

**Estimación de la concentración y tiempo letal
del nemátodo entomopatógeno
Heterorhabditis bacteriophora (Nematoda:
Heterorhabditidae) para el control de
Cosmopolites sordidus (Coleóptera:
Curculionidae).**

Fray Morales Ramírez

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2012

ZAMORANO
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y PRODUCCION AGROPECUARIA

**Estimación de la concentración y tiempo letal
del nemátodo entomopatógeno
Heterorhabditis bacteriophora (Nematoda:
Heterorhabditidae) para el control de
Cosmopolites sordidus (Coleóptera:
Curculionidae).**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura

Presentado por:

Fray Morales Ramírez

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2012

**Estimación de la concentración y tiempo letal
del nemátodo entomopatógeno
Heterorhabditis bacteriophora (Nematoda:
Heterorhabditidae) para el control de
Cosmopolites sordidus (Coleóptera:
Curculionidae).**

Presentado por:

Fray Morales Ramirez

Aprobado:

Rogelio Trabanino, M. Sc.
Asesor principal

Abel Gernat, Ph.D.
Director
Departamento de Ciencia y
Producción Agropecuaria

Alfredo Rueda, Ph.D.
Asesor

Raúl Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Miguel Cocom, Ing. Agr.
Asesor

RESUMEN

Ramirez Morales, F 2012. Estimación de la concentración y tiempo letal del nemátodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* (Nematoda: Heterorhabditidae) para el control del picudo *Cosmopolites sordidus* (Coleóptera: Curculionidae). Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería Agronómica, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. 16p.

El picudo negro *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleóptera: Curculionidae) constituye el insecto plaga mas limitante en producciones de plátano su control se ha basado en el uso de insumos agroquímicos altamente contaminantes. Una opción para el control biológico del picudo son los nemátodos entomopatógenos *H. bacteriophora* (Nematoda: Heterorhabditidae) se caracterizan por ser específicos y compatibles con la mayoría de prácticas agrícolas. Con el propósito de estimar la concentración y tiempo letal de *H. bacteriophora* producidos en Zamorano para el control del picudo *C. sordidus* se hizo un bioensayo en laboratorio utilizando 8 tratamientos cuyas concentraciones fueron de 6,000, 2,406, 965, 387, 155, 62, 25 y 0 nemátodos /insecto . Cada tratamiento tuvo 4 repeticiones, equivalente a 32 unidades experimentales, la población de picudos *C. sordidus* fue de 320 adultos a los cuales de les infecto con *H. bacteriophora* evaluando la patogenicidad durante 15 días con intervalos de 12 hrs. Solamente con la concentración de 6000 nemátodos/insecto se obtuvo 97% de mortalidad al día 15. Se analizo los datos mediante un análisis probit para poder estimar la concentración letal y tiempo letal. Según la línea base se determino la concentración letal para CL₅₀ de 1220.4 y CL₉₅ de 4816.5 nemátodos/insecto respectivamente. Para la concentración de 6000 nemátodos/insecto al ser la más significativa se estimo el TL₅₀ de 6.1 días y TL₉₅ de 11.33 días.

Palabras clave: Control biológico, CL₉₅, CL₅₀, nematodo entomopatogeno, TL₅₀, TL₉₅.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen.....	iii
Contenido	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4. CONCLUSIONES	12
5. RECOMENDACIONES.....	13
6. LITERATURA CITADA	14

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Tablas		Página
1. Descripción de los tratamientos de <i>H. bacteriophora</i> para el control del picudo del plátano <i>C. sordidus</i>	6	
2. Cuadro demostrativo de la mortalidad porcentual expresada por <i>C. sordidus</i> utilizado como hospedero para las diferentes concentraciones con <i>H. bacteriophora</i> nemátodo entomopatógeno.....	8	
3. Resultados del análisis probit para las concentraciones letal media CL ₅₀ y CL ₉₅	11	
4. Resultados del análisis probit para las concentraciones letal media TL ₅₀ y TL ₉₅	11	
Figuras		Página
1. Trampa tipo circular. Fuente: Cubillo y Laprade 2008.	4	
2. Tendencia del comportamiento comparativo entre concentraciones evaluadas a los 15 días.....	9	
3. Distribución probabilística de los tiempos letales probit esperados y los adquiridos a los 15 días	9	
4. Distribución probabilística de las concentraciones letales probit esperadas y las adquiridas a los 15 días.....	10	

1. INTRODUCCIÓN

La producción mundial de musáceas en el 2007 fue estimada en 102 millones de toneladas métricas entre banano (*Musa paradisiaca*) y plátano (*Musa acuminata*) de este total 68% corresponde a banano y 32% a plátanos. La región de América Latina y el Caribe produce el 85% del plátano que se comercializa en el mundo, requiriendo para ello el uso de alta tecnología, insumos agrícolas como fertilizantes, insecticidas, nematicidas, herbicidas y fungicidas. En términos de demanda mundial se observa un crecimiento de 1.94% este se atribuye al posicionarse como el cuarto alimento más importante del mundo después del arroz, el trigo y leche. El plátano posee además un alto rendimiento calórico ofrece fuentes de empleo genera ingresos constantes para la economía familiar mejorando el nivel de vida de los trabajadores bananeros (FAO 2004).

