

Efecto de dos nematodos entomopatógenos sobre *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae)

Effect of two entomopathogenic nematodes on *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae)

PAULA A. SEPÚLVEDA-CANO¹, JUAN C. LÓPEZ-NÚÑEZ², ALBERTO SOTO-GIRALDO³

Resumen: El picudo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* es una de las plagas que mayores daños causa al cultivo. Especies de nematodos entomopatógenos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* son agentes biológicos de control del insecto, con posibilidad de incorporarse a programas MIP. El objetivo del trabajo fue evaluar la virulencia de *Steinernema carpocapsae*, y *Heterorhabditis bacteriophora*, sobre adultos y larvas de último instar de picudo. El bioensayo utilizado fue el de infección individual en platos multipozo con papel filtro, en concentraciones de 10, 100 y 1.000 juveniles infectivos (JI)/25 µl. Con frecuencia de 12 h se registró el número de individuos muertos por plato hasta un tiempo máximo de 120 h para larvas y 228 h para adultos. Los cadáveres se pasaron a cámara seca (desarrollo del nematodo dentro del insecto) y posteriormente a cámara "white" (emergencia de JI). Las variables evaluadas fueron mortalidad de estados, multiplicación de JI y duración de emergencia. Bajo las condiciones evaluadas, tanto adultos como larvas fueron susceptibles al ataque ambos nematodos, respondiendo diferencialmente al aumento de la dosis. Se evidenció sintomatología de infección y multiplicación en larvas, de las especies de nematodos evaluadas. Condiciones como nicho limitado del insecto y alta humedad en los cormos de plátano favorables para la sobrevivencia del nematodo, unidos a la mortalidad registrada con bajas concentraciones de JI y a la capacidad de desarrollarse especialmente en larvas, convierten a estos agentes en herramienta promisoría para el control de la plaga en campo.

Palabras clave: Picudo negro. *Steinernema carpocapsae*. *Heterorhabditis bacteriophora*. MIP. Plátano.

Abstract: The black plantain weevil *Cosmopolites sordidus* is one of the pests that most severely damages this crop. Entomopathogenic nematodes (EN) of the genera *Steinernema* and *Heterorhabditis* are biological control agents of the insect with the possibility of being incorporated into IPM programs. The objective of this study was to evaluate the virulence of *Steinernema carpocapsae* All Strain and *Heterorhabditis bacteriophora* on adults and last instar larvae of the weevil. The bioassay used was individual infection in multiple well plates with paper filter in concentrations of 10, 100, and 1.000 infective juveniles (IJ)/25 µl. Every 12 h the number of dead individuals per plate was recorded up to a maximum of 120 h for larvae and 228 h for adults. The cadavers were put in a drying chamber (development of the nematode inside the insect) and later in a "white chamber" (emergence of IJ). The variables studied were mortality of the stages, IJ multiplication and emergence duration. Under the conditions evaluated, both adults and larvae were susceptible to the attack of both nematodes, responding differentially to the increase of dose. Typical symptoms of infection and multiplication in larvae were observed for the nematode species evaluated. Conditions such as the limited niche of the insect and high humidity in plantain corms that are favorable for nematode survival, as well as the high mortality registered with low IJ concentrations and the capacity to develop especially in the larvae, make these agents promising tools for the control of the pest in the field.

Key words: Black weevil. *Steinernema carpocapsae*. *Heterorhabditis bacteriophora*. IPM. Plantain.

Introducción

El picudo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) es considerado la plaga más limitante del cultivo en la mayoría de países tropicales y subtropicales (Treverrow y Bedding 1993; García Roa *et al.* 1994; Cerda *et al.* 1996; Merchán 1998; Castrillón 2000). El daño es ocasionado por la larva al alimentarse del rizoma de plantas principalmente después de floración (Cerda *et al.* 1996). Los efectos del daño de *C. sordidus* ocasionado por su acción directa o por su asociación con otros microorganismos (Rosales y Suárez 1998) se manifiestan principalmente en detrimento en el número de racimos (Cerda *et al.* 1996), volcamiento, disminución del peso del racimo hasta en un 60% y la pérdida total del cultivo en casos severos (Castrillón y Herrera 1986; Castrillón 1987, 2000).

