuevas perspectivas para el uso de estos organismos en el manejo de plagas en flores para corte, y fueron favorablemente acogidos por el productor quien, a partir de ese momento, utilizó estos biorreguladores en su finca.

CONCLUSION

La cepa cubana (HC1) de *H. amazonensis* parasitó a *D. brevipes* en ensayos de laboratorio y condiciones semi-controladas, provocando también, disminución de la población de chinches en un campo de producción de mariposa (*H. coronarium*) para la obtención de flores de corte, evidenciando las potencialidades de esta cepa de nematodos entomopatógenos para el manejo de la plaga.

LITERATURA CITADA

Abbott, WS. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide (en línea). *Journal of Economic Entomology* 18(2):265-267. Consultado 21 feb. 2020. Disponible en <https://doi.org/gf45ms>

ACPA (Asociación Cubana de Producción Animal). FitomaS-E. *Revista ACPA*. 2/2010:17. Consultado 11 feb. 2020. Disponible en <https://bit.ly/2LxwNhU>

Alves, VS; Moino Jr, A; Santa-Cecilia, VC; Rohde, C; Tramontin Da Silva, MA. 2009. Testes em condições para o controle de *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hymenoptera: Pseudococcidae) em cafeeiro com nematoides entomopatógenos do genero *Heterorhabditis* (Rhabditida, Heterorhabditidae) (en línea). *Revista Brasileira de Entomologia* 53:136-143. Consultado 28 mar. 2020. Disponible en <https://bit.ly/39wDmcc>

Andaló, V; Moino Jr, A; Santa-Cecilia, LVC; Souza, GC. 2004. Seleção de isolados de fungos e nematoides entomopatógenos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (en línea). *Arquivos do Instituto Biológico* 71:181-187. Consultado 28 ene. 2020. Disponible en <https://bit.ly/2Q6MAGC>

Andaló, V; Nguyen, KB; Moino Jr, A. 2006. *Heterorhabditis amazonensis* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Amazonas, Brazil (en línea). *Nematology* 8(6):853-867. Consultado 21 feb. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3gfy6yE>

Arista, DA. 2017. Efectos de tres dosis de *Heterorhabditis* spp. en el control de *Dysmicoccus brevipes* en *Ananas comosus* var. Roja Trujillana en Poroto La Libertad (en línea). Tesis de grado. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú. 51 p. Consultado 21 feb. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3x2RtBk>

Bedding, RA; Akhurst, RJ. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil (en línea). *Nematologica* 21(1):109-110. Consultado 30 abr. 2020. Disponible en <https://doi.org/b6vnnv>

Companioni, N; Rodríguez-Nodals, A; Sardiñas, J. 2016. Agricultura urbana, suburbana y familiar. In Funez Aguilar, F; Vázquez Moreno, L. (eds). *Avances de la agroecología en Cuba*. Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. ISBN 978-959-7138-21-1. p. 233-246.

De la Torre, PE; Rodríguez, MA. 2010. *Hedychium coronarium* J. Koenig (Zingiberaceae) nuevo hospedante de *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank)

