

POTENCIALIDADES DE *Heterorhabditis bacteriophora* POINAR CEPA HC1 PARA EL MANEJO DE *Hypothenemus hampei* Ferr. II. COMPATIBILIDAD CON *Beauveria bassiana* (BALSAMO) VUILLEMIN Y ENDOSULFAN

Lourdes Sánchez y Mayra G. Rodríguez

Dirección de Protección de Plantas, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. Correo electrónico: mrguez@censa.edu.cu

RESUMEN: *Heterorhabditis bacteriophora* cepa HC1 ha demostrado ser un efectivo agente de control biológico para importantes plagas en las condiciones de Cuba, mostrando también potencialidades para el manejo de la broca del café. Con los objetivos de estudiar el tipo de relaciones que puede establecer con *Beauveria bassiana*, organismo de amplio uso a escala internacional para el manejo de la broca en condiciones de producción y el insecticida Endosulfan, se ejecutó este trabajo. *H. bacteriophora* cepa HC1 mostró efecto aditivo y sinérgico con *B. bassiana*, alcanzándose una mortalidad de 62% en el tratamiento donde se emplearon ambos biorreguladores. En el ensayo de viabilidad en placas Petri, donde se utilizó juveniles infestivos de nematodos (cepa HC1) y Endosulfan (Thiodan), se puso de manifiesto que entre el 97 y 98% de los juveniles infestivos de *H. bacteriophora* HC1 son capaces de sobrevivir al menos 36 h en solución del plaguicida, valores estadísticamente similares a los obtenidos en agua destilada. Tampoco se afectó la patogenicidad del nematodo, quien causó el 100% de mortalidad en las larvas de *Corcyra cephalonica* y adultos de *Ips* sp., independientemente del tiempo de exposición al producto químico. Los ensayos realizados en este trabajo confirman la posibilidad del empleo conjunto de *H. bacteriophora* cepa HC1 y Endosulfan en aplicaciones simultáneas, así como del uso simultáneo de la cepa HC1 y *B. bassiana*, elemento de gran importancia para establecer el manejo de la plaga en los agroecosistemas cafeteros, pues en caso de producirse muy altas densidades del insecto podrán ser utilizados conjuntamente.

(Palabras clave: nematodo entomopatógeno; *Heterorhabditis bacteriophora*; *Hypothenemus hampei*; broca del café; *Beauveria bassiana*; Endosulfan)

POTENTIALITIES OF *Heterorhabditis bacteriophora* POINAR STRAIN HC1 FOR THE MANAGEMENT OF *Hypothenemus hampei* Ferr. II. COMPATIBILITY WITH *Beauveria bassiana* (BALSAMO) VUILLEMIN AND ENDOSULFAN

ABSTRACT: The strain HC1 belonging to *Heterorhabditis bacteriophora* has shown to be an effective biological control agent for important pests in Cuba, showing also potentialities for coffee berry borer (CBB) management. The objective of this work was to study the relationship between this organism and *Beauveria bassiana*, fungi with high use at international scale for CBB under field conditions and with the Thiodan, pesticide for this purpose. The strain HC1 of *H. bacteriophora* showed a synergic and additive effect, with a 62% mortality in the treatment with two biocontrol organisms. In the Petri dish viability assay, using infective juveniles of nematodes (HC1) and Endosulfan (Thiodan), the 97-98% of juveniles survived during almost 36h in pesticide solution, with similar values to distilled water. The pesticide neither affected the nematode pathogenicity, which caused a 100% mortality in *Corcyra cephalonica* larvae and *Ips* sp. adults, independently the exposition time to the pesticide. The assays carried out in this work confirm the possibility to use *H. bacteriophora* HC1 and Thiodan in simultaneous applications, as well as the use of HC1 - *B. bassiana*, element of great importance for the management of this pest in coffee agroecosystems, since in the case of having high insect densities, they can be applied together.

(Key words: entomopathogenic nematodes; *Heterorhabditis bacteriophora*; *Hypothenemus hampei*; coffee berry borer; *Beauveria bassiana*; Endosulfan)

INTRODUCCIÓN

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), es la principal plaga del cafeto en todos los países productores del mundo (1), afectando el cultivo desde el campo (al causar la pérdida total de frutos), hasta el producto final (que disminuye su calidad) (2).

Para el manejo de esta plaga, se ensayan y/o utilizan prácticas como el saneamiento de los cafetales en períodos posteriores a la cosecha, el uso de trampas (con sustancias atrayentes), medios biológicos y en última instancia, productos químicos (2, 3, 4, 5, 6, 7).

