

TÍTULO:

Efecto del empleo de alternativas no químicas sobre el biorregulador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant en condiciones de laboratorio.



Autor: Yelina Rocio Mendoza Espinosa

Tutores: MSc. Ana Rodríguez Hernández

MSc. María del L. Reyes Garriga

Cienfuegos

2014

RESUMEN:

Maconellicoccus hirsutus (Green) plaga de gran impacto en cultivos de interés debido a los daños que ocasiona a nivel mundial y sobre todo en el área del Caribe, las autoridades fitosanitarias establecen medidas para minimizar su impacto negativo, constituyendo el método más eficaz la lucha biológica y *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant resulta su biorregulador por excelencia. El trabajo se realizó en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal Cienfuegos durante el periodo comprendido entre 2013-2014, con el objetivo de evaluar en condiciones de laboratorio el efecto de los bioplaguicidas *B. bassiana*, *L.lecanii*, *M. anisopliae*, *B. thuringiensis* Cepa LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista *T. harzianum* cepa A-34, y los fitoplaguicidas *A. indica*, *N. tabacum* y *E. lactea* sobre el biorregulador, *C. montrouzieri*, para lo que se elaboraron preparados de cada producto y se asperjó sobre el biorregulador evaluando el porcentaje de mortalidad y eficacia demostrando que los biopreparados a base de *B. bassiana* y *M. anisopliae* alcanzaron valores de mortalidad del 68 y 86% y de eficacia 76 y 84,6 % respectivamente, resultando moderadamente tóxicos, por tanto incompatibles con el biorregulador. *N. tabacum* alcanzó 64% de mortalidad resultando ligeramente tóxico, declarándose incompatible en este estudio. Por lo que se hace necesario hacer un manejo correcto de todas estas técnicas de control.

Palabras claves: *Maconellicoccus hirsutus* (Green), *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, fitoplaguicidas, biopreparados, toxicidad.

Índice		Página
1.	Introducción	1
2	Revisión bibliográfica	5
2.1	<i>Maconellicoccus hirsutus</i> (Green)	5
2.1.1	Origen y distribución	5
2.1.2	Biología e identificación	5
2.1.3	Daños e impactos que provoca	6
2.1.4	Hospedantes	7
2.1.5	Vías de diseminación	8
2.1.6	Métodos de control	8
2.1.6.1	Control Químico	8
2.1.6.2	Control Cultural	8
2.1.6.3	Control Legal	9
2.1.6.4	Control Biológico	9
2.2	<i>Cryptolaemus montrouzieri</i> Mulsant.	9
2.2.1	Origen y distribución	9
2.2.2	Biología e Identificación	10
2.2.3	Clasificación taxonómica	10
2.2.4	Acción depredadora	10
2.3	Empleo de biopreparados de origen biológico	11
2.3.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> Ber	11
2.3.2	<i>Beauveria bassiana</i> Bálz Vuill	12
2.3.3	<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	12
2.3.4	<i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.) Vieg	13
2.3.4.1	Modo de acción	14
2.3.5	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metschnikoff) Sorokin	14
2.4	Empleo de extractos de insecticidas de origen botánico	14
2.4.1	Plantas consideradas repelentes	16
2.4.2	Plantas con principios fungicidas	16
2.4.3	Plantas con principios insecticidas.	
2.4.4	Métodos de extracción de los principios activos de los insecticidas botánicos	18
2.4.5	Ventajas y desventajas de insecticidas botánicos	18
2.5	Manejo Integrado de Plagas	19
3	Materiales y Métodos	21
3.1	Establecimiento del efecto de los bioplaguicidas <i>B. bassiana</i> , <i>L. lecanii</i> <i>M. anisopliae</i> , <i>B. thuringiensis</i> Cepa LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista <i>T. harzianum</i> Rifai cepa A-34 sobre el biorregulador <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> Mulsant, en condiciones de laboratorio.	21
3.2	Evaluación del efecto de los fitoplaguicidas <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Nim), <i>Euphorbia lactea</i> Haw (Cardón) y <i>Nicotiana tabacum</i> L. (Tabaquina) sobre el biorregulador <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> Mulsant, en condiciones de laboratorio.	22

3.2	Evaluación del efecto de los fitoplaguicidas <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Nim), <i>Euphorbia lactea</i> Haw (Cardón) y <i>Nicotiana tabacum</i> L. (Tabaquina) sobre el biorregulador <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> Mulsant, en condiciones de laboratorio.	23
3.3	Determinación de la toxicidad entre las alternativas no químicas empleadas en este estudio y el biorregulador <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> Mulsant.	23
4.	Resultados y Discusión	25
4.1	Establecimiento del efecto de los bioplaguicidas <i>B. bassiana</i> , <i>L. lecanii</i> <i>M. anisopliae</i> , <i>B. thuringiensis</i> Cepa LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista <i>T. harzianum</i> Rifai cepa A-34 sobre el biorregulador <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> Mulsant, en condiciones de laboratorio.	25
4.2	Evaluación del efecto de los fitoplaguicidas <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Nim), <i>Euphorbia lactea</i> Haw (Cardón) y <i>Nicotiana tabacum</i> L. (Tabaquina) sobre el biorregulador <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> Mulsant, en condiciones de laboratorio.	30
4.3	Determinación de la toxicidad entre las alternativas no químicas empleadas en este estudio y el biorregulador <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> Mulsant.	32
5.	Conclusiones	35
6.	Recomendaciones	36
7.	Bibliografía	37

1. INTRODUCCIÓN:

Vázquez (2003), plantea que una de las vías para reducir el empleo de los plaguicidas químicos, es la introducción de los medios de control biológico, ya que ofrecen una alternativa más favorable e intervienen en la formación de una agricultura ambientalmente segura, socialmente justa y económicamente viable.

En el proceso de transformación hacia una agricultura libre de plaguicidas químicos, juega un papel importante para el control de las plagas agrícolas, el desarrollo y la aplicación de bioproductos de origen botánico y microbiano, lo cual, adquiere una importancia relevante como alternativa al desarrollo de una agricultura sostenible o de bajos insumos, que preserve los recursos naturales y el medio ambiente para las futuras generaciones (Gómez *et al.*, 2002).

Según Vázquez (2006), las sustancias naturales son aquellas que se obtienen a partir de plantas con propiedades plaguicidas las cuales el agricultor puede mantenerlas en las cercas vivas de los huertos intensivos o las fincas agroecológicas, con el fin de emplearlas en la preparación de fitoplaguicidas de forma artesanal.

Desde hace varios años en la agricultura se recomienda el empleo del Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) y la Tabaquina (*Nicotiana tabacum* L.) como preparados caseros para el control de plagas (MINAGRI, 2007). La obtención de los productos naturales de Nim con amplio espectro de acción contra plagas agrícolas, constituye hoy una importante alternativa en el desarrollo de la agricultura sostenible y ecológica. Tal apreciación se fundamenta por el hecho de presentar además esos productos una fácil degradación, sin dejar residuos contaminantes en los agroecosistemas y presentar muy baja toxicidad al hombre y los animales (Estrada y López, 2005). La tabaquina cuyo ingrediente activo es la nicotina contiene un alcaloide considerado uno de los venenos naturales más poderosos (Barrome, 1985). Se obtiene de forma manual a partir de residuos de la elaboración de cigarrillos y

tabaco y se emplea para el control de ácaros y algunos insectos como las moscas blancas y los áfidos (Alfonso *et al.*, 2001).

Por otra parte en los últimos cinco años se ha estado incorporando según Veitia (2013) el empleo del extracto de *Euphorbia lactea* Haw (Cardón) contra insectos de cuerpo blando pues se considera que tiene efecto biocida.

Los bioplaguicidas constituyen otro importante medio de control biológico de plagas en la agricultura, con probada efectividad en muchos países. En Cuba se ofrecen diferentes alternativas en los programas de control en diferentes cultivos, extendidos en todo el país, que comprende la utilización de varias cepas de *Bacillus thuringiensis* Berliner, *Beauveria bassiana* Bals "Vuill, *Lecanicillium lecanii* (Zimm) Vieg, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, y el hongo antagonista *Trichoderma harzianum* Rifai cepa A-34. Por otra parte se establecen además como técnicas de control la liberación, conservación y manipulación de enemigos naturales, depredadores y parasitoides; entre los que se distinguen *Trichogramma* sp., *Tetrastichus howardii* (Walker) a los cuales se les atribuye una gran importancia por su aporte a la conservación de la biodiversidad de los agroecosistemas. (Pérez, 2002).

En Cuba ante la inminencia de introducción de *Maconellicoccus hirsutus* (Green) conocida como la chinche harinosa rosada de los hibiscos, insecto polífago capaz de causar importantes pérdidas económicas en la agricultura y en cultivos de interés como la silvicultura, parque y reservas naturales, y a su fácil diseminación producto del comercio, el turismo y los eventos meteorológicos las autoridades fitosanitarias han establecido un programa de vigilancia permanente.

A escala mundial se reconoce como método más efectivo en el combate de esta plaga la lucha biológica y dentro de ella a *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleóptera: Coccinellidae) como su biorregulador por excelencia capaz de depredar hasta 800 y 1500 ninfas de este organismo nocivo, por lo cual resulta evidente la importancia que cobra la reproducción masiva de este entomófago (Rivera y Hernández, 2006).

En los sistemas agrícolas en el país se emplean diversas técnicas de control de plagas entre las que se encuentran los fitoplaguicidas, los bioplaguicidas y los biorreguladores sin que exista conocimiento sobre el efecto de unos sobre otros, lo cual constituye un problema fundamental en la provincia de Cienfuegos.

Por todo lo anteriormente expuesto se plantea el siguiente problema científico:

¿Cuál será el efecto en condiciones de laboratorio sobre el biorregulador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant cuando se aplican los entomopatógenos *Beauveria bassiana* Bálz Vuill, *Lecanicillium lecanii* (Zimm) Vieg *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, *Bacillus thuringiensis* Ber Ceba LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista *Trichoderma harzianum* Rifai cepa A-34 y los fitoplaguicidas *Azadirachta indica* A. Juss (Nim), *Nicotiana tabacum* L. (Tabaquina) y *Euphorbia lactea* Haw (Cardón)?

Hipótesis

Si se conoce la acción que ejercen los productos entomopatógenos y fitoplaguicidas sobre *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant entonces se podrán trazar estrategias de manejo viables para la efectividad del control y conservación de los mismos.