Debido al hábito nocturno del adulto y a la invisibilidad de los estados inmaduros por desarrollarse dentro de los pseudotallos, la acción de sus enemigos naturales y de los agricultores es limitada; sin embargo se registran con alguna relevancia *Propagalerita bicolor* (Drury), *Scarites* sp. (Coleoptera: Carabidae), *Tetramorium* sp. (Hymenoptera: Formicidae), *Hololepta* sp. (Coleoptera: Histeriidae), *Onthophagus* sp. (Coleoptera: Scarabaeidae) y *Camponotus* sp. (Hymenoptera: Formicidae) (Goitía y Cerda 1998). Otros enemigos del picudo como hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin), nematodos entomopatógenos (*Steinernema* spp. y *Heterorhabditis* spp.) y especies de hongos endófitos no patogénicos (*Fusarium* spp.), se consideran como potenciales herramientas para diseñar estrategias de control de este insecto en varias regiones del mundo (Treverrow y Bedding 1993; García Roa *et al.* 1994; Gold 2000).

¹ Autor para correspondencia. M. Sc. Candidata Doctorado Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Bloque 11 Oficina 208. A.A. 3840. sepulveda_cano@yahoo.es.

² Microbiólogo. Investigador científico 1. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. juancarlos.lopez@cafedecolombia.com.

³ M.Sc Entomología. Profesor titular Universidad de Caldas. asoto@telesat.com.co.

A los nematodos entomopatógenos como agentes de control de *C. sordidus* se les reconoce su importancia, no solo por buscar activamente su presa y matarla dentro de las primeras 48 horas después de haberla alcanzado (Kaya y Stock 1997; Kaya *et al.* 2006), sino porque hasta el momento todas las especies descritas de steinernematidos y heterorhabditidos mantienen una asociación específica con bacterias gram-negativas de los géneros *Xenorhabdus* y *Protorhabdus* respectivamente (Griffin *et al.* 2005), que junto al nematodo liberan toxinas e inhibidores en la hemolinfa de sus hospedantes que disminuyen los hemocitos del insecto, bajan el pH de la hemolinfa y paralizan al hospedante, el cual muere cuando todos los hemocitos han sido destruidos. De igual manera, produce proteasas que digieren los tejidos del insecto y antibióticos capaces de inhibir el crecimiento de colonizadores secundarios. Lo anterior hace que estos agentes sean uno de los controladores más letales a la hora de utilizarlos en programas de control biológico, siendo de mayor conveniencia que cualquier otro grupo de nematodos (Wouts 1991; Kaya y Stock 1997; Renn 1998). Por lo anterior y debido a la disponibilidad y facilidad de multiplicación de los entomonematodos, se evaluó su efecto en larvas de último instar y adultos del picudo negro del plátano *C. sordidus*.

Materiales y Métodos

El trabajo se desarrolló en el laboratorio de Fitotecnia de la Universidad de Caldas. Las especies de nematodos evaluadas fueron *S. carpocapsae* All strain (*S.c.* All), y *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1975 (*H.b.*) suministrados por Cenicafé. Juveniles infectivos (JI) de ambos nematodos se multiplicaron en larvas de último instar de *Galleria mellonella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pyralidae) y se almacenaron en frascos de vidrio transparente a $10 \pm 2^\circ\text{C}$ por un período no mayor a 30 días después de su multiplicación.

Para los bioensayos se utilizaron platos para cultivo de tejidos Falcon® de fondo plano con 12 celdas individuales por plato; los juveniles infectivos (JI) se acondicionaron a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 48 horas antes de realizar las infecciones. En el fondo de cada celda se colocaron dos rodajas de papel filtro Watmann # 1, sobre las que se aplicaron con micropipeta automática Eppendorf las concentraciones de JI a evaluar (10, 100 y 1.000 JI) en 25 μl . Cada dosificación se ajustó previamente por recuentos al estereoscopio en una solución de agua estéril y detergente (Micro soap - Int. Prod. Corp 5%), para reducir la tensión superficial entre el agua y el nematodo. Este procedimiento se realizó para las dos especies de nematodos. Finalmente se colocó en cada celda una larva de último instar o un adulto (según el tratamiento) de *C. sordidus*. Cada plato de cultivo se selló con Parafilm® y se guardó en una bolsa con cierre en la que se introdujo una toalla de papel humedecida para evitar la desecación; se llevaron a incubación a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ en oscuridad constante durante 120 horas para las larvas y 228 horas para adultos.

El experimento se realizó bajo un diseño completamente aleatorio en arreglo factorial, conformado por 13 tratamientos (dos nematodos x tres concentraciones de JI x dos estados de *C. sordidus* + testigo). Al tratamiento testigo se aplicaron 25 μl de solución de agua estéril y detergente según el bioensayo descrito. Cada tratamiento constó de cinco repeticiones y cada una estuvo conformada por 10 insectos, para un total de 50 individuos por tratamiento. Las evaluaciones de la mortalidad de adultos y larvas de *C. sordidus* se realizaron cada 12 h,

adicionando agua estéril en cada pozo para mantener la humedad. Se estimó la proporción promedio de estados muertos por tratamiento, corregida por el testigo según Schneider y Orelly:

$$\% \text{ Mortalidad corregida} = \left(\frac{\% \text{ mt} - \% \text{ mta}}{100 - \% \text{ mta}} \right) \times 100$$

mt = mortalidad en el tratamiento.

mta = mortalidad en testigo absoluto.