Con relación al manejo con el empleo de medios biológicos, en nuestro continente, los trabajos con el hongo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin han mostrado avances significativos en la investigación y/o uso en condiciones de producción en países como Colombia, Costa Rica, Cuba, República Dominicana y Venezuela, entre otras naciones (4, 5, 6, 8). Así por ejemplo, luego de ser encontrados aislamientos en Colombia a fines de la década de los 90' (4), se establecieron procesos sencillos de reproducción del hongo, lo que ha propiciado su distribución en toda la zona cafetera colombiana infestada con *H. hampei*, siendo actualmente utilizado en casi toda esa zona, convirtiéndose en un factor de mortalidad natural, donde se estima que el 49% de la población total de broca en un cafetal es afectada por el hongo (4).

Por su parte, los nematodos entomopatógenos pertenecientes a los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* han mostrado poseer también potencialidades para el manejo de la broca del café (2, 9, 10).

H. bacteriophora Poinar cepa HC1, nativa de Cuba ha demostrado ser un eficiente agente de control y se ha aplicado con éxito en el agroecosistema cafetalero para el combate del complejo de chinches harinosas (Homoptera: Pseudococcidae) (Rodríguez *et al.*, 1997 citados por Sánchez y Rodríguez (11)), completándose en el presente trabajo el estudio en condiciones semi-controladas de sus potencialidades como agente de control para la broca del café.

Teniendo en cuenta que los nematodos entomopatógenos representantes de la cepa HC1 mostraron potencialidades para su empleo en el manejo de la broca, al presentar altos niveles de parasitismo en bayas brocadas y alta capacidad de búsqueda (11), el objetivo del presente trabajo fue determinar la compatibilidad de *H. bacteriophora* cepa HC1, con *Beauveria bassiana* y el Endosulfan, con vistas a conocer si pueden ser utilizados de forma simultánea en el programa de manejo de la broca del café.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios relacionados con la broca del café fueron desarrollados en la región donde la plaga esta confinada debido a las medidas de cuarentena vigentes, siendo adecuados los materiales y métodos empleados a las condiciones locales existentes.

Los nematodos empleados en este y los siguientes experimentos fueron masivamente criados en larvas de *Corcyra cephalonica* Stantion (Lepidoptera: Pyralidae), siguiendo igual procedimiento que para la cría en *G. mellonella* Fabricius (10).

El uso de este hospedante estuvo avalado porque *C. cephalonica* resulta susceptible a muchas especies de nematodos entomopatógenos y ha sido recomendado como hospedante alternativo para la cría masiva de *Heterorhabditis heliothidis* (Kahn, Brooks y Hirschmann) por Pérez *et al.* (12). Su empleo garantizó suficiente cantidad de nematodos para la ejecución de todos los ensayos.

Aplicación simultánea de la cepa HC1 y *B. bassiana*.

Se extrajeron 5 kg de suelo de una plantación de cafeto (*Coffea arabica* L.) en Buey Arriba y mediante el método de cebo empleando como insecto trampa larvas de *C. cephalonica*, fue confirmada la ausencia de nematodos entomopatógenos.

Con este suelo se llenaron bandejas metálicas de 0.06 m² de superficie y 7 cm de profundidad, añadiendo hojarasca para simular las condiciones naturales de la capa superficial de una plantación. Cada tratamiento consistió en una bandeja con 50 bayas de café infestadas por broca y cada grano constituyó una réplica dentro del tratamiento. Durante la ejecución del experimento las bandejas permanecieron cubiertas con malla antiáfidos y la temperatura media registrada en el suelo fue de 25±1°C.

Se conformaron los siguientes tratamientos:

Tto. 1. Solo se aplicó Agua (control).

Tto. 2. Aplicación de *B. bassiana*.

Tto. 3. Aplicación de *H. bacteriophora* cepa HC1 (N1= 50 000 JI.m²⁻¹) + *B. bassiana*.

Tto. 4. Aplicación de *H. bacteriophora* cepa HC1 (N1= 50 000 JI.m²⁻¹).

Tto. 5. Aplicación de *H. bacteriophora* cepa HC1 (N2= 100 000 JI.m²⁻¹) + *B. bassiana*.

Tto. 6. Aplicación de *H. bacteriophora* cepa HC1 (N2= 100 000 JI.m²⁻¹).

Para el tratamiento del hongo solo (*B. bassiana*) se asperjaron 120 mL de una suspensión de concentración de 6×10^7 conidios. mL⁻¹, de una cepa que fue facilitada por el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Granma.

Se prepararon dos niveles de inóculo a partir de una suspensión concentrada de nematodos (6 000 JI. mL⁻¹). Para ello se tomaron alícuotas de 0,5 y 1 mL a fin de garantizar 3 000 JI. bandeja⁻¹ (N1) y 6 000 JI. bandeja⁻¹ (N2), dosis equivalentes a 50 000 y 100 000 JI. m²⁻¹. Para las aplicaciones del nematodo independiente se añadió agua en cada caso para completar 120 mL de solución final y para los tratamientos combinados se añadieron a los 120 mL de la suspensión de *B. bassiana* para su aplicación simultánea.

