

Susceptibilidad de adultos de *Cosmopolites sordidus* (Germar) a *Heterorhabditis amazonensis* Andaló et al. [0000800008](#) Cepa HC1

Susceptibility of *Cosmopolites sordidus* (Germar) adults to *Heterorhabditis amazonensis* Andaló et al. strain HC1

Dairys García-Perera ^{1*}, Roberto Enrique ¹, Lidia López ¹, Daine Hernández-Ochandía ¹, Ileana Miranda ¹, Giselle Calabuche-Gómez ², Oriela Pino ¹, Lester Pupiro ³, Mayra G. Rodríguez ¹

¹Dirección de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

²Dirección de Salud Animal, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

³Universidad Internacional “Antonio de Valdivieso”, Rivas, Nicaragua.

RESUMEN: El objetivo de este estudio fue determinar la susceptibilidad *in vitro* de adultos del picudo negro (*Cosmopolites sordidus* Germar) a los juveniles infectivos (JI) de *Heterorhabditis amazonensis* Andaló et al. (Cepa HC1). Los adultos colectados en campo con trampas Sándwich y de Disco Modificada, se mantuvieron en cuarentena en el laboratorio hasta su uso en los ensayos. Se prepararon suspensiones de juveniles infectivos (125, 250, 500, 2500, 5000 JI.ml⁻¹) con las que se inocularon los insectos y se mantuvieron testigos sin inocular. Se evaluó la mortalidad desde las 12 horas hasta 21 días posteriores a la inoculación. Se determinaron los valores de Dosis letales (DL₅₀, DL₉₀) y Tiempos letales (TL₅₀ y TL₉₀) a través de Análisis Probi; el porcentaje de mortalidad a través del Análisis de Proporciones. Por el efecto de los nematodos, los adultos de picudos muertos se ponen rígidos y duros, mantienen la coloración y encogen las patas. Las CL₅₀ y CL₉₀ determinadas fueron 1 872 y 6 061 JI/ml⁻¹, respectivamente. Con la concentración de 5000 JI/ml⁻¹ para el control del 50 y 90 % de una población de *C. sordidus*, los TLs estimados fueron 17 y 28 días, respectivamente. El mayor porcentaje de mortalidad fue 86,7 y la dosis más alta se usó a los 21 días.

Palabras clave: control biológico, picudo del banano, Cuba, *Musa* spp.

ABSTRACT: The objective of this study was to determine the *in vitro* susceptibility of weevil adults (*Cosmopolites sordidus* Germar) to infective juveniles (IJ) of *Heterorhabditis amazonensis* Andaló et al. (Cuban strain HC1). The adults were collected in the field with sandwich and modified disc traps and kept in quarantine in the laboratory until their use in the tests. The insects were inoculated with suspensions of infective juveniles at the concentrations of 125, 250, 500, 2500, and 5000 IJ.ml⁻¹. Controls without inoculation were included. Mortality was evaluated from 12 hours to 21 days after inoculation. Lethal dose values (LD₅₀, DL₉₀) and lethal times (LT₅₀ and LT₉₀) were determined through Probit Analysis and the percentage of mortality by performing an Analysis of Proportions. The weevil adults killed by the effect of the nematodes became stiff and hard, maintained coloration and shrank their legs. The LC₅₀ and CL₉₀ determined were 1872 and 6061 IJ / ml⁻¹, respectively. The LT values estimated using the concentration of 5000 IJ / ml⁻¹ for the control of 50 and 90 % of a population of *C. sordidus* were 17 and 28 days, respectively. The highest percentage of mortality was 86.7 using the highest dose at 21 days.

Key words: banana weevil, biological control, Cuba, *Musa* spp.

*Autora para correspondencia: Dairys García-Perera. E-mail: dgarcia@censa.edu.cu

Recibido: //2019

Aceptado: //2019

El picudo negro (*Cosmopolites sordidus* (Germar)) es la principal plaga insectil que afecta bananos y plátanos (*Musa* spp.) en el mundo. Las larvas forman galerías en el cormo, interrumpen el transporte de agua y nutrientes, por lo que debilitan las plantas y las hacen más susceptibles a la entrada de otros patógenos, lo que conduce a una baja productividad y al acortamiento de la vida útil de las plantaciones (1,2).