En Honduras la producción y exportación de plátano inició desde el año de 1860 concentrándose principalmente en la zona costera del país. En centro América Honduras como productor y exportador de plátano ocupa el tercer lugar en rendimiento y extensión geográfica después de Costa Rica y Guatemala. No obstante la producción nacional de plátano es solo de 1,200 cajas/Ha muy por debajo de los rendimientos reportados en países vecinos como Costa Rica y Guatemala que están por encima de las 2,500 cajas/Ha (CREE/CIAT 2005). Uno de los grandes desafíos de los agroindustriales hondureños ha sido contar con el abastecimiento constante y suficiente de materia prima para la elaboración de productos industriales como rebanadas fritas y tostadas, tostones (patacones), cereales, harinas, jaleas, alimentos para bebé por mencionar algunos obligándolos a importar de otros países. Registros revelan importaciones de plátano para proceso industrial de 5,410 TM/año provenientes de países como Guatemala, Costa Rica, Nicaragua y Panamá (CORBANA 2011).

El picudo negro *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleóptera Curculionidae) en sus fases de larva y adulto se alimenta del cormo produciendo galerías, las cuales bajo altas infestaciones al dañan el mismo y al sistema radical pueden incluso provocar desbalances nutricionales, pudriciones y la caída de las plantas entre otras (Castrillón 2003). Este insecto ha demostrado resistencia a un grupo amplio de insecticidas entre ellos los organoclorados del grupo ciclodienos y benceno (Gold y Messiaen 2000), los organofosforados y los carbamatos (Messiaen 2002), y a pesar que el control cultural puede contribuir al manejo del picudo, los requerimientos de mano de obra y de materiales a menudo son limitantes para su adopción.

El picudo negro del plátano (*Cosmopolites sordidus* Germar 1824) es precisamente la plaga de mayor importancia económica en la producción de plátano (Cubillo y Laprade 2003) Considerado responsable de reducir de productividad provocando considerables pérdidas económicas (Messiaen 2002, Castrillón 2003, Merchán 2002, Masanza 2003, De Graaf 2006).

Este insecto, según Arleu y Neto (1984) tiene el potencial de provocar pérdidas entre el 30 y el 90% en áreas infestadas en la región del Caribe, Florida y América Central. El combate químico mediante el uso de insecticidas, ha sido el método más difundido para controlar la plaga. Sin embargo, productos como el terbufós y el carbofurán han sido cuestionados en los últimos años por su alta toxicidad y efectos negativos sobre la salud humana y al ambiente (Sanz-Bustillo, 1997). El control de este insecto se puede efectuar mediante varias estrategias; a tal efecto, Nankinga (1999), Gold y Messia (2000), Ríos y Castrillón (2002), y Cubillo (2008) proponen métodos alternativos como el combate biológico utilizando microorganismos entomopatógenos, compatibles dentro del manejo integrado de plagas por ejemplo los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium Anisopliae*, *Verticillium lecanii* y también está el nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* producidos en Zamorano.

El uso de nematodos entomopatógenos como *H. bacteriophora* dentro de un programa de manejo integrado del picudo, debe considerar en primer lugar la evaluación de la patogenicidad de los nematodos, tanto en el laboratorio como en condiciones de campo. Según Brenes y Carballo (1994), el nematodo *H. bacteriophora* es de alta patogenicidad y debe evaluarse según criterios como: concentraciones, tiempos letales y métodos de aplicación.

Por lo tanto, en este estudio se evaluó el control del picudo negro del plátano con el nematodo *H. bacteriophora* en condiciones de laboratorio. Se evaluaron 8 concentraciones de nematodos partiendo de 200 millones de nematodos/Ha dosis la cual ha sido recomendada y previamente caracterizada como de alta patogenicidad Cubillo (2008). De esta forma se evaluó la efectividad del entomopatógeno para el control del picudo negro del plátano *C. sordidus* con el afán de determinar las (os) CL₉₅, CL₅₀, TL₅₀, TL₉₅ información que eventualmente, se pondrá a disposición de los productores plataneros con el objetivo de contribuir a mantener los rendimientos del cultivo y disminuir el uso de insecticidas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Metodología para la evaluación del control y paratismo de los nemátodos entomopatógenos *Heterorhabditis bacteriophora*.