A los 8 días post-aplicación se realizó la disección de 20 granos seleccionados al azar por tratamiento, teniendo en cuenta que todos los granos utilizados estaban perforados por broca y se extrajeron todos los individuos, resultando difícil precisar el número de larvas y pupas muertas en los tratamientos con *B. bassiana* por encontrarse muchos ejemplares en estado de descomposición, por lo que solamente se computaron los datos de adultos vivos y muertos.

Los datos relacionados con porcentaje de mortalidad se transformaron a $\text{arc sen}(\sqrt{\%})$ y se realizó un análisis de varianza simple para comparar los tratamientos, se empleó la prueba de rangos múltiples de Duncan para determinar la significación de las medias.

Para los datos totales (mortalidad total por tratamiento), se aplicó la prueba de chi-cuadrado referida por Koppenhofer (13), que planteó tomar como chi-cuadrado calculada el valor $X^2 = (M_{AB} - M_E) / M_E$ donde: M_{AB} mortalidad observada para el tratamiento combinado (*H. bacteriophora* + *B. bassiana*), M_E mortalidad esperada calculada como $M_E = M_A + M_B (1 - M_A)$ donde M_A y M_B son las mortalidades observada para *H. bacteriophora* y *B. bassiana*, respectivamente.

Se evaluó el experimento según los criterios de Koppenhofer (13), que plantea que si $X^2_{\text{calculada}} < X^2_{\text{tabulada}}$ (para un 95% de confianza y un grado de libertad), se espera un efecto aditivo. Además si $X^2_{\text{calculada}}$ es positivo, la interacción es sinérgica y si es negativa la interacción es antagónica.

Supervivencia y patogenicidad de juveniles infestivos tratados con endosulfan

Para comprobar si el Endosulfan PH (0,5-1kg i.a.ha⁻¹), plaguicida aprobado para su uso en el manejo de broca en Cuba (5) afecta la viabilidad del nematodo se prepararon seis placas Petri de 9,5 cm de diámetro, en tres de ellas se vertieron 25 mL de una

solución del producto (4,4 g de producto. L⁻¹ de agua) y en el resto 25 mL de agua destilada. En cada una se añadió 1 mL de una suspensión del nematodo que contenía aproximadamente 15 000 JI. Se extrajeron tres alícuotas de 1 mL de cada placa a las 3, 12, 24 y 36 horas y se contó en un estereomicroscopio el número de nematodos vivos y muertos y se calculó el porcentaje promedio de supervivencia en cada momento.

Para determinar posibles alteraciones en la patogenicidad de *H. bacteriophora* HC1 a consecuencia del producto químico, 100 mL de una suspensión de nematodos se dividió en partes iguales en 4 erlenmeyers. Se dejaron reposar durante 10 minutos y se eliminó casi toda el agua, posteriormente en tres de ellos se añadieron 50 mL de la solución de Endosulfan y en el cuarto se añadió igual volumen de agua destilada. Los tiempos de exposición evaluados fueron 10 min, 1 h y 3 h. Finalizado el tiempo de exposición, se eliminó el producto por decantación y se enjuagaron varias veces los nematodos con agua destilada, incluido los del erlenmeyer control. Se ajustó la concentración a 5 000 JI. mL⁻¹.

A partir de estas suspensiones se conformaron los siguientes tratamientos en placas Petri con papel de filtro con 5 repeticiones cada uno, añadiéndose en cada caso 1 mL de la suspensión en cuestión:

Tto. 1. Agua destilada (control).

Tto. 2. Nematodos expuestos al Endosulfan 1 h.

Tto. 3. Nematodos expuestos al Endosulfan 3 h.

Tto. 4. Nematodos expuestos al Endosulfan 10 min.

Tto. 5. Endosulfan.

Tto. 6. Nematodos en Agua.

En cada placa Petri se colocaron 10 larvas de *C. cephalonica* (insecto que en su fase larval presenta resistencia al Endosulfan y susceptibilidad a los nematodos) y para verificar la actividad del producto químico adicionalmente se colocaron en todas las placas 10 adultos de *Ips* sp. (Scolytidae) insecto susceptible al Endosulfan. Se realizó el conteo de la mortalidad de los insectos a las 48 h de la inoculación y se expresó en porcentaje.

De los tratamientos que contenían nematodos se seleccionaron 10 larvas de *C. cephalonica* y se incubaron a 25°C durante 8 días en placas Petri con papel de filtro, al cabo de este tiempo se colocaron de forma independiente en trampa White durante 48 h y se contó el total de JI para determinar el nivel de reproducción del nematodo. Los datos se procesaron mediante un ANOVA simple.

