

Patogenicidad de *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) sobre las chinches de la soya *Piezodorus guildinii* West y *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae)

Pathogenicity of *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) on the soybean stink bugs *Piezodorus guildinii* West and *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae)

Leonel Marrero,¹ Yandileixis Suárez,² José O'Reilly,³ Marietta Fernández,³ José Acosta¹ y Joaquín Torren⁴

¹ Universidad de Matanzas. Autopista Varadero Km 3½, Matanzas, C.P. 10 400, leonel.marrero @ umcc.cu

² Departamento de Cultivos Varios, Grupo Empresarial AZCUBA

³ Laboratorio de Control Biológico, Estación Experimental de la Caña EPICA José A. Mesa, Jovellanos

⁴ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Matanzas

RESUMEN

El objetivo de este trabajo radicó en evaluar la patogenicidad del nemátodo *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) cepa HC1 sobre las chinches de la soya *Piezodorus guildinii* West y *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). Los experimentos se desarrollaron en condiciones de laboratorio; bajo un diseño totalmente aleatorizado se establecieron cuatro variantes experimentales en correspondencia con los estados de vida y especies de chinches evaluadas. Se inocularon 40 JI/ insecto y cada 12 h se cuantificó la mortalidad de la plaga. El porcentaje de mortalidad en las cuatro variantes experimentales mostró diferencias significativas respecto al testigo; el nemátodo causó 100 % de mortalidad tanto en ninfas como sobre los adultos de *P. guildinii* y *N. viridula* transcurridas 48 h. Los resultados del estudio demostraron la patogenicidad de *H. bacteriophora* (cepa HC1) sobre las dos especies de chinches, por lo que deben evaluarse las potencialidades del nemátodo e incluirse como agente de control biológico dentro del programa MIP de la soya en nuestro país.

Palabras claves: *Heterorhabditis bacteriophora*, patogenicidad, chinches, *Piezodorus guildinii*, *Nezara viridula*, soya.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the pathogenicity of the nematode *Heterorhabditis bacteriophora* strain HC1 on nymphs and adults of the soybean stink bugs *Piezodorus guildinii* West and *Nezara viridula* (L.). The study was carried out in laboratory conditions; four experimental variants under a completely randomized design were established. A dosage of 40 JI/ insects was inoculated and the pest mortality was recorded every 12 hours. The mortality percentages in the experimental variants showed significant differences regarding the control; 100 % of mortality even on nymphs as on adults was found after 48 hours of the inoculation. The results showed the pathogenicity of *H. bacteriophora* (HC1 strain) on the two species of stink bugs, that's why the nematode's potentialities must be evaluated for including it as biocontrol agents in the IPM of soybean in our country.

Key words: *Heterorhabditis bacteriophora*, pathogenicity, stink bugs, *Piezodorus guildinii*, *Nezara viridula*, soybean.

INTRODUCCIÓN

La soya (*Glycine max* L.) deviene una importante fuente alimenticia por sus aportes en grasas y proteína vegetal, aspectos de gran relevancia para la alimentación humana y animal en Cuba; sin embargo, el

ataque de insectos plagas limita los rendimientos del cultivo [Borges y Marrero, 2013].

Las chinches *Piezodorus guildinii* West, *Nezara viridula* (L.) y *Euschistus* spp. (Heteroptera: Pentatomidae)

constituyen plagas que afectan notablemente la calidad del grano de soya e imposibilitan su uso como semilla agrícola [Marrero, 2007]. Como resultado de monitoreos a plantaciones de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y de soya cultivadas en las provincias de Villa Clara y Matanzas, se han notificado nuevos registros de chinches fitófagas para estos cultivos [Alvarado, 2009; Castillo, 2014], y se demostró que *N. viridula* es agente vector del patógeno *Nematospora* sp. [Ramos, 2011]. Internacionalmente el uso de insecticidas químicos sintéticos constituye la principal medida para el control de chinches en el cultivo de la soya; sin embargo, varias especies han desarrollado insecto-resistencia al endosulfán y metamidofós, productos que ocasionan desequilibrio ecológico y pueden dañar la salud de los agricultores [Sosa y Da Silva, 2010]. Estos elementos justifican la necesidad de buscar métodos más eficaces que permitan el manejo de las chinches pentatómidas de la soya y mitigar sus daños al grano.