En Cuba, se informó su presencia en 1944; posteriormente se distribuyó a todo el territorio nacional resultando la plaga de insectos más dañina de estos cultivos (3). Estudios efectuados por diversos autores en el país informaron pérdidas estimadas entre 19 y 34 % (4,5,6).

Este insecto es multivoltino (que efectúa varias generaciones al año), bastante fecundo y longevo; sin embargo, las poblaciones en campo se incrementan lentamente debido a que la ovoposición es relativamente infrecuente, por ello, la introducción de factores que produzcan mortalidad en los adultos conduce a un adecuado manejo de la población (7). Es una plaga difícil de controlar, pues habita en ambientes protegidos como las galerías de los cormos (2); por ello, su manejo incluye prácticas culturales, el uso de semilla (cormo) sana, endófitos, genotipos resistentes, agentes de control biológico, productos botánicos y, como última opción, el uso de plaguicidas químicos, pues estos productos aumentan el costo de producción y provocan daños ambientales (8).

Los nematodos entomopatógenos de los géneros *Heterorhabditis* (Poinar) y *Steinernema* (Travassos) representan agentes de control biológico de diversas plagas agrícolas a nivel mundial. Poseen una relación mutualista con sus bacterias simbioses de los géneros *Photorhabdus* y *Xenorhabdus*, respectivamente, que propician la muerte del insecto y las condiciones para la nutrición del nematodo dentro del cadáver (9). Su fase infectiva (juveniles infectivos) presenta atributos de parasitoides, pues son móviles y poseen quimiorreceptores y características de patógenos microbianos, son altamente virulentos, se pueden reproducir en medios de cultivos y matan rápidamente a los hospedantes (10).

En diversas partes del mundo, numerosos investigadores evaluaron la susceptibilidad de *C.*

sordidus a cepas nativas e importadas de nematodos entomopatógenos, en condiciones de laboratorio y campo, y demostraron las potencialidades de estos organismos para el manejo de la plaga (11,12,13).

En Cuba, el uso de nematodos entomopatógenos está generalizado; *Heterorhabditis amazonensis* Andaló *et al.* cepa HC1 (secuencia depositada en GenBank: BankIt1899363 Hamaz_HC1 KU870321) se reproduce en más de tres decenas de laboratorios (14), por lo que puede constituir una alternativa para el manejo del picudo negro en plantaciones de plátano y banano. Sin embargo, resulta necesario determinar la susceptibilidad de los adultos de *C. sordidus* a esta cepa, como parte de los estudios encaminados al uso del biorregulador en campo para disminuir las poblaciones de adultos. El objetivo de este estudio fue determinar la susceptibilidad de adultos del picudo negro (*C. sordidus*) a los juveniles infectivos (JI) de *H. amazonensis* (cepa HC1) *in vitro*.

El estudio se efectuó en el Laboratorio de Nematología Agrícola del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) (23° longitud norte y 82° de longitud oeste), entre los meses de octubre a noviembre de 2017.

Los adultos de *C. sordidus* se colectaron en zonas de producción de bananos y plátanos, que no habían recibido tratamiento químico o biológico, ubicadas en el municipio Nueva Paz (22°46'49.5 N; 81°45'00.4 O; 25 m.s.n.m), provincia Mayabeque, Cuba. Para la captura se utilizaron dos tipos de trampas, sándwich (en plantas que se derribaron, luego de la cosecha) y de disco modificada; en esta última se hicieron hendiduras a manera de cuadrículas en el pseudotallo de plantas que se habían cosechado. (Fig. 1)

Los picudos adultos colectados, en las primeras horas de la mañana, se trasladaron al Laboratorio de Nematología Agrícola del CENSA en frascos de cristal que contenían fragmentos de pseudotallo. En el laboratorio se mantuvieron en insectarios, a temperatura ambiente y fotoperiodo natural, con alimento fresco por un periodo de un mes (cuarentena),



Trampa Sándwich



Trampa de Disco modificada
(con cuadrículas)

Fig. 1. Trampas utilizadas para la captura de adultos de picudo negro (*C. sordidus*) en zonas de producción de la región occidental de Cuba / Traps used to capture black weevil (*C. sordidus*) adults in production areas of the western region of Cuba

para comprobar que no estaban infectados por patógenos.