Esta variable se asumió como carencia de movimiento del insecto cuando se presionó en el abdomen con una aguja de punta roma. Al morir los especímenes se colocaron de manera individual en cámara húmeda durante 48 horas. Posteriormente el 40% de los individuos se pasaron a cámara "White" modificada (White 1927), para evaluar la multiplicación de los nematodos. El 60% restante de los individuos se disecaron para determinar el número de estados del nematodo que logran parasitar cada insecto.

En trabajos preliminares tendientes a desarrollar un sistema de bioensayo en donde los JI al interior del cadáver de la larva de *C. sordidus* pudieran desarrollarse, se realizaron evaluaciones sobre el tiempo y condiciones óptimas en las fases de infección y cámara seca. Estas evaluaciones mostraron que las condiciones de desarrollo recomendadas para *G. mellonella* (seis días en cámara seca a 25°C) (Kaya y Stock 1997), no fueron adecuadas para lograr un buen desarrollo en larvas de *C. sordidus*, debido a que aceleraban la desecación de los tejidos del insecto durante las 48 h siguientes a la muerte. De acuerdo con lo anterior, se optó por pasar la larva muerta a cajas Falcon iguales a las utilizadas en la fase de infección con papel filtro al que se le adicionó 25 μl de agua estéril cada 24 h (cámara semi-húmeda).

Para establecer las diferencias entre tratamientos se realizó un análisis de varianza al 95% de confiabilidad y para determinar el tratamiento de mayor efectividad se realizaron las pruebas de comparación de medias respectivas. Adicionalmente con el tratamiento de mayor efectividad para cada estado se obtuvo el tiempo letal 50 (TL_{50}). Los análisis se realizaron mediante el programa SAS Version 9.1 (Statistical Analysis System).

Resultados y Discusión

Efecto de nematodos entomopatógenos sobre adultos de *C. sordidus*. Con la aplicación de nematodos a los adultos de *C. sordidus* no se observó ninguna sintomatología de parasitismo (flacidez o cambio de color), debido a su coloración natural oscura y la dureza de su exoesqueleto. El porcentaje de mortalidad en los adultos de *C. sordidus* fue diferente ($P = 0,0001$ para los dos EN) entre las dosis. Sin embargo, no se presentó significancia en las interacciones entre dosis y los tiempos de evaluación ($P = 0,4089$, $P = 0,9219$ para *S.c.* All. y *H.b.* respectivamente). En la Figura 1 se observa el porcentaje de mortalidad del insecto con todos los tratamientos, con un mayor porcentaje de mortalidad al final de la evaluación (228h) con el tratamiento *H.b.* 100 JI/25 μl seguido por *S.c.* All. 1000 JI/25 μl , *H.b.* 1.000 JI/25 μl y *S.c.* All 10 JI/25 μl .

Se registró una mayor y más consistente patogenicidad de *H.b.* sobre estados adultos de *C. sordidus*, ya que los porcen-

tajes de mortalidad fluctuaron para las concentraciones de JI evaluadas entre 8 - 58%, mientras que para *S.c. All.* estos valores estuvieron entre 0 - 40%. Las diferencias pudieron ser ocasionadas por la facilidad de entrar vía cuticular que posee H.b. y coincide con lo encontrado por algunos autores que registran mayor eficiencia de heterorhabdítidos sobre éste y otros barrenadores como *Otiorhynchus sulcatus* (F.), *O. ovatus* (L.), *Sphenophorus pulvurus* Gyllenhal, 1838, *Cylas formicarius* (Fabricius) y otros insectos como *Manaharva fimbriolata* (Stål, 1854) y *Frankiniella* sp. (Bedding y Miller 1981; Dorschner *et al.* 1989; Chyzik *et al.* 1996; Rosales y Suárez 1998; Leite *et al.* 2005). Sin embargo, la mortalidad para los adultos de *C. sordidus* fue mucho más baja que la registrada para sus estados inmaduros, como se discutirá más adelante, lo que pudo deberse a la menor movilidad, a la exposición de sus espiráculos y al exoesqueleto menos quitinizado de la larva.