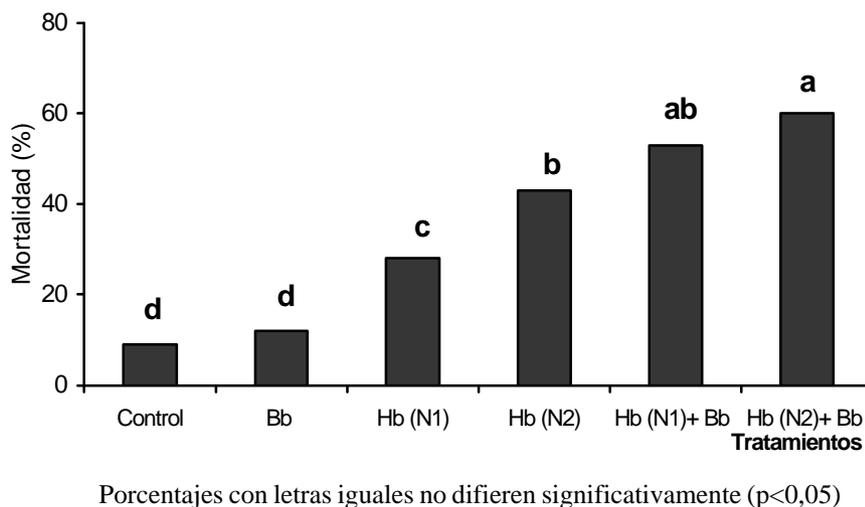
Aplicación simultánea de nematodos y endosulfan

Se prepararon 12 bandejas con granos infestados con las mismas características que las descritas en el experimento 1 y se llevaron a un campo de cafeto. Se distribuyeron en diferentes lugares debajo de las plantas y se realizaron las aspersiones de cada una de las variantes determinadas en todo el ruedo, con motomochila, incluidas las bandejas. La solución de Endosulfan se preparó a igual concentración que en el experimento precedente.

Las variantes conformadas con tres repeticiones cada una, fueron las siguientes:

1. *H. bacteriophora* HC1+ Endosulfan (100 mL del biopreparado de nematodos con concentración 1×10^6 JI. L⁻¹ en 9 L de la solución del producto)
2. *H. bacteriophora* (100 mL del biopreparado de nematodos con concentración 1×10^6 JI. L⁻¹ en 9 L de agua)
3. Endosulfan (4,4 g de producto. L⁻¹ de agua).
4. Agua.

Después de las aplicaciones, las bandejas se llevaron nuevamente al laboratorio. En cada una se colocaron 50 larvas de *C. cephalonica* y se mantuvieron durante 3 días a temperatura ambiente. A las 72 h se extrajeron las larvas vivas y muertas. En los cadáveres se confirmó el parasitismo por nematodos mediante la disección en un estereomicroscopio. Se calculó el porcentaje de mortalidad, realizando un ANOVA simple a los datos transformados a $\text{arc sen} \sqrt{\%}$ y se empleó la prueba Duncan para la comparación de las medias.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aplicación simultánea de la cepa HC1 y *B. bassiana*

Resultó significativa la diferencia entre tratamientos con un mayor porcentaje de mortalidad de los adultos de *H. hampei* en las variantes donde fueron inoculados el hongo y los nematodos juntos, con el mayor valor frente a la dosis superior de nematodos (Fig. 1).

La alta mortalidad de los insectos en presencia del nematodo y del hongo, que supera la suma de los efectos independientes, demuestra el sinergismo de ambos organismos, efecto que ha sido demostrado en aplicaciones simultáneas de *Beauveria brongnartii* (Saccardo) Petch y *Heterorhabditis* spp. contra larvas de *Otiorrhynchus sulcatus* F. (14).

La mortalidad a consecuencia del hongo solo, no difirió del control, evidenciando la baja capacidad de este organismo para colonizar las galerías de los granos brocados y llegar hasta los insectos. Los nematodos en cambio pueden migrar por los túneles, los que constituyen ambientes protegidos y que conservan la humedad necesaria para su movimiento. Adheridas a su cutícula pueden acarrear esporas del hongo y de esta forma facilitar el proceso de infección de este, lo que pudiera justificar el aumento de mortalidad registrada en el caso de los tratamientos combinados.

Los resultados del análisis empleando chi-cuadrado (13) se reflejan en la Tabla 1. El valor de $\chi^2_{0.05}$ Tabulado (1) = 3.841 (95%) y su comparación con el valor de χ^2 calculado, ratifica lo planteado acerca de su efecto aditivo y por la relación sinérgica que se estableció entre los dos agentes de control biológico.

FIGURA 1. Porcentaje de mortalidad de *H. hampei* en los granos de café colocados en suelo por la acción de *H. bacteriophora* cepa HC1 y *B. bassiana*. ($n=20$, $ESx=2,14$). *H. hampei* mortality percent inside of coffee berry located over soil by *H. bacteriophora* strain HC1 and *B. bassiana*. ($n=20$, $ESx=2,14$).