Objetivo general

Evaluar en condiciones de laboratorio el efecto de los bioplaguicidas *Beauveria bassiana* Bálz Vuill, *Lecanicillium lecanii* (Zimm) Vieg, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, *Bacillus thuringiensis* Ber Ceba LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista *Trichoderma harzianum* Rifai cepa A-34, y los fitoplaguicidas *Azadirachta indica* A. Juss (Nim), *Nicotiana tabacum* L. (Tabaquina) y *Euphorbia lactea* Haw (Cardón) sobre el biorregulador, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant.

Objetivos específicos

1. Establecer el efecto de los bioplaguicidas *Beauveria bassiana* Bálz Vuill, *Lecanicillium lecanii* (Zimm) Vieg, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, *Bacillus thuringiensis* Ber Cepa LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista *Trichoderma harzianum* Rifai cepa A-34 sobre el biorregulador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, en condiciones de laboratorio.
2. Evaluar el efecto de los fitoplaguicidas a base de *Azadirachta indica* A. Juss (Nim), *Nicotiana tabacum* L. (Tabaquina) y *Euphorbia lactea* Haw (Cardón) sobre el biorregulador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, en condiciones de laboratorio.
3. Determinar la toxicidad entre las alternativas no químicas empleadas en este estudio y el biorregulador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA.

2.1 *Maconellicoccus hirsutus* (Green)

Insecto conocido como cochinilla rosada del hibisco, debido a su coloración y preferencia por las especies del género *Hibiscus*. No obstante, se le considera un insecto altamente polífago capaz de causar importantes pérdidas económicas en la agricultura, en cultivos de interés agrícola, la silvicultura, el turismo, parques y reservas naturales (IICA, 1998).

Debido a la creciente importancia que ha adquirido esta cochinilla a partir de los informes sobre el gran impacto económico que ha causado en la región del Caribe, su rápida diseminación y los daños significativos que ha provocado, han motivado que las autoridades fitosanitarias establezcan una vigilancia permanente, en prevención a su posible diseminación en el territorio nacional, (Blanco *et al.*, 1999).

2.1.1 Origen y distribución

Se cree que es originaria del sur de Asia y/o Australia, pero fue descrita originalmente en la India en 1908 como *Phenacoccus hirsutus* Green. Presenta una amplia distribución mundial, ubicándose en las zonas tropicales y subtropicales. Se informa en 23 países de Asia y el Medio Oriente, en 19 países del África, y en 6, entre Australia e Islas del Pacífico (Williams, 1996).

Como se aprecia, esta plaga ha alcanzado en pocos años, un alto ritmo de dispersión, motivo por el cual, muchos países del continente incluido Cuba están preocupados y se preparan para enfrentar su introducción y diseminación.

2.1.2 Biología e identificación

En climas tropicales, tanto el macho como la hembra de la cochinilla rosada, completan su desarrollo en menos de 35 días por lo que pueden alcanzar hasta 15 generaciones en un año (Ghose, 1972).

Se ha señalado que las cochinillas constituyen un grupo de insectos particularmente difíciles de identificar, que requieren de habilidades especiales para su montaje en láminas, equipamiento de alta calidad y el conocimiento de una morfología especializada para reconocer estructuras casi insignificantes presentes en la cutícula del mismo (Watson y Chandler, 2000).

La hembra adulta está recubierta por una capa cerosa blanca, que impide ver claramente su coloración que va desde un naranja, rosado a un rojizo al igual que sus fluidos (Williams, 1996), mientras que los machos presentan un par de alas, y son de coloración más oscura, parecido a un grisáceo, con dos filamentos caudales recubiertos de cera (Mani, 1989).

2.1.3 Daños e impactos que provoca

Estos insectos se caracterizan por tener un aparato bucal picador chupador que le permite succionar la savia de los tejidos vasculares de las plantas, produciendo severa deformación en hojas, tallos, ramas, flores y frutos. En las hojas se manifiestan los síntomas más tempranos, las que adquieren la forma de roseta (Cardona, 2001) pero además pueden aparecer hojas abarquilladas y rizadas. Los brotes jóvenes se observan torcidos y enrollados. Esto se debe, al parecer, a que en el proceso de alimentación, el insecto inyecta una sustancia tóxica.

Debido a la deformación de las hojas y ramas, el crecimiento de la planta se retrasa y los entrenudos de los tallos se acortan. Cuando la infestación es severa, las flores no se abren, se marchitan y caen, al igual que los frutos jóvenes, los que pueden además quedar colgados y secos en el árbol (Eades, 1996). Si la afectación se produce cuando los frutos ya están desarrollados, aparecen síntomas tales como deformaciones y presencia de fumagina, lo que constituye uno de los factores que limitan en mayor grado, la movilización y la comercialización de fruta fresca (Meyerdirk, 1998).

Meyerdirk (2000), señala que los síntomas generales, pueden variar de acuerdo al hospedante describiéndose algunos específicos para los hibiscos. Si la variedad de

planta no es un hospedante adecuado para la cochinilla solo se observarán los síntomas iniciales, como pueden ser el abarquillamiento o rizamiento de las hojas.

Según IICA (1998) en los países del continente americano que han sido infestados por la cochinilla rosada, sus principales impactos directos han ocurrido en las pérdidas de la producción, reducción en la superficie cultivada, pérdidas en el comercio agropecuario, incremento en los costos de producción, pérdida del atractivo estético de propiedades residenciales y comerciales (hoteles, áreas turísticas, entre otras) y costos asociados con la ejecución y mantenimiento de programas de control.

En general las pérdidas económicas han sido cuantiosas en los países afectados que no estaban preparados para responder al problema. Para la subregión del Caribe se informan pérdidas aproximadas de 138 millones de dólares, según los datos disponibles de algunos países, quedando excluidos los costos por concepto de exportaciones (Pollard, 2002).

2.1.4 Hospedantes

Actualmente se informan para *M. hirsutus* más de 200 hospedantes (Padilla, 2000), donde se incluyen plantas diferentes. De particular interés resulta la preferencia por la familia de las Malváceas, representadas por seis especies del género *Hibiscus*. Otros autores informan para el Caribe, más de 170 plantas hospedantes que incluyen cultivos anuales, vegetales, ornamentales, frutas, árboles forestales y malezas, tales como: *Carica papaya* L. (papaya), *Mangifera indica* L. (mango), *Persea americana* Mill. (aguacate), *Coccus nucifera* L. (coco), *Vitis vinifera* L. (uva), *Psidium guajava* L. (guayaba), *Musa* spp. (plátanos), *Cucurbita moschata* Duchense (calabaza), *Glycine max* L. (soya), *Coffea arabica* L. (café), *Solanum melongena* L. (berenjena), *Lycopersicon esculentum* Mill (tomate), *Phaseolus vulgaris* L. (fríjol), *Zea mays* L. (maíz), *Beta vulgaris* var. *vulgaris* L. (remolacha), *Cucumis sativus* L. (pepino), *Daucus carota sativa* D. C. (zanahoria), *Lactuca sativa* L. (lechuga), *Manihot esculenta* Crantz. (yuca), árboles como *Tectona grandis* L. (teca) entre otras, así como las ornamentales *Catleya trianaei* Linden y Reichb (orquídeas), *Nephrolepis* sp. (helechos), y *Dracaena* sp. (dracaenas), entre otras ornamentales (Persad, 1998).

Un aspecto que no debe perderse de vista, es que el 65% de los hospedantes de esta especie, en las regiones infestadas, se encuentran en Cuba, lo cual denota la probabilidad que tiene de establecerse bajo nuestras condiciones.

2.1.5 Vías de diseminación

De manera local la cochinilla rosada puede diseminarse a través de la lluvia, el viento, las aves, la ropa y los vehículos, los que constituyen vías de dispersión de los huevos y estados juveniles de la plaga (Vázquez, 1997). Durante su primer instar ninfal, conocido como migrantes, se pueden desplazar a través de la planta en busca de un lugar para alimentarse (Mani, 1989). Sin embargo, es el hombre el principal diseminador, al movilizar de una región, o país a otro, materiales vegetales que pudieran encontrarse infestados (Kairo, 2000).

2.1.6 Métodos de control

2.1.6.1 Control Químico

Según Araya (2006) al ubicarse la cochinilla en los lugares más protegidos de las plantas, estar cubierto su cuerpo por una capa de cera, así como la protección que le brindan las hormigas, constituyen factores que obstaculizan la acción de los productos químicos, además de consecuencias que podrían tener las aplicaciones químicas, al destruir la fauna benéfica, el efecto para el medio ambiente y la salud humana.

2.1.6.2 Control Cultural

Vázquez (2002) refiere que este método de control consiste en la poda de árboles y partes afectadas de las plantas donde se encuentren grandes poblaciones de cochinilla, quemando o enterrando los residuos a una profundidad aceptable. Este método de control también es poco efectivo y es usado solo en determinadas ocasiones.

2.1.6.3 Control Legal

Las medidas legales son las que ofrecen una mayor protección al mantener regiones libres de la plaga. Estas medidas son básicamente la elaboración de requisitos y la implementación de medidas cuarentenarias a material vegetal así como también el movimiento de personal desde las áreas infestadas (Vázquez, 2002).

2.1.6.4 Control Biológico

La experiencia mundial en el combate contra la cochinilla rosada de los hibiscos, ha demostrado que la vía más efectiva, es el empleo de la lucha biológica, utilizando parasitoides y depredadores (Moore, 1988). Los biorreguladores de la cochinilla rosada del hibisco, están representados por diversos géneros, entre ellos el más abundante, *Anagyrus* con nueve especies; 41 depredadores, de ellos 23 Coleópteros mayoritariamente de la familia Coccinellidae, seguido del orden Neuroptera con siete representantes y un patógeno (Meyerdirk, 2000). Dentro de la gama de parasitoides reportados para el control de esta plaga, Cuba ha encaminado su trabajo a la reproducción y liberación de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant.

2.2 *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant.