En este ensayo se inició la mortalidad del insecto a partir de las 48 h con pequeños incrementos después de las 120 h de evaluación, mostrando que en este período hay mayor actividad de los NE y que en intervalos cortos hay grandes incrementos en la mortalidad de los insectos para la mayoría de los tratamientos (Fig. 1). En algunos trabajos realizados sobre capacidad patogénica de nematodos entomopatógenos (steinernemátidos y heterorhabdítidos) sobre adultos de *C. sordidus* se han registrado dosis de 1000/JI/adulto/ml que después de 360 h de evaluación alcanzan porcentajes de mortalidad del $80 \pm 14,49$ y $76 \pm 21,9\%$ (*H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* respectivamente) (Rosales y Suárez 1998), mientras que en el presente estudio se obtuvo para la misma dosis, estabilidad en la curva de mortalidad a las 120 h de evaluación y un 64% de mortalidad para ambos NE después de 228 h, lo que sugiere que en experimentos posteriores, se podría extender la duración de la prueba, esperando mortalidades después de los 10 días de evaluación como lo registrado por estas autoras.

Las diferencias entre las dosis bajas y altas de cada NE muestran que no necesariamente el incremento de las dosis representa un aumento en los porcentajes de mortalidad y que se puede llegar a un punto donde con mayor dosificación, la mortalidad se puede mantener constante o con ligeros incrementos. La efectividad de las dosis bajas es deseable en términos económicos, por lo que se podrían estudiar posteriormente dosificaciones intermedias que den una mayor ilustración sobre una concentración de NE efectiva y económica para llevar a campo.

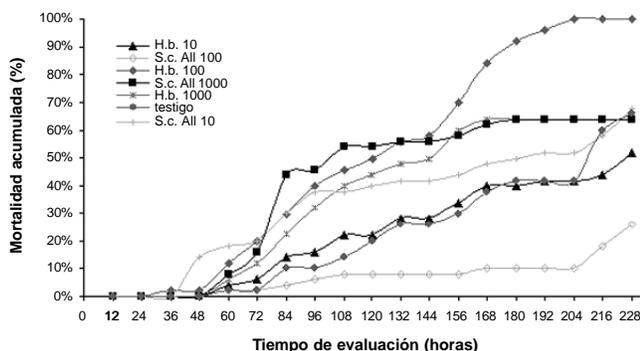


Figura 1. Porcentaje de mortalidad acumulada durante de adultos de *C. sordidus* infectados con NE.

Según Treverrow y Bedding (1993), el ingreso de los NE a los adultos de *C. sordidus* en cajas petri no se da hasta pasados varios días después de la infección, y generalmente entre uno y tres NE logran entrar a individuos sanos. Igualmente ellos registran que los mayores porcentajes de mortalidad se obtienen 14 días después de la infección con promedios de 70% para varias cepas de *S. carpocapsae*. Al comparar esta información con el presente estudio, se observa que los NE empleados lograron ingresar con mayor rapidez y tuvieron mayor mortalidad en 10 días, lo que resalta la importancia de realizar estudios con diferentes aislamientos nativos y con varios sistemas de bioensayo que permitan hacer una buena selección del NE a aplicar.

No hubo evidencia de desarrollo de adultos de NE, multiplicación de estados y emergencia de JI en ninguno de los tratamientos, lo que pudo deberse a sustancias producidas por el plátano que inhiben la bacteria simbiote de los nematodos. Este fenómeno ha sido registrado con algunos insectos que se alimentan de plantas que producen cucurbaticina la cual disminuye el potencial de *Xenorhabdus nematophilus* Thomas & Poinar, 1979 de *S. carpocapsae* (Kaya y Koppenhöfer 1996). También debe considerarse que *C. sordidus* posee endosimbiontes intracelulares (Nardon *et al.* 1985), por lo que resultaría interesante evaluar el efecto de dichos simbiontes sobre el desarrollo de los NE.

Efecto de nematodos entomopatógenos sobre larvas de *C. sordidus*. Con la modificación del sistema de bioensayo en todas las larvas sometidas a infecciones con JI se presentaron sintomatologías con cambio de coloración y consistencias gomosas para las dos especies de nematodos. En las infecciones con *S.c. All.* las larvas se tornaron marrón, mientras que con H.b., su coloración varió del rosa a rojo oscuro, sin diferencias entre las dosis utilizadas para cada nematodo, lo que coincide con lo reportado por Sáenz (2001) para varios insectos.

El porcentaje de mortalidad mostró diferencias significativas en relación con el testigo entre dosis (ANAVA, $P = 0,0001$) y en las interacciones entre dosis y tiempos de evaluación ($P = 0,0001$). Los porcentajes de mortalidad más altos se consiguieron con H.b. 100 JI/25 μ l, seguido por *S.c. All.* 1.000 JI/25 μ l, *S. c. All.* 100 JI/25 μ l y H.b. 1.000 JI/25 μ l corregidos por el testigo (Fig. 2).

