

## Poblaciones nativas de nematodos entomopatógenos (Rhabditida) en cuatro departamentos de Colombia

Native entomopathogenic nematodes (Rhabditida) in four departments of Colombia

ELSA LILIANA MELO M.<sup>1</sup>, CARLOS ALBERTO ORTEGA O.<sup>2</sup>, ALPER SUSURLUK<sup>3</sup>,  
ANDREAS GAIGL<sup>4</sup> y ANTHONY C. BELLOTTI<sup>5</sup>

**Resumen:** Nematodos entomopatógenos (NEP,s) de los grupos Heterorhabditidae y Steinernematidae son usados como agentes potenciales de control de numerosas plagas subterráneas, encontrándose los según estudios de su distribución, en diversidad de hábitats a través del mundo. En el mismo interés de control de rizófagos, especialmente las plagas del complejo chisas (Coleoptera: Melolonthidae) y chinche de la viruela *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae), se realizó una búsqueda e identificación de cepas nativas de NEP,s, tomando muestras de suelos en Quindío, Risaralda, Caldas y Cauca. Para la extracción de NEP,s se emplearon larvas trampa de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae); después de comprobar su patogenicidad siguiendo los postulados de Koch, se multiplicaron, almacenaron e identificaron. De las 284 muestras (300 g de suelo c/u) de 15 cultivos, en 23 sitios 17 resultaron positivas para nematodos entomopatógenos y saprófagos. Usando la técnica PCR dos muestras fueron identificadas como *Steinernema kraussei* Steiner (Rhabditida: Steinernematidae), procedentes de yuca (ex *Manihot esculenta* L.) de Cauca y Risaralda (ex *Inga* spp.), constituyéndose en el primer reporte para Colombia.

**Palabras clave:** Entomonematodos. Control biológico. *Steinernema kraussei*. PCR.

**Abstract:** Entomopathogenic nematodes (EPN) of the groups Heterorhabditidae and Steinernematidae are used as potential control agents of soil pests, being found in many habitats worldwide according to studies of their distribution. We collected soil samples in four Colombian departments (Quindío, Risaralda, Caldas, and Cauca) in order to isolate and identify native EPN strains associated with white grub (Coleoptera: Melolonthidae) and burrower bug (Hemiptera: Cydnidae) *Cyrtomenus bergi* soil pests. EPN isolation was done through the *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) bait method. After verifying the entomopathogenicity of the samples using Koch's postulates, we multiplied, stored and identified the EPN. We analyzed 284 samples (300 g of soil each) collected in 23 sites in 15 crops. Pathogenic and saprophytic nematodes were present in 17 samples. PCR technique lead to the identification of *Steinernema kraussei* Steiner (Rhabditida: Steinernematidae) coming from of two samples, one from Cassava (ex *Manihot esculenta* L.) in Cauca and the second one from *Inga* spp. in Risaralda, being these the first record of the species for the country.

**Key words:** Entomonematodes. Biological control. *Steinernema kraussei*. PCR.

### Introducción

El chinche de la viruela *Cyrtomenus bergi* Froeschner, 1960 (Hemiptera: Cydnidae) y algunos géneros del complejo de chisas (Coleoptera: Melolonthidae) como *Astaena*, *Barybas*, *Ceraspis*, *Clavipalpus*, *Isonychus*, *Macroductylus*, *Manopus*, *Phyllophaga* y *Plectris* han sido registradas en los últimos 20 años en Colombia por su importancia agrícola (Bellotti *et al.* 1999), siendo consideradas plagas polífagas que atacan cultivos como cebolla (*Allium cepa* L.), maíz (*Zea mays* L.), maní (*Arachis hypogaea* L.), caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), café (*Coffea arabica* L.), espárragos (*Asparagus officinalis* L.), yuca (*Manihot esculenta* Crantz), sorgo (*Sorghum bicolor* L.), palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.), papa (*Solanum tuberosum* L.), pastos, forestales, hortalizas, frutales, ornamentales y leguminosas, entre otros (Lacerda 1983; Bellotti y García 1983; Herrera 1988; Rueda *et al.* 1993; Pardo-Locarno *et al.* 1995; Riis y Esbjerg 1998) y ocasionando disminución en el

rendimiento, calidad y cantidad de estos productos (Bellotti *et al.* 1999; Pardo 2002; CIAT 2004).