Para el ensayo se tomaron los individuos con talla homogénea y a 10 individuos se les calculó talla (regla graduada) y masa (balanza KERN); se determinó que tenían 1,3 cm de envergadura y 0,0930 mg como promedio.

Se utilizaron juveniles infectivos (JI) de *H. amazonensis* cepa HC1 con menos de un mes de obtenidos, que se produjeron en el laboratorio por el método *in vivo*, utilizando larvas del último instar de *G. mellonella*, mediante la metodología de Sánchez *et al.* (15) y con los sustratos descritos por Enrique *et al.* (16).

Para determinar la concentración de nematodos en la solución y el cálculo de las dosis, se empleó el método de las diluciones descrito por Glazer y Lewis (17). Para este ensayo se utilizaron placas Petri de 9 cm de diámetro, a las cuales se les colocó papel de filtro. Los insectos se inocularon con cinco tratamientos, en correspondencia con cinco concentraciones (125, 250, 500, 2500, 5000 JI.ml⁻¹) de juveniles infectivos de la cepa HC1 de *H. amazonensis* por cada placa.

Para cada concentración se utilizaron tres réplicas (placas con cinco insectos adultos cada una) (unidades experimentales) y un control absoluto al cual se le aplicó agua destilada estéril (igual volumen de agua que los tratados). Posteriormente, se les colocaron trocitos de pseudotallo de 1 cm² como alimento, los que se cambiaron regularmente si era necesario. Las

placas se sellaron con Parafilm® para evitar el escape de los adultos y se incubaron a 27°C y oscuridad en incubadora (Friocell). El diseño fue completamente al azar.

Se registró el número de adultos muertos cada 12 horas hasta los 15 días; posteriormente, a los 21 días, momento en que concluyó el experimento.

Para comprobar la muerte de los insectos, estos se estimularon en el abdomen con una aguja de punta roma; cuando no mostraron movimiento se consideraron muertos. El ensayo se repitió dos veces y los valores que se exponen corresponden con el primero. Los cadáveres de los adultos se colocaron en placas individuales con papel de filtro humedecido ligeramente y a los 4-5 días, posteriores a la muerte, se les realizó una disección, utilizando pinzas y agujas en placas con agua destilada, bajo un microscopio estereoscópico (Zeiss) para ver si poseían nematodos en su interior.

Se describieron los síntomas de los cadáveres y se determinaron los valores de Concentración Letal media (CL₅₀), Concentración Letal a 90 % (CL₉₀), Tiempo Letal medio (TL₅₀) y Tiempo Letal a 90 % (TL₉₀) mediante análisis Probit. Los porcentajes de mortalidad se transformaron en $\arcsen\sqrt{\%}$ y se compararon mediante un análisis de varianza seguido de la prueba de rangos múltiples de Duncan ($p \leq 0,05$). Se realizó un análisis de regresión entre la dosis de aplicación y el porcentaje de mortalidad. Para los análisis

estadísticos se utilizó el paquete estadístico SPSS21.

Los adultos de picudo negro parasitados evidenciaron menor consumo de alimento y disminuyeron su movimiento; mientras que, una vez muertos, no presentaron cambio de coloración ni flacidez, permanecieron rígidos y con las patas plegadas. (Fig. 2)

La Concentración Letal media (CL₅₀) fue de 1 872 JI. ml⁻¹; mientras que, la CL₉₀ de la población se alcanza, según los cálculos, a una concentración mayor que la empleada en el estudio. Se evidenció que el tiempo requerido para ocasionar la muerte al 50 % de la población fue de unos 17 días y se estimó que la muerte de 90 % de los individuos se produciría a los 29 días en el tratamiento con la mayor concentración. (Tabla 1)

Cuando se analizaron los adultos muertos, se pudo constatar la presencia de hembras hermafroditas dentro de los cadáveres (Fig. 2), en las zonas cercanas a las patas del insecto, mientras que en el abdomen y la cabeza se encontraron huevos y otros estadios del nematodo (J1, J2, J3, J4, hembras y machos). Los nematodos se encontraban vivos y con buena movilidad. Esto evidencia varias generaciones dentro del insecto.