2.2.1 Origen y distribución

El depredador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) nativo de Australia, es el enemigo natural más usado en el control de cochinillas. Fue introducido a los EE.UU. en 1891 desde Australia por Albert Koebele, para controlar la cochinilla de los cítricos *Planococcus citri* (Risso) en California. Actualmente es reportado en Nueva Zelanda, Indonesia, Hawaii, EEUU, Egipto, Filipinas, Rusia, España, África, India, Perú, Puerto Rico, Cuba y en Venezuela fue detectado en el estado Nueva Esparta en 1999 con la plaga *M. hirsutus*. En California se reportaron cuatro instares larvales para *C. montrouzieri* utilizando como presa *P. citri* (Torres et al., 2012).

2.2.2 Biología e Identificación

C. montrouzieri es una cotorrita pequeña entre 3 a 4 mm, de color café oscuro con la cabeza color bronceado. La larva crece hasta 1.3 cm de largo y tiene sobre el cuerpo apéndices lanosos, sus patas verdaderas son apenas visibles por debajo. Las hembras adultas ponen sus huevecillos de color amarillo entre las masas algodonosas de huevecillos de las hembras del piojo harinoso, los que eclosionan en aproximadamente 5 días a 27°C. Los tres estados larvarios duran de 12 a 17 días alimentándose de huevecillos de piojos harinosos, caminantes jóvenes y de la mielecilla producida por el piojo. Los adultos emergen de 7 a 10 días y viven hasta por cuatro meses. Cuatro días después de la emergencia las hembras adultas comienzan a poner huevecillos, pudiendo llegar a poner hasta 500 en su vida reproductiva (Milán *et al.*, 2005)

2.2.3 Clasificación taxonómica

Orden: Coleóptera

Familia: Coccinellidae

Nombre científico: *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant

Nombre común: cotorrita

2.2.4 Acción depredadora

Los adultos y larvas de *C. montrouzieri* son voraces depredadores de cochinillas en todos sus estados de desarrollo, aunque muestra clara preferencia por consumir masas de huevos y larvas de primer estadio. Es un depredador muy polífago, pudiendo comer en ocasiones otros artrópodos de cuerpo blando, y llegando incluso al canibalismo. Devora completamente a las cochinillas, pudiendo consumir, a 21°C, hasta 250 larvas de primer estadio durante su ciclo vital (Gautan, 1995).

2.3 Empleo de biopreparados de origen biológico

Vázquez (2003), plantea que una de las vías para reducir el empleo de los plaguicidas químicos, es la introducción de los medios de control biológico, ya que ofrecen una alternativa más favorable e intervienen en la formación de una agricultura ambientalmente segura, socialmente justa y económicamente viable.

El desarrollo agrario actual exige la priorización de la sostenibilidad agroecológica y esto se logra disminuyendo la aplicación de plaguicidas químicos e implementando estrategias más saludables como alternativas para el control de plagas donde el uso de bioplaguicidas ofrece una solución viable. (Fernández-Larrea, 1990).

La producción masiva de entomopatógenos y antagonistas permiten disponer de cantidades apreciables de agentes biológicos en la propia localidad agrícola, pues los Centros Reproductores de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE) se encuentran distribuidos por todo el país Entre los entomopatógenos producidos en los CREE se encuentran: *Beauveria bassiana* Bál. Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, *Lecanicillium lecanii* (Zimm) Vieg., *Bacillus thuringiensis* Ber Ceba LBT-13 y LBT-24 y entre los antagonistas más estudiados se encuentra el género *Trichoderma* spp. (Rodríguez, 2004).

2.3.1 *Bacillus thuringiensis* Ber

Vázquez (2008) plantea que el uso de *B. thuringiensis* como insecticida comercial en la agricultura data de más de cuarenta años y se basa en su alta especificidad y eficiencia hacia las diferentes plagas, y la no toxicidad hacia insectos, plantas y vertebrados no blancos.

Fernández Larrea (2007) por su parte lo considera el más exitoso y que además mantiene potencial para seguir desarrollándose, pues posee una toxicidad selectiva alta debido a su estrecho rango de especificidad y gracias a ello genera en el ambiente un impacto muy bajo.

El mecanismo de acción de las proteínas Cry se describió principalmente en lepidópteros como un proceso de múltiples etapas. Los cristales de *B.thuringiensis* son ingeridos y luego solubilizados en el intestino medio del insecto, tras lo cual se liberan las proteínas cristalinas en forma de protoxinas. Estas no producirán el daño por sí solas, sino que deberán ser procesadas por proteasas intestinales para generar las toxinas activas que llevarán a la muerte de la larva (Fernandez-Larrea, 1990).

Entre las formulaciones biológicas más empleadas en la actualidad para el control de las plagas en la agricultura, se destaca Fernández–Larrea (1999) quien considera que más del 90% de los productos biológicos utilizados actualmente en la agricultura son producidos a base de esta bacteria y las ventas oscilan entre los 200 millones de dólares. Algunos de estos productos son: Bitoxibacillín, Eksotoxin, Agritol, Bactospeine, Bathurin, Biospor, Dipel, Javelin, Sporeine.

2.3.2 *Beauveria bassiana* Bálz Vuill

El hongo pertenece al grupo de los *Deuteromycetes* u hongos imperfectos, tiene la habilidad de sobrevivir como parásito y como saprófito en la materia orgánica. Siempre se encuentra en el campo, sobre todo en zonas húmedas (Monzón, 2004). Es identificado como un hongo cosmopolita que parasita a varios órdenes de insectos. Este se desarrolla en el insecto, al cual destruye, se reconoce por el micelio blanco que desarrolla entre los tegumentos de su hospedero (CNSV, 2008).

2.3.3 *Trichoderma harzianum* Rifai

Las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos, debido a su inocuidad, facilidad para ser aisladas y cultivadas, crecimiento rápido en un gran número de sustratos y que no atacan a plantas superiores. Además es un grupo ampliamente utilizado, debido a sus múltiples usos en la agricultura. De igual forma es estimulador del crecimiento en los cultivos y es utilizado en la degradación de algunos grupos de pesticidas de alta persistencia en el ambiente (Villegas, 2009). Además es un hongo hiperparásito que actúa por medio de una combinación de competencia por nutrientes,

producción de metabolitos antifúngicos, enzimas hidrolíticas y por micoparasitismo (Elosegui, 2006).

La necesidad de proteger los cultivos del ataque de los fitopatógenos del suelo y reducir el uso de los plaguicidas químicos hizo que en Cuba, a partir de 1990, se iniciaran investigaciones dirigidas a introducir el biocontrol con microorganismos como una alternativa promisorio dentro de las medidas de manejo establecidas en los cultivos. La efectividad de *Trichoderma* como agente biocontrolador está demostrada en varias partes del mundo. En las condiciones de Cuba la reducción de la incidencia de varios hongos patógenos de plantas de los géneros *Phytophthora*, *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Pythium* sp. que causan problemas de importancia económica, se logró mediante el uso de biopreparados de *Trichoderma* (Lorenzo, 2001).

Para el hongo antagonista *Trichoderma* spp no es fácil determinar con precisión los mecanismos de acción que intervienen en las interacciones entre los antagonistas y los patógenos en la planta. En general los antagonistas no tienen un único modo de acción y la multiplicidad de estos es una característica importante para su selección como agente de control biológico (Fernández- Larrea, 1997).

2.3.4 *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Vieg

En el 2001 Walter Gams y Rasoul Zare conjuntamente y basados en estudios moleculares forman 3 especies a partir de *Lecanicillium lecanii*, que son: *Lecanicillium lecanii* (Zimmerm.) Zare & Gams, *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams y *Lecanicillium longisporum* ((Petch) Zare & Gams). Las diferencias fundamentales entre las especies están dadas por rango de hospedantes y la talla de los conidios y su uniformidad. En *L. lecanii* los conidios son ligeramente elipsoidales, muy homogéneos en forma y talla y parasitan insectos tropicales solamente, en *L. muscarium* son más largos y delgados y en *L. longisporum* van elipsoidales a ovals, raramente con un septo.

2.3.4.1 Modo de acción

L. lecanii actúa cuando las conidias del hongo en contacto con el insecto entran en competencia con la microflora cuticular produciendo un tubo germinativo que tiene la capacidad de atravesar el tegumento del insecto, se ramifica dentro de su cuerpo y provoca la muerte del hospedante debido a las toxinas secretadas, momificándolo y apareciendo posteriormente una esporulación blanquecina sobre el cuerpo del insecto en condiciones de humedad relativa alta. En el caso de la mosca blanca un síntoma característico del ataque es la muerte y el enrojecimiento de su ojos (Elosegui, 2006).

2.3.5 *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin

M. anisopliae es un hongo patógeno de insectos que ha sido aislado de un amplio rango de hospederos, estudios, realizados han demostrado que inicia la colonización del cuerpo de los insectos mediante la formación de estructuras de presión y la producción de enzimas extracelulares proteolíticas como subtilisina (PR1) y metaloproteasas, así como también enzimas con actividad quitinolítica, es un hongo imperfecto de color verde oliva, pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes. Su reproducción es asexual, en conidióforos que nacen a partir de hifas ramificadas. Este hongo es capaz de adherirse a la cutícula de los insectos y de entrar a su interior por las partes blandas o por vía oral. Normalmente, son entomopatógenos de acción lenta aunque dependen generalmente de las condiciones ambientales de temperatura de alrededor de 25° C y de elevada humedad relativa para que su desarrollo y acción patógena, generalmente tardan una semana como mínimo en eliminar a la víctima o al menos en que esta deje de alimentarse (López- Arismendy, 2002).

2.4 Empleo de extractos de insecticidas de origen botánico

Los insecticidas botánicos fueron muy populares entre los años 30 y 40, pero fueron completamente desplazados por los insecticidas sintéticos producidos en los países industrializados, en los años 50 y 60. Sin embargo, el interés en desarrollar y usar

productos botánicos para el manejo de plagas se está incrementando nuevamente en las últimas décadas debido al impacto negativo de los productos sintéticos en el ambiente y la salud humana, a las estrictas regulaciones gubernamentales e internacionales y a la creciente demanda por productos alimenticios sanos y sin residuos de plaguicidas (Gruber, 2006).

Los preparados botánicos son aquellas extracciones acuosas, cocciones, polvos, fermentados o lixiviados que se elaboran de manera artesanal por el propio agricultor, a partir de plantas o sus partes, que cultivan o colectan en su finca o lugares cercanos y que se emplean por sus propiedades como plaguicidas, con efectos anti alimentario, repelente, coadyuvantes diluyentes, entre otras. Estos biopreparados se utilizan en forma sólida y líquida, se asperjan o espolvorean sobre la planta (Vázquez, 2011).