El control químico de estas plagas se descarta como única forma de manejo a causa de los altos costos económicos, ecológicos y por la destrucción de los enemigos naturales que controlan otras plagas asociadas al cultivo, lo que muestra que a pesar de que puede reducir la población del insecto, no es muy efectivo ni recomendable (Carballo y Saunders 1990; Robertson *et al.* 1997; Bellotti *et al.* 1999; Pardo 2002), por lo que existe gran interés en buscar técnicas de control efectivas como son los agentes de control biológico, que no vayan en contra de la salud humana y el ambiente.

El control microbiológico de plagas de la familia Scarabaeidae fue propuesto hace más de 100 años. Las bacterias, hongos, virus y entomonematodos han sido usados en la actualidad en programas de control biológico, pero el uso de estos para escarabajos es reducido. Esta limitación se debe a carencia de filtrados apropiados, métodos de producción in-

<sup>1</sup> Autor para correspondencia: Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT. A. A. 6713, Cali. Tel.: 445 00 00, fax.: 445 00 73, [meloelsa@gmail.com](mailto:meloelsa@gmail.com).

<sup>2</sup> Champiñones del Valle (CHAVAL), Sangolquí-Ecuador, M Sc. Fitomejoramiento. [caortegao@gmail.com](mailto:caortegao@gmail.com).

<sup>3</sup> Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Sede Bogotá, [agaigl@unal.edu.co](mailto:agaigl@unal.edu.co).

<sup>4</sup> Ph. D. Instituto de Fitopatología, Departamento de Biotecnología y Control Biológico, Universidad de Kiel, Klausdorfer Straße 28-26, 24223 Raisdorf, Alemania.

<sup>5</sup> Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT. A.A. 6713, Cali. [a.bellotti@cgiar.org](mailto:a.bellotti@cgiar.org).

adecuados, métodos de aplicación y su uso inapropiado. A comienzos del siglo pasado aumentó el interés en control microbiológico y aunque su aplicación en campo encontró muchas dificultades, actualmente los programas de control microbiano más exitosos se basan en patógenos con alta especificidad. Aunque existe variabilidad en la virulencia de los patógenos es posible encontrar variantes apropiadas para el control de las plagas mencionadas, mediante avances tecnológicos de producción, reducción de costos y desarrollo de métodos de aplicación apropiadas para el uso de los patógenos, que faciliten al control microbiológico extenderse y establecerse como un método adecuado para los escarabajos plaga (Jackson 1993). Uno de estos agentes de control son los nematodos entomopatógenos (NEP's), especialmente de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae (Rhabditida). Estos presentan una serie de atributos ventajosos como controladores, por lo cual son una excelente alternativa para ser empleados en el Manejo Integrado de Plagas (Luque 2001).

Un ejemplo del uso de los entomonematodos es el caso de la introducción de *Popillia japonica* Newman, 1841 en Estados Unidos, plaga que se multiplicó rápidamente, devastando árboles frutales y plantas ornamentales y que se encontró infectada con el nematodo *Steinernema glaseri* (Steiner, 1932) (Rhabditida: Steinernematidae) cerca de Haddonfield, New Jersey en el año 1929. Experimentos con este nematodo se realizaron en los años 30, culminando con un programa de cría masiva donde 3,6 billones de nematodos fueron liberados a través del estado de New Jersey, recuperándose larvas infectadas en 72 de 73 parcelas dos semanas después de la aplicación, registrándose un parasitismo que osciló entre 0,3 a 81%, adicionalmente se determinó una persistencia de 8,5 años en las parcelas tratadas (Jackson 1993; Glaser *et al.* 1940; Glaser 1931; Glaser y Farrell 1935; Glaser y Fox 1930).

En Colombia, aproximadamente en los últimos 13 años se han realizado investigaciones con especies nativas y foráneas, destacándose entre estos trabajos el control del chinche *C. bergi* con *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1975 (Rhabditida: Heterorhabditidae) (Barberena y Bellotti 1998), *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) (Rhabditida: Steinernematidae) (Caicedo y Bellotti 1994) y *S. feltiae* (Filipjev, 1934) y *H. bacteriophora* en invernadero (Melo *et al.* 2006b). También se usó para el control de la plaga *Sagalassa valida* Walker, 1735 (Lepidoptera: Glyphipteridae) en plantaciones de palma de aceite (Ortiz 1994), para el control de chisas *Ancognatha scarabaeoides* Erichson, 1847 (Navarro y Vélez 1999), y contra *Phyllophaga obsoleta* Blanchard, 1850 y *Cyclocephala* sp. (Londoño 1999), sobre *Phyllophaga* sp., *P. menetriesi* (Blanchard, 1850) y *Anomala cincta* Say, 1835 (Melo *et al.* 2006b). En el control de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) con los nematodos *S. feltiae* y *H. bacteriophora* (Molina-Acevedo y Núñez-López 2003) y *S. feltiae* sobre *Tecia solanivora* Povolny, 1973 (Lepidoptera: Gelechiidae) en campo (Luque *et al.* 2006).