En el país se aíslan y evalúan nuevas cepas de microorganismos y nemátodos, lo cual permite ampliar el espectro de acción de estos productos [Fernández, 2007]. El uso del nemátodo *H. bacteriophora* deviene una alternativa promisoriosa de control biológico por su amplia gama de hospedantes y su capacidad para provocar altos índices de mortalidad sobre insectos plagas [Rodríguez *et al.*, 2001; Vázquez y Álvarez, 2011]. La literatura científica recoge varios antecedentes sobre la patogenicidad de *H. bacteriophora* contra insectos plagas de los órdenes Coleoptera, Lepidoptera, Orthoptera [Sánchez, 2002; Nichols, 2008], así como en Homópteros e Himenópteros [Rodríguez *et al.*, 1997]. Sin embargo, los estudios de patogenicidad sobre Heterópteros son limitados, y los productores tienen poca experiencia en el uso de nemátodos entomopatógenos para el manejo de chinches pentatómidas que afectan la soya [Marrero, 2007].

La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar en condiciones de laboratorio la patogenicidad del nemátodo *H. bacteriophora* (cepa HC1) sobre las chinches *P. guildinii* y *N. viridula*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Patogenicidad del nemátodo *H. bacteriophora* (cepa HC1) sobre las chinches *P. guildinii* y *N. viridula*

El experimento se condujo en el Laboratorio de Entomología de la Universidad de Matanzas; como insectos diana se utilizaron ninfas de quinto instar y adultos

de las chinches *P. guildinii* y *N. viridula* recolectadas en parcelas experimentales de soya establecidas en la Unidad Docente Investigativa de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, municipio de Matanzas. Los individuos se trasladaron a microjaulas de laboratorio y se criaron según los criterios de Marrero [2007] para obtener poblaciones libres de parasitoides y entomopatógenos. Se evaluó la cepa HC1 de *H. bacteriophora* proveniente del Laboratorio de Control Biológico de la Estación Experimental de Investigaciones de la Caña EPICA José A. Mesa, del municipio de Jovellanos, Matanzas. Las soluciones de nemátodos fueron preparadas por dilución horas antes del montaje del ensayo, según lo recomendado por Kaya y Stock [1997], y se estimó la concentración de Juveniles Infeccivos bajo un microscopio-estereoscopio Olympus.

Se determinó la susceptibilidad del quinto instar ninfal y de los adultos por ser los estados que mayores daños causan al cultivo de la soya. Los experimentos se desarrollaron bajo un diseño totalmente aleatorizado, se evaluaron cuatro variantes experimentales: variante 1 (inoculación del nemátodo sobre ninfas de *P. guildinii*), variante 2 (inoculación del nemátodo sobre ninfas de *N. viridula*), variante 3 (inoculación del nemátodo sobre adultos de *P. guildinii*) y variante 4 (inoculación del nemátodo sobre adultos de *N. viridula*).

Para ello se conformaron grupos de cinco individuos colocados en placas Petri de 9,5 cm de diámetro, forradas internamente con papel de filtro. Cada placa representó una unidad experimental y se realizaron tres réplicas por variante; el control constituyó una réplica de 15 insectos para una población total de 45 insectos por plaga. Sobre cada individuo se aplicó 0,2 mL de solución contentiva de 40 JI de *H. bacteriophora*. El control se asperjó con igual volumen de agua destilada [Melo *et al.*, 2006; dos Santos *et al.*, 2015]. Posteriormente las placas Petri se sellaron, se colocaron a la oscuridad bajo temperatura ambiente (25 ± 2 °C) y cada 12 h se cuantificó el porcentaje de mortalidad por variante según la fórmula de Abbott [Ciba-Geigy, 1981].

Como criterio de mortalidad se verificaron los síntomas típicos del parasitismo e infección del nemátodo (cambio de coloración cuticular y de textura corporal, flacidez), así como la presencia de nemátodos sobre y/o el interior de los cadáveres, lo cual se determinó bajo estereomicroscopio mediante disección de las ninfas y adultos en solución salina estéril.