Ubicación. El experimento se llevo a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Control Biológico de Zamorano ubicado en el valle del Yeguaré a 32 kilómetros de Tegucigalpa D.C ubicados en las coordenadas geográficas latitud norte de 14° 00' 46.97" longitud Oeste de 87° 00' 13.54" a una altura de 787 msnm, con una precipitación media anual de 1,100 mm y una temperatura promedio de 25°C.

Material biológico. Para la obtención de los nemátodos *H. bacteriophora* fue necesario contar con un pie de cría los cuales fueron producidos "in vivo" utilizando larvas de *Galleria mellonella* (Lepidóptera: Pyralidae) como hospedero. Las larvas de *G. mellonella* se inocularon con nematodos juveniles infectivos de *H. bacteriophora* los cuales se reproducen dentro de las larvas por 14 días obteniendo de ellas cantidades que oscilan en un rango de 80,000 hasta 300,000 infectivos juveniles.

El nematodo tiene la capacidad de buscar a su presa, una vez que lo encuentra este se introduce en el cuerpo del hospedero a través de los orificios naturales que pueda tener como ser boca, ano y espiráculos en ocasiones también lo hace penetrando a través de la cutícula de insecto hospedero ya que posee un diente con el cual rasguña en zonas donde la misma es más delgada como en los repliegues inter-segmentales debido a este comportamiento *H. bacteriophora* desarrolla una mayor habilidad de penetración sobre el hospedero en comparación a otros agentes de su tipo (Poinar 1990).

Una vez que el nematodo *H. bacteriophora* logró introducirse en el insecto la bacteria simbiótica *P. luminiscentes* abandona el cuerpo del nemátodo la cual se encarga de matar al insecto en un tiempo aproximado de 48 horas esta bacteria también libera un antibiótico con el cual cubre todas las paredes internas del insecto evitando la entrada de organismos saprofitos que puedan contaminar y descomponer los tejidos internos.

Este comportamiento favorece al nemátodo *H. bacteriophora* quien aprovecha se alimenta de los tejidos internos del hospedero y consecuentemente lograr su reproducción por dos ciclos. Las larvas de *G. mellonella* afectadas por el nemátodo se distinguen de las sanas por su coloración, al mostrar una coloración diferente a la natural color rojo marrón. La recuperación de los nemátodos en el laboratorio se realizó mediante el uso de trampas White la cual consiste en colocar dentro de una bandeja plástica 20 ml de agua destilada, en el interior de la bandeja se dispuso de placas petri conteniendo un disco de papel filtro humedecido. Sobre el papel filtro de esta placa se colocaron las larvas de *G. mellonella* que presentaron sintomatología de ataque por nemátodos y se incubaron a 25°C por dos semanas.

Según Poinar (1990) los nemátodos no pueden excavar ni nadar, su movilidad se basa mediante el uso de la tensión superficial que se produce en una película húmeda al ser hidrofílicos tienden a orientarse hacia los lugares con mayor humedad. Los nemátodos que emergieron de la trampa White se cosecharon por cuatro días, luego fueron colocados en tubos de ensayo para después ser centrifugados a 1200 rpm tres veces durante dos minutos, como resultado se obtuvo una solución más concentrada con miles de nemátodos los cuales fueron puesto en esponjas para su almacenamiento a 6°C.

Recolección de adultos de picudo. Para la obtención de los adultos de picudo negro del plátano *C. sordidus* se realizaron múltiples muestreos en una finca ya establecida con un nivel alto de infestación. Se utilizaron trampas tipo sándwich como referencia al estudio realizado por Muños (2001) donde evaluó la efectividad de 4 tipos de trampas para el control del picudo negro del plátano *C. sordidus* en Zamorano. La trampa tipo sándwich consiste en colocar dos piezas en rodajas de pseudo tallo preferiblemente de una planta adulta (6 meses) se colocó una sobre la otra con el cuidado de no juntar dos rodajas del mismo corte dejando un espacio para que el picudo pueda entrar y alimentarse del pseudo tallo.



Figura 1. Trampa tipo circular. Fuente: Cubillo y Laprade 2008.

Las trampas fueron colocadas en el suelo distanciadas a 50cm del tallo principal de la planta. El monitoreo de las trampas se realizó 4 días para después ser colectados en bolsas de papel y luego trasladarlas al laboratorio de control biológico a donde fueron desinfectados colocados en bandejas plásticas para su aclimatación. Este proceso duro entre dos a tres semanas al final se logró recolectar los 320 necesarios para el estudio.