Los valores de mortalidad de los picudos difirieron estadísticamente entre el control (sin

aplicación de nematodos) y los tratados, con una relación mortalidad-concentración superior a 70 % (R²= 0,780); con valores de mortalidad en los tratados superiores al 40 % y más de 87 % de mortalidad en el tratamiento con mayor concentración de JI. En el tratamiento control se produjo mortalidad por debajo del 15 %. (Fig. 3)

La cepa HC1 de *H. amazonensis* provocó altos porcentajes de mortalidad en adultos de picudo en comparación con otra de la misma especie evaluada por Amador *et al.* (12), pues en el estudio desarrollado por esos autores, *H. amazonensis* aislado RSC 05 solo causó un 16, 7 % de mortalidad en los adultos de *C. sordidus*, lo que sugiere que la cepa cubana es más efectiva que otras de la misma especie para el manejo de *C. sordidus*. Rosales y Suárez (18) señalaron, sobre la base de sus resultados, que existen factores intrínsecos de cada cepa que, aun perteneciendo a la misma especie, difieren en su capacidad infectiva.

La mortalidad que se produjo en el control en este estudio, aunque baja, pudiera estar relacionada con la edad de los individuos que, al provenir de poblaciones de campo, no se conocen las edades específicas de los insectos; otro factor que pudiera incidir sería el estrés al que se someten los adultos al sacarlos de su medio natural.

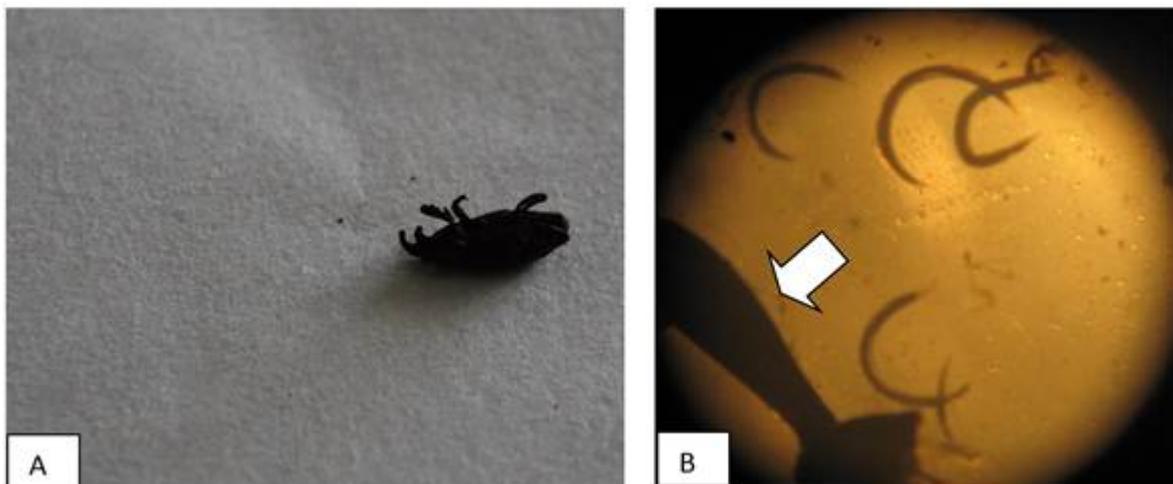


Fig. 2. A) Cadáveres de adultos de *C. sordidus* muertos por el efecto de *H. amazonensis* cepa HC1. B) Hembras hermafroditas de *H. amazonensis* cepa HC1, emergiendo de zona cercana a las patas de un cadáver de un adulto de picudo negro del plátano, tratado en ensayo de laboratorio (*in vitro*) / Cadavers of *C. sordidus* adults killed by the effect of *H. amazonensis* strain HC1. B) Hermaphrodite females of *H. amazonensis* strain HC1, emerging from the area near the legs of a corpse of an adult of the black banana weevil, treated in a laboratory test (*in vitro*)