Para el procesamiento estadístico de los datos obtenidos se transformaron los valores originales de mortalidad mediante la expresión $\arcsin \sqrt{\%}$ y se sometieron a un análisis de varianza (Anova) de clasificación simple. Posteriormente se establecieron las diferencias entre las variantes experimentales según la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($p \leq 0,05$), utilizando el paquete estadístico Statgraphic 5.0.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los ensayos de laboratorio demostraron que transcurridas 48 h la cepa HCl de *H. bacteriophora* a dosis de 40 JI de *H. bacteriophora*/individuo ocasionó el 100 % de mortalidad tanto sobre las ninfas de *P. guildinii* y *N. viridula* (variantes 1 y 2) como en los adultos (variantes 2 y 3). El análisis estadístico arrojó diferencias estadísticas significativas entre las cuatro variantes y el control, en este último tanto a las 24 como a las 48 h solo se encontró el 10 % de mortalidad (Tabla 1).

Devino interés biológico el hallazgo de mortalidad superior al 50 % tanto en las poblaciones de *P. guildinii* como en *N. viridula* transcurridas solo 24 h de inoculación. En este período las ninfas de ambas especies alcanzaron mortalidades del 80 y 70 %, respectivamente, sin evidenciar diferencias estadísticas entre ellas (Tabla 1). Sin embargo, entre los porcentajes de mortalidad de los adultos sí se encontraron diferencias estadísticas significativas, con mayores valores de muertes en *N. viridula* (80 %), mientras que en las poblaciones de *P. guildinii* solo se alcanzó un 60 % de mortalidad.

Tabla 1 Mortalidad ocasionada por *H. bacteriophora* sobre ninfas y adultos de las chinches *P. guildinii* y *N. viridula* (Temp. 25 ± 2 °C)

Variantes	Mortalidad (%)	
	24 horas	48 horas
V ₁	80,0 a	100,0 a
V ₄	80,0 a	100,0 a
V ₂	70,0 a	100,0 a
V ₃	60,0 b	100,0 a
Control	10,0 c	10,0 b
ES \pm 0,9		

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas Test Duncan $p \leq 0,05$.

V₁: ninfas de *P. guildinii*; V₂: ninfas de *N. viridula*; V₃: adultos de *P. guildinii*; V₄: adultos de *N. viridula*.

Las diferencias estadísticas encontradas en la mortalidad de los adultos (variantes 3 y 4) a las 24 h de inoculación del nemátodo (Tabla 1) pudieran estar

condicionadas por la morfofisiología de cada especie y la edad de los insectos. Al respecto, Fasula *et al.* (2000) informaron que al avanzar la edad de las chinches se incrementa la dureza de la cutícula y se desarrolla el sistema inmune del individuo.

La información descrita en la Tabla 1 demuestra el potencial del nemátodo para el control biológico de heterópteros plagas de la soya. Barberena y Bellotti (1998) también observaron una elevada capacidad infectiva de *H. bacteriophora* sobre heterópteros e informaron un 80 % de infección en ninfas de quinto instar y adultos de cidnidos. Melo *et al.* (2006) en ensayos *in vitro* realizados con dos cepas nativas de *H. bacteriophora* también encontraron parasitismo en todos los estados de vida de las chinches cidnidas, y observaron que las ninfas de quinto instar resultaron las más susceptibles, con un 90 y 100 % de mortalidad a los 10 días después de inoculadas. Por su parte, Canhilal *et al.* (2007), al inocular 50 nemátodos sobre la chinche *Eurygaster integriceps* Puton (Heteroptera: Scutelleridae) encontraron un tiempo letal de 2,9 días, período muy similar al encontrado bajo nuestras condiciones experimentales.

Los resultados ilustrados en la Tabla 1 manifiestan similitud con el potencial biológico de este nemátodo entomopatógeno, y su uso en programas de manejo de insectos plagas en Cuba. Varios autores como parte de la caracterización de cepas notificaron la eficacia biorreguladora de *H. bacteriophora* contra diferentes insectos nocivos, incluyendo chinches harinosas y plagas del suelo [Rodríguez *et al.*, 2011].