En el mundo existen miles de plantas a las cuales se les atribuyen efectos insecticidas, acaricidas, nematocidas, molusquicidas, rodenticidas, fungicidas, bactericidas y herbicidas, así como algunas que inhiben el ataque de los virus. Las sustancias naturales más antiguas y de más amplio empleo en el mundo, algunas con vigencia actual, son la nicotina, piretro, rotenona, azadirachtina, alcanfor y trementina (MINAGRI, 2007).

Según Vázquez y Fernández (2007), la explotación de las propiedades semiquímicas de las plantas mediante la extracción de compuestos con características como plaguicidas es una práctica que ha adquirido importancia.

En la actualidad, el uso de extractos vegetales cobra gran importancia para el control de plagas. En el mundo se reportan varios cientos de plantas con acción biocida. Los productos a base de plantas con estas propiedades mencionadas anteriormente son aplicados tanto preventivamente como para afrontar un ataque significativo de las plagas. Las sustancias activas de las plantas silvestres permiten una protección natural y son rentables si se utilizan de forma aceptada y lógica. El uso de los extractos vegetales es una de las técnicas que pueden romper el círculo vicioso de los agroquímicos y de esa manera ayudar a recuperar la estabilidad de los

agroecosistemas, quebrando la dependencia respecto a los insumos importados (Castellanos, 2006).

Los preparados botánicos rústicos son aquellas suspensiones acuosas que se elaboran de manera artesanal por el propio agricultor, a partir de plantas o sus partes, que cultiva o colecta en su finca o lugares cercanos (Vázquez, 2011).

Roog (2000) al profundizar en la preparación de los extractos naturales destaca que pueden ser de dos formas a base de solventes orgánicos ó utilizando agua y señala que la extracción a nivel de laboratorio puede ser reflujo, soxhlet, percolado, arrastre de vapor, maceración, infusión y decocción.

2.4.1 Plantas consideradas repelentes

Son plantas de aroma fuerte que mantienen, alejados los insectos de los cultivos, protegiendo los mismos hasta 10 metros de distancia, algunas repelen un insecto específico y otras varias plaga y se siembran bordeando los extremos de cada surco del cultivo o alrededor del ellos para ejercer una barrera protectora (Mejías, 1995).

2.4.2 Plantas con principios fungicidas

Estudios realizados por Puente *et al.*, (2003) informan sobre el potencial de los extractos de *Polyscia guilfoyley* Bailey (aralia), *Muralla paniculata* L. (muralla), *Crescentia cujete* L. (güira), *Helianthus annuus* L. (girasol), *Mormodica charantia* L. (cundeamor), *Curcuma longa* L. (cúrcuma), *Nicotiana tabacum* L. (tabaco) y *Trichila glabra* L. (ciguaraya); como fungitóxico contra los hongos patógenos de plantas *Fusarium oxysporum* Slecht y *Rhizoctonia solani* Kühn que producen pudriciones secas, damping off y úlceras en tallos y raíces, causantes de elevadas pérdidas en semilleros y plantaciones.

Rivera *et al.*, (2003) realizaron estudios sobre el efecto fungicida de *Melia azedarach* L. (paraíso), *Nicotiana tabacum* L. (tabaco) y *Lantana camara* L. (lantana), contra enfermedades causadas por *Alternaria* sp y *Fusarium* sp en plantas de la familia *Asteraceae*, como *Calendula officinalis* L. y *Matricaria recutita* L.

2.4.3 Plantas con principios insecticidas.

El empleo de los extractos y polvos vegetales, elaborados a partir de diferentes partes de las plantas, como insecticidas botánicos en el control de plagas de insectos, ácaros y nemátodos que afectan a las plantas cultivadas y granos almacenados ha sido una práctica frecuente del campesinado cubano (Estrada y López *et al.*, 2007). Estos autores refieren que muchas son las especies de la flora nativa y exótica que generan sustancias activas con las cuales se pueden elaborar diferentes bioinsecticidas, tales como *Azadirachta indica* A. Juss, (nim), *Melia azedarach* L. (paraíso), *Nicotiana tabacum* L. (tabaco) entre otros.

La especie *Azadirachta indica* A. Juss, pertenece a la familia *Meliaceae*, es originaria de Asia y se cultiva en muchas regiones de África, Australia y América Latina, se adapta bien a los suelos de clima semiárido en países tropicales y sub-tropicales. Según Estrada y López (1996) en Cuba existían en el arboretum del Instituto Nacional de Investigaciones (INIFAT) unos pocos árboles del nim que sobrepasaban los 80 años, sin embargo, la siembra a gran escala que se impulsó a partir de 1991, ha permitido que en la actualidad crezcan en el país más de 200 000 árboles mostrando buena adaptación a las condiciones edafoclimáticas del país.

De acuerdo con lo reportado en la literatura mundial, el Nim contiene un grupo variado de sustancias bioactivas con un alto efecto biológico, entre las que se destacan Azadirachtina A y otras importantes como son la Salanina y la Nimbina. El conjunto de estas sustancias y la acción específica de cada una de ellas, produce en los insectos efecto repelentes, antialimentario, esterilizante, repelente a la ovoposición, insecticida y regulador del crecimiento (Jacobson, 1980; Schmutterer, 1984; Palmer y Singh, 1993; Brechelt, 1995).

Los insecticidas naturales del Nim son de fácil biodegradación por lo que no dejan residuos tóxicos contaminantes (Estrada y López, 1996), teniendo en cuenta estas características su uso se ajusta en el manejo de plagas dirigido a controlar un número considerable de insectos, ácaros y nemátodos que constituyen plagas en los cultivos agrícolas entre los que se pueden citar *Spodoptera frugiperda* S y A, (palomilla del

maíz), *Plutella xylostella* L. (polilla de la col), *Bemisia tabaci* Genn., (mosca blanca), *Keiferia lycopersicella* (Busck), (minador de la hoja del tomate), *Nezara viridula* L. (chinche del arroz), *Heliothis virescens* F, (cogollero del tabaco) *Diaphania hyalinata* L. (gusano de los melones) *Callosobruchus maculatus* F., (gorgojo del caupi), *Cylas formicarius* Fabricius, (tetuán del boniato), *Acanthoscelides obtectus* (Say), (gorgojo del arroz) y ácaros como *Tetranychus urticae* Koch, *Panonychus citri* McGregor entre otros y nemátodos como es el caso de *Meloidogyne incognita* Kofoid White Chitwood. (Estrada 1994 y 1995; Estrada y López, 1996; Avilés *et al.*, 1995; Brechelt, 1995; Crespo *et al.*, 1995; Schmutterer, 1989 y 1994; Gruber, 1992).

Según (Roselló *et al.*, 2012) en condiciones semicontroladas *Euphorbia láctea* demostró tener acción perjudicial ante la *D. balteata*. Las sustancias Terpénicas, ácido oxálico, ésteres ácidos grasos y de glicerol o de otros alcoholes contenidas en el metabolismo secundario de la *Euphorbia láctea* pueden tener acción convulsionante, irritante, provocando diarreas con hemorragias producto de la intoxicación, también contienen principios licitotóxicos e insecticidas, ante la *D. balteata*. Roig (2012) informa a *Euphorbia lactea* Haw como una especie nativa de Cuba frecuente en cerca vivas.

2.4.4 Métodos de extracción de los principios activos de los insecticidas botánicos

De acuerdo con Castellanos (2006) y Vázquez (2011) los métodos de obtención de los principios activos son variados, los cuales van desde formas simples, fácilmente de realizar por el agricultor, hasta formas más complejas.

2.4.5 Ventajas y desventajas de insecticidas botánicos

La utilización de plaguicidas en los últimos sesenta años lejos de resolver el problema del control de plagas ha provocado diversos disturbios biológicos y ecológicos, lo que ha obligado a la búsqueda de alternativas insecticidas (Orama *et al.*, 2003).

Entre las ventajas que destaca Vázquez (2011) en el empleo de insecticidas vegetales están que son conocidas por el agricultor, muchas veces poseen otros usos como

medicinales o repelentes de insectos caseros. Debido a su rápida degradación puede ser favorable pues disminuye el riesgo de residuos en los alimentos. Muchos de estos compuestos no causan fitotoxicidad. Desarrollan resistencia más lentamente que los insecticidas sintéticos.

Dentro de las desventajas, este mismo autor refiere, que no todos son insecticidas sino que muchos son insectistáticos, lo que los hace tener una acción más lenta. Se degradan rápidamente por los rayos ultravioletas por lo que su efecto residual es bajo. No todos resultan menos tóxicos que los sintéticos y no se encuentran disponibles durante toda la temporada. Los límites máximos de residuos no están establecidos. No existen registros oficiales que regulen su uso y no todas las recomendaciones que manejan los agricultores han sido validadas con rigor científico.

2.5 Manejo Integrado de Plagas

El Manejo Integrado de Plagas (MIP) constituye una etapa superior en la protección de plantas, donde se establece una estrategia para el manejo de plagas en el contexto socio económico de los sistemas agrícolas, el medio ambiente asociado y la dinámica de la población de las diversas especies, utiliza todos los métodos técnicos apropiados y compatibles para mantener la población de la plaga por debajo del nivel de daño económico. En teoría el manejo debiera incorporar diversas y variadas tácticas para el control, apoyándose primero en los factores de control natural y en el manejo de estos factores utilizando plaguicidas (Altieri, 1997).

Castellanos *et al.*, (1998) lo definen como un sistema en el que todos los procedimientos factibles económicos, tóxicos y ecológicos son usados con el máximo de armonía, para mantener los organismos nocivos por debajo del umbral económico de daños, donde la explotación consciente de los factores de regulación natural resulta de una importancia capital.

Según Piñón (2002) plantea que el Manejo Integrado de Plagas debe incorporar diferentes tácticas para el control, sustentadas fundamentalmente en la utilización y manejo de los factores de control natural, y en última instancia la utilización de

plaguicidas químicos, por lo que cada vez más el MIP, en el marco de una agricultura sostenible, tiende hacia el desarrollo de un manejo ecológico de plagas (MEP).