- (Acari:Acaridae) (en línea). Boletín Sanidad Vegetal Plagas 36:209-211. Consultado 10 feb. 2020. Disponible en <https://bit.ly/2XPQOm0>
- Denno, RF; Gruner, DS; Kaplan, I. 2008. Potential for Entomopathogenic Nematodes in Biological Control: A Meta-Analytical Synthesis and Insights from Trophic Cascade Theory (en línea). Journal of Nematology 40(2):61-72. Consultado 24 abr. 2020. Disponible en <https://bit.ly/2XOEYZq>
- Di Rienzo, JA; Casanoves, F; Balzarini, MG; González, L; Tablada, M; Robledo, CW. 2017. Infostat (en línea, programa informático). Córdoba, Argentina. Universidad Nacional de Córdoba. Consultado 10 may. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3l4HBjN>
- Enrique, R; Sánchez, L; Rodríguez, MG; Gómez, L; Valle, Z. 2006. Dietas alternativas para la cría de *G. mellonella*. Influencia sobre el rendimiento - peso de larvas de *Galleria mellonella* y recobrado de juveniles infectivos. Centro Nacional de Derecho de Autor (CENDA). Número de depósito CENDA2874-2006. Ciudad de la Habana, Cuba, 20 p.
- Ferreira, KDS; Ferreira, TF; Moreira de Souza, R; Dolinski, C. 2015. Potential of entomopathogenic nematodes (Rhabditida) for control of pink pineapple mealybug adult females, *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae), under laboratory conditions (en línea). Nematoda:e072015. Consultado 21 feb. 2020. Disponible en <https://bit.ly/2XT2aWp>
- Frank, S; Baker, J. 2019. Mealybugs (en línea). NC State Extension Publications. Consultado 22 de marzo 2020. Disponible en <https://bit.ly/3mSQtuw>
- Fuenmayor, Y; Portillo, E; Bastidas, B; Guerra, M; San-Blas, E. 2020. Infection parameters of *Heterorhabditis amazonensis* (Nematoda: Heterorhabditidae) in different stages of Hibiscus pink mealybug (en línea). Journal of Nematology 52:1-7. Consultado 6 ene. 2021. Disponible en <https://doi.org/f6ws>
- Glazer, I; Lewis, EE. 2000. Bioassays for entomopathogenic nematodes. In Navon, A; Ascher, KRS (eds.) Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes. CAB International. p. 229-247.
- González, C. 2015. Acerca de la elección de la mariposa (*Hedychium coronarium*, Zingiberaceae) como Flor Nacional de Cuba (en línea). Revista del Jardín Botánico Nacional 36:191-193. Consultado 28 mar. 2020. Disponible en <https://bit.ly/38Q3orR>
- Guide, BA; Soares, E; Itimura, C; Alves, V. 2016. Entomopathogenic nematodes in the control of cassava root mealybug *Dysmicoccus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae) (en línea). Revista Colombiana de Entomología 42(1):16-21. Consultado 21 feb. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3bKXMAZ>
- Gullan, PJ; Martin, JH. 2009. Sternorrhyncha (Jumping Plant-Lice, Whiteflies, Aphids, and Scale Insects). In Resh, VH; Carde, Ring T. (eds). Encyclopedia of Insects. 2 ed. Academic Press. Elsevier, Inc. Amsterdam. ISBN 978-0-12-374144-8 p. 957-967.
- Hartati, R; Suganda, AG; Fidriannya, I. 2014. Botanical, Phytochemical and Pharmacological Properties of *Hedychium* (Zingiberaceae) - A Review (en línea). Procedia Chemistry 13:150-163. Consultado 24 abr. 2020. Disponible en <https://bit.ly/2M10c3y>
- Hernández, I; Martínez, MA. 2012. *Dysmicoccus brevipes* Cokerell (Hemiptera: Pseudococcidae) nuevo informe para *Hedychium coronarium* Koenig, Flor de la Mariposa, en Cuba (en línea). Revista Protección Vegetal 27(1):54-55. Consultado 12 abr. 2020. Disponible en <https://bit.ly/2LC5q64>
- Infante, C. 2005. Manejo integrado del tetuán del boniato (en línea). Agricultura Orgánica 11(1):19-20. Consultado 14 ene. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3wZUSkk>
- Ishibashi, N; Kondo, E. 1990. Behavior of infective juveniles. In Gaugler, R; Kaya, HK (eds). Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press. Boca Raton. p. 139-152.
- Koppenhofer, AM. 2000. Nematodes. In Lacey, LA; Kaya, HK. (eds). Field Manual of techniques in invertebrate pathology. Kluwer Academic Publishers, Netherland. p. 283-301
- Lewis, EE; Campbell, J; Griffin, C; Kaya, H; Peters, A. 2006. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes (en línea). Biological Control