Bajo nuestras condiciones experimentales, se constató el efecto letal de los juveniles infectivos de *H. bacteriophora*, lo que pudo estar favorecido por su elevada capacidad de búsqueda. Los nemátodos lograron penetrar rápidamente en el cuerpo de las chinches y parasitaron tanto los inmaduros como los adultos. Ello se comprobó a las 48 h por la aparición de un marcado cambio de coloración (de verde a pardo-carmelita), así como de flacidez corporal (Fig. 1b). Sin embargo, en el control los individuos no mostraron anomalías (Fig. 1a), y solo se encontró un 10 % de muertes.

En la Fig. 1b pudo estar motivado por la elevada capacidad de búsqueda de *H. bacteriophora* y por su alto potencial infectivo que varía en dependencia de las características morfológicas del insecto diana. La literatura consultada señala que los insectos plagas inoculados con nemátodos entomopatógenos pueden

quedar infectados y morir si un solo nemátodo logra penetrarlos, lo que explica por qué aun a bajas dosis se observan valores de mortalidad elevados. Este biorregulador muestra un alto poder de pe-

netración al hemocele, gracias a la presencia de un diente dorsal mediante el cual raspa la cutícula y le permite penetrar directamente al insecto [Vázquez y Álvarez, 2011].

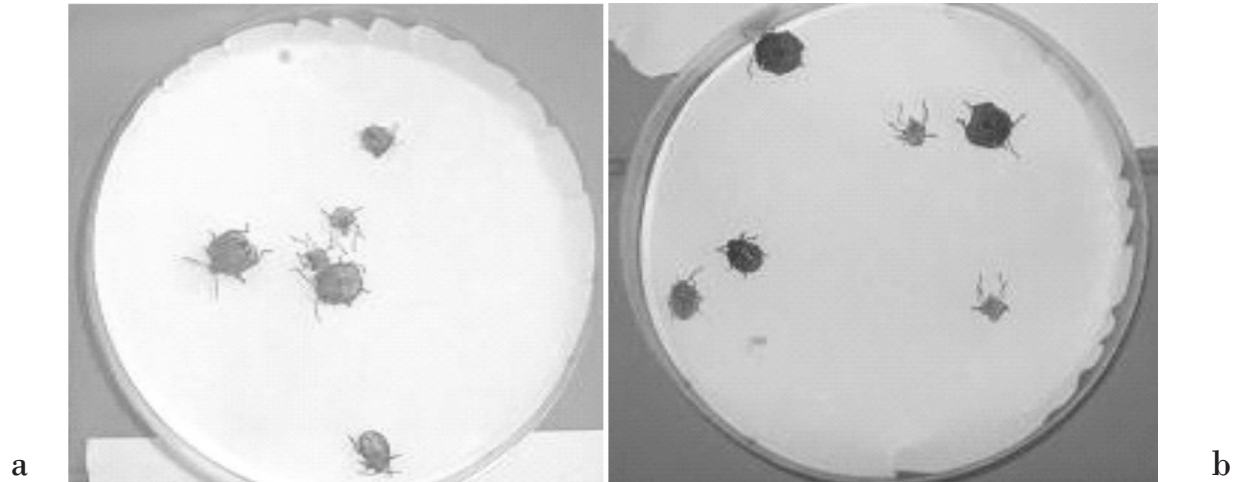


Figura 1. Patogenicidad de *H. bacteriophora* (cepa HC1) sobre las chinches *N. viridula* y *P. guildinii* (a), testigo tratado con agua; (b) variante tratada con nemátodo.

El efecto patogénico del nemátodo constatado en la Fig. 1b pudo estar motivado por la elevada capacidad de búsqueda de *H. bacteriophora* y por su alto potencial infectivo que varía en dependencia de las características morfológicas del insecto diana. La literatura consultada señala que los insectos plagas inoculados con nemátodos entomopatógenos pueden quedar infectados y morir si un solo nemátodo logra penetrarlos, lo que explica por qué aun a bajas dosis se observan valores de mortalidad elevados. Este biorregulador muestra un alto poder de penetración al hemocele, gracias a la presencia de un diente dorsal mediante el cual raspa la cutícula y le permite penetrar directamente al insecto [Vázquez y Álvarez, 2011].