Una de las formas de captura de estos nematodos es por medio del insecto cebo *Galleria mellonella* (L., 1758) (Lepidoptera: Pyralidae), el cual presenta más susceptibilidad ante estos patógenos que los insectos hospederos comunes. Este provee un excelente medio tanto para detección de nematodos en el sitio, como para procesar muestras en laboratorio (Bedding y Akhurst 1975) o hacer multiplicación a pequeña escala. Aún así, los nematodos presentan adaptaciones que obligan a iniciar nuevos muestreos y registro de especies, así como a mejorar los procedimientos y técnicas de extracción e incremento,

además de las de fijación y preservación de los ejemplares; dirigiendo estos esfuerzos a la tenencia de individuos jóvenes y adultos para su identificación. Se debe tener en cuenta que los mejores sitios para hacer muestreos son los relacionados con el nicho de posibles hospedantes, al igual que áreas de descomposición orgánica activa y abundante, como compost, madera envejecida, bajo cortezas de troncos, estiércol y en caso de cultivos, sitios de ataque de los insectos. Suelos de áreas boscosas frecuentemente contienen parásitos obligados tipo Rhabditidae, Steinernematidae y Heterorhabditidae, así como predadores y omnívoros tipo Mononchida o Dorylaimida (Luque *et al.* 2006).

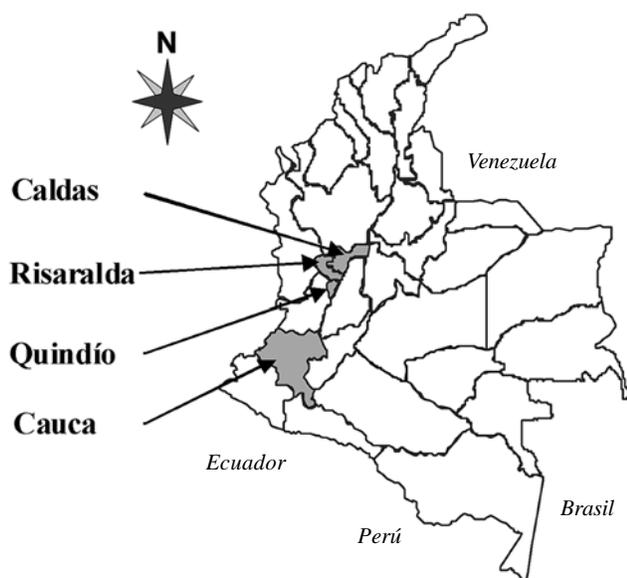
Por lo anterior el Proyecto de Control Integrado de Plagas Subterráneas, desarrollado en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), situado en Palmira, consideró usar estos controladores como alternativa para el manejo de plagas, desarrollando metodologías para hallar cepas o especies nuevas en campos con plagas blanco; adaptando procedimientos de multiplicación y almacenamiento en condiciones de laboratorio. Para esto se planteó la siguiente investigación que tiene como objetivo, buscar e identificar nematodos entomopatógenos en regiones de Colombia con cultivos atacados por plagas subterráneas de importancia económica.

## Métodos

**Ubicación y cultivos.** Las muestras de suelo se tomaron de varias localidades de los departamentos colombianos de Quindío, Risaralda, Caldas y Cauca (Fig. 1), a inicios del año 2002; con estos sitios abarcaron amplios rangos de altitud, temperatura y precipitación (Tabla 1). Por reportes de ataque de las plagas citadas en la introducción, se seleccionaron cultivos como cebolla (*Allium fistulosum* L.), yuca (*Manihot esculenta* L.), pastos, maíz (*Zea mays* L.), maní (*Arachis hypogaea* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), y cultivos que no presentaban aplicaciones de insecticidas como son maracuyá (*Passiflora edulis* L.), mango (*Mangifera indica* L.), árbol del pan (*Artocarpus altilis* L.), guamo (*Inga* spp.), plátano (*Musa* sp.), mandarina (*Citrus* sp.), limón (*Citrus* sp.), café y aguacate (*Persea americana* L.).

