

Premnotrypes vorax* Hustache (Coleoptera: Curculionidae) y su control con nematodos entomopatógenos nativos

Angie Ximena Caro-Arias¹, Daira Alejandra Yépez-Bolaños², Alberto Soto-Giraldo³

Resumen

Los nematodos entomopatógenos son parásitos obligados de insectos que habitan en el suelo, tienen gran potencial como organismos de control biológico por su amplio rango de huéspedes de plagas de importancia económica. En este estudio se determinó la presencia de nematodos nativos en suelos provenientes de la granja Tesorito de la Universidad de Caldas, Colombia, utilizándose la técnica de insecto trampa con larvas de *Galleria mellonella*. Se evaluó la mortalidad que causan los nematodos sobre larvas de *Premnotrypes vorax*. Se encontraron aislamientos pertenecientes al género *Steinernema*, se seleccionaron los más virulentos sobre *G. mellonella* y se inocularon sobre larvas de último instar de *P. vorax*, mostrando mortalidades entre el 33,3% y el 91,7%, 72 horas después de la infestación. El alto porcentaje de mortalidad que presentó *P. vorax* deja en evidencia que estos organismos se podrían utilizar como componente importante del manejo integrado de *P. vorax* en cultivos de papa.

Palabras clave: control biológico; manejo integrado de plagas; *Steinernema*; papa.

***Premnotrypes vorax* Hustache (Coleoptera: Curculionidae) and its control with native entomopathogenic nematodes**


Abstract

Entomopathogenic nematodes are compulsory parasites of soil-dwelling insects. They have great potential as biological control organisms due to their wide range of economically important pest hosts. In this study, the presence of native nematodes was determined in soils from the Tesorito farm of Universidad de Caldas, Colombia, using the insect trap technique with *Galleria mellonella* larvae. The mortality caused by nematodes on *Premnotrypes vorax* larvae was evaluated. Isolates belonging to the genus *Steinernema* were found, the most virulent ones on *G. mellonella* were selected and inoculated on last instar larvae of *P. vorax*, showing mortalities between 33.3% and 91.7%, 72 hours after infestation. The high mortality rate of *P. vorax* showed that these organisms could be used as an important component of integrated management of *P. vorax* in potato crops.


Key words: biological control; integrated pest management; *Steinernema*; potato.

*FR: 12-VI-2020. FA: 3-IV-2021.


¹Estudiante Ingeniería Agronómica, Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia. E-mail: angie.501515007@ucaldas.edu.co.

 orcid.org/0000-0002-2216-7122 **Google Scholar**

²Estudiante Ingeniería Agronómica, Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia. E-mail: daira.501420360@ucaldas.edu.co.

 orcid.org/0000-0002-3899-8916

³I.A., M.Sc., Ph.D. Departamento de Producción Agropecuaria, Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia. E-mail: alberto.soto@ucaldas.edu.co.

 orcid.org/0000-0002-9727-8919 **Google Scholar**

CÓMO CITAR:

Caro-Arias, A. X., Yépez-Bolaños, D. A. Y Soto-Giraldo, A. (2021). *Premnotrypes vorax* Hustache (Coleoptera: Curculionidae) y su control con nematodos entomopatógenos nativos. *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. U. de Caldas*, 25(2): 33-42. <https://doi.org/10.17151/bccm.2021.25.2.2>



Introducción

En Colombia, el cultivo de la papa es la principal actividad agrícola en el altiplano Cundiboyacense, la cual integra especialmente a pequeños productores quienes derivan de esta su principal fuente de ingresos, bienestar y calidad de vida (Alarcón et al., 2011). El gusano blanco *Premnotrypes vorax* es considerado una de las principales plagas que afectan el cultivo de papa, los mayores daños son causados por las larvas, las cuales penetran y se alimentan de la pulpa de los tubérculos, ocasionando pérdidas de hasta un 90% (Yanggen et al., 2003; Niño et al., 2004; Bastidas, 2005; Parsa et al., 2006; Andrade & Bonilla, 2010; Gallegos & Hernández, 2013). Las larvas de *P. vorax* son difíciles de controlar, ya que prácticamente todo su ciclo biológico se desarrolla a nivel del suelo y rizosfera (Espitia, 2010).