Desinfección y acondicionamiento. Una vez que se obtuvieron los picudos se procedió a su desinfección la cual se realizó preparando una solución de hipoclorito de sodio al 0.01% en la cual se sumergieron los adultos de *C. sordidus* durante 30 segundos, luego se volvieron a sumergir en un recipiente con agua destilada estéril (ADE) durante 30 segundos, esto para eliminar el exceso de hipoclorito de sodio que pudieron retener y de esa manera garantizar la sanidad de los mismos.

Control de calidad del pie de cría. Antes de comenzar las evaluaciones con el objetivo de determinar la calidad de los organismos, en ese momento se realizó una evaluación esta consistió en tomar una muestra de los nemátodos entomopatógenos para verificar que todos estuvieran vivos para su posterior conteo. Los nemátodos muertos se identifican por su estiramiento como una aguja y su falta de movilidad.

Prueba de concentración del nemátodo. Para el conteo de nemátodos se empleo el método de dilución que consistió en extraer una alícuota de 1 ml de suspensión madre con el cual se realizaron 3 diluciones de 1ml en 9ml de agua destilada estéril (ADE). Esto permitió conocer la concentración de nemátodos en la solución madre a razón de infectivos juveniles/ml.

Tratamientos. El bioensayo se realizó siguiendo la metodología sugerida por Woodrin y Kaya (citado por Poinar y Thomas 1983) el procedimiento consistió en preparar una serie logarítmica de 7 concentraciones más un testigo con agua destilada estéril (ADE) Para llevar a cabo las concentraciones primeramente se estimaron las concentraciones más alta y baja tomando dos referencias: la primera es basado al estudio realizado por Figueroa (2004) así como también de la dosis recomendada por el laboratorio de control biológico de Zamorano de 200 millones partiendo de una densidad de 3300 plantas/Ha se dividió la dosis de 200 millones/Ha entre la densidad y se determinó que las concentraciones más altas y bajas serían de 6000 y 25 nemátodos por insecto respectivamente, luego se utilizó un programa el cual tomo como bases estas dos concentraciones y estimó su valor logarítmico estimando una diferencia igual para cada una de las otras concentraciones.

Las concentraciones determinadas fueron 6,000, 2,406, 965, 387, 155, 62, 25 nemátodos/insecto habiendo entre cada una de estas concentraciones existe el mismo distanciamiento logarítmicamente. Para esto se realizaron varias diluciones se utilizó la fórmula de $V_1 + C_1 = C_2 + V_2$ para calcular las diferentes niveles de nemátodos y agua destilada estéril requerida para hacer la dilución.

Las unidades experimentales consistieron en bandejas plásticas estériles de 24cm de ancho y 12 cm de profundidad con un volumen de 5500 cm³ con papel filtro Whatman con base a la bandeja con el objetivo mantener la humedad. En cada bandeja se colocaron 10 picudos adultos se realizaron 4 repeticiones por cada tratamiento para un total de 32 unidades experimentales.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos de *H. bacteriophora* para el control del picudo del plátano *C. sordidus*.

Dosis Nemátodo/Insecto		Insectos /tratamiento	Total de Nemátodos	Número de unidades experimentales
	6,000	10	60,000	4
	2,406	10	24,060	4
	965	10	9,650	4
	387	10	3,870	4
	155	10	1,550	4
	62	10	620	4
	25	10	250	4
	0.00	10	0.00	4
Total	10,000	80	100,000	32

Metodología de aplicación de los tratamientos en el laboratorio.

Bioensayo. Una vez conociendo las respectivas concentraciones y preparadas las unidades experimentales que consistían en una bandeja con 10 picudos adultos por bandeja se procedió a inocular cada una de ellas con la cantidad deseada según el tratamiento, se extrajo con una pipeta 1 ml de solución de cada concentración preparada y se esparció sobre el cuerpo de los insectos exceptuando el testigo que solamente se le aplicó agua destilada estéril (ADE). Las bandejas una vez inoculadas fueron colocadas en el cuarto de incubación a una temperatura promedio de 25°C y una humedad relativa de 65%.

Variables evaluadas. Una vez inoculados los insectos en las 32 unidades experimentales, se evaluó la mortalidad de los picudos, con intervalos de 12 horas durante 15 días las variables evaluadas mortalidad y tiempo, así mismo la mantención de la humedad y temperatura tanto dentro como fuera de las bandejas.

Estadística dosis respuesta con transformación probit. Para calcular el CL y TL se utilizo el modelo de regresión Probit (Finney 1948). Probit es una palabra que viene de la contracción de unidad de probabilidad; sin embargo no son unidades de probabilidad. Son unidades de desviación estándar incrementadas en cinco con la finalidad de evitar el uso de números negativos. Esta transformación asume que la relación dosis respuesta correspondiendo a una curva sigmoidea o bien una expresión lineal que refleja una función de distribución normal acumulativa (Finney Stevens 1948).