Tabla 1. Valores de Concentraciones letales (50 y 90 %) y Tiempos letales (50 y 90 %) de la cepa HC1 (*H. amazonensis*) sobre adultos de *C. sordidus*, calculados en estudio de laboratorio, donde se aplicaron los JI a adultos de picudo en placas Petri /Lethal concentration values (50 and 90 %) and Lethal times (50 and 90 %) of the HC1 strain (*H. amazonensis*) on adults of *C. sordidus*, calculated in a laboratory study, where IJ were applied to weevil adults in Petri dishes

Probabilidad	Concentración letal (número de JI)			Tiempo letal (horas)		
	Límites de confianza al 95 %			Límites de confianza al 95 %		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior
,500	1872,366	816,781	3265,612	417,653	362,552	519,350
,550	2283,130	1292,318	3984,803	444,629	383,693	558,651
,600	2700,511	1709,664	4781,433	472,040	405,009	598,751
,650	3131,908	2093,658	5652,179	500,371	426,912	640,326
,700	3586,535	2464,735	6603,409	530,228	449,889	684,244
,750	4077,150	2840,635	7654,486	562,448	474,594	731,731
,800	4623,472	3240,232	8843,895	598,327	502,019	784,694
,850	5260,277	3690,098	10246,211	640,148	533,902	846,514
,900	6061,523	4241,096	12025,680	692,768	573,925	924,391

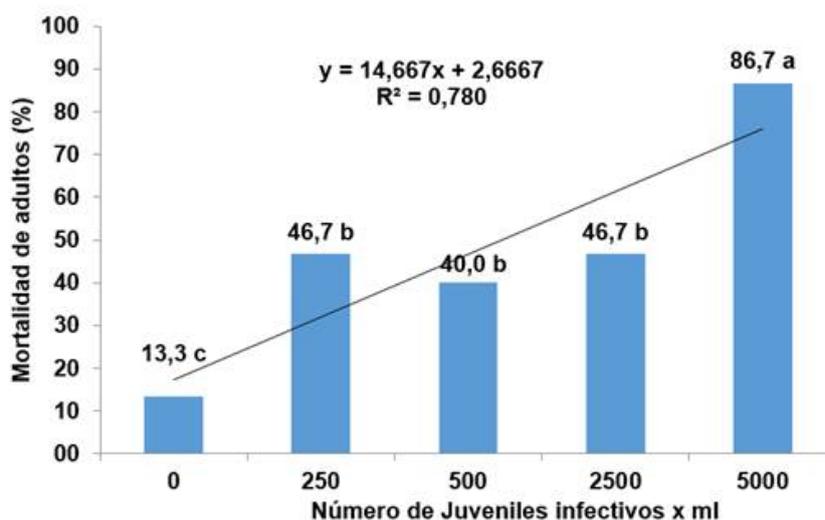


Fig. 3. Porcentajes de mortalidad de adultos *C. sordidus*, ocasionados por diferentes concentraciones JI de *H. amazonensis* cepa HC1 por ml aplicados *in vitro* / Percentages of mortality *in vitro* caused by different IJ concentrations of *H. amazonensis* strain HC1 in adults of *C. sordidus* under laboratory conditions

El análisis de la literatura internacional expuesto por Maniania *et al.* (19) sugirió que la susceptibilidad de los adultos de *C. sordidus* a nematodos entomopatógenos está relacionada con las cepas evaluadas y que, con frecuencia, es menor que la susceptibilidad de las larvas de este insecto.