Estos resultados concuerdan con los registrados por Treverrow y Bedding (1993), García Roa *et al.* (1994), Castrillón (2000) y Gold y Messiaen (2000), con una alta susceptibilidad de las larvas de *C. sordidus* y porcentajes de mortalidad hasta del 100% (datos sin corregir). Observaciones similares sobre la mayor susceptibilidad de estados inmaduros de Coleópteros a nematodos entomopatógenos, comparada con los adultos, ha sido reportada en *Otiorhynchus sulcatus*, *O. ovatus*, *Macronoctua onusta* Grote, 1874 (Gill y Raupp 1997), *Popillia japonica* Newman (Wang y Gaugler 1998), *Clavipalpus ursinus* Blanchard (Sáenz 2001) y *Tribolium castaneum* (Herbst) (Ramos-Rodríguez *et al.* 2006). La menor susceptibilidad de los adultos puede deberse a la dureza de los exoesqueletos de los escarabajos, al cubrimiento de los espiráculos por los élitros en algunos de los casos, a la facilidad de retirar a los NE con las patas y en el caso específico de curculiónidos, a la incapacidad de los NE de desplazarse a través de un rostro largo como en el de *C. sordidus*. Las larvas, por el contrario, son de movimiento más limitado, no tienen apéndices para locomoción ni defensa, son de cutícula

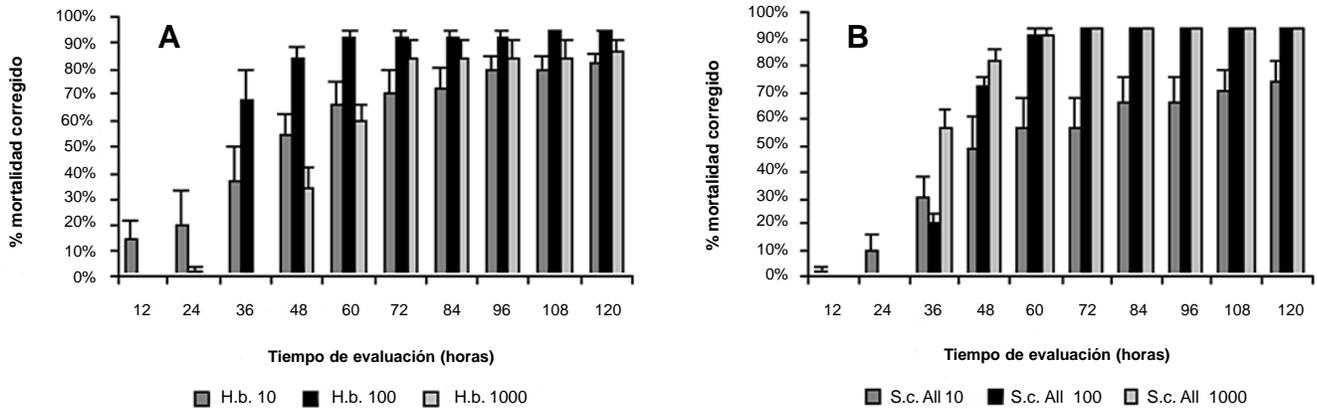


Figura 2. Porcentajes de mortalidad corregida de larvas de *C. sordidus* infectadas con *H. bacteriophora* (A) y *S. carpocapsae* (B).

suave y adicionalmente tienen boca, ano y espiráculos expuestos y disponibles para el ingreso de los NE, lo que las pudo hacer más susceptibles a la invasión e infección por éstos.

Es importante resaltar que los porcentajes de mortalidad y las primeras respuestas a las infecciones de NE sobre larvas de *C. sordidus* se presentaron con las dosis más bajas (10 JI/25 µl), hecho atribuido a la baja competencia intraespecífica para ingresar al hospedante. La existencia de esta competencia ha sido comprobada por Kaya y Koppenhöfer (1996) después del ingreso del JI insecto. Teniendo en cuenta los tratamientos en donde se obtuvieron los mayores porcentajes de mortalidad (H.b. 100 JI/25 µl y *S.c. All* 1.000 JI/25 µl), se determinaron los valores de TL_{50} para cada uno de los tratamientos obteniendo 39,69 y 37,23 h respectivamente. La mayor rapidez del género *Steinernema* para matar a su presa fue registrada igualmente para ninfas de *M. fimbriolata* por Leite *et al.* (2005). Rosales y Suárez (1998) en su trabajo con *C. sordidus* registraron lapsos mayores con aislamientos nativos de Venezuela de *S. carpocapsae* y *H. bacteriophora*, lo que demuestra las diferencias entre dichos aislamientos y la potencialidad de los empleados en el presente estudio.