La transformación probit es, sin lugar a dudas, la más utilizada para poder determinar la concentración letales tanto medias CL_{50} y altas CL_{95} así como los tiempos letales medio TL_{50} y altos como TL_{95} a diferencia de la curva tradicionalmente utilizada esta tiene una media de 5 y no 0, valor que corresponde a la cantidad de producto (nematodos) necesarios para obtener una respuesta menor o igual a la expresada en el probit (Infante y Calderón 1994).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bioensayo con *Heterorhabditis bacteriophora* en laboratorio. Según Agüera (1996) una condición importantes para que se logre dar invasión efectiva de los nemátodos en los insectos plaga a controlar es la relación que hay entre nemátodo-hospedero esta se da al haber contacto de uno con el otro. Al aplicar los nematodos *H. bacteriophora* muchas veces estos no caen directamente sobre el cuerpo del insecto deberán ir en su búsqueda, tiene la capacidad de movilizarse a través de las partículas del suelo. Sabemos que los nemátodos no pueden ver, estos logran detectar a los insectos mediante emisiones de CO₂ que emiten los insectos al respirar Gaugler (1986).

Los resultados obtenidos en los tratamientos evaluados fueron variables, mortalidades desde 97% con la concentración de 6000 nemátodos/insecto hasta 27% para el tratamiento con 25 nemátodos/insecto a los 15 días. Dichas mortalidades son consideradas como una respuesta a las concentraciones utilizadas las cuales dieron inicio al segundo día para la mayoría de los tratamientos Cuadro 3. Los picudos sin aplicación de nemátodos sobrevivieron en un 100% lo que indica que el bioensayo fue bien conducido.

Cuadro 2. Cuadro demostrativo de la mortalidad porcentual expresada por *C. sordidus* utilizado como hospedero para las diferentes concentraciones con *H. bacteriophora* nemátodo entomopatógeno.

Tratamientos	Mortalidad % a los 15 días
6000	97.5
2406	70.0
965	52.5
387	42.5
155	40.0
62	40.0
25	27.5
0	0.0

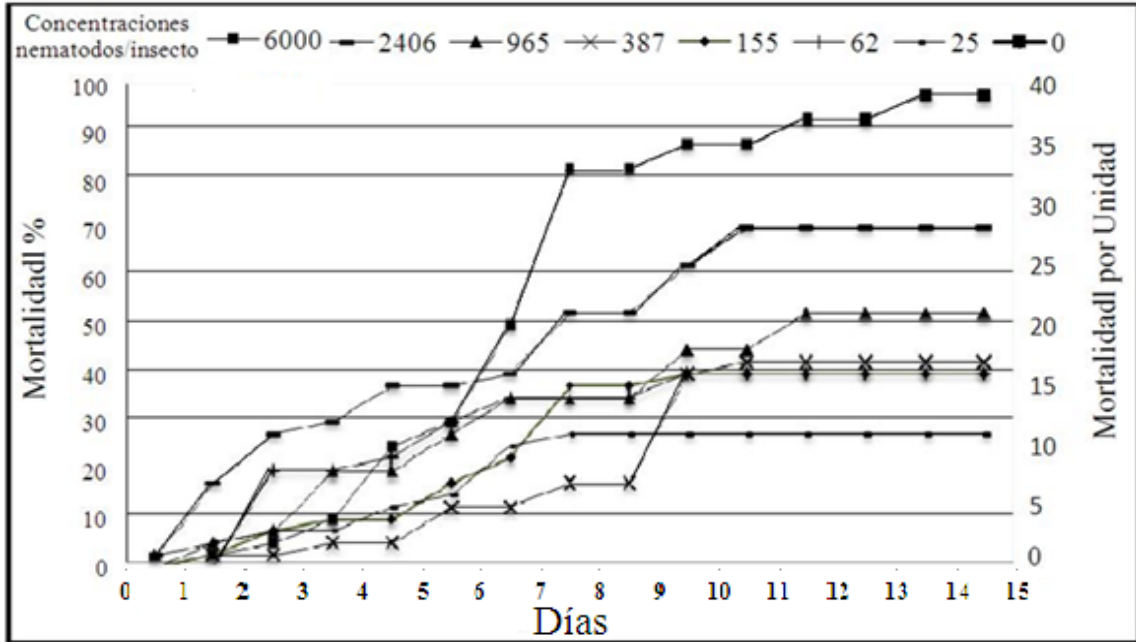


Figura 2. Tendencia del comportamiento comparativo entre concentraciones evaluadas a los 15 días.

Se puede ver Figura 2 el comportamiento entre la variable independiente (días) contra la variable dependiente (mortalidad). Hasta el día 6 todas tuvieron un comportamiento leve, después del día 7 se mostro un crecimiento mostrando los porcentajes más altos del estudio.