**Muestras de suelo.** Un total de 10 muestras por lote con tres submuestras de cada sitio (1000 cm<sup>3</sup>), se tomaron a una profundidad entre 15 a 20 cm. Para la extracción del suelo se utilizaron barrenos de 4,5 cm de diámetro. Estas muestras se mantuvieron en incubadora, en oscuridad y a 15°C, para ser procesadas. Para el análisis fisicoquímico de cantidad de materia orgánica, pH y textura se tomaron muestras a una profundidad de 15 a 20 cm, recuperando un mínimo de 500 g de suelo. Estas muestras fueron analizadas en la unidad de suelos del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) en Palmira, Colombia.

**Insecto Cebo.** Para la captura de NEP's del suelo se utilizaron larvas de último instar de *G. mellonella* (Bedding y Arkhust 1975), insecto muy susceptible al ataque de estos organismos. La cría mantenida en una cámara con 67% de humedad relativa y 29°C de temperatura, se alimentó con una dieta constituida con: 500 g salvado de trigo, 145 g de levadura de cerveza, 72 g de cera de abejas, 150 ml de glicerina, 270 ml de miel de abejas y formaldehído. Los adultos se mantuvieron en frascos grandes de vidrio para la oviposición; y, los huevos y larvas en recipientes de acrílico rectangulares de uso doméstico (24 x 32



**Figura 1.** Mapa de los departamentos de Quindío, Risaralda, Caldas y Cauca (en color gris), donde se tomaron muestras de suelo para búsqueda de nematodos entomopatógenos.

x 11 cm). El tiempo de obtención de estas larvas fue aproximadamente 40 días.

**Búsqueda, reactivación y almacenamiento de NEP's en laboratorio.** Se dispusieron 300 g de suelo en vasos plásticos de 500 ml alcanzando el 90% de su capacidad donde se colocaron 10 larvas de *G. mellonella* manteniéndolas en oscuridad total a 23°C por cinco días. Este procedimiento se repitió tres veces. Posteriormente las larvas se extrajeron del suelo, y se colocaron en cajas de Petri (60 x 15 mm) sobre papel filtro humedecido y se dejaron por aproximadamente cinco días en cámara de maduración, para luego ser colocadas en una pequeña trampa *White* modificada (Kaya y Stock 1997), esperando a que los nematodos salieran de la larva y migraran al agua. La suspensión obtenida se lavó con formaldehído al 0,05% y se colocó en tubos de ensayo. Los nematodos rescatados se colocaron en cajas de Petri con arena, donde se introdujeron larvas de *G. mellonella* para verificar si a los cinco días había reinfección de acuerdo con los postulados de Koch. Este procedimiento se repitió dos veces.

**Identificación de los NEP's.** Tradicionalmente se ha usado morfometría, morfología y cruces para identificación métodos que necesitan especialistas y que además de ser complicados, toman mucho tiempo (Poinar 1990; Kaya y Stock 1997; Nguyen y Smart 1997). En la actualidad se usan técnicas moleculares como RAPD y RFLP que han sido exitosas para la identificación de NEP's de la familia Steinernematidae (Stock *et al.* 2001). Para este caso se usó el método de PCR.

La extracción del ADN de los NEP's se realizó con el kit Qiagen (GMBH Alemania). Una muestra de 200 µl (ca. 2500-3500 Infecciosos juveniles) de los nematodos almacenados fue tratada en 2 ml del kit. Después de esto el ADN se almacenó a -30 °C. La amplificación del ADN extraído se hizo en un volumen de reacción de 100 µl para cada cepa. Las muestras se amplificaron en un termociclador (Perking Elmer Cetus). Para la fijación se graduó el termociclador a 42°C para *H. bacteriophora* y 55°C para *S. feltiae*, por 1 minuto y a 72°C por 1,5 minutos, respectivamente. Como paso final se dejó la muestra 1 minuto a 94°C, seguido de 3 minutos en temperatura de fijación y 5 minutos a 72°C, para asegurar que los últimos productos de la amplificación se alargaran completamente. Al finalizar los 40 ciclos en el termociclador las muestras se almacenaron a 4°C, según la metodología de Reid y Hominick (1993). Se realizaron electroforesis de las muestras de ADN y de la amplificación de PCR para estar seguros de la confiabilidad del método en un gel de agarosa a 180 V por 35 minutos.