TABLA 1. Porcentaje de Mortalidad de broca en granos tratados, acompañados de los valores de Mortalidad Esperada (M_E) y chi cuadrado. / *Mortality percent of coffee berry borer in treated berries, with the values of Mortality Expected (M_E) and χ^2*

Tratamiento	Mortalidad total dentro de los granos de café (%)
<i>B. bassiana</i>	10
Cepa HC1	60
<i>B. bassiana</i> + Cepa HC1	72
M_E	0,64
χ^2	0,01

Numerosos son los ejemplos de interacciones aditivas y sinérgicas entre los nematodos entomopatógenos y hongos - bacterias que son agentes de control biológico de insectos (15, 16).

Los resultados de este ensayo en condiciones de campo simuladas, indican que la aplicación en el ruedo de las plantas de biopreparados a base de *H. bacteriophora* cepa HC1 y *B. bassiana* pudiera constituir una táctica factible para incorporar en los sistemas de manejo integrado de esta plaga, lo que permite disponer de una alternativa menos agresiva al ambiente con un menor impacto en un agroecosistema que se caracteriza por su fragilidad, brindando la posibilidad de manejar el cultivo y obtener un producto orgánico de mayor calidad y valor en el mercado.

Teniendo en cuenta estos resultados y las cepas de *B. bassiana* nativas con que cuenta Cuba de diversas áreas cafetaleras como las de Buey Arriba, que han expresado potencialidades para el manejo de la broca, así como que en el Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria para la Montaña, enclavado en Granma, se está trabajando en la caracterización de estos aislamientos y los métodos de reproducción masiva del más promisorio (Toledo, comunicación personal¹), deben acometerse trabajos encaminados a la evaluación en condiciones de campo de la aplicación conjunta de la cepa HC1 y aislamientos de *B. bassiana* con probada efectividad sobre broca, ya que el aislamiento utilizado en el estudio no procedía de broca.

B. bassiana posee potencialidades para ser empleada en el manejo de la broca (3,8), pero, según

Baker (4) habían problemas por solventar, como los relacionados con la relación especial de la broca y *B. bassiana* en esas condiciones, lo que en nuestra opinión puede ser disminuido por el uso de un organismo que "acarree" los conidios dentro de los granos brocados, como los JI de nematodos, donde estos conidios no son expuestos a la luz del sol; las condiciones de humedad son mas favorables y existe el hospedante para poder ejercer su acción parasítica de forma mas efectiva.

Aunque *H. hampei* desarrolla su ciclo biológico completo dentro de los granos de café y no pasa al suelo, las bayas que caen a este durante la cosecha constituyen reservorios de la plaga, por lo que, la aplicación conjunta de los dos agentes de control biológico podría contribuir a disminuir las poblaciones remanentes que se mantienen en los granos caídos, los que, aun cuando se recomienda su eliminación y destrucción, es un proceso que resulta caro, laborioso y que no siempre se ejecuta en las plantaciones por falta de fuerza laboral.

Barbercheck y Kaya (17), demostraron una alta mortalidad de *Spodoptera exigua* Hubner por la combinación de *H. bacteriophora* y *B. bassiana*, concluyendo que una aplicación combinada de hongos y nematodos garantiza una mayor reducción de la plaga susceptible que cada patógeno solo.

Por su parte, López Núñez (2) en estudios ejecutados en laboratorio, invernadero y parcelas experimentales, seleccionó nematodos nativos de Colombia de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae, que aplicados sobre frutos brocados en el suelo, en dosis hasta de 24×10^4 nematodos.plato de árbol⁻¹, con sistemas convencionales de aplicación y con una frecuencia de tres veces al año, reducen sustancialmente las poblaciones del insecto. Este investigador, en estudios de compatibilidad de estos nematodos con hongos entomopatógenos (*B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae* Metsch.), demostró que su aplicación en mezcla genera epizootias e incrementa la muerte de la broca al interior del fruto, disminuyendo las poblaciones de la broca aptas para emerger y causar daño en frutos sanos.

Supervivencia y patogenicidad de juveniles infestivos tratados con endosulfan

En el ensayo de viabilidad en placas Petri se puso de manifiesto que entre el 97 y 98% de los juveniles infectivos de *H. bacteriophora* HC1 son capaces de sobrevivir al menos 36 h en solución de Endosulfan, valores estadísticamente similares a los obtenidos en agua destilada.

Lic. Cecilia Toledo. (2007). Presentación de los resultados del trabajo ejecutado por dicha especialista en el período 1999-2006, Taller de Intercambio con Productores de café. Buey Arriba, Febrero 2007.