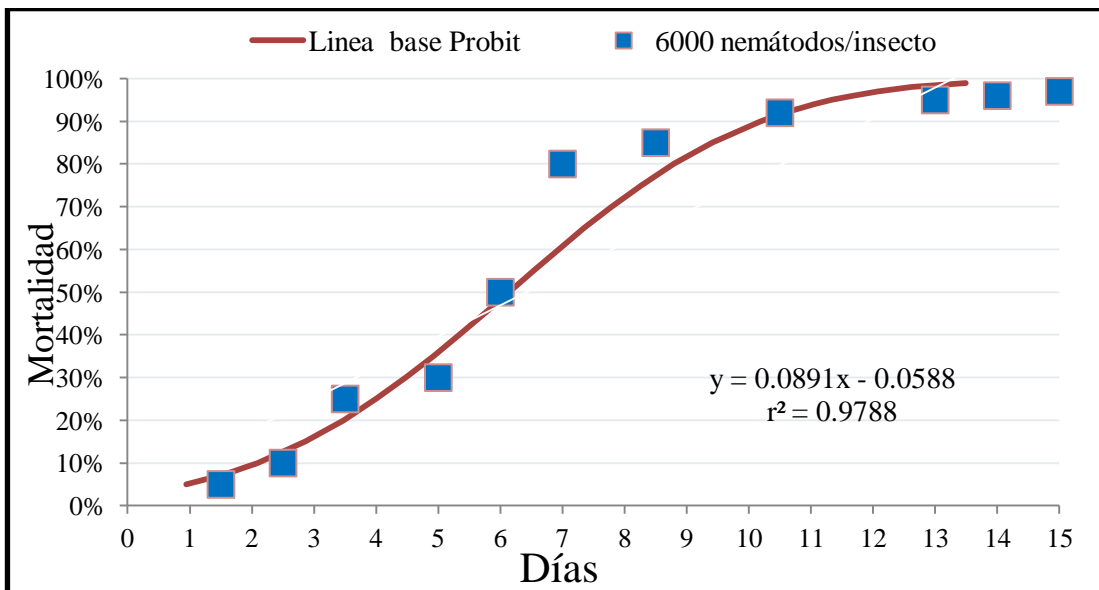


Figura 3. Distribución probabilística de los tiempos letales probit esperados y los adquiridos a los 15 días

La concentración de 6000 nematodos/ insecto obtuvo el mayor porcentaje de mortalidad a los 15 días de 97% siendo el total de insecto evaluados 40 este porcentaje es equivalente a 39 picudos. Las mortalidades en el resto de concentraciones fueron de 70.0, 52.5, 42.5, 40.0, 40.0, 27.5 y 0.0 por ciento.

Los cuadrillos que se observan en la Figura 3 significan, los tiempos letales obtenidos en el estudio, mientras que la línea se refiere a los tiempos letales esperados en el análisis probit, con base a la concentración de 6000 nemátodos/insecto. Se estimó la ecuación de la gráfica con base al modelo el r^2 significa que los datos obtenidos en el probit línea base se parasen un 97% a un tendencia lineal.