Los adultos de *C. sordidus* no fueron susceptibles a *Heterorhabditis atacamensis* Edgington *et al.*, cepa CIA-NE07 los que se mantuvieron vivos un mes después de recibir 40 JI del nematodo por cada adulto (en placas Petri) (12). De igual forma, Mwaniki (20) informó que los aislados de nematodos entomopatógenos

(*Steinernema weiseri* Mracek *et al.*, *Steinernema yirgalemense* Nguyen *et al.*, *Steinernema* spp. y *Steinernema carpocapsae*) (Weiser) que evaluó en condiciones de laboratorio (placas Petri), causaron mortalidad en los adultos de *C. sordidus* cuando empleó concentraciones de 500, 750, 1000, 3000 y 5000 JI por adulto, en solo 96 horas en las que transcurrió el ensayo. En Tanzania se encontraron siete aislados de *Steinernema* (denominados MK1ASt, MK1BSt, MK4ASt, MK4BSt, MK7ASt, MW8ASt y MW8BSt) y dos de *Heterorhabditis* (MK7BHt y MK7CHt). Los aislados exhibieron la habilidad de infectar las larvas de *C. sordidus*; sin embargo, no afectaron,

significativamente, a los adultos, los que fueron parasitados solo por cuatro aislados (MK7ASt y MW8ASt- *Steinernema* y MK7BHt-*Heterorhabditis*). En el ensayo con larvas de *C. sordidus*, la mortalidad se incrementó, significativamente, con el incremento de la concentración de JI, lo que indica, según los autores, la importancia de las dosis (11).

Al respecto, señalaron Treverrow y Bedding (7) que los adultos del picudo del banano evidenciaron resistencia a los nematodos entomopatógenos, y que esa resistencia está más relacionada con la dificultad de los nematodos para entrar al interior del cuerpo del insecto que al éxito de la infección. En estudios realizados por estos autores, los adultos de *C. sordidus* que estaban alimentándose presentaron mayor mortalidad por la acción de los nematodos que los que no se alimentaron, pues mantenían activas la boca y el ano (para defecar), aperturas que usan para entrar los nematodos. En este ensayo, los picudos se mantuvieron con alimentación durante todo el tiempo, por lo que es posible que los nematodos utilizaran la boca y el ano para penetrar, debiéndose evaluar, en posteriores estudios si se produce entrada de JI por otras partes del cuerpo del insecto.

Sin embargo, cuando Bortoluzzi *et al.* (2) evaluaron 16 aislados de nematodos entomopatógenos (3 de *Steinernema* y 13 de *Heterorhabditis*) (100 JI/cm² o 1 134 JI/insecto), en placas con arena estéril, constataron que los adultos fueron susceptibles a casi todos los aislados; no obstante, el porcentaje de mortalidad varió significativamente entre 0 (aislado SC de *Steinernema carpocapsae*) y 36,7 % (*Heterorhabditis* sp. aislado IBCBn40), después de siete días de exposición.

La máxima mortalidad en este estudio fue superior a 85 % (Fig. 3); sin embargo, Treverrow y Bedding (7) obtuvieron una mortalidad máxima de adultos de picudo de ~70 %, a partir de los 14 días de estar expuestos a los nematodos entomopatógenos, pues la entrada de los nematodos no se produce hasta varios días después de contacto entre ambos organismos y solo penetran de 1 a 3 nematodos.

Además de ser efectivos los nematodos entomopatógenos en parasitar adultos de picudo

del plátano en condiciones de laboratorio, diversas cepas también fueron eficaces en condiciones de campo; lo que fue constatado por Waturu *et al.* (21) en un estudio de campo, cuando cuatro días después de haber aplicado *Steinernema kari* Waturu, Hunt & Reid, a dosis de 5 millones de JI y *Heterorhabditis indica* Poinar *et al.*, 1992 a 0, 4 millones de JI por m², constataron mortalidades de adultos en todos los tratamientos, lo que evidenció, según los autores, que los nematodos tuvieron la capacidad de parasitar los adultos y causar mortalidad. La aspersión de *S. carpocapsae* (cepas ALL y UK) a dosis de 5x10⁶ JI por m² en 0,4 L de agua sobre pseudotallos partidos y tocones de pseudotallos, alcanzó 70 % de mortalidad de adultos de *C. sordidus* recuperados a los 14 y 21 días (22)