La elevada virulencia de *H. bacteriophora* sobre ambos insectos diana coincide con lo señalado por Bedding (1998), al referir que la patogenicidad de *H. bacteriophora* sobre los insectos se debe a la acción del complejo *Heterorhabditis-Photorhabdus* Boemare, y que una vez liberada la bacteria en la hemolinfa desarrolla su metabolismo secundario en los tejidos, produciendo complejos de toxinas, los cuales son capaces de matar al hospedero por septicemia en períodos de 48 h, tiempo letal similar al notificado en la Tabla 1.

Dos Santos *et al.* (2015) encontraron igual comportamiento infectivo en chinches harinosas inoculadas con este nemátodo entomopatógeno. Sin embargo, en

Cuba Jiménez y del Pozo (2010), al evaluar la cepa HC1 sobre el coleóptero *Cylas formicarius* var. *elegantulus* (Summers), obtuvieron valores de mortalidad del 50 %, pero transcurridas 107,52 h, período muy superior al tiempo letal medio observado en nuestro experimento. Estos resultados corroboran que la patogenicidad de *H. bacteriophora* varía en dependencia de las características morfológicas del insecto diana. Varias investigaciones refieren que la patogenicidad de *H. bacteriophora* también depende de la virulencia de la cepa bacteriana, del aislado de nemátodo y de la interacción entre ambos.

H. bacteriophora desarrolla relaciones parasíticas con los insectos que ocasionan disminución en la actividad, retraso en el desarrollo, cambios fisiológicos, morfológicos, de comportamiento y hasta la muerte del hospedero, rasgos que fueron constatados en nuestra investigación. Además, cuando se diseccionaron las chinches inoculadas con los nemátodos se observó gran cantidad de adultos en el interior de los cadáveres.

Similar efecto letal del nemátodo evaluado fue observado por Jiménez y del Pozo (2010) al describir la presencia de adultos hermafroditas en cadáveres de coleópteros a los cinco días posteriores a la inoculación. Al respecto se cita que la habilidad de *H. bacteriophora* para reproducirse en los cadáveres es muy

importante para el establecimiento y persistencia de este biorregulador en condiciones de campo.

En nuestro país se ha comprobado la eficacia de *H. bacteriophora* sobre diferentes plagas insectiles. Sánchez y Rodríguez (2008) destacaron las potencialidades de este medio biológico sobre *Hypothenemus hampei* Ferr. y demostraron la capacidad de la cepa HC1 de elevar su efectividad cuando es aplicada simultáneamente con el hongo *Beauveria bassiana* Bals. Estos autores también comprobaron que los juveniles infectivos de *H. bacteriophora* son capaces de sobrevivir al menos 36 h en solución de endosulfán. Este resultado es de interés por cuanto varias especies de pentatómidos han mostrado resistencia a este insecticida sintético y al metamidofós, por lo que se podría evaluar en campo el efecto combinado de diferentes tratamientos.

Vázquez y Fernández (2007) señalaron que el manejo agroecológico de plagas incluye componentes que demuestran su relación estrecha con la tecnología de cultivo, el enfoque territorial de los programas y los conocimientos que adquiere el agricultor que emplea el control biológico en su finca. Por su parte, Murguido y Elizondo (2007) señalaron que el control biológico deviene uno de los componentes que ha tenido una contribución significativa al éxito del programa de manejo de insectos plagas en el cultivo del frijol.

En Cuba, aunque existen experiencias de los productores con el uso de *H. bacteriophora* en agroecosistemas de granos, los estudios han estado relacionados principalmente con las siguientes combinaciones cultivo/plaga: arroz/*Lissorhoptrus brevivirostris* Su.; maíz/*S. frugiperda*. También se reportan resultados promisorios en el manejo de ninfas de moscas blancas (Hemiptera) y pupas de trips (Thysanoptera) [Vázquez *et al.*, 2010].