Para el control de *P. vorax*, los productores generalmente recurren, sin justificación técnica, al control químico del grupo de los organofosforados, piretroides y carbamatos (Torres & López, 1996; Niño et al., 2000; Espitia, 2010). El uso de estos productos ocasiona efectos indeseables como son: resurgencia de plagas secundarias, selección de organismos resistentes a los pesticidas, contaminación ambiental y de los alimentos, daños a la vida silvestre, intoxicaciones al hombre y animales domésticos y perturbación del equilibrio natural de los ecosistemas (Yanggen et al., 2003; Cruz & Pickering, 2006; Sierra-Ariza et al., 2017).

Una de las posibilidades para contrarrestar los efectos negativos de control químico es el desarrollo de agentes biológicos, los cuales han empezado a asumir un papel importante en el campo de la agricultura sostenible. Los insectos pueden ser atacados por virus, bacterias, hongos, protozoarios y nematodos entomopatógenos (NEP's). Los NEP's son considerados enemigos naturales y son muy promisorios en el manejo integrado de plagas (Pérez, 2004; Molina-Acevedo et al., 2006; Argotti et al., 2010; Jiménez et al., 2012).

Los NEP's se encuentran ampliamente distribuidos en todos los suelos de los continentes, representan uno de los grupos más grandes del reino animal, tanto en términos de diversidad genética como de abundancia. Tienen gran plasticidad fenotípica, lo que les permite ocupar una amplia gama de hábitats (Porazinska et al., 2009; Ferris et al., 2012). Son organismos habitantes del suelo que parasitan artrópodos, principalmente insectos en estados inmaduros, gracias a que poseen una relación simbiótica con bacterias gram-negativas de los géneros *Xenorhabdus* (Thomas & Poinar, 1979) y *Photorhabdus* (Boemare et al., 1993). Las bacterias son transportadas en el intestino del nematodo y posteriormente liberadas en el hemocele del hospedero, ocasionando septicemia al insecto y su muerte entre 24 y 72 h después del ingreso del nematodo en estado infectivo (J3 o J1) a la cavidad hemocélica, principalmente a través de las aberturas naturales (Woodring & Kaya, 1998; Burnell & Stock, 2000; Lacey et al., 2001; Badii & Abreu, 2006; Urtubia et al., 2016).

Los NEP's del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* son considerados como una de las alternativas con más futuro para el control biológico, son habitantes naturales del suelo, lo que los hace muy eficientes para el control de insectos que pasan alguna parte de su ciclo de vida en contacto con el suelo (Klein, 1990). Estos organismos son capaces de localizar activamente al hospedero, son muy virulentos y provocan la muerte. Tienen un alto potencial reproductivo, pueden criarse masivamente in vitro. Además, son compatibles con la mayoría de los químicos utilizados en la agricultura, son fáciles de aplicar, presentan seguridad para el medio ambiente y los organismos que no son su objetivo, razón por la cual son considerados excelentes insecticidas biológicos (Leite et al., 2005; Sepúlveda et al., 2008; Neher, 2010; Jiménez et al., 2012).

El potencial reproductivo, capacidad de desplazamiento, supervivencia y rango de hospederos, son características que dependen de la especie e incluso de la población, las cuales están influenciadas por las condiciones ambientales; por ello, el aislamiento e identificación de poblaciones nativas de NEP's adaptadas a las condiciones locales, es considerado una parte esencial de los estudios encaminados a su utilización como agentes de control biológico, a fin de evitar un desequilibrio ecológico al introducir especies exóticas que podrían afectar a otros organismos.

Cuando una especie de nematodo es capaz de infectar naturalmente a insectos de una región, estos nematodos pueden ser clasificados como población adaptada localmente con probabilidad de actuar como un regulador eficaz de plagas. Generalmente, especies de cinco órdenes de insectos (Coleoptera, Hymenoptera, Diptera, Lepidoptera y Orthoptera) se han encontrado naturalmente infectados por NEP's (Touray, et al., 2020).

El interés por los nematodos ha aumentado en las dos últimas décadas, mostrando resultados positivos en múltiples investigaciones realizadas en el mundo, colocándolos como agentes promisorios para el control de insectos (Kaya & Gaugler., 1993; Georgis et al., 1995; Caicedo, 2003; Aranda & Bustillo, 2007; Andaló et al., 2011, Rodríguez et al., 2019).