Sin embargo, Smith (23) informó que los tratamientos en campo con *Heterorhabditis zealandica* Poinar (cepa 327) y *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (cepa BW) no resultaron efectivas en el control de adultos de picudo cuando se aplicaron en incisiones de 200 mm en los rizomas residuales luego de la cosecha, lo que pudo estar relacionado con la presencia de agua en los hoyos y que, quizás, se necesitaban más aplicaciones; lo que ratifica la necesidad de realizar estudios antes de aseverar que una cepa representa un eficiente agente de control biológico de *C. sordidus* en campo.

Los adultos del picudo negro del plátano (*C. sordidus*) resultaron susceptibles a la cepa HC1 de *H. amazonensis*, donde el porcentaje de mortalidad aumentó cuando las concentraciones se incrementaron. A partir de estos resultados, se imponen estudios en condiciones semicontroladas y campo, que permitan determinar la eficacia de la cepa en esas condiciones y poder sugerir su incorporación en el Manejo Integrado de Plagas de los cultivos de banana y plátanos en Cuba.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la Doctoras Moraima Surís, Belkis Peteira y Carolina Rosales por la revisión del trabajo y sus valiosas sugerencias. Los autores utilizaron tiempo y facilidades en el marco del Proyecto de la Unión Europea “*Microbial Uptakes for Sustainable*

management of major banana pests and diseases” (MUSA, 727624; topic: SFS- 11-2016)

REFERENCIAS

1. Gold CS, B Pinese, JE Peña. Pests of Banana. CAB International. Tropical Fruit Pests and Pollinators (eds J.E. Peña, J.L. Sharp, M. Wysoki). 2002. Pp 13- 56
2. Bortoluzzi L, Alves LFA, Alves VS, Holz N. Entomopathogenic nematodes and their interaction with chemical insecticide aiming at the control of banana weevil borer, *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae). Arquivos do Instituto Biológico. 2013; 80(2):183-192.
3. Martínez González E, Barrios Sanromá G, Rovesti L, Santos Palma R. Bananos y plátanos (*Musa paradisiaca* y *Musa sapientum* Linnaeus). Manejo Integrado de Plagas. Manual Práctico. Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV), Cuba. Entre pueblos, España. Grupo di Volontariato Civile (GVC), Italia (Eds.). 2006, pp.29-30.
4. Reinecke D. Distribución del picudo negro del plátano (*Cosmopolites sordidus*) en Cuba. Revista Especial Diez Anos de Colaboración Científica CUBA-RDA. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt”. Cuba. 1976: 52-56
5. Calderon A, Castineiras A, Lopez M. Efecto de los biocidas y fertilizantes empleados en el cultivo del plátano en Cuba sobre los hongos entomopatógenos. Rev. Agricultura. Serie Protección de Plantas (Cuba). 1991; 1: 21-31
6. Masso E, Neyra M. Daños y pérdidas causadas por *Cosmopolites sordidus* en el cultivo del plátano. Agrotecnia de Cuba. 1997; 27, 86-88.
7. Treverrow NL, Bedding RA. Development of a system for the control of the banana weevil borer, *Cosmopolites sordidus*, with entomopathogenic nematodes. En Nematodes and the biological Control of Insect Pests. Bedding R, Akhurst R, Kaya H K (Eds.), CSIRO, Melbourne, Australia. 1993. pp. 41-47
8. Gold C S, J E Pena, E B Karamura. Biology and integrated pest management for the banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae). Integrated Pest Management Reviews. 2001; 6: 79-155
9. Stock SP. Diversity, Biology and Evolutionary Relationships. Pp 3- 28 En Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests. Sustainability in Plant and Crop Protection 1. R. Campos-Herrera (Ed.). Springer International Publishing Switzerland 2015. DOI 10.1007/978-3-319-18266-7_1
10. Kaya HK, Gauler R. Entomopathogenic nematodes. Annual Review of Entomology. 1993; 38: 181- 206.
11. Mwaitulo S, Haukeland S, Sæthre M-G, Laudisoit A, Maerere AP. First report of entomopathogenic nematodes from Tanzania and their virulence against larvae and adults of the banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). International Jour. Tropical Insect Science. 2011; 31 (3): 154-161 doi:10.1017/S1742758411000294
12. Amador M, Diego Molina CG, Parajeles E, Jiménez K, Uribe L. Utilización del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis atacamensis* CIA-NE07 en el control del picudo del banano *Cosmopolites sordidus* en condiciones *in vitro*. Agronomía Costarricense. 2015; 39 (3): 47-60
13. San-Blas E, Campos-Herrera R, Dolinski C, Monteiro C, Andaló V, Garrigós Leite L, *et al.* Entomopathogenic nematology in Latin America: A brief history, current research and future prospects. Journal of Invertebrate Pathology. 2019; 165: 22-45 doi.org/10.1016/j.jip.2019.03.010
14. Rodríguez MG. Entomopathogenic nematodes in Cuba: from laboratories to popular biological control agents for pest management in a developing country, in: Campos-Herrera, R. (Ed.), Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests - Ecology and Applied Technologies for Sustainable Plant and Crop Protection. Springer, Cham. 2015. pp. 343-364
15. Sánchez L, Rodríguez MG, Gómez L, Soler DM, Hernández MA, Castellanos L, *et al.* Desarrollo de una metodología para la reproducción artificial de nematodos entomopatógenos para el control de plagas en