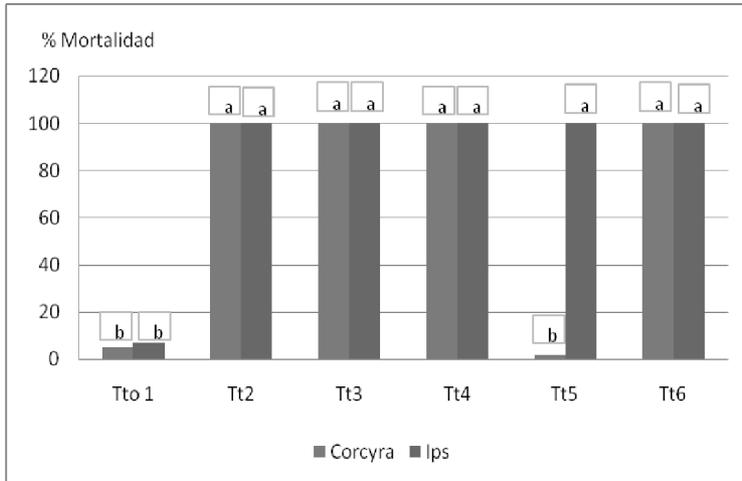


FIGURA 2. Mortalidad de larvas de *C. cephalonica* y adultos de *Ips* sp. en los diferentes tratamientos (Tto.1. Agua destilada; Tto.2. Nematodos en Endosulfan 1 h.; Tto.3. Nematodos en Endosulfan 3 h.; Tto.4. Nematodos en Endosulfan 10 min.; Tto.5. Endosulfan; Tto.6. Nematodos en agua). *Mortality in C. cephalonica larvae and Ips sp. adults in different treatments. (Tto.1. Distilled water; Tto. 2 Nematodes in Endosulfan 1 h; Tto.3. Nematodes in Endosulfan 3 h; Tto.4. Nematodes in Endosulfan 10 min.; Tto.5. Endosulfan; Tto.6. Nematodes in water). (n=30; ESx=1,01). Barras con letras iguales no difieren significativamente (p< 0,05).*

Tampoco se afectó la patogenicidad del nematodo, quien causó el 100% de mortalidad de las larvas de *C. cephalonica* y adultos de *Ips* sp. (Fig. 2) independientemente del tiempo de exposición al producto químico. Todos los adultos de *Ips*, murieron en presencia de la solución de Endosulfan, lo que confirma la toxicidad de la solución empleada en el ensayo (Fig. 2).

Koppenhofer y Grewal (16), en su revisión de este tema, plantearon que los nematodos entomopatógenos (JI) pueden tolerar exposiciones de corto tiempo (2 a 24 horas) a insecticidas químicos y biológicos, así como a fungicidas, herbicidas, fertilizantes y reguladores del crecimiento, y que pueden ser incluso mezclados en el mismo tanque y aplicados juntos, como una alternativa para disminuir los costos por concepto de aplicaciones, lo que facilitará el uso de los nematodos en el MIP.

Sin embargo, este aspecto debe ser estudiado para cada combinación de organismos, pues la compatibilidad de los nematodos entomopatógenos varía en dependencia de la especie de nematodo de que se trate, del tipo de producto y su concentración. Rovesti *et al.*, 1989 citados por Sánchez (10) encontraron que de 75 productos probados, 16 resultaron tóxicos a *H. bacteriophora* a las dosis recomendadas o inferiores, mientras que Zimmerman y Cranshaw (18) observaron una gama de sensibilidad entre las combinaciones plaguicidas-nematodos evaluadas, estudio que incluyó a *Neoaplectana carpocapsae* Weiser, *N. bibionis* Bovien y *Heterorhabditis* sp. 'HP-88' y nueve plaguicidas comúnmente usados en el mantenimiento de césped.

Los nematodos que penetraron las larvas de *C. cephalonica* fueron capaces de reproducirse, independientemente del tratamiento a que fueron sometidos sin diferencias estadísticas entre ellos (Tabla 2).

Sivakumar *et al.*, 1988 citados por Sánchez (10) informan de rendimientos de 17108 ± 856 / larvas maduras de *H. bacteriophora* para un nivel de inóculo de 20 JI por larva de este insecto, aproximándose nuestros resultados a estos valores.

TABLA 2. Juveniles infectivos de *H. bacteriophora* HC1 obtenidos a partir de las larvas de *C. cephalonica* muertas a consecuencia del nematodo tratados con Endosulfan y sin tratar./ *Infective juveniles of H. bacteriophora* HC1 obtained from dead *C. cephalonica* larvae by nematodes treated with Endosulfan and without treatment

TRAT.	DESCRIPCIÓN	Media JI/larva de <i>Corcyra</i>
2	Nematodos expuestos al Endosulfan 1 h.	19 154 ± 431
3	Nematodos expuestos al Endosulfan 3 h.	18 223 ± 343
4	Nematodos expuestos al Endosulfan 10 min.	17 930 ± 268
6	Nematodos en agua	18 654 ± 396

Los ensayos realizados en este trabajo confirman la posibilidad del empleo conjunto de *H. bacteriophora* HC1 y Endosulfan en aplicaciones simultáneas, en mezclas que pueden ser preparadas hasta tres horas antes de la aplicación y la posibilidad de supervivencia de los nematodos al menos durante 36 h en contacto con dicho producto químico, así como de reproducirse en hospedantes susceptibles. Este elemento es de gran importancia para establecer el manejo de la plaga en los agroecosistemas cafeteros, pues en caso de producirse muy altas densidades del insecto podrán ser utilizados conjuntamente.