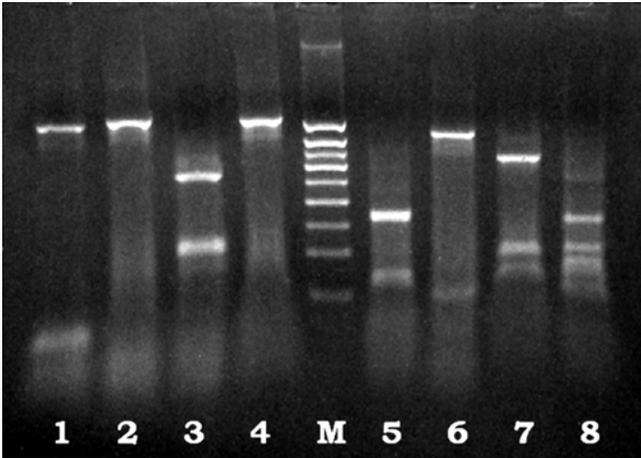
La digestión del amplificado se realizó con aproximadamente 200 µl del producto de PCR con enzimas y sus buffers a 37°C por 3 horas en el termociclador. En este estudio se usaron las enzimas Ali I, Hae III (*Haemophilus aegyptius*), Hind III (*Haemophilus influenzae*) (Eurogentec inc.), y Dde I (*Desulfovibrio desulfuricans*), Hha I (*Haemophilus haemolyticus*), Hinf I (*Haemophilus influenzae*), Hpa II (*Haemophilus aphrophilus*), Rsa I (*Acidiphilium facilis*) y Sau 3A1 (*Staphylococcus aureus*) (Amersham Biosciences). Los fragmentos resultantes fueron separados en gel de agarosa (2%), se fotografiaron y compararon con los patrones para esta especie, considerándose iguales las bandas que coincidieron al 100% (Fig. 2).

## Resultados y Discusión

De los 23 sitios muestreados en los seis municipios 74% presentaron nematodos encontrándoseles en 17 cultivos (Tabla 2). Al evaluar el porcentaje mortalidad producida por los nematodos sobre las larvas de *G. mellonella*, se observaron

**Tabla 1.** Datos de los sitios de colección de las muestras de suelo y cultivos asociados para la búsqueda de nematodos entomopatógenos en cuatro departamentos de Colombia.

Departamento	Municipio	Altitud msnm	Precipitación (mm/año)	Temperatura media anual (°C)	Cultivos
Caldas	Montelindo	1010	2086	23,5	Aguacate, árbol del pan, café, cebolla, fríjol, guama, limón, maíz, mandarina, yuca, mango, maracuyá, plátano
Cauca	Santander de Quilichao	990	1799	23,5	Maní, pasto, yuca
Quindío	Quimbaya	1330	2178	22,5	Maíz, plátano, yuca
Risaralda	La Colonia	1900	4936,5	15,4	Cebolla, pasto
	La Florida	1660	1950	18	Cebolla, pasto



**Figura 2.** PCR de *Steineria kraussei* de productos de la región ITS digerida con ocho enzimas de restricción: 1. Dde I: *Desulfovibrio desulfuricans*, strain Norway; 2. Hae III: *Haemophilus aegyptius*; 3. Hha I: *Haemophilus haemolyticus*; 4. Hind III: *Haemophilus influenzae* Rd; M. Marcadores de peso molecular de las bandas (1000, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100 pares de bases); 5. Hinf I: *Haemophilus influenzae* Rf; 6. Hpa II: *Haemophilus aphrophilus*; 7. Rsa I (Afa I): *Acidiphilium facilis*; 8. Sau 3 AI.: *Staphylococcus aureus* 3A.

valores relativamente bajos, siendo aparentemente un comportamiento normal en cepas recién aisladas de campo (Parada pers. com.) (Tabla 3).

Una muestra del Cauca (en yuca) y otra de Caldas (en guama) pertenecían a la especie *Steineria kraussei* (Steiner,