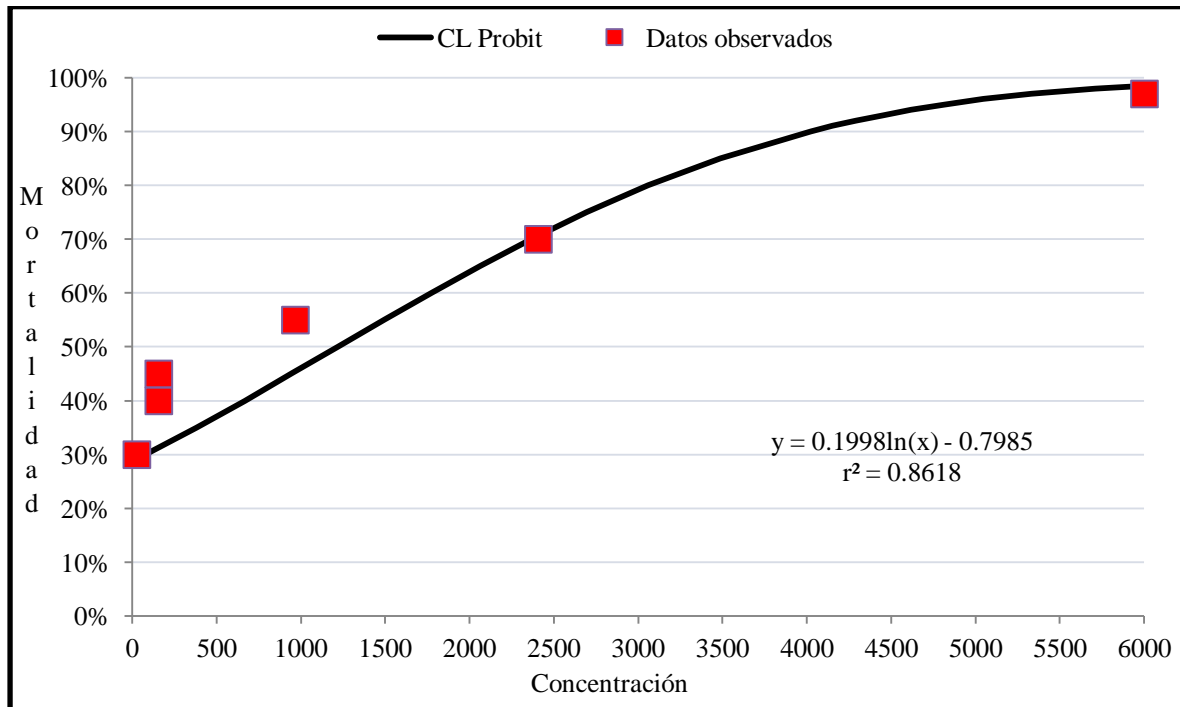


Figura 4. Distribución probabilística de las concentraciones letales probit esperadas y las adquiridas a los 15 días.

Los cuadrillos significan, las concentraciones obtenidas en el estudio, mientras que la línea se refiere a las concentraciones arrojadas en el análisis probit, con base a la línea base. Se calculó la ecuación de la gráfica con base al modelo de regresión lineal el r^2 que significa que los datos obtenidos en el probit línea base se parasen un 86% a un tendencia lineal.

Parámetros Probit		Número de nematodos			
<i>Cosmopolites sordidus</i>	n	CL ₅₀		CL ₉₅	
Línea base	320	1220.4		4816.5	
L.F 95%		885.9	1645.6	3856.7	6511.2

Cuadro 3. Resultados del análisis probit para las concentraciones letal media CL₅₀ y CL₉₅.
n= población picudos
L.F= limites fiabilidad

Se muestran los valores Cuadro 3 correspondientes a las concentraciones letales obtenidas resultado de análisis probit determinando una en la línea base de susceptibilidad, al analizar todas las concentraciones en conjunto. Se determino una concentración CL₅₀ de 1220.4 nematodos/ insecto y una concentración CL₉₅ de 4816.5 nematodos/insecto cada uno con sus respectivos limites de fiabilidad

Parámetros Probit		Días			
<i>Cosmopolites sordidus</i>	n	TL ₅₀		TL ₉₅	
6000 nematodos	40	6.1		11.33	
L.F 95%		5.6	6.5	10.6	12.18

Cuadro 4. Resultados del análisis probit para las concentraciones letal media TL₅₀ y TL₉₅.
n= población picudos
L.F= limites de fiabilidad

Se muestran los valores correspondientes a los tiempos letales obtenidas resultado de análisis probit basado en la concentración de 6000 nematodos / insecto. Se determino un TL₅₀ de 6.1 días un TL₉₅ de 11.33 días cada uno con sus respectivos limites de fiabilidad.

4. CONCLUSIONES

- Para poder controlar el 50% de la población de *C. sordidus* será necesario utilizar la CL_{50} determinada fue de 1220.4 nemátodos/insecto.
- Para poder controlar el 95% de la población de *C. sordidus* será necesario utilizar la CL_{95} determinada fue de 4816.5 nemátodos/insecto.
- Los tiempos letales (CL_{50} y CL_{95}) obtenidos nos dicen el tiempo letal estimado utilizando la concentración más alta de 6000 nematodos/insecto para el control del 50 y 95 por ciento de una población de *C. sordidus*.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar otro estudio, a nivel de campo en una plantación de plátano establecida para conocer la variación de las concentraciones y tiempos letales obtenidos en este estudio.
- Realizar, otro estudio a manera de darle seguimiento a este estudio y evaluar las dosis diagnóstico, para conocer la efectividad de las concentraciones y tiempos letales obtenidos en este estudio a nivel de campo.

6. LITERATURA CITADA

Agüera De Doucet, M.M ; Laumond, C.1996. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga: uso de nemátodos entomopatógenos en campo. Ed. Roberto E. Lecuona. Buenos Aires, AR, Pergamino. p. 27-38.

Arleu, RJ; Neto, S. 1984. Broca de bananeira *Cosmopolites sordidus* (Germar 1824) (Coleoptera: Curculionidae). Turrialba. 34 (3): 359-367.

Brenes, S; Carballo, M. 1994. Evaluación de *Beauveria bassiana* (BALS.) para el control biológico del picudo del plátano *Cosmopolites sordidus* (GERMAR). Manejo Integrado de Plagas. 31: 17-21.