- 38:66–79. Consultado 10 mar. 2020. Disponible en <https://doi.org/bsn5qb>
- Mamiya, Y. 1988. *Steinernema kushidai* n. sp. (Nematoda: Steinernematida) associated with scarabaeid beetle larvae from Shizuoca, Japan. *Applied Entomology and Zoology* 23:313-320.
- Martínez, B; Hernández-Sabourin, I. 2013. Plant pathogenic fungi affecting white ginger lily (*Hedychium coronarium* K.) (en línea). *Revista Protección Vegetal* 28(1):77. Consultada 4 mar. 2021. Disponible en <https://bit.ly/3uXFpiy>
- Martínez, E; Barrios Sanromá, G; Rovesti, L; Santos Palma, R. 2006. Manejo Integrado de Plagas. Manual Práctico. Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CENSA), Cuba. Editora Entre Pueblos, España. Grupo di Volontariato Civile (GVC), Italia. 485 p.
- Martínez, MA. 1996. Biología, ecología y manejo integrado de cochinillas harinosas del caféto (Homoptera: Pseudococcidae). Tesis Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Agraria de La Habana “Fructuoso Rodríguez”. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, La Habana. Cuba. 96 p.
- Martínez, MA; Suris, M. 2000. Bases bioecológicas para el manejo de cochinillas harinosas en el cultivo del café en Cuba (en línea). *Revista Manejo Integrado de Plagas* 57:58-64. Consultado 28 mar. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3nXrbuw>
- Manjushree, G; Chellappan, M. 2019. Biology of pink pineapple mealybug *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) (en línea). *Indian Journal of Entomology* 81(1):210-212. Consultado 22 mar. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3mkysVM>
- Nguyen, K; James, R; McCoy, C; Adams, B; Stuart, R; Shapiro-Ilan, D. 2004. *Heterorhabditis mexicana* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Tamaulipas, Mexico, and morphological studies of the bursa of *Heterorhabditis* spp. (en línea). *Nematology* 6(2):231–244. Consultado 20 mar. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3xqz95i>
- Panis, A. 1969. Observations faunistiques et biologiques sur quelques Pseudococcidae vivant dans le midi de la France (Homoptera: Coccoidea). *Annales of Zoology and Ecology Animal* 3:211-244.
- Phan, KL; Subbotin, SA; Nguyen, NC; Moens, M. 2003. *Heterorhabditis baujardi* sp. n. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Vietnam and morphometric data for *H. indica* populations (en línea). *Nematology* 5:367–382. Consultado 5 mar. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3nk7Vsk>
- Poinar, GO; Karunakar, GK; David, H. 1992. *Heterorhabditis indicus* n. sp. (Rhabditida: nematoda) from India: separation of *Heterorhabditis* spp. by infective juveniles (en línea). *Fundamental and Applied Nematology* 15:467–472. Consultado 20 mar. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3aDTYQE>
- Rodríguez, Y; Martínez, MA; Sánchez, L; Rodríguez H, MG. 1998. Comprobación en campo de la efectividad de *Heterorhabditis bacteriophora* cepa HC1 en el control de chinches harinosas (Homoptera: Pseudococcidae) del caféto. *Revista Protección Vegetal* 13(3):195-198.
- Rodríguez, MG; Hernández, M; Borrero, Y; Gómez, LR; Enrique, R. 2011. Recycle of entomopathogenic nematodes in soils grower coffee crop (*Coffea* spp.) in Buey Arriba (en línea). *Revista Protección Vegetal* 26(1):67. Consultado 28 mar. 2020. Disponible en <https://bit.ly/2QhuxgQ>
- Rodríguez, MG. 2015. Entomopathogenic nematodes in Cuba: from laboratories to popular biological control agents for pest management in a developing country. *In* Campos-Herrera, R. (ed.). *Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests – Ecology and Applied Technologies for Sustainable Plant and Crop Protection*. Springer. p. 343–364.
- San-Blas, E; Campos-Herrera, R; Dolinski, C; Monteiro, C; Andaló, V; Garrigós Leite, L; Rodríguez, MG; Morales-Montero, P; Sáenz-Aponte, A; Cedano, C; López-Nuñez, JV; Del Valle, E; Doucet, M; Lax, P; Navarro, PD; Báez, F; Llumiquinga, P; Ruiz-Vega, J; Guerra-Moreno, A; S Stock, SP. 2019. Entomopathogenic nematology in Latin America: A brief history, current research and future prospects (en línea). *Journal of Invertebrate Pathology* 165:22-45. Consultado 22 ene. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3n73BfV>

- Sánchez, L. 2002. *Heterorhabditis bacteriophora* HC1. Estrategia de desarrollo como agente de control biológico de plagas insectiles. Tesis Doctorado. Universidad Agraria de La Habana, Cuba. 100 p.
- Sánchez, L; Rodríguez, MG; Gómez, L; Soler, DM; Hernández, MA; Castellanos, L; Martín, D; Enrique, R. 2001. Desarrollo de una Metodología para la reproducción artificial de nematodos entomopatógenos para el control de plagas en cafeto. PNCT: Desarrollo Sostenible de la Montaña CODIGO: 0703023. Informe final proyecto-CENSA-2001. Deposito Centro de Derechos de Autor de Cuba N°09613/ 2002. 123 p.
- Stuart, JR; Polavarapu, S; Lewis, EE. 1997. Differential susceptibility of *Dysmicoccus vaccinii* (Homoptera: Pseudococcidae) to entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) (en línea). *Journal of Economic Entomology* 90: 925-932. Consultado 22 mar. 2020. Disponible en <https://bit.ly/2QLvOfW>
- Susurluk, A; Ehlers, RU. 2007. Field persistence of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* in different crops (en línea). *BioControl* 53:627-641. Consultado 28 mar. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3syZfzm>
- Taylor, CS; Goyal. A. 2015. Comprehensive review on *Hedychium coronarium* J. Koenig. (Dolanchampa / Kapurcachri) (en línea). *International Journal of Research Ayurveda Pharmacy* 6 (1): 98-100. Consultado 24 abr. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3nPTH0Z>
- White, GF. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures (en línea). *Science* 66:302-303. Consultado 12 abr. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3nT0jvv>
- Wilson, M; Gaugler, R. 2004. Factors limiting short-term persistence of entomopathogenic Nematodes (en línea). *Journal of Applied Entomology* 128(4):250-253. Consultado 24 abr. 2020. Disponible en <https://bit.ly/2XNKc7W>
- Wouts, WM; Mrazéck, Z; Gerdin, S; Bedding, RA. 1982. *Neoaplectana* Steiner, 1929 a junior synonym of *Steinernema* Travassos 1927 (Nematoda: Rhabditida). *Systematic Parasitology* 4(2):147-154. Consultado 12 abr. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3sQhMal>
- Zart, M; de Macedo, MF; Rando, JSC; Doneze, GS; Pereira Brito, C; de Souza Poletto, R; Alves, VS. 2021. Performance of entomopathogenic nematodes on the mealybug, *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae) and the compatibility of control agents with nematodes (en línea). *Journal of Nematology* 53:1-10. Consultado 28 feb. 2021. Disponible en <https://doi.org/f6wr>