La literatura consultada indica que hasta el momento el uso de *H. bacteriophora* (cepa HC1) se registra mayormente en zonas donde están enclavados los CREE que producen y generan biorreguladores para el manejo de plagas, principalmente en plantaciones de caña de azúcar [Rodríguez *et al.*, 2012]. Estos autores además destacaron que otros cultivos importantes en desarrollo, entre los que se encuentran granos como la soya (*Glycine max* L.) y el garbanzo (*Cicer arietinum* L.) debían ser objeto de estudios futuros para establecer la efectividad de los nemátodos entomopatógenos en el manejo de las plagas más importantes.

CONCLUSIONES

- El estudio demostró que la cepa HC1 de *H. bacteriophora* bajo condiciones de laboratorio posee elevada patogenicidad sobre ninfas de quinto instar y adultos de las chinches de la soya *P. guildinii* y *N. viridula*.
- El nemátodo a dosis de 40 JI/ individuo ocasionó el 100 % de mortalidad tanto en las ninfas como en adultos de *P. guildinii* y *N. viridula* transcurridas 48 h, lo que evidencia sus potencialidades como biorregulador de estos pentatómidos.

REFERENCIAS

- Alvarado, A.: «Complejo de chinches (Heteroptera: Pentatomidae), en frijol común. Inventario y presencia en tres localidades de Villa Clara», *Centro Agrícola* 36 (3): 75-82, 2009.
- Barberena, M.F., Bellotti A.C.: «Parasitismo de dos razas del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* sobre la chinche *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae) en laboratorio», *Revista Colombiana de Entomología* 24 (1-2): 7-11, 1998.
- Bedding, R.A.: «Future possibilities for using entomopathogenic nematodes», *Jap. Jour. Nematol.* 28 (Special Issue): 46-60, 1998.
- Borges, A., Marrero L.: «Clave ilustrada de *Estigmene acrea* Drury (Lepidoptera: Arctiidae): notas de su etología en el cultivo de la soya (*Glycine max* (L.) (Merrill.)», *Fitosanidad* 16 (3): 124-127, 2013.
- Canhilar, R., Reid W., Kutuk H.E.I.-Bouhssini M.: «Susceptibility of Sunn Pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) to various Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae)», *Journal of Agricultural and Urban Entomology* 24 (1):19-26, 2007.
- Castillo, M.: «Incidencia de chinches pentatomorfas (Heteroptera: Pentatomidae) en plantaciones de soya (*Glycine max*. L.) de la UBPC Aguilar, provincia de Matanzas», Tesis presentada en opción al título de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Matanzas, 2014.
- Ciba-Geigy: *Manual para ensayos de campo en protección vegetal*, Werner Püntener,
- División Agricultura, 2 ed. CIBA-GEIGY, Suiza, 1981.
- Dos Santos, Karla, Thiago de Freitas Ferreira, Ricardo Moreira de Souza and Claudia Dolinski: «Potential of entomopathogenic nematodes (Rhabditida) for control of pink pineapple mealybug adult females, *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae) under laboratory conditions», *Nematoda* 2: 2-10, 2015.
- Fasula, R.P., Sharma S.B., Wightman A.S.: «A review of insect-parasite nematodes research in India», *International Journal of Pest Management* 46 (1): 19-28, 2000.
- Fernández-Larrea Orietta: «Pasado, presente y futuro del control biológico en Cuba», *Fitosanidad* 11(3): 61-66, 2007.
- Jiménez, L.C., E. del Pozo: «Patogenicidad, virulencia y potencial reproductivo de *Heterorhabditis bacteriophora* (CEPA HC1) sobre *Cylas formicarius* var. *elegantulus* (S)», *Rev. Protección Veg.* 25 (2): 16-24, 2010.
- Kaya H.K., Stock S.P.: «Techniques of insect nematology», *Manual of techniques in insect pathology*. Biological Techniques Series. Capítulo VI. Academic Press, San Diego, California, 1997.
- Marrero, L.: «Entomofauna associated to soybean (*Glycine max* (L.): Harmfulness, population fluctuation and natural enemies of the phytophage complexes of greater agricultural interest». Summary of