El objetivo del presente trabajo fue aislar NEP's nativos en suelos provenientes de la granja Tesorito de la Universidad de Caldas, Colombia, y evaluar la patogenicidad que presentan dichos organismos a larvas de *P. vorax*.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en el Centro de Investigación y Cría de Enemigos Naturales (CICEN) de la Universidad de Caldas, ubicado en el municipio de Manizales (Coordenadas 5° 05'N y 75° 40' W). Para la realización del estudio se siguió el protocolo descrito por López y Soto (2016), el cual se dividió en dos etapas:

1. Etapa de búsqueda y aislamiento: se seleccionaron 10 sitios de la Granja Tesorito de la Universidad de Caldas (Coordenadas 5° 01'47" N, 75° 26' 03" W), ubicada a 2280 msnm. En cada sitio, se tomaron cinco muestras de suelo de 500 g y se depositaron en bolsas plásticas previamente rotuladas. Posteriormente, se llevaron al Laboratorio de Control Biológico de la Universidad de Caldas para su análisis.

Para determinar la presencia de NEP's nativos, se utilizó la técnica conocida como "insecto trampa" descrita por Bedding y Akhurst (1975), la cual consistió en depositar 500 g de suelo en un recipiente plástico (capacidad de 30 oz) y ocho larvas de último instar de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), conocida por su alta susceptibilidad a los nematodos (Shapiro et al., 2002; Aranda & Bustillo, 2007). Las muestras se sometieron a oscuridad y a temperatura ambiente durante nueve días; a partir del quinto día se inició la extracción de los NEP's, para lo cual se tomaron las larvas de *Galleria* que presentaran síntomas por ataque de nematodos (Poinar, 1979), se ubicaron en cajas Petri -previamente esterilizadas y rotuladas- y se colocaron en incubadora a 25 °C durante dos días. Posteriormente, se realizó el aislamiento de los nematodos por el método de trampa "White" modificado por Kaya & Stock (1997), que consiste en una caja de Petri de 9,0 cm a la cual se le agregaron 20 mL de agua lluvia y en cuyo interior se dispuso de otra caja de Petri de 6,0 cm conteniendo un disco de papel filtro humedecido. Sobre dicho papel, se colocaron las larvas de *G. mellonella* que presentaban sintomatología de ataque por nematodos. Las larvas infectadas permanecieron durante nueve días en las respectivas trampas mientras se realizaba cosecha de NEP's a los cinco, siete y nueve días después de la infestación.

Finalmente, se observó la actividad de los NEP's al contar el número de juveniles infectivos observados en 10 alícuotas (10 µl) con ayuda de un estereomicroscopio marca Olympus. Después de decantar tres veces cada muestra de NEP's, se almacenaron en tubos Falcon® con concentraciones de NEP's /mL no superiores a 5.000 individuos y se ubicaron en incubadora a temperatura promedio de 16°C durante 15 días, esto con el fin de analizar la supervivencia y garantizar la virulencia de los juveniles infectivos al momento de realizar las inoculaciones (Molina et al., 2006; Andaló et al., 2011).

2. Pruebas de patogenicidad sobre *P. vorax*: se seleccionaron los aislamientos de NEP's que presentaron mayor virulencia sobre *G. mellonella*, basados en los criterios de mortalidad de larvas, reproducción y supervivencia.

Las inoculaciones se realizaron por el método de inmersión, para lo cual se utilizaron dosis de 10, 100 y 1000 NEP's en 25 µl, de acuerdo con la metodología propuesta por Shapiro et al., (2002). Se realizaron diez repeticiones por tratamiento, cada unidad experimental fue conformada por una caja Petri

de 9,0 cm de diámetro y ocho larvas de último instar de *P. vorax*, en ausencia de luz y a temperatura ambiente. Se realizaron evaluaciones de mortalidad a las 24, 48 y 72 h después de la infestación, sometiendo las larvas muertas al mismo proceso de aislamiento de NEP's descrito para *G. mellonella*. El tratamiento testigo consistió en larvas de *P. vorax* inmersas en agua lluvia.

Se utilizó el diseño completamente al azar; para determinar diferencias entre tratamientos se realizó la prueba de Tukey al 5%. Los análisis se realizaron mediante el programa SAS Versión 9.1 (Statistical Analysis System).

Resultados y discusión

Los resultados muestran una alta presencia de NEP's en la zona de estudio, ya que el 100% de los aislamientos fueron positivos a dichos organismos, posiblemente debido al bajo uso de agroquímicos convencionales que se utilizan para el control de plagas (Campos et al., 2008) en dicha zona. Las investigaciones con este tipo de microorganismos podrían contribuir con la disminución en la aplicación de agroquímicos en este cultivo, en donde los agricultores aplican en forma calendario insecticidas altamente tóxicos, sin tener en cuenta los umbrales económicos para la plaga (Niño et al., 2000; Espitia, 2010). Su amplia distribución, ciclo de vida corto, capacidad de búsqueda y elevada tasa reproductiva hace que los NEP's sean altamente eficientes para el control de las plagas.