1923) (Rhabditida: Steinernematidae), constituyéndose en el primer registro para Colombia. Esta especie encontrada originalmente sobre *Cephaleia abietis* L. (Hymenoptera: Pamphiliidae) en Alemania, está asociada simbióticamente a la bacteria *Xenorhabdus bovienii* (Enterobacteriaceae) y fue el primer nematodo entomopatógeno descrito por Steiner en 1923, inicialmente como *Aplectana kraussei*. Posteriormente Travassos, en 1927, lo transfirió al género *Steineria*. El diagnóstico de los infectivos juveniles (IJ3), muestra un cuerpo con 797 a 1102 micrómetros de longitud, envuelto en la cutícula del estado J2. Presenta cuatro papilas cefálicas, papilas labiales indistintas, abertura oral cerrada, esófago colapsado, bulbo basal más alargado que en adultos y poro excretorio que se abre cerca de la mitad del esófago. Esta especie de nematodo se encuentra comercialmente distribuida para el control de plagas como el gorgojo negro del vino *Otiiorhynchus sulcatus* (F., 1775) (Coleoptera: Curculionidae) en diferentes partes del mundo (Boemare 2002; Adams y Nguyen 2002). Larvas de *G. mellonella* de estas muestras infectadas con los NEP's se tornaron de color crema, y la mortalidad fue del 100% después de 96 h de inoculación.

Según el análisis de suelo las regiones donde se identificó la especie *S. kraussei* presentan pHs de 6,4 en el Cauca y entre 5,2 a 5,8 en Caldas, con una textura franco arcillosa para Cauca y desde franco hasta franco-arcillo-arenosa, para Caldas; la cepa se encuentra en suelos con características que están dentro de los rangos de pH de 4,0 a 8,0, registrados por otros autores como óptimos para los steinernematidos (Koppenhöfer *et al.* 1996; Palacios 2002; Parada 2006), lo que muestra que estos NEP's presentan condiciones que les permiten adaptarse dentro del rango de los 2086 y 1799 msnm y los 23,5°C promedio.

**Tabla 2.** Número de muestras de suelo con nematodos asociados a la rizósfera de cultivos comerciales en cuatro departamentos de Colombia.

Departamento	Municipio	Cultivo	No. de muestras (300 g)	Nemátodos presentes	
				<i>S. kraussei</i>	Otros Nematodos
Caldas	Montelindo	Guama	3	+	+
		Árbol del Pan	3	0	+
		Maíz	3	0	+
		Frijol	3	0	+
		Yuca	4	0	+
		Aguacate	2	0	0
		Plátano	2	0	0
		Mango	2	0	0
		Mandarina	2	0	0
		Limón	3	0	0
		Maracuyá	3	0	0
		Café	4	0	+
		Cebolla	6	0	+
Cauca	Santander de Quilichao	Pasto	20	0	+
		Yuca	31	+	+
		Maní	2	0	+
		Yuca	21	0	+
Quindío	Quimbaya	Plátano	20	0	+
		Maíz	20	0	+
Risaralda	La Florida	Cebolla	24	0	+
		Pasto	35	0	+
	La Colonia	Pasto	38	0	+
		Cebolla	33	0	+
<b>Total</b>			<b>284</b>	<b>2</b>	<b>17</b>

**Tabla 3.** Síntomas en larvas de *Galleria mellonella*, infectadas con los nematodos aislados. \*: Muestras positivas para *Steinernema kraussei*.

Sitio		Color larva	Movilidad	Tamaño	Mortalidad (%)
Caldas	Montelind	Café	Lenta	Mediano	25
		<b>Crema</b>	<b>Lenta</b>	<b>Mediano</b>	<b>100*</b>
		Crema	Lenta	Mediano	80
Cauca	Santander de Quilichao	Oscura	Lenta	Grande	70
		<b>Crema</b>	<b>Lenta</b>	<b>Mediano</b>	<b>96*</b>
Quindío	Quimbaya	Oscura	Lenta	Pequeño	45
	La Florida	Oscura	Lenta	Mediano	35
		Oscura	Rápida	Pequeño	40
Risaralda	La Colonia	Oscura	Rápida	Pequeño	40
		Rojiza	Rápida	Pequeño	35
		Café	Rápida	Pequeño	20

### Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Cooperación Económica (BMZ) de Alemania. Los autores agradecen a Carlos Julio Herrera, Rodrigo Zúñiga, Catalina Ramírez y Rómulo Riascos por su colaboración en la realización de esta investigación.