Una de las definiciones más recientes sobre MIP, establece que es “ Un sistema de manejo de plagas que, en el contexto del agroecosistema y la dinámica de población de las especies, utiliza todas las técnicas y métodos apropiados de manera armónica para mantener las poblaciones de plagas a niveles bajos, causando daños o pérdidas económicamente aceptables. Debe ser un sistema que tenga aceptación social, que garantice estabilidad ecológica, seguridad ambiental y no afecte el desarrollo de los recursos humanos” (González y Rivas, 2000).

3. MATERIALES Y METODOS.

El trabajo se desarrolló en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos durante el período comprendido entre Septiembre 2013 a Mayo 2014 para lo cual se emplearon ejemplares adultos de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant obtenidos en el área de cría de los entomófagos, y cultivos puros agarizados de los microorganismos *B. bassiana*, *L. lecanii* *M. anisopliae*, *B. thuringiensis* Cepa LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista *T. harzianum* Rifai cepa A-34 procedentes del cepario de los entomopatógenos; además de las plantas fitoplaguicidas *Azadirachta indica* A. Juss (Nim), *Euphorbia lactea* Haw (Cardón) y *Nicotiana tabacum* L. (Tabaquina).

El trabajo se dividió en tres etapas:

3.1. Establecimiento del efecto de los bioplaguicidas *B. bassiana*, *L. lecanii* *M. anisopliae*, *B. thuringiensis* Cepa LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista *T. harzianum* Rifai cepa A-34 sobre el biorregulador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, en condiciones de laboratorio.

Para la ejecución de esta tarea se colectaron 80 adultos de la especie del biorregulador *C. montrouzieri*, de ellos 40 para la evaluación en el testigo y 40 para realizar el tratamiento de los microorganismos que se estudiaron. Se preparó una dilución seriada de cada microorganismo en cuestión procedente de un cultivo puro agarizado hasta obtener una concentración de 10^8 ufc/ml.

En placas petri se colocaron los adultos del biorregulador a razón de 10 individuos por placa hasta lograr 4 réplicas para cada tratamiento y para el testigo. La solución del microorganismo obtenida se asperjó sobre el biorregulador mientras que el testigo se asperjó con agua destilada estéril. Posteriormente se le colocó el alimento.

Las evaluaciones comenzaron a partir de las 24 horas contabilizándose cada día los insectos vivos y muertos por réplicas en el testigo y el tratamiento en cuestión hasta los 18 días.

Una vez muertos los insectos se determinó el porcentaje de mortalidad para cada uno de los tratamientos según la fórmula (INISAV, 2010)

% mortalidad = $a - b / a \times 100$, donde;

a: adultos vivos en el testigo

b: adultos vivos en el tratado

Posteriormente se desinfectaron los insectos muertos con una solución de cloro al 2 %, enjuagándose con agua destilada estéril, y se ubicaron en cámara húmeda en condiciones controladas de climatización durante 15 días, evaluando sistemáticamente la posible incidencia del microorganismo en estudio para la determinación de su eficacia empleando la fórmula:

% eficacia = $a / b \times 100$, donde;

a: adultos micosados

b: adultos muertos

3.2. Evaluación del efecto de los fitoplaguicidas *Azadirachta indica* A. Juss (Nim), *Euphorbia lactea* Haw (Cardón) y *Nicotiana tabacum* L. (Tabaquina) sobre el biorregulador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, en condiciones de laboratorio.

La evaluación del efecto fitoplaguicida de las plantas se realizó de igual forma que para el acápite anterior, colectando 80 adultos de la especie del biorregulador *C. montrouzieri*, de ellos 40 para la evaluación en el testigo y 40 para realizar el tratamiento.

El producto a base de *Azadirachta indica* A. Juss (Nim) se preparó según el método descrito por Ortega *et al.*, (2009) para lo cual se pesaron 60 gramos de hojas de Nim mezcladas en un litro de agua, luego se dejó reposar por 48 horas, posteriormente se filtró y se preservó la solución para ser empleada.

Euphorbia lactea Haw (Cardón), se preparó de acuerdo a lo recomendado por Barrueta *et al.*, (2013) para lo cual se emplearon 0.3 kilogramos de las partes jóvenes del Cardón, se cortaron trozos de tres a cinco centímetros de las plantas adultas de hasta tres metros de altura, se colocó en un recipiente, macerándose las hojas y se le adicionó un litro de agua, se dejó reposar durante 24 horas agitando en sentido de las manecillas del reloj y posteriormente esta suspensión se mezcló con agua a una proporción del 50 por ciento para ser empleada.

La suspensión de *Nicotiana tabacum* L. (Tabaquina) se realizó según la describe Suárez (2013) para lo cual se pesaron 250 gramos de venas de tabaco y se diluyó en un litro de agua dejando reposar por espacio de 24 horas al cabo del cual se le añadió 10 gramos de cal y se preservó para ser utilizada.

Se colocaron los adultos del biorregulador a razón de 10 individuos por placa hasta lograr 4 réplicas para cada tratamiento y para el testigo.

Las evaluaciones comenzaron a partir de las 24 horas contabilizándose cada día los insectos vivos y muertos por réplicas en el testigo y el tratamiento en cuestión hasta los 11 días.

Una vez muertos los insectos se determinó el porcentaje de mortalidad para cada uno de los tratamientos según la fórmula (INISAV, 2010)

$\% \text{ mortalidad} = a - b / a \times 100$, donde;

a: adultos vivos en el testigo

b: adultos vivos en el tratado

3.3. Determinación de la toxicidad entre las alternativas no químicas empleadas en este estudio y el biorregulador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant.

Una vez obtenido los resultados del porcentaje de mortalidad y eficacia de los microorganismos y los fitoplaguicidas se elaboró una tabla de toxicidad empleando la escala utilizada por la OILB (Organización Internacional de Lucha Biológica (Jacas

y Viñuelas, 1993), para ensayos residuales de laboratorio, la que se relaciona a continuación:

Categoría 1 – Inocuo < 30%

Categoría 2 – Ligeramente tóxico 31-75%

Categoría 3 – Moderadamente tóxico 75-90%

Categoría 4 – Tóxico > 90

De acuerdo a los resultados obtenidos en cuanto a la toxicidad se confeccionó una tabla de compatibilidad de este biorregulador con los entomopatógenos y fitoplaguicidas más empleados en el control de plagas en la agricultura.

Con los datos obtenidos en las evaluaciones se realizó un análisis de varianza utilizando el paquete estadístico SPSS para Windows versión 11; los valores de porcentaje se transformarán en $2 \arcsen \sqrt{p}$ (Lerch, 1987).

4. RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1 Establecimiento del efecto de los bioplaguicidas *B. bassiana*, *L. lecanii* *M. anisopliae*, *B. thuringiensis* Cepa LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista *T. harzianum* Rifai cepa A-34 sobre el biorregulador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, en condiciones de laboratorio.

De acuerdo a los resultados obtenidos (Tabla 1) se evidenció que siete días posteriores a la aplicación, los mayores porcentajes de afectación a *C. montrouzieri* lo obtuvo *B. bassiana* con valores del 52.0 %, seguido de *M. anisopliae* con 35.0 % de mortalidad, por su parte en los biopreparados de las cepas LBT-24 y LBT-13 de *B. thuringiensis* los valores oscilaron entre 1.1 y 4.4 % respectivamente, mientras que para *L. lecanii* y *T. harzianum* estuvieron entre 4.4 y 3.1 %; según los resultados estadísticos para este momento de la evaluación *B. bassiana* y *M. anisopliae* difirieron entre sí y con el resto de los microorganismos evaluados mientras que *B. thuringiensis* cepa LBT-13, *L. lecanii* y *T. harzianum* no difirieron entre sí pero si con todos los demás, mientras que la cepa LBT-24 difirió con todos.

En la evaluación realizada a los 14 días aunque los valores de afectación fueron en ascenso en todos los casos de forma proporcional, mantuvieron la misma tendencia que a los siete para todos los microorganismos; exceptuando a *M. anisopliae* que incrementó sus valores de mortalidad sobre *C. montrouzieri* a 78.0%.

Por su parte a los 18 días de montado el experimento aunque se manifestaron los mismos resultados estadísticos es necesario resaltar que en este momento los porcentajes de afectación fueron superiores para cada caso y *M. anisopliae* alcanzó los mayores valores de mortalidad (86.0%) seguido en este momento por *B. bassiana* con 68.0 %. (Figura 1).

A pesar de que a los siete días *B. bassiana* alcanzó los mayores valores de mortalidad, fue *M. anisopliae* quien logró los mayores porcentajes de afectación para *C. montrouzieri* en el desarrollo de este estudio.

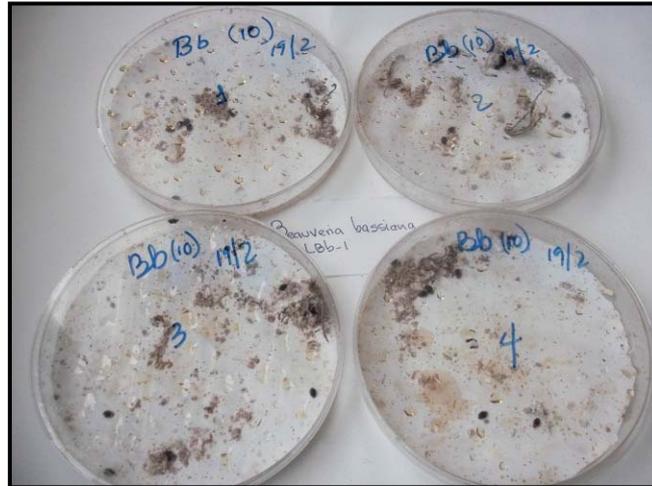


Figura 1. Mortalidad de *C. montrouzieri* frente a *B. bassiana*

Los resultados alcanzados en este estudio no coinciden con los obtenidos por Massó y López (2012) quienes obtuvieron valores de mortalidad del 100 % en *B. bassiana* y *M. anisopliae*, mientras que con *B. thuringiensis* y *L. lecanii* lograron 97.5 %

Si se tiene en cuenta lo planteado por Elosegui, (2006) cuando afirma que cada microorganismo tiene un grupo de órdenes de insectos diana donde su control es más específico; y que para el caso de *B. thuringiensis* se alega que de acuerdo al tipo de cepa así será el grupo a controlar; por tanto para la cepa LBT-24 serían los lepidópteros y para LBT-13 lo es el orden acarina, mientras que *L. lecanii* controla preferentemente insectos del orden hemíptera con aparato bucal picador chupador; por su parte *T. harzianum* es antagonista de hongos del suelo, mientras que *B. bassiana* y *M. anisopliae* actúan sobre varios órdenes de insectos que agrupan varias especies de Lepidópteros (*Mocis sp.*, *Spodoptera spp.*), Ortópteros (*Locusta sp.*, *Schistocerca spp.*) y Coleópteros (*Cosmopolites sp.*, *Pachnaeus sp.*), donde se incluye el biorregulador motivo de estudio por tanto es perfectamente razonable el resultado alcanzado.