Castrillón, C. 2003. Situación actual del picudo negro del banano (*Cosmopolites sordidus* Germar) (Coleoptera: Curculionidae) en el mundo. In: Rivas, G; 75 Rosales, F. (Eds.). Actas del Taller “Manejo convencional y alternativo de la sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de musáceas”, celebrado en Guayaquil, Ecuador. 11- 13 de agosto. p. 125-138.

CORBANA. 2011. Estadísticas bananeras. (en línea). C.A. Consultado 10 setiembre. 2010. Disponible en www.corbana.co.cr

CREE/ CIAT, Dic. 2005. Análisis de las Importaciones Agrícolas de Honduras

Cubillo, D; Laprade, S; Vargas, R. 2001. Manual técnico para el manejo integrado de insectos plaga en el cultivo de banano. San José, Costa Rica. CORBANA. 73 p.

Cubillo, C; Laprade, S. 2008. Evaluación de las feromonas de agregación, Cosmolure® y Cosmotrak® en la captura del picudo negro, *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae) y el efecto en el daño del cormo del banano. In: Sandoval, JA. (Ed.). Dirección de investigaciones, CORBANA. Informe Anual 2007. p. 153-156.

De Graaf, J. 2006. Integrated pest management of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar), in South Africa. Ph.D. Thesis. Pretoria, South Africa, University Pretoria. 242 p.

FAO. 2004. La economía mundial del banano 1985-2002 (en línea) Consultado 5 abr. 2010. Disponible en www.fao.org

Finney, DJ; Stevens WL (1948). "Una tabla para el cálculo de probits de trabajo y pesos en el análisis probit "Biometrika **35** (1-2): 191-201.

Fogain, R; Messiaen, S; Foure, E. 2002. Estado de *Cosmopolites sordidus* en el mundo. Estudio del picudo negro del banano en Camerún. INFOMUSA. 11 (1): VIII.

Gaugler, R; Kaya, 1986 HR. Entomopathogenic nematodes in biological control, Boca Raton, Florida, US, CRC. p. 23-60.

Gold, CS; Messiaen, S. 2000. El picudo negro del banano *Cosmopolites sordidus*. Plagas de Musa - Hoja divulgativa N° 4. (En línea) Consultado 24 ene. 2008. Disponible en www.inibap.org.

Infantes, S; Calderon L. 1994. Manual de análisis de Probit Centro de Estadística y Computo Aplicado. Colegio de Postgraduados. Montecillo. Texcoco . México. 108p

Masanza, M. 2003. Effect of crop sanitation on banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar) populations and associated damage. Ph.D. Thesis. Wageningen, Netherlands, University Wageningen. 165 p.

Merchán, V. 2002. El picudo negro del plátano y el banano (en línea). Manizales, Colombia. Instituto Colombiano Agropecuario. Consultado 29 mayo 2010. Disponible en <http://www.agronet.gov.co>

Messiaen, S. 2002. Components of Strategy for the Integrated Management of the Banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae). Ph.D. Thesis. Leuven, UK. University of Leuven. 169 p.

Muñoz, M. M. 2001. Estudios de población, monitoreo y control del Picudo negro (*Cosmopolites sordidus*, Germar) en el cultivo del plátano (*Musa* AAB). Tesis Ing. Agr. Zamorano. Honduras Pág. 48.

Nankinga, CM; Moore, D; Bridge, P; Gowen, S. 1999. Recent advances in microbial control of banana weevil. In: Frison, EA; Gold, CS; Karamura, EB; Sikora, RA. (Eds.). Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa. Proceedings of workshop on banana IPM held in Nelspruit, South Africa 23-28 November 1998. INIBAP, Montpellier, Francia. p. 73-85.

Poinar, Jr.; G. O.; Thomas, G. M. 1983. Laboratory guide to insect pathogens and parasites. Plenum press, NY, 392 p.

Poinar, Jr G.O. y Thomas, G. M. 1967. *Neoaplectana* parasitism of larvae of the nematode, DD-136 (*Neoaplectana* sp, *Heterorhantidae*). *Parasitology* 56:385-390.

Ríos, JC; Soto, A; Castrillón, C. 2002. Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. en formulación comercial y artesanal para el manejo del picudo negro (*Cosmopolites sordidus* GERMAR) en plátano. In: Acorbat. Memorias XV reunión. Cartagena de Indias, 27 oct-2 nov. Medellín, (CO). p. 284-289.

Sanz-bustillo, JJ; Pratt, L; Pérez, JM. 1997. Uso de plaguicidas en la agroindustria de Costa Rica (en línea). Consultado 17 mayo 2010. Disponible en <http://www.sirzee.itcr.ac.cr/modules/Biblioteca/Usuario/archivos/cen708.pdf>