Durante las disecciones de larvas parasitadas se observó que pasadas 48 h de su muerte, hubo desarrollo de estados

adultos de los NE para las dos especies (hermafroditas para *H. bacteriophora* y hembras y machos para *S. carpocapsae*). Aunque no se pudo determinar con exactitud el momento en que los JI que ingresan a las larvas pasan a estados adultos para hallar los índices de penetración, es claro que hay desarrollo de más de una generación en las larvas expuestas sin importar la dosis. El desarrollo y multiplicación de cada nematodo en su insecto hospedante, facilitaría la selección del mejor entomopatógeno y su inclusión como controlador biológico, pues lograría causar epizootias en el hábitat de la plaga.

Los dos nematodos en todas las dosis evaluadas lograron multiplicarse y reproducirse en larvas de *C. sordidus*. Para todos los tratamientos se presentó emergencia de NE de las larvas de *C. sordidus*, más no en todos los individuos (Fig. 3). Los días para el inicio de la emergencia difirieron entre dosis más no entre aislamientos, teniendo así emergencia de JI 4-6 días después de ubicar las larvas en cámara White para las dosis de 100 JI/25 µl y 1000 JI/25 µl, y para las dosis más bajas, 7-9 días después.

En la Figura 3 y Tabla 1 se observa el número de JI emergidos de larvas de *C. sordidus* para cada tratamiento. De esta forma, a mayor dosificación mayor número de JI producidos, de manera que los tratamientos con H.b. 1000 JI/25 µl y *S.c. All* 1.000 JI/25 µl, obtuvieron una mayor emergencia de JI con un comportamiento ascendente los primeros cinco días, para empezar a descender la producción durante los siguientes tres a cinco días, mientras que para las dos especies en los tratamientos con 100 JI/25 µl hubo una menor producción distribuida en mayor lapso. La mayor producción de JI de *S.c. All*, fue similar a la encontrada en estados inmaduros de otros insectos (Leite *et al.* 2005). Cuando se utilizan menos nematodos por larva, se presenta una mayor disponibilidad de nutrientes lo cual retarda todo el proceso de desarrollo del nematodo al interior del insecto. Esto se apreció claramente para las dos especies de nematodos ya que los tiempos de emergencia indistintamente son mayores. La producción de casi 100.000 nuevos JI por larva, sumada a la capacidad de desplazamiento horizontal y vertical que poseen estos organismos, a la baja movilidad de las larvas al interior de las galerías en el plátano y a las condiciones de oscuridad y humedad que la planta ofrece, sugieren que al inyectarse al corno del plátano los JI podrían estar ocasionando mortalidad permanente de varias generaciones de la plaga.

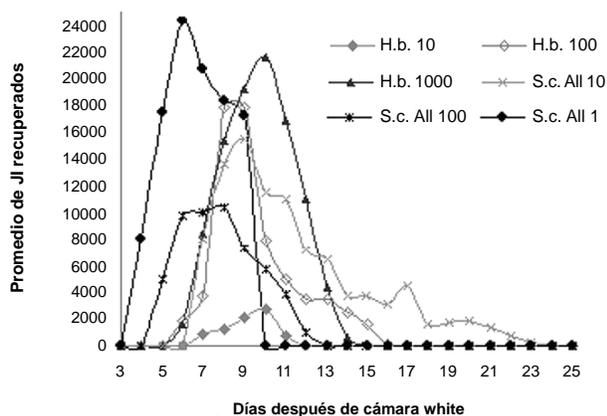


Figura 3. Comportamiento de la producción de JI de *S. carpocapsae* All Strain y *H. bacteriophora* en larvas de *C. sordidus* a través del tiempo (JI/larva).

Tabla 1. Porcentajes de mortalidad promedio de larvas de *C. sordidus* y promedio de JI totales emergidos de una larva de *C. sordidus*.

Dosis	<i>H. bacteriophora</i>				<i>S. carpocapsae</i>			
	Grupo	Media	Mortalidad (%)	JI	Grupo	Media	Mortalidad (%)	JI Producidos
10	B	53,252	64,21	7,690	B	46,766	53,08	96,166
100	A	66,618	84,25	65,785	A	62,570	78,77	53,354
1000	B	48,524	56,13	99,386	A	65,877	83,29	106,532

Conclusiones

La susceptibilidad de los estados de *C. sordidus* evidenciada en este trabajo indican que *S. carpocapsae* All Strain y *H. bacteriophora* podrían emplearse como una herramienta adicional en el manejo integrado de la plaga. Se observó claramente la patogenicidad y diferentes grados de virulencia de las especies utilizadas y la capacidad de desarrollarse especialmente en estados inmaduros (larvas), cumpliendo su ciclo completo y multiplicándose en larvas infectadas, características deseables en controladores biológicos. A estos resultados se puede agregar que la gran mayoría de NE son compatibles con todos los métodos de aplicación usados en la agricultura tradicional y que los JI de los NE evaluados son compatibles con casi todos los agroquímicos bajo condiciones de campo y son habitantes naturales del suelo (Wang y Gaugler 1998) lo que representa una ventaja más en la utilización de estas alternativas en el manejo de la plaga a nivel de campo.