Tabla 1. Resultados del porcentaje de mortalidad de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant frente a los bioplaguicidas *B. bassiana*, *L. lecanii*, *M. anisopliae*, *B. thuringiensis* Cepa LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista *T. harzianum* cepa A-34.

Bioplaguicidas	Días evaluados		
	7 días	14 días	18 días
<i>B. thuringiensis</i> LBT-24	1.1 d	6.0 d	6.0 d
<i>B. thuringiensis</i> LBT-13	4.4 c	14.0 c	14.0 c
<i>L. lecanii</i>	4.4 c	12.0 c	15.0 c
<i>B. bassiana</i>	52.0 a	54.0 b	68.0 b
<i>T. harzianum</i> Cepa A-34	3.1 c	9.0 c	16.0 c
<i>M. anisopliae</i>	35.0 b	78.0 a	86.0 a
CV	33.82	27.12	23.30
ET	0.27	0.29	0.28

*Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ según test de Duncan (Lerch, 1977).

Como una vía de corroborar los resultados obtenidos anteriormente y para determinar la capacidad de los microorganismos de reproducirse sobre el insecto y de esta forma tener garantía de la afectación; se evaluó el porcentaje de eficacia (Tabla 2) demostrándose que la aparición de la micosis en el biorregulador *C. montrouzieri* una vez muerto solo ocurrió en *B. bassiana* y *M. anisopliae* con valores de 76% y 84.8% respectivamente (Figura 2 y 3) lo cual evidencia que estos preparados pueden desarrollarse sobre el biorregulador, no así en el caso de los demás microorganismos estudiados.



Figura 2. Parasitismo de *B. bassiana* sobre *C. montrouzieri*.



Figura 3. Parasitismo de *M. anisopliae* sobre *C. montrouzieri*.

Fernández-Larrea (1997) plantea que el modo de acción de los hongos entomopatógenos ocurre principalmente por contacto, cuando el hongo es capaz de penetrar dentro del insecto e invadirlo, provocándole la muerte por micosis. Asegura además que la mayoría de estos producen sustancias líticas y toxinas que ayudan a la penetración y a inhibir los mecanismos de defensa de los insectos. Si se tienen en cuenta los insectos diana para cada grupo de hongos entomopatógenos se justifican plenamente estos resultados teniendo en cuenta la preferencia de *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre insectos del orden Coleóptera no ocurriendo así para los hongos *L. lecanii* y *T. harzianum*.

B. thuringiensis por su parte actúa preferentemente por ingestión (Fernández-Larrea (1995) por lo que el insecto debe ingerir el alimento aplicado para ejercer su acción, esto no ocurrió en este experimento, lo cual unido a que los insectos diana para esta bacteria preferentemente son del orden Lepidóptera y Acarina, confirman estos resultados.

Tabla 2. Resultados del porcentaje de eficacia de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant frente a los bioplaguicidas *B. bassiana*, *L. lecanii*, *M. anisopliae*, *B. thuringiensis* Cepa LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista *T. harzianum* cepa A-34

Bioplaguicidas	Porcentaje de eficacia (%)
<i>B. thuringiensis</i> LBT-24	0
<i>B. thuringiensis</i> LBT-13	0
<i>L. lecanii</i>	0
<i>B. bassiana</i>	76
<i>T. harzianum</i> Cepa A-34	0
<i>M. anisopliae</i>	84.8

4.2. Evaluación del efecto de los fitoplaguicidas *Azadirachta indica* A. Juss (Nim), *Euphorbia lactea* Haw (Cardón) y *Nicotiana tabacum* L. (Tabaquina) sobre el biorregulador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, en condiciones de laboratorio.

Los resultados del porcentaje de mortalidad de *C. montrouzieri* frente a los insecticidas botánicos a base de *A. indica* (Nim), *N. tabacum* (Tabaquina) y *E. lactea* (Cardón) (Tabla 3) a los cuatro días de aplicado el producto reflejaron que los mayores porcentajes de afectación (26%) ocurrieron con el preparado *N. tabacum* (Tabaquina) incrementando sus valores a 64% en los días siguientes (Figura 4); en orden de afectación le siguió el Cardón, con valores entre el 5% y el 10 %, mientras que los valores más bajos ocurrieron con *A. indica* (Nim) alcanzando valores entre el 3,1% y 4,4%. En los tres casos evaluados los mayores valores se alcanzaron entre el sexto y el oncenno día.

En cuanto a los resultados estadísticos todas las variantes difirieron entre sí en todos los momentos evaluados.

Los resultados obtenidos en este estudio corroboran lo planteado por diversos autores cuando consideran a la tabaquina como el insecticida de los productos botánicos. Estudios realizados por Pascual-Villalobos (1998) demostraron niveles de mortalidad sobre *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae), entre el 40% y el 50%. Si se tiene en cuenta que el biorregulador motivo de estudio pertenece al mismo orden que el insecto plaga estudiado por el autor, puede considerarse la tabaquina como controlador de este grupo de insectos.

Por su parte los resultados con *A. indica* (Nim) con valores que no exceden el 5% de mortalidad sobre *C. montrouzieri* pueden estar debidos a que este producto según estudios realizados por Estrada (2013) manifiesta un nivel aceptable de compatibilidad entre la entomofauna biorreguladora y otros medios naturales.

En el caso del extracto de *A. indica* (Nim) algunos autores refieren que la acción insecticida tarda un tiempo en manifestarse. Viñuela y col (1998) demostraron que los mejores resultados obtenidos en *Podisus maculiventris* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae), chinche depredadora, ocurrió cuando esta ingirió el preparado; no así cuando se le asperjó donde sólo se produjeron efectos subletales.

Los resultados de la afectación con el extracto de *E. lactea* (Cardón) corroboran lo planteado por Veitía (2003) cuando asegura que este sólo es efectivo contra insectos de cuerpo blando.



Figura 4. Mortalidad de *C. montrouzieri* frente al insecticida botánico *N.tabacum* (Tabaquina)

Tabla 3. Resultados del porcentaje de mortalidad de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant frente a los fitoplaguicidas *Azadirachta indica* A. Juss (Nim), *Euphorbia lactea* Haw (Cardón) y *Nicotiana tabacum* L. (Tabaquina)

Fitoplaguicidas	Días evaluados		
	4 días	6 días	11 días
<i>Nicotiana tabacum</i> L. (Tabaquina)	26.0 a	64.0 a	64.0 a
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Nim)	3.1 c	3.1 c	4.4 c
<i>Euphorbia lactea</i> Haw (Cardón)	5.0 b	10.0 b	10.0 b
CV	58.0	45.0	42.0
ET	0.37	0.42	0.41

*Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ según test de Duncan (Lerch, 1977).

4.3 Determinación de la toxicidad entre las alternativas no químicas empleadas en este estudio y el biorregulador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant.

Teniendo en cuenta la escala empleada por la OILB (Jacas y Viñuelas, 1993), se pudo determinar que los microorganismos *L. lecanii*, *B. thuringiensis* Cepa LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista *T. harzianum* cepa A-34 resultaron inocuos a *C. montrouzieri* ya que no sobrepasaron el 30 % de mortalidad; por su parte *B. bassiana* y *M. anisopliae*, resultaron moderadamente tóxico, manifestando valores de eficacia de los microorganismos sobre el biorregulador por encima del 71.0% (Tabla 4).

Estos resultados no están en correspondencia con los obtenidos por Massó y López (2012) quienes declararon a *B. thuringiensis* y *L. lecanii* moderadamente tóxicos mientras que *B. bassiana* y *M. anisopliae* resultaron tóxicos a *C. montrouzieri*.

Tabla 4. Grado de toxicidad de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant frente a los bioplaguicidas *B. bassiana*, *L. lecanii*, *M. anisopliae*, *B. thuringiensis* Cepa LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista *T. harzianum* Cepa A-34.

Bioproductos	Grado de toxicidad
<i>B. thuringiensis</i> LBT-24	Inocuo
<i>B. thuringiensis</i> LBT-13	Inocuo
<i>L. lecanii</i>	Inocuo
<i>B. bassiana</i>	Moderadamente tóxico
<i>T. harzianum</i> Cepa A-34	Inocuo
<i>M. anisopliae</i>	Moderadamente tóxico

Según los resultados obtenidos del porcentaje de afectación de los fitoplaguicidas, se pudo determinar que *A. indica* (Nim) y *E. lactea* (Cardón) resultaron inocuos al biorregulador *C. montrouzieri*, pues los valores de mortalidad no sobrepasaron el 10%, pudiéndose inferir que una vez que se apliquen en los programas de manejo de control de plagas la sobrevivencia del biorregulador estará por encima del 70 %.

Por su parte en el caso de *N. tabacum* (Tabaquina) los valores de afectación se comportaron alrededor del 60%, considerándose por tanto ligeramente tóxico. De aquí que el empleo combinado de estas técnicas provocaría una supervivencia del biorregulador de solo el 40% (Tabla 5).

Tabla 5. Grado de toxicidad de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant frente a los fitoplaguicidas *Azadirachta indica* A. Juss (Nim), *Euphorbia lactea* Haw (Cardón) y *Nicotiana tabacum* L. (Tabaquina).

Fitoplaguicidas	Grado de toxicidad
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Nim)	Inocuo
<i>Euphorbia lactea</i> Haw (Cardón)	Inocuo
<i>Nicotiana tabacum</i> L. (Tabaquina)	Ligeramente tóxico

Teniendo en cuenta los resultados de toxicidad de los biopreparados de origen microbiano evaluados en (Tabla 6) se declararon compatibles con *C. montrouzieri* los preparados a base de *B. thuringiensis* Cepa LBT- 13 y LBT-24, *L. lecanii*, y *T. harzianum* cepa A-34 mientras que *B. bassiana* y *M. anisopliae* son incompatibles, por lo que se hace necesario tener este aspecto en cuenta en el momento de trazar una estrategia de control.