### Literatura citada

- ADAMS, B. J.; NGUYEN, K. B. 2002. Taxonomy and Systematics. p. 1-33. En: Gaugler, R. (ed.). Entomopathogenic Nematology. CABI Internacional. 388 p.
- BARBERENA, M. F.; BELLOTTI, A. C. 1998. 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.
- BEDDING, R. A.; AKHURST, R. J. 1975. A simple technique for the detection of insect rhabditid nematodes in soil. Nematologica 21: 109-110.
- BELLOTTI, A. C.; GARCÍA, C. A. 1983. The subterranean Chinch Bug, a new pest of cassava. Cassava Newsletter 7: 10-11.
- BELLOTTI, A. C., SMITH, L., LAPOINTE, S. L. 1999. Recent advances in cassava pest management. Annual Review of Entomology. 44: 343-70
- BOEMARE, N. 2002. Biology, Taxonomic and Systematics. pp. 1-33. En: Gaugler R. (ed.). Entomopathogenic Nematology. CABI Internacional. 388 p.
- CAICEDO, A. M., BELLOTTI, A. C. 1994. Evaluación del potencial del nematodo entomógeno *Steinernema carpocapsae* Weiser (Rhabditida: Steinernematidae) para el control de *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae) en condiciones de laboratorio. Revista Colombiana de Entomología 20 (4): 241-246.
- CARBALLO, M.; SAUNDERS, J. L. 1990. Manejo del suelo, rastrojo y las plagas: interacciones y efecto sobre el maíz. Turrialba 40: 183-189.
- CIAT. 2004. Soil pest, Cassava and other crops. p. 116-164. En: Summary Annual Report. Integrated pest and disease management in major agroecosystems, Cali, Colombia. 417 p.
- GLASER, R. W. 1931. The cultivation of a nematode parasite of an insect. Science 73: 614-615.
- GLASER, R. W.; MCCOY, E. E.; GIRTH, H. B. 1940. The biology and economic importance of a nematode parasitic in insects. Journal of Parasitology 26: 479-495.
- GLASER; R. W.; FARRELL, H. 1935. Field experiments with the Japanese beetle and its nematode parasite. Journal of the New York Entomological Society 43: 345-371.
- GLASER; R. W.; FOX, H. 1930. A nematode parasite of the Japanese beetle (*Popillia japonica* Newm.). Science 70: 16-17
- HERRERA, M. G. 1988. Reconocimiento y manejo de la chinche subterránea *Cyrtomenus bergi* Froeschner., en cultivos de "Cebolla de Rama" en Pereira. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) Pereira, Colombia. p. 27.
- JACKSON, T. A. 1993. Developing microbial controls for scarab pest. Memorias de la IV mesa redonda sobre plagas subterráneas. Diversidad y manejo de plagas subterráneas, Instituto de Ecología, Sociedad Mexicana de Entomología, AC. Instituto de Ecología, AC. p. 261. Veracruz, México.
- KAYA, H. K.; STOCK, S. P. 1997. Techniques of insect nematology. pp. 281-324. En: Lacey, L. (eds.). Manual of techniques in insect pathology. Biological Techniques Series. Capítulo VI. Academic Press, San Diego, California. 409 p.
- KOPPENHÖFER, A.; KAYA, H. 1996. Coexistence of entomopathogenic nematode species (Steinernematidae and Heterorhabditidae) with foraging behavior. Fundamentals of Applied Nematology 19 (2): 175-183.
- LACERDA, J. I. 1983. Dano causados au dendê (*Elais guineensis*) por ação do *Cyrtomenus bergi* (Froeschner, 1960) (Hemiptera: Cydnidae). Revista Floresta (Brazil) 14: 59-60.
- LONDOÑO, M. 1999. Efecto de *Steinernema carpocapsae* sobre especies de chiza en Colombia. Memorias. II Seminario sobre Nematodos Entomopatógenos. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. p. 54-65. Bogotá.
- LUQUE, J. E. 2001. Nematodos entomopatógenos: Un modelo de línea de investigación en control biológico. Seminario de nematodos entomoparásitos una alternativa en MIP: "Especies, Biología, Ecología, multiplicación masiva, Técnicas de aplicación, experiencias y perspectivas de uso". Facultad de Agronomía Universidad Nacional de Colombia. p. 4-6. Bogotá.
- LUQUE, J. E.; CORREDOR, T.; PARADA, J. C. 2006. Pruebas de laboratorio y campo para la evaluación de la capacidad patogénica y establecimiento del entomonematodo *Steinernema feltiae* (Rhabditidae: Steinernematidae), para el control biológico de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae), pp. 137-155. En: Parada S. J. C.; Luque J. E.; Piedrahita C. W de J. (eds.). Nematodos Entomoparásitos. Experiencias y Perspectivas. Universidad Nacional de Colombia. 193 p.
- MELO, E. L.; ORTEGA-OJEDA, C. A.; GAIGL, A.; BELLOTTI, A. C.; EHLERS, R-U. 2006a. Evaluación de dos cepas comercia-