Con el potencial insecticida de los NE registrado aquí y la gran diversidad de éstos en Colombia (López-Núñez *et al.* 2007) se abre la puerta para la evaluación de un gran número de aislamientos nativos sobre este insecto tanto en laboratorio como en campo, así como el estudio de su incorporación con otros agentes de control como los hongos entomopatógenos, dentro de programas de manejo integrado del picudo negro.

Adicionalmente, es necesario realizar estudios que permitan conocer y explotar las cualidades de los NE como herramienta en el control biológico del picudo negro. Los estudios se deberán concentrar en temas como formas de aplicación ya sea directa con aplicaciones dirigidas al cormo o inyecciones en los orificios de penetración del insecto, o indirectas con aplicaciones sobre trampas logrando que los patógenos se dispersen por los adultos; momento oportuno de aplicación con frecuencias y dosis en el campo y la interacción con otros agentes entomopatógenos y el desarrollo de formulaciones que permitan una mayor permanencia del nematodo en el campo. Esto último deberá relacionarse con el uso de nematodos nativos, no solo para preservar la biodiversidad sino para aprovechar su adaptación al medio ambiente, principalmente por las condiciones de clima y de suelo. De esta manera, el uso de los NE como insecticida biológico para controlar poblaciones de picudo negro, podrá ser una de las alternativas más convenientes en cuanto a efectividad y permanencia en el campo dentro de programas de manejo integrado de la plaga.

Literatura citada

- BEDDING, R. A.; MILLER, L. A. 1981. Use of a nematode, *Heterorhabditis heliothidis*, to control black vine weevil, *Otiorynchus sulcatus*, in potted plants. *Annals of Applied Biology* 99: 211-216.
- CASTRILLÓN, C.; HERRERA, J. G. 1986. Los picudos negro y rayado del plátano y banano. *Revista ICA Informa*, Abril-Mayo-Junio: 11-14.
- CASTRILLÓN, C. 1987. Reconocimiento del Picudo Negro (*Cosmopolites sordidus* Germar) del Plátano en el Departamento del Quindío. *Revista ICA Informa*, Manizales. Abril-Mayo-Junio: 16-21.
- CASTRILLÓN, C. 2000. Distribución de las Especies de Picudo del Plátano y Evaluación de sus Entomopatógenos Nativos en el Departamento de Risaralda. CORPOICA-Comité de Cafeteros de Risaralda-UMATA Departamento de Risaralda. Manizales. 72 p.
- CERDA, H.; LÓPEZ, A.; SANOJA, O.; SÁNCHEZ, P.; JAFFÉ, K. 1996. Atracción olfativa de *Cosmopolites sordidus* Germar (1824) (Coleoptera: Curculionidae) estimulado por volátiles originados en musáceas de distintas edades y variedades genómicas. *Agro-nomía Tropical* 46 (4): 413-429.
- CHYZIK, R.; GLAZER, I.; KLEIN, M. 1996. Virulence and efficacy of different entomopathogenic nematode species against western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*). *Phytoparasitica* 24 (2): 103-110.
- DORSCHNER, K. W.; AGUDELO-SILVA, F.; BAIRD, C. R. 1989. Use of heterorhabditid and steinernematid nematodes to control black vine weevils in hop. *Florida Entomologist* 72: 544-556.
- GARCÍA ROA, F.; GÓMEZ, J.E.; BELALCAZAR, S. 1994. Manejo biológico de *Cosmopolites sordidus* (Germar) en plátano. Reunión de la Asociación para la Cooperación en Investigación de Banano en el Caribe y en América Tropical. Memorias XI reunión en San José, Costa Rica. 13-18 de febrero.
- GILL, S. A.; RAUPP, M. J. 1997. Evaluation of biological and chemical applications for control of iris borer. *Journal Environmental Horticulture* 15: 108-110.
- GOITÍA, W.; CERDA, H. 1998. Hormigas y otros insectos asociados a musáceas y su relación con *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae). *Agronomía Tropical* 48 (2): 209-224.
- GOLD, C. S. 2000. Biology and integrated pest management of banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar), pp. 28-33. En: Molina, A. B.; Roa, V. N.; Maghuyop, M. A. G. (eds.). *Advancing banana and plantain R&D in Asia and the Pacific*. Vol. 10. Proceedings of the 10th INIBAP-ASPNET Regional Advisory Committee meeting held in Bangkok, 2000/11/10-11, INIBAP-ASPNET, Los Baños.
- GOLD, C. S.; MESSIAEN, S. 2000. El picudo negro del banano *Cosmopolites sordidus*. *Plagas de Musa*, Hoja Divulgativa 4: 1-4.
- GRIFFIN, C. T.; BOEMARE, N. E.; LEWIS, E. E. 2005. Biology and Behaviour, pp. 47-64. En: Grewal, P. S.; Ehlers, R. U. Capítulo 2 Nematodes as biocontrol agents. Shapiro-Ilan, D.I. Eds. CABI Publishing, Oxfordshire. U. K.
- KAYA, H. K.; KOPPENHÖFER, A. 1996. Effects of microbial and other antagonistic organism and competition in entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology* 6: 357-371.