Aplicación simultánea de nematodos y endosulfan

Los porcentajes de mortalidad en larvas de *C. cephalonica* por acción de los nematodos aplicados al suelo simultáneamente con Endosulfan y sin este en condiciones de campo (simuladas en bandejas) se representan en la Figura 3.

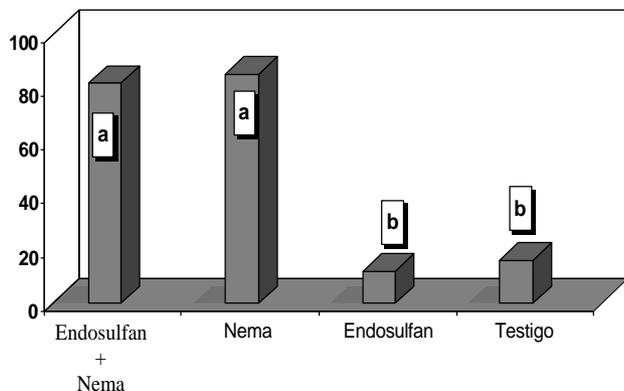


FIGURA 3. Porcentajes de mortalidad en larvas de *Corcyra cephalonica* por el efecto del Endosulfan y de *H. bacteriophora* cepa HC1. / Mortality percent in larvae of *C. cephalonica* by Endosulfan and *H. bacteriophora* strain HC1. ($n= 50$; $ESx= 1,29$). Letras iguales no difieren $p<0,05$.

En el tratamiento 1 que contenía los nematodos más Endosulfan fue de un 82%, valor cercano al producido por el tratamiento 2, en el que se observó un 85.3% de mortalidad a causa de los nematodos solos. En los tratamientos donde se aplicó Endosulfan solo o agua la mortalidad fue de 12 y 16%, respectivamente.

Los resultados de este ensayo permitieron corroborar lo obtenido en los ensayos anteriores de que *H. bacteriophora* cepa HC1 se mantiene viable y es capaz de buscar a los hospedantes en presencia del Endosulfan. Al parecer tampoco se afectaron estos parámetros por la influencia de la presión del equipo con que fueron aplicados. Georgis, 1990 citado por Sánchez (10) planteó que los nematodos entomopatógenos pueden ser aplicados con los equipos comunes de aspersión de agroquímicos, resistiendo presiones de 300 lb.pulg^{-2} y con boquillas de aberturas tan pequeñas como $50 \mu\text{m}$, ello ha permitido el empleo práctico de los nematodos solo o en combinación con otros agentes químicos o biológicos en el combate de plagas.

El producto que ha demostrado mayor eficacia en el control de la broca en el mundo y también en los ensayos de campo es el Endosulfán, aplicado en dosis de $1,8$ a 2 L. ha^{-1} . El volumen de agua utilizado varía de 250 a 600 L. ha^{-1} , dependiendo de la edad y

número de plantas por hectárea. Siendo un producto de amplio espectro de acción que no es sistémico y posee una notable acción en profundidad en frutos brocados y una débil acción como fumigante, respecto a la broca. Es un insecticida de contacto y de acción estomacal (19).

Una de las mayores dificultades que confrontan los cafeteros mundialmente es el control de la broca en aquellas áreas donde esta se encuentra presente, siendo los dos principales métodos empleados el cultural y la aplicación de plaguicidas.

Al respecto Baker (4) señaló con relación al control cultural que la actividad fundamental recomendada es la recogida manual de las cerezas que quedan después de la cosecha en la rama y aquellas que caen al suelo (repasso) a fin de disminuir la infestación en el campo, sin embargo la misma resulta en exceso laboriosa y eleva los costos de producción, pero no logra detener el crecimiento de la población del insecto.

Por otra parte destaca que el uso de insecticidas como el Endosulfan muestra un efecto de hasta un 80% en el control del insecto fuera de la cereza y de hasta un 40% dentro del grano en el árbol, sin embargo cuando estos están en el suelo solo logra una mortalidad de un 20% fuera de la cereza y menos de un 10% dentro de la misma.

El conjunto de resultados obtenidos acerca de la efectividad de *H. bacteriophora* cepa HC1 en el control de *H. hampei* demuestra las amplias potencialidades de esta cepa como biorregulador de tan importante plaga. Debido a la alta eficacia demostrada, su movilidad y capacidad de búsqueda que le permite alcanzar al insecto dentro de la cereza características que la distinguen de otros agentes de control, además de la posibilidad de desarrollar un efecto sinérgico con *B. bassiana* y ser totalmente compatible con el insecticida de mayor uso en el control de la plaga, la convierten en una adecuada alternativa para ser incorporada al programa de manejo de la broca y también del cultivo ya que debido al amplio espectro de acción de la cepa HC1, posibilitaría el control de otras plagas de importancia como cóccidos, pseucóccidos y coleópteros, y se lograría alcanzar un máximo control contra plagas insectiles que merman los rendimientos y la calidad de las cosechas.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. I. Rodríguez y Técnico R. Enrique por su valioso desempeño en la ejecución de este trabajo. De igual modo, a la Dra. Ileana Miranda por su colaboración en los análisis estadísticos.