- a PhD Thesis presented to obtain the scientific degree in Agricultural Sciences at the Agrarian University of Havana, *Rev. Protección Veg.* 22 (2): 134, 2007.
- Melo Elsa, Ortega C.A., Andreas Gaigl, Ralf-Udo E., Bellotti A.: «Evaluación de dos cepas comerciales de entomonemátodos como agentes de control de *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae)», *Revista Colombiana de Entomología* 32 (1): 31-38, 2006.
- Murguido, C.A., Ana Ibis Elizondo: «El manejo integrado de insectos en Cuba», *Fitosanidad* 11(3): 23-28, 2007.
- Nichols, C.I.: *Control biológico de insectos: un enfoque agro ecológico*, Ed. Universidad de Antioquia, 2008.
- Ramos, Y., Jorge R. Gómez Sousa, Ray Espinosa Ruíz, Eddy Marichal Ferrer y Clarivel Armentero Caturla: «Afectaciones directas producidas por el complejo de chinches (Hemiptera: Pentatomidae) en granos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y determinación de *Nematospora* sp.», *Fitosanidad* 15 (3): 179-183, 2011.
- Rodríguez, I. Rodríguez M.G., Sánchez L., Martínez M.A.: «Efectividad de *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditidae: Heterorhabditidae) sobre chinches harinosas del cafeto (Homoptera: Pseudococcidae)», *Rev. Protección Veg.* 12 (2): 119-122, 1997.
- Rodríguez Mayra, González E., Rosales L.C., Miranda I., Hernández M.A., Gómez L.: «Factores que limitan el uso apropiado del control biológico en zonas de las provincias de La Habana y Matanzas, Cuba (Resultados preliminares)», CD Memorias del V Congreso Internacional de Control Biológico. Mérida, Venezuela. Noviembre de 2008.
- Rodríguez, M., Rosales L.C., Enrique R., Gómez L., González E., Pe-teira B.: *Los nemátodos entomopatógenos y su uso como agentes de control biológico para el manejo de plagas agrarias*, Cuba, 2011.
- Rodríguez, Mayra, Dainé Hernández, Lucila Gómez: «Nemátodos entomopatógenos: elementos del desarrollo histórico y retos para su consolidación como biorreguladores en la agricultura en Cuba», *Rev. Protección Veg.* 27 (3): 137-146, 2012.
- Rodríguez, D., Pereira J., Pérez N.: «Producción y calidad de *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) Cepa HC1 en el CREE Ciro Redondo, Ciego de Ávila, Cuba», *Revista Granma Ciencia* vol. 18, no. 2: 1-9, 2014.
- Sánchez, Lourdes: «*Heterorhabditis bacteriophora* HC1: Estrategia de desarrollo como agente de control biológico de plagas insectíles». Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, UNAH, La Habana, Cuba, 2002.
- Sánchez, Lourdes y Rodríguez M.G.: «Potencialidades de *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) Cepa HC1 para el manejo de *Hypothenemus hampei* (Ferr.) II. Compatibilidad con *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin y Endosulfán», *Rev. Protección Veg.* 23 (2): 104-111, 2008.
- Sosa D.R., Da Silva J.: «Resistencia de poblaciones de percevejo marrón *Euschistus heros* ao Metamidofos no Paraná», *Pesq Agrop. Bras.* Vol.45, no.7: 5-12, 2010.
- Vázquez, L., E. Fernández: *Bases para el manejo agroecológico de plagas en sistemas agrarios urbanos*, Ed. Actaf-Inisav-Hivos, La Habana, 2007.
- Vázquez, L., Caballero S., Carr A., Gil J., Armas J.L.: «Diagnóstico de la utilización de entomófagos y entomopatógenos para el control biológico de insectos por los agricultores en Cuba», *Fitosanidad* 14 (3):159-169, 2010.
- Vázquez, L.L., Álvarez J.M.: *Control ecológico de poblaciones de plagas: bioplaguicidas, uso del nemátodo entomopatógeno H. bacteriophora*, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Ed. CIDISAV, La Habana, 2011.