Los diez aislamientos nativos de NEP's que presentaron mayor virulencia sobre *G. mellonella* pertenecieron al género *Steinernema*, lo cual se pudo evidenciar por el cambio de color blanco a amarillo crema que presentaron las larvas (Poinar, 1979). Estos aislamientos fueron seleccionados para realizar las respectivas inoculaciones sobre larvas de último instar de *P. vorax*, obteniéndose a las 24 h después de infestación y en las dosis de 10, 100 y 1000 JI, una mortalidad de 33,3%, 75% y 96,7%, respectivamente; a las 48 h después de la infestación, la mortalidad osciló entre el 83,3 y el 100%, y a las 96 h la mortalidad osciló entre el 91,7 y el 100% (Tabla 1). Las larvas de *P. vorax* afectadas por los nematodos cambiaron de color blanco a amarillo crema (Figura1), con lo que se confirma que el género de dicho organismo es *Steinernema* (Poinar, 1979).

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad promedio de larvas de *P. vorax* con respecto a las horas de infestación con *Steinernema*

Horas DDI*	Dosis (JI)**	Mortalidad (%)
24 horas	10	33,3b***
	100	75a
	1000	91,7a
48 horas	10	83,3a
	100	91,7a
	1000	100a
72 horas	10	100a
	100	91,7a
	1000	100a

*DDI: Horas después de infestación

**JI: Juveniles infectivos

*** Valores promedios seguidos por letras distintas denotan diferencias significativas según la prueba de Tukey al 5%.

Fuente: elaboración propia.

**Figura 1.** Larva de *P. vorax* con cuadro típico de infección por *Steinernema*
Fuente: elaboración propia.

La alta mortalidad que presentó *P. vorax* deja en evidencia la capacidad de los NEP's nativos, en este caso *Steinernema*, de ingresar al cuerpo de las larvas y cumplir su cometido como parásito (Figura 2), tal como lo mencionan Poinar, (1979), Gaugler et al. (1992), los NEP's de la familia Steinernematidae son potentes patógenos de una amplia gama de especies de insectos plaga, tal como se confirma en esta investigación. En Ecuador y Perú obtuvieron efectividad y virulencia en larvas de *P. vorax* con cepas tanto de *Steinernema* como de *Heterorhabditis* (Chacón-Chausá, 2011; Centro Internacional de la Papa, 2011; Alcázar et al., 2011).

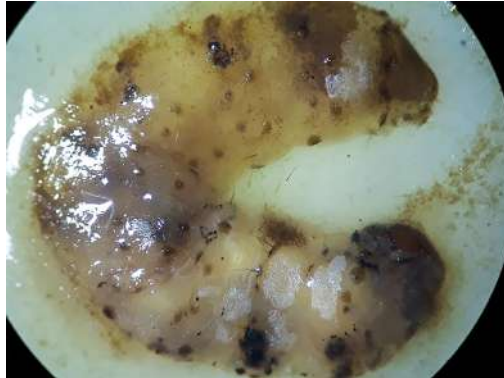


Figura 2. Presencia de NEP's sobre larva de *P. vorax*
Fuente: elaboración propia.

Parada-Santamaria (2002) encontró NEP's del género *Steinernema* atacando estados inmaduros de *P. vorax* que se hallaban dentro de tubérculos de *Solanum phureja* y *Solanum tuberosum*, variedades Capiro y Parda Pastusa, en los departamentos de Boyacá y Cundinamarca, Colombia. Garzón et al. (1996) reportó la presencia de nematodos del género *Steinernema* ocasionando gran patogenicidad a larvas de *P. vorax* en el departamento de Cundinamarca. En otras investigaciones, Sepúlveda et al. (2008), encontró alta mortalidad de larvas de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae) en plátano ocasionada por una cepa nativa de *Steinernema* en dosis de 1.000 JI/25µl.