Tabla 6. Tabla de compatibilidad de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant frente a los bioplaguicidas *B. bassiana*, *L. lecanii* *M. anisopliae*, *B. thuringiensis* Cepa LBT-13 y LBT-24 y el hongo antagonista *T. harzianum* cepa A-34.

Bioproductos	Compatibilidad
<i>B. thuringiensis</i> LBT-24	Compatible
<i>B. thuringiensis</i> LBT-13	Compatible
<i>L. lecanii</i>	Compatible
<i>B. bassiana</i>	Incompatible
<i>T. harzianum</i> Cepa A-34	Compatible
<i>M. anisopliae</i>	Incompatible

Los resultados de toxicidad de los productos de origen botánico demostraron que *N. tabacum* (Tabaquina) provocó daños a *C. montrouzieri* por lo que se declara incompatible, mientras que *E. lactea* (Cardón) y *A. indica* (Nim) no provocaron acción negativa significativa por tanto son perfectamente compatibles cuestión que se hace necesario se tenga en cuenta al aplicar estas técnicas de control de forma combinada (Tabla 7)

Tabla 7. Tabla de compatibilidad de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant frente a los fitoplaguicidas *Azadirachta indica* A. Juss (Nim), *Euphorbia lactea*, Haw (Cardón) y *Nicotiana tabacum* L. (Tabaquina).

Fitoplaguicidas	Compatibilidad
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Nim)	Compatible
<i>Euphorbia lactea</i> Haw (Cardón)	Compatible
<i>Nicotiana tabacum</i> L. (Tabaquina)	Incompatible

5. CONCLUSIONES:

1. Los mayores porcentajes de afectación de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant así como de eficacia ocurrieron con los preparados microbiológicos *Beauveria bassiana* Bál. Vuill y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin resultando moderadamente tóxicos por lo que se declaran incompatibles con el biorregulador.
2. *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant presentó el mayor porcentaje de afectación (64.0%) con el empleo del fitoplaguicida a base del preparado de Tabaquina, resultando ligeramente tóxico declarándose incompatible
3. Los preparados de origen biológicos *B. thuringiensis*, *L. lecanii* y *T. harzianum* y los botánicos *Azadirachta indica* A. Juss (Nim) *Euphorbia lactea*, Haw (Cardón) resultaron inocuos por tanto compatibles con *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant

6. RECOMENDACIONES:

1. Extender este estudio a condiciones de campo.
2. Socializar los resultados obtenidos en este trabajo.
3. Realizar estudios similares con otros biorreguladores.

7. BIBLIOGRAFIA

- ACTAF. (2004). plagas, enfermedades y métodos de control en huertos y organopónicos ETPP Caonao mayo.
- Alfonso, M.; R. Avilés; N. González; X. Cruz; R. Villasana; V. Rodríguez; M. Álvarez; Y. Lorenzo y Rodríguez. (2001a). Los plaguicidas botánicos y su importancia en la Agricultura Orgánica. Revista Agricultura Orgánica. ACTAF. Cuba. Año 8 No. 2 ISBN 1028-2130.
- Alfonso, M.; R. Avilés; N. González; X. Cruz; R. Villasana; V. Rodríguez; M. Álvarez; Y. Lorenzo y Rodríguez. (2001b). Los plaguicidas botánicos y su importancia en la Agricultura Orgánica. Revista Agricultura Orgánica. ACTAF. Cuba. Año 8 No. 2 ISBN 1028-2130.
- Altieri, M. A. (1997). Agroecología: En Bases científicas para una agricultura sustentable. (pág. 249).
- Araya JG. (2006). La cochinilla rosada. Disponible en: [http:// www microplanta.com](http://www.microplanta.com)»Blog Archive»La cochinilla rosada.htm.
- Avilés, R., Estrada, J., Morales, A, González, A., Chiang, M. L., Guibert, G., et al. (1995). Control del Tetúan del boniato (*Cylas formicarius* var *elegantulus* F.) con productos obtenidos del árbol del Nim y del Paraíso. Primer Taller Internacional y Tercero Nacional sobre Plaguicidas Biológicos de Origen Botánico.
- Barrome, E.S. (1985). Transport and storage trial of cabbage treated with lime and alum for control of bacterial soft rot (*Erwinia carotovora*) The Phylippinies Rep. NO. 5 p. 156-154.
- Barrueta L. (2013). Efectividad del extracto acuoso de *Eupobia Lactea* Haw como alternativa local para el control de *plutella xylostella*. En col (*Brassica oleracea* L).

- Blanco ER, Navarro A, Pérez Isabel, Vázquez L, Martínez Maria A, López R. (1999). Actions undertaken as part of the Cuban Defense Programme against the Pink Hibiscus Mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green). In: Workshop on the Biological Control of Pink Hibiscus Mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) in the Caribbean Sub-Region. Port of Spain. Trinidad and Tobago.
- Brechelt, A. (1995). El árbol para la agricultura y el medio ambiente. Experiencias en la República Dominicana. (pág. 133). República Dominicana: Fundación Agricultura y medio ambiente.
- C.N.S.V. (2008). Manual de funciones para las ETPP. Centro Nacional de Sanidad Vegetal. MINAGRI.
- Cardona Catherine. (2001). Seminarios sobre la cochinilla rosada *Maconellicoccus hirsutus* (Green). Proyecto Regional de fortalecimiento de la Vigilancia Fitosanitaria en Cultivos de Exportación no tradicionales-Vifinex. Memorias. Guatemala.
- Castellanos, L. (2006). Los extractos vegetales en el manejo de plagas. Conferencia de la Maestría de Agricultura Sostenible. CETAS, Universidad de Cienfuegos. Cuba.
- Castellanos, L., T. Rivero, B. Roselló, R. Jiménez, M. Dueñas, A. Rodríguez, et al. (1998). Manual para el establecimiento de los Manejos Integrados de Plagas en la Provincia Cienfuegos, LAPROSAV.
- Crespo, J., Estrada, J., Toledo, T., & Rey, X. (1995). Uso de insecticidas botánicos para el control de *Heliiothis virescens* f. en el cultivo del tabaco. En Resumen Primer Taller Internacional y Tercero Nacional sobre Plaguicidas Biológicos de Origen Botánico, BioPlag 95 (pág. 139). Ciudad Habana.
- Eades, A. (1996): The pink mealybug in the Caribbean. En: Regional Actions Programme for Control of the Pink Mealybug Fact Sheet (Trinidad). 4pag.
- Elósegui, O. (2006 a). Métodos artesanales de producción de bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas. Instituto de investigaciones de Sanidad Vegetal. Ciudad de la Habana. Cuba.

- Elósegui, O. (2006 b). Métodos artesanales de producción de bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas. Instituto de investigaciones de Sanidad Vegetal. Ciudad de la Habana. Cuba.
- Estrada, J. (1994). El Nim y el Paraíso en Cuba, su cultivo y explotación como insecticidas botánicos. Memorias Primer Congreso Latinoamericano y del Caribe sobre Nim y otros insecticidas vegetales. (págs. 103- 111). República Dominicana.
- Estrada, J. (1995). Progresos del cultivo del Nim y las investigaciones con insecticidas naturales. Resumen Primer Taller Internacional y Tercero Nacional sobre Plaguicidas Biológicos de Origen Botánico (pág. 139). Ciudad Habana: BioPlag 95
- Estrada, J. y López, M: T. (2005). El Nim una alternativa agroecológica sostenible. Manual técnico. 2da y 3ra Ed. Modificada. Culiacán, Sinaloa, Mexico.26pp.
- Estrada, J., & López, M. (1996a). Los Bioplaguicidas en la Agricultura Sostenible Cubana. Instituto de Investigaciones Fundamentales de Agricultura Tropical. INFAT La Habana: Alejandro de Humboldt.
- Estrada, J., & López, M. (199 b). Los bioplaguicidas, alternativa de autosostenibilidad en la agricultura cubana. I Taller Latinoamericano sobre Bio-plaguicidas. Zamorano. Honduras.
- Estrada, J. (2013). Producción y uso de los bioproductos del Nim en el manejo ecológico de plagas. Manual para la adopción del Manejo Agroecológico de plagas. Vol. 2 pág. 91-102.
- Fernández – Larrea, O. (1997). Actualidad y perspectivas en la producción e investigación de bioplaguicidas, Situación en Cuba”, V Encuentro Nacional Científico- Técnico de Bioplaguicidas (págs. 9-15). Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. La Habana.
- Fernández-Larrea, O.; A. Díaz. (1990). «Influencia del PH en el cultivo de *Bacillus thuringiensis*», Rev. Prot de Plantas 3(4):93-98, La Habana.

- Fernández-Larrea, O.; A. Díaz; R. Calderón; R. Santiesteban: «Thurisav, biopesticida de *B. thuringiensis* para el control de plagas agrícolas», Fórum Nacional de Ciencia y Técnica, La Habana, dic. (1994) (Informe fondos Inisav, 1995).
- Fernández-Larrea, O.; A. Díaz; R. Calderón; R. Santiesteban: «Thurisav, biopesticida de *B. thuringiensis* para el control de plagas agrícolas», Fórum Nacional de Ciencia y Técnica, La Habana, dic. (1994) (Informe fondos Inisav, 1995).
- Gaitán, R.D. (1995). Control biológico clásico en la Cochinilla rosada del Hibiscus. Disponible en: [http://: www.organismosbeneficos.com](http://www.organismosbeneficos.com)
- Ghose, S.K. (1972): Biology of the mealybug *Maconellicoccus hirsutus*. *Indian Agric.* 16(4): 323-332.
- Gómez, E.; Álvarez, R.; Zayas, M.A.; Hernández, J.; Lemes, T.; Croche, G.; Cruz, X. (2002). Nematicida A Partir Del Hongo *Verticillium Lecani*. *Revista Terralia* No. 24.
- González, C., & Rivas, E. (2000). Conferencia del curso de pos grado sobre Manejo Integrado de plagas. Tema II Mip, evaluación del concepto. Maestría Ciencias Agrícolas universidad de la Habana.
- Gruber, A.K. (2006). Perspectivas del cultivo y uso del árbol del Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) en América Latina. En *Memorias Taller de Intercambio de Experiencias y conocimientos sobre el cultivo del árbol del Nim en América Latina*. (pág. 24). Managua: De. Evang. Cieets.
- IICA (1998): *La emergencia, reproducción y propagación de la cochinilla rosada en las Américas*. San José, Costa Rica. 31 p.
- INISAV. (2010a). *Formas de obtención de controladores biológicos microbianos para su uso en el sistema de producción agrícola del MINAG*. La Habana ISBN: 978-959-7194-37-8.