- les de entomonematodos como agentes de control de *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae). Revista Colombiana de Entomología 32(1): 31-38.
- MELO, E. L.; ORTEGA, C. A.; GAIGL, A.; BELLOTTI, A. C. 2006b. Evaluación de cinco aislamientos de nematodos entomoparásitos, nativos e introducidos, para el manejo de chisas rizófagas (Coleoptera: Scarabaeidae: Melolonthinae) de tercer ínstar, pp. 156-165. En: Parada S. J. C.; Luque J. E.; Piedrahita C. W de J. (eds.). Nematodos Entomoparásitos. Experiencias y Perspectivas. Universidad Nacional de Colombia. 193 p.
- MOLINA-ACEVEDO, J. P.; LÓPEZ-NÚÑEZ, J. C. 2003. Supervivencia y parasitismo de nematodos entomopatógenos para el control de *Hypotenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) en frutos del Café. Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas. 29 (2): 523-533.
- NAVARRO, F.; VELEZ, I. 1999. Evaluación patogénica del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* sobre la chisa *Phyllophaga* sp., en el oriente antioqueño. Memorias. II Seminario sobre Nematodos Entomopatógenos. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. p. 37-47. Bogotá.
- NGUYEN, K. B.; SMART, G. C. Jr. 1997. Scanning electron microscope studies of spiculas and gubernacula of *Steinernema* spp. (Nemata: Steinernematidae). Nematologica 24: 465-480.
- ORTIZ, L. E. 1994. Control microbiano de *Sagalassa valida* Walker (Lepidoptera: Glyphipteridae) con el nematodo *Steinernema carpocapsae* en Tumaco, Nariño, Trabajo de Grado Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Bogotá. 95 p.
- PALACIOS, N. L. 2002. Incidencia de algunos factores bióticos y abióticos sobre el comportamiento y patogenicidad de *Steinernema feltiae* (Filipjev 1934) (Rhabditida: Steinernematidae) cepa Colombia. Trabajo de Grado Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Bogotá. 89 p.
- PARADA, J. C. 2006. Steinernematidae en Cundinamarca y sur de Boyacá, Colombia, pp. 10-27. En: Parada S. J. C.; Luque J. E.; Piedrahita C. W de J. (eds.). Nematodos Entomoparásitos. Experiencias y Perspectivas. Universidad Nacional de Colombia. 193 p.
- PARDO, L. C. 2002. Aspectos sistemáticos y bioecológicos del complejo chisa (Col, Melolonthidae) de Caldono, Norte del Cauca, Colombia. Trabajo de Grado de M. Sc. en Ciencias Biológicas, Universidad del Valle, Facultad de Ciencias. Cali. 140 p.
- PARDO-LOCARNO, L. C.; FRANCO, M. P.; ALARCÓN, A. A. 1995. Estudios preliminares de las chisas (Coleoptera: Lamellicornia) de San Antonio, Cauca. Registros y observaciones en Laparosticti y Pleurosticti. Revista Colombiana de Entomología 21 (1): 51-57.
- POINAR, G. O. Jr. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae, pp. 23-61. En: Gaugler, R.; Kaya, H. K. (eds.). Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, Florida. 356 p.
- REID, A. P.; HOMINICK, W. M. 1993. Cloning of the rDNA repeat unit from British entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) and its potential for species identification. Parasitology 107: 529-536.
- RIIS, L.; ESBJERG P. 1998. Season and moisture effect on movement, survival and distribution of *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae) within the soils profile. Environmental Entomology 27 (5): 1182-1189.
- ROBERTSON, I. N.; ALLSOPP, P. G.; ROGERS, D. J. 1997. Management of soil insects after 40 years in the Wilderness: High Technology, or working with nature?. Soil Invertebrates in 1997. Bureau of sugar experiment stations, Brisbane. 1-7 p.
- RUEDA, L. M.; OSAWARU, S.; GEORGI, L.; HARRINSON, R. E. 1993. Natural Occurrence of Entomogenous Nematodes in Tennessee Nursery Solis. Journal of Nematology 25 (2): 181-188.
- STOCK, S. P.; CAMPBELL, J. F.; NADLER, S. A. 2001. Phylogeny of *Steinernema* Travassos, 1927 (Cephalobina: Steinernematidae) inferred from ribosomal DNA sequences and morphological characters. Journal of Parasitology 87 (4): 877-889.

Recibido: 2-abr-2008 • Aceptado: 1-may-2009