Al comparar los tratamientos en donde se aplicaron 10, 100 y 1000 JI de nematodos del género *Steinernema*/larva de *P. vorax* a las 48 y 72 h después de la infestación, no se encontraron diferencias significativas, obteniéndose un promedio de mortalidad de 95,8% (Tabla 1), lo que indica que esta especie nativa a bajas dosis (10JI/larva) controla eficientemente la plaga. Estos resultados fueron diferentes a los obtenidos por Hernández et al. (2006), en donde encontró un 48% de mortalidad de larvas de *P. vorax* con nematodos del género *Steinernema*

solo hasta las 72 h después de la infestación. En la Figura 3 se puede apreciar la mortalidad de *P. vorax* ocasionada por nemátodos del género *Steinernema* de acuerdo con diferentes horas de evaluación (24, 48 y 72 h), en donde se observa además que en el tratamiento testigo (sin aplicación de NEP's) no se presentó mortalidad de las larvas de *P. vorax*.

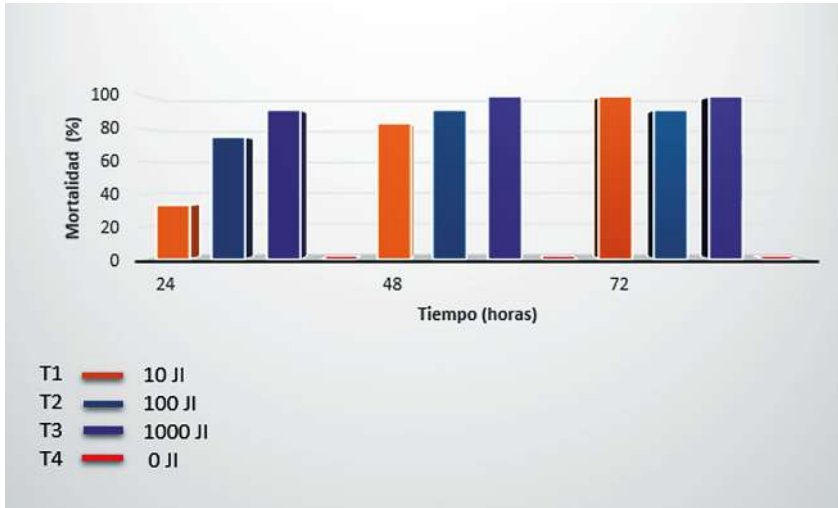


Figura 3. Mortalidad de larvas de *P. vorax* ocasionada por NEP's a través del tiempo
Fuente: elaboración propia.

Agradecimientos

A las Vicerrectorías de Investigaciones y Postgrados y de Proyección de la Universidad de Caldas por el financiamiento de la investigación y a Julián A. Salazar por su gestión editorial.

Referencias bibliográficas

- Alarcón, J., Arévalo, E., Díaz, A., Galindo, J., Rivero, M. & Tovar, E. (2011). Manejo fitosanitario del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum subsp. andigena* y *S. pbureja*), medidas para la temporada invernal. ICA, Produmedios.
- Alcázar, J., Baimey, H. & Kroschel, J. (2011). Patogenicidad de aislamientos nativos de nematodos entomopatógenos procedentes de la región andina. In: Sociedad Entomológica del Perú (SEP) (pp. 7-10). Lima, Perú: Convención Nacional de Entomología.
- Andaló, V., Moino Jr, A., Maximiliano, C., Campos, V.P. & Mendonça, L. (2011). Influence of temperature and duration of storage on the lipid reserves of entomopathogenic nematodes. *Revista Colombiana de Entomología*, 37(2), 203-209. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882011000200006
- Andrade, R. & Bonilla, P. (2010). *El cultivo de papa en Ecuador: insectos plaga-enfermedades - nemátodos y su control químico*. Departamento Técnico Nacional Ecuauquímica. http://www.ecuaquimica.com.ec/wp-content/uploads/2017/09/info_tecnica_papa.pdf
- Aranda, R. & Bustillo, A. E. (2007). Optimización de la cría de *Galleria mellonella* (L.) para la producción de nematodos entomopatógenos parásitos de la broca del café. *Cenicafé*, 58(2), 142-157. <https://www.cenicafe.org/es/publications/arc058%2802%29142-157.pdf>
- Argotti, E. E. V., Gallegos, P., Alcázar, J. & Kaya, H. (2010). Caracterización ecológica de nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis* aislados de *Tecia solanivora*. *Boletín Técnico 9, Serie Zoológica* 6,173-184. <https://journal.espe.edu.ec/ojs/index>

- php/revista-serie-zoologica/article/view/ojs/index.php/revista-serie-zoologica
- Badii, M. H. & Abreu, J. L. (2006). Control biológico una forma sustentable de control de plagas. *Daena: International Journal of Good Conscience*, 1(1), 82-89. [http://www.spentamexico.org/v1-n1/1\(1\)%2082-89.pdf](http://www.spentamexico.org/v1-n1/1(1)%2082-89.pdf)
- Bastidas, S. (2005). *El cazo o adulto del gusano blanco de la papa y alternativas de manejo. Guía de aprendizaje para pequeños agricultores*. Quito: INIAP. Bedding, R. A. & Akhurst, R. J. (1975). A simple technique for Soil, the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematological*, 21, 109-110. <https://doi.org/10.1163/187529275X00419>
- Boemare, N. E., Akhurst, R. J. & Mourant, R. G. (1993). DNA relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae), Symbiotic Bacteria of Entomopathogenic Nematodes, and a Proposal to Transfer *Xenorhabdus luminescens* to a new genus, *Photorhabdus* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 18, 249-255. <https://doi.org/10.1099/00207713-43-2-249>
- Burnell, A. M. & Stock, S. P. (2000). *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts lethal pathogens of insects. *Nematology*, 2(1), 31-42. <http://dx.doi.org/10.1163/156854100508872>
- Caicedo, A. M. (2003). *Avances y perspectivas del uso de nemátodos entomopatógenos en Colombia*. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Campos, R., Gómez-ros, J. M., Escuer, M., Cuadra, L., Barrios, L. & Gutierrez, C. (2008). Diversity, occurrence, and life characteristics of natural entomopathogenic nematode populations from La Rioja (Northern Spain) under different agricultural management and their relationships with soil factors. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(6): 1474-1484.
- Centro Internacional de la Papa. (2011). *Desarrollo y aplicación de prácticas ecológicas en el manejo de plagas para incrementar la producción sostenible de papas de los agricultores de bajos recursos en las regiones andinas de Bolivia, Ecuador y Perú* (Informe final). FONTAGRO. <https://www.fontagro.org/new/uploads/adjuntos/0604-InformeTecnicoFinal.pdf>
- Chacón-Chausá, A. M. (2011). Evaluación de la efectividad de nemátodos entomopatógenos para el Control biológico del gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax* Hustache), (Coleoptera: Curculionidae), San Gabriel, Provincia del Carchi (Tesis de pregrado). Universidad técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias, escuela de Ingeniería Agronómica. <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/122/T-UTB-FACIAG-AGR-000031.pdf?sequence=6&isAllowed=y>
- Cruz, A. & Pickering, J. (2006). Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years-A review. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, 101(4), 345-354. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762006000400001>
- Espitia, E. (2010). Manejo integrado de las plagas del cultivo de papa. En: *Memorias Simposio Nacional de Actualización en el Cultivo de Papa Solanum tuberosum L* (pp. 1-132). Tunja. Colombia.
- Ferris, H., Griffiths, B. S., Porazinska, D. L., Powers, T. O., Wang, K. H. & Tenuta, M. (2012). Reflections on plant and soil nematode ecology: Past, present and future. *J. Nematol.*, 44, 115-126. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3578467/>
- Gallegos, P. & Hernández, P. (2013). *Prospección de nematodos entomopatógenos para el control y comportamiento de Premnotrypes vorax*. Ecuador: Centro Internacional de la Papa.
- Garzón, M., Aza, B., Jiménez, J. & Luque, J. (1996). Potencial del nematodo *Steinernema* sp. para el control biológico del gusano blanco de la papa. *Revista Colombiana de Entomología*, 22(1), 25-30.
- Gaugler, R., Bednarek, A. & Campbell, J.F. (1992). Ultraviolet inactivation of heterorhabditid and steinernematid nematodes. *J. Invertebr. Pathol.*, 59, 155-160. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(92\)90026-Z](https://doi.org/10.1016/0022-2011(92)90026-Z)
- Georgis, R., Dunlop, D. B. & Grewal, P. S. (1995). Formulation of entomopathogenic nematodes. In F. R. Hall & J. W. Barry (Eds.), *Biorational Pest Control Agents: Formulation and Delivery* (pp. 197-205). Washington: Am. Chem. Soc.
- Hernández, P., Alcázar, J., Garcés, S. & Gallegos, P. (2006). *Prospección de nematodos entomopatógenos para el control de gusano blanco Premnotrypes vorax