- INISAV. (2010b). Formas de obtención de controladores biológicos microbianos para su uso en el sistema de producción Agrícola del MINAG. La Habana ISBN. 978-959-7194-37-8.
- Jacas J.A y E Viñuela. (1993a). Los efectos de los plaguicidas sobre los organopónicos benéficos en la Agricultura 11 fungicidas phytoma España No 48 Abril.
- Jacas J.A y E Viñuela. (1993b). Los efectos de los plaguicidas sobre los organopónicos benéficos en la Agricultura 11 fungicidas phytoma España No 48 Abril.
- Jacobson, M. (1980). Neem research in the US Department of Agriculture: Chemical, biological and cultural aspects. Proc. 1er Int. Neem. Conf. Rottach- Egern.
- Kairo, M.T.; Pollard, G.V.; Peterkin, D. y Vyjayanthi F. Lopez. (2000): Biological control of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Hemiptera: Pseudococcidae) in the Caribbean. Integrated Pest Management Reviews. 5: 241-254.
- Lerch, G. (1977). La experimentación en las ciencias biológicas y agrícolas. Editorial Científico Técnica La Habana.
- López; B., Estrada, J., Castillo, B., & Poi, N. (2007). Bioinsecticidas de Nim en la agricultura urbana. Agricultura Orgánica ACTAF, (3).
- López-Arismendy, E.; Orduz S. (2002). *Metarhizium anisopliae* and *Trichoderma viride* control colonies of *Atta cephalotes* in field better than a chemical insecticide. *Revista Colombiana de Biotecnología Vol. IV No.1.
- Lorenzo, M.E. (2001). Estudio de diferentes cepas nativas de *Trichoderma harzianum* en la provincia de Cienfuegos. Tesis en opción al título de master en Ciencias agrarias-.
- Mani, M. A (1989). Review of the pink mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green). Insect Sci. Applic.; 10(2):157-167.

- Massó E; López de (2012). Efecto de microorganismos entomopatógenos sobre *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant. Taller Nacional de lucha biológica. Ciego de Ávila. Cuba.
- Mejias, J. (1995). Manual de alelopatía básica y producto botánico. Universidad de Caldas Santa Fe de Bogotá. Colombia.
- Meyerdirk D, Warkenin R, Attavian B, Gersabeck E, Francia A, Adams M, y Francis E. (1998): Biological Control of Pink Hibiscus Mealybug. Project Manual. USDA.
- Meyerdirk D, Warkenin R, Attavian B, Gersabeck E, Francia A, Adams M y Francis E. (2000): Manual del Proyecto para el Control Biológico de la Cochinilla Rosada del Hibisco. USDA-IICA.
- MINAGRI. (2007a). Lineamientos para los subprogramas de la Agricultura Urbana para 2008-2010 y sistema evaluativo. Grupo Nacional de la Agricultura Urbana. ACTAF. Hivos. INIFAT.
- MINAGRI. (2000b). Lineamientos para los subprogramas de la Agricultura Urbana para 2008-2010 y sistema evaluativo. Cuba. Grupo Nacional de la Agricultura Urbana. ED ACTAF. Hivos. INIFAT.
- Moore D. (1988). Agents used for biological control of mealybugs (Pseudococcidae). *Biocontrol News and Information*. ; 19(4):209-225.
- Orama, R., Echavarría, I., & Rivera, M. (2003). Posibilidades de control de enfermedades a partir de productos naturales y controles biológicos en las plantas medicinales. En *Memorias del Evento Agrobiología y Agroecología de las Plantas Medicinales*. La Sierrita, Cumanayagua, Cienfuegos.
- Ortega I., Castellanos L., Jiménez R., Soto R., Fernández A., Suarez I., Martínez F. y Subit D. (2009). Compendio de plantas y/o fitoplaguicidas empleadas en la agricultura Urbana de la provincia de Cienfuegos, Informe final de Proyecto Territorial. Cienfuegos. Cuba.

- Padilla MR. (2000): Bioecología de la cochinilla rosada y su riesgo de ingreso en Honduras. Revista Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). No. 57. 5p.
- Palmer, B.S., & Singh, R. P. (1993). Neem in agriculture. Indian Agricultural Institute (New Delhi).
- Pascual-Villalobos. (1998). Repelencia, Inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales en larvas de *tribolium castaneum* Herbst. Coleóptera: Tenebrionidae. Boletín de Sanidad Vegetal. Pág., 24: 143-154.
- Pérez, N. (2004). Manejo Ecológico de Plagas. CEDAR. Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural. Cuba.
- Pérez, N. (2002). Agricultura Orgánica: una visión desde Cuba. Cuba. Revista Agricultura Orgánica. ACTAF. Año 8. No. 2 ISBN 1028-2130.
- Pérez, R. (2002). El árbol del Nim. Asesora del grupo Estatal de Alimentos. Minaz.
- Persad C. (1998): Host Range of the Hibiscus Mealybug - *Maconellicoccus hirsutus* (Green) and its Symptom Expression in Management Strategies for The Control of the Hibiscus mealybug. En Proceeding of the I Seminar on the Hibiscus Mealybug. Ministry of Agriculture, Land and Marine Resources, Trinidad and Tobago. 77-83 pp.
- Piñón, D. (2002). Hacia una fitoprotección ecológica de plagas. Manual para productores. Publica, MINAZ, 68.
- Pollard G. (2002): Impact of Hibiscus Mealybug (*Maconellicoccus hirsutus*) on Caribbean Agriculture. En el Simposio Internacional sobre Vigilancia Fitosanitaria y su Relación con la Protección del Entorno. Conferencia magistral. Palacio del Convenciones, La Habana. Cuba, 28 Oct -1 Nov.
- Puente, M., Allteart, K.; Herrera, L. Suarez, N.; and Torres, S. (2003). Determinación de la actividad alelopática de extractos vegetales sobre hongos Fito patógenos del suelo. Centro Agrícola. 3(1).

- Rivera, M, Galán y Alexis A. Hernández Mansilla. (2006). Evaluación de algunos aspectos biológicos de *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) asociados a la reproducción artificial.
- Rivera, R., Orama, R., & Echavarría, I. (2003). Control de las principales plagas que afectan a *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl. (Verbena cimarrona). Presented at the Evento Agrobiología y Agroecología de las Plantas Medicinales, La Sierrita, Cumanayagua, Cienfuegos. Cuba.
- Rodríguez, A. (2004). Desarrollo de la lucha biológica durante los años 1993-2002 en Cienfuegos. Fórum Provincial. Cienfuegos.
- Roig, J.T. (2012). Plantas medicinales aromáticas o venenosas de Cuba (3º ed.). La Habana- Cuba: Científico-Técnica.
- Roog, H. (2000). Manejo y control biológico de plagas en Bolivia. Ecuador. Ed. Abya. Yalapp 16-19.
- Schmutterer, H. (1989). Environmentally sound control by application on Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) based natural pesticides. Symposium Pesticides- Mechanisms of action and Resistance.
- Schmutterer, H. (1994). Natural pesticide from the Neem tree and other Tropical Plants. (2º ed.). Ranischholzhausen.
- Suarez, P. (2013) Preparación y uso de residuos de la industria del tabaco para producción de insecticida (Tabaquina) Manual para la adopción del Manejo Agroecológico de plagas Vol. 2 pág. 103-111.
- Vázquez LL, Navarro A. y Blanco ER. (2002): Riesgos de la Cochinilla Rosada (*Maconellicoccus hirsutus*) para Cuba. La Habana. INISAV. 41p.
- Vázquez LL. (1997): Contribución al conocimiento de la chinche harinosa rosada (*Macollenicoccus hirsutus* Green). Boletín Técnico (INISAV) No.4, 3 p.

- Vázquez, L. (2003). Agroecología y agricultura sostenible y orgánica. Manejo agroecológico de Plagas. Integración del Control Biológico (pág. 8). Presented at the Curso Internacional producción y uso de bioplaguicidas en diferentes Agroecosistemas., INISAV Cuba.
- Vázquez, L. (2008). Manejo Integrado de Plagas. Preguntas y respuestas para técnicos y agricultores. (Científico-técnica.).
- Vázquez, L. (2004). Manejo agroecológico de la Finca. Una Estrategia para la prevención y diseminación de afectaciones por plagas agrarias. INISAV. Cuba; Científico-Técnico.
- Vázquez, L. (2011). Supresión de poblaciones de plagas en la finca mediante prácticas agroecológicas. INISAV. ISBN: 978-959-287-030-7.
- Vázquez, L. (2012). Resultados de un proceso participativo de sistematización de las experiencias en buenas practicas agroecológicas para el manejo de plagas. Boletín Fitosanitario 17(1).
- Vázquez, L. y E. Fernández. (2007). Bases para el MAP en sistemas urbanos. Cuba. Ed. ACTAF. INISAV. ISBN: 978-959-7194-13-2.
- Vázquez, L. (2003). Manejo integrado de plagas. Preguntas y respuestas para extorsionistas y agricultores. INISAV. La Habana.
- Veitía, M.M. (2013). Cultivo preparación y uso de plaguicidas con propiedades como plaguicidas. Manual para la adopción del Manejo Agroecológico de plagas en Fincas de la Agricultura Suburbana Volumen 2 pág. 113-127.
- Viñuela, E. A. Adan, M. González, F. Budia, G. Smagghe y P. del Estal. (1998). Spinosad y asadiractina: Efecto de los plaguicidas de origen natural en el chinche depredador *posidus macoliventis* (Say) (Hemiptero: Dentatonidae.) Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas; 24: 57-66.

Watson G. y Chandler LR. (2000): Identificación de las cochinillas o piojos harinosos de importancia en el Caribe. Commonwealth Science Council-CAB Internacional. Edición Española. 44p.

Williams DJ. (1996). A brief account of the hibiscus mealybug *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae), a pest of agriculture and horticulture, with descriptions of two related species from southern Asia. Bull Entomol Research.; 86:617-628.