REFERENCIAS

1. Bustillo A, Gil ZN. Control Biológico de la Broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. En Memoria del IV Congreso Internacional de Control Biológico. Mayo 31 a Junio 2. Palmira, Colombia; 2006. p.36.
2. López-Núñez J C. Avances en el uso de nematodos entomopatógenos para control de la Boca del café. En Memoria del IV Congreso Internacional de Control Biológico. Mayo 31 a Junio 2. Palmira, Colombia; 2006. p.20 .
3. Aristizábal LF, Jiménez QM, Bustillo AE. Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytidae), en fincas de caficultores experimentadores de Colombia. En Memoria del IV Congreso Internacional de Control Biológico. Mayo 31 a Junio2. Palmira, Colombia; 2006. p.21.
4. Baker P. The coffee berry borer in Colombia. Final report of the DFID-CENICAFE-CABI Bioscience IPM for coffee project (CNTR 93/1536A). 1999;144p.
5. Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV). Programa de Defensa contra la Broca del café. Ministerio de la Agricultura, Cuba. 2005. 21 p.
6. García R, Riera R. Desarrollo de epizootias de *Beauveria bassiana* sobre Broca del Café (*Hypothenemus hampei*) en Mérida, Venezuela. En Memoria del IV Congreso Internacional de Control Biológico. Mayo 31 a Junio2. Palmira, Colombia; 2006. p.20-21.
7. García M, Rodríguez Y, Cabrera D, Gómez L, Rodríguez MG. Producción de nematodos entomopatógenos en el Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria para la Montaña en Cuba. *Rev. Protección Veg.* 2007;22(2):131-133.
8. Vintimilla P. Mortalidad de broca de café [*Hypothenemus hampei* (Ferrari)] por la aplicación en el campo de cepas nativas de *Beauveria bassiana*. (Bals.) Vuill. en dos fincas cafetaleras de Costa Rica. Universidad Nacional de Costa Rica. Tesis de Maestro en Ciencias. 2004;112p.
9. Allard GB, Moore D. *Heterorhabditis* sp. nematodes as control agents for coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Scolytidae). *J. Invertebr. Pathol.* 1989;54(1):45-48.
10. Sánchez L. *Heterorhabditis bacteriophora* HC1. Estrategia de desarrollo como agente de control biológico de plagas insectiles. Tesis en opción al Grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. UNAH, La Habana. Cuba. 2002.
11. Rodríguez I, Rodríguez MG, Sánchez L, Martínez MA. Efectividad de *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditidae: Heteroderidae) sobre Chinchas Harinosas del Cafeto (Homoptera: Pseudococcidae). *Rev. Protección Veg.* 1997;12(2):119-122.
12. Pérez T, Vázquez T, Mollineda M. Mass rearing of *Heterorhabditis heliothidis* on the alternate host *Corcyra cephalonica*. *Prot. Plantas* 1991 ;1(1):7-14.
13. Koppenhofer A M. Synergy with microorganisms. *Encyclopedia of Pest Control: 1-3.* Marcel Dekker, Inc. 270 Madison Avenue, NY 10016. 2003.
14. Tillemans F, Laumond G, Coremans-Pelseneer J. Simultaneous utilization of entomopathogenic fungus and nematodes against larvae of black vine weevil and influence on plants. *Meded. Fac. Landbouw. Toege. Biol. Weten.* 1990;55(2):373-378.
15. Koppenhofer AM, Kaya HK. Additive and synergistic interaction between entomopathogenic nematodes and *Bacillus thuringiensis* for scarab grub control. *Biological Control.* 1997;8:131-137.
16. Koppenhofer AM, Grewal PS. Compatibility and interactions with agrochemicals and other biocontrol agents. Pp. 363-381. En *Nematodes as Biocontrol Agents.* P.S. Grewal; R.U. Ehlers; D. I. Shapiro – Ilan (Eds.). CAB International. 2005.
17. Barbercheck ME, Kaya HK. Competitive interactions between entomopathogenic nematodes and *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in soilborne larvae of Spodoptera exigua. *Environ. Entomol.* 1991;20(2):707-712
18. Zimmerman RJ, Cranshaw WS. Compatibility of three entomogenous nematodes (Rhabditida) in aqueous solutions of pesticides used in turfgrass maintenance. *J. Econ. Entomol.* 1990;83(1):97-100.
19. IICASANINET. Broca del café. 2002. Consultada: 2 Jun 2004. Disponible en www.iicasaninet.net/pub/sanveg/html/broca/quees/junio.

(Recibido 10-4-2007; Aceptado 9-5-2008)