- cafeto. PNCT, Desarrollo Sostenible de la Montaña. CODIGO, 1850 0703023. Informe final Proyecto - CENSA y Metodología Depositados en Centro de Derechos de Autor, Cuba, Numero de depósito: CENDA 09613/1852 2002. 2001. 60 pp.
16. Enrique R, Sánchez L, Rodríguez MG, Gómez L, del Valle Z. Dietas alternativas para la cría de *G. mellonella*. Influencia sobre el rendimiento - peso de larvas de *Galleria mellonella* y recobrado de juveniles infectivos. Centro Nacional de Derecho de Autor (CENDA). Numero de depósito: CENDA 2874-2006. Ciudad de la Habana, Cuba. 2006. 20 pp
 17. Glazer I, Lewis EE. Bioassays for entomopathogenic nematodes. Pp. 229-247 En Bioassays of entomopathogenic Microbes and Nematodes. Navon A, Ascher KRS (Eds). CABI Publishing, UK. 2000.
 18. Rosales LC, Suárez Z. Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control del gorgojo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar 1824) (Coleoptera: Curculionidae). Bol Entomol Venez. 1998; 13(2):123-140.
 19. Maniania NK, Ekesi S, Dolinski C. Entomopathogens routinely used in Pest Control Strategies: Orchards in Tropical Climate. En Microbial Control of Insect and Mite Pests. From theory to practice. Lawrence A. Lacey (Ed.). Pp 269-282. 2017. Academic Press. Elsevier Inc. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803527-6.00018-4>
 20. Mwaniki Ndiritu Moses. Potential of entomopathogenic nematodes as a biological control and management tool for banana weevil (*Cosmopolites sordidus*) in banana orchards. [Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the award of a degree of Master of Science in Crop Protection]. Department of Plant Science and Crop Protection, Faculty of Agriculture of the University of Nairobi. Kenya. 2016. 135 pp. Disponible en: <https://pdfs.semanticschoola.org> (acceso: 6 de julio, 2019)
 21. Waturu CN, Wabule MN, Nguthi FN, Njinju SM. Field control of the banana weevil (*Cosmopolites sordidus*) using entomopathogenic nematodes. 2015. Disponible en <https://www.researchgate.net/publication/267795896> (acceso: 6 de julio, 2019)
 22. Schmitt AT, Gowen SR, Hague NGM. A baiting technique for the control of *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae) by *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae). Nematropica. 1992; 22: 159-163
 23. Smith D. Banana weevil borer control in south-eastern Queensland. Australian Journal of Experimental Agriculture. 1995; 35: 165-72

Los autores de este trabajo declaran no presentar conflicto de intereses.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)