- KAYA, H.; STOCK, S. 1997. Techniques in insect nematology, pp. 281-324. En: Lacey, L. A. (ed.). Manual of techniques in insect pathology. Biological techniques. Academic Press, Inc. San Diego. Chap. 6.
- KAYA, H. K.; AGUILERA, M. M.; ALUMAI, A.; CHOO, H. Y.; TORRE, M. de la; FODOR, A.; GANGULY, S.; HAZIR, S.; LAKATOS, T.; PYE, A.; WILSON, M.; YAMANAKA, S.; YANG, H.; EHLERS, R-U. 2006. Status of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries or regions of the world. *Biological Control* 38: 134-155.
- LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; GOULART, R. M.; TAVARES F. M.; BATISTA FILHO, A. 2005. Screening of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) and the efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the Sugarcane Root Spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae). *Neotropical Entomology* 34 (5): 785-790.
- LÓPEZ-NUÑEZ, J. C.; CANO, L.; GÓNGORA, C.; STOCK, P. 2007. Diversity and evolutionary relationships of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from the Central Andean region of Colombia. *Nematology* 9 (3): 333-341.
- MERCHÁN, V. M. 1998. Manejo de problemas fitosanitarios del cultivo del plátano en la zona central cafetera, pp. 177-191. En: Giraldo, M. J.; Belalcazar, S. I.; Cayón, D.; Botero, R. G. (eds.). Memorias seminario internacional sobre producción de plátano. Armenia, Quindío. CORPOICA Eje Cafetero, Universidad del Quindío. 313 p.
- NARDON, P.; LOUIS, C.; NICOLAS, G.; KERMARREC, A. 1985. Mise en évidence et étude des bactéries symbiotiques chez deux charançons parasites du bananier: *Cosmopolites sordidus*, *Metamasius hemipterus* (L.) (Col. Curculionidae). *Annales de la Société Entomologique de France* 21: 245-258.
- RAMOS-RODRÍGUEZ, O.; CAMPBELL, J. F.; RAMASWAMY, S. B. 2006. Pathogenicity of three species of entomopathogenic nematodes to some major stored-product insect pests. *Journal of Stored Products Research* 42: 241-252.
- RENN, N. 1998. Routes of penetration of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* attacking larval and adult houseflies (*Musca domestica*). *Journal of Invertebrate Pathology* 72: 281-287.
- ROSALES, L. C.; SUÁREZ, Z. 1998. Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control del gorgojo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae). *Boletín Entomología Venezolana* 13 (2): 123-140.
- SÁENZ, A. 2001. Los nematodos entomopatógenos: actualidad y perspectivas. Seminario regional en control biológico. Memorias primer seminario regional en control biológico. Santa Rosa de Cabal: Corporación Universitaria Santa Rosa de Cabal.
- TREVERROW, L. N.; BEDDING, R. 1993. Development of a system for the control of the banana weevil borer, *Cosmopolites sordidus* with entomopathogenic nematodes, pp. 41-47. En: Bedding, R.; Akhurst, R.; Kaya, H. K. (eds.). Nematodes and the biological control of pest. Melbourne Australia.
- WANG, Y.; GAUGLER, H. 1998. Host and penetration site location by entomopathogenic nematodes against Japanese beetle larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 72: 313-318.
- WHITE, G. F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science* 66: 302-303.
- WOUTS, W. M. 1991. *Steinernema* (*Neoplectana*) and *Heterorhabditis* species, pp. 855-897. In: Nickle, W. R. (ed.). Manual of agricultural nematology. New York: Marcel Dekker.

Recibido: 15-dic-2003 • Aceptado: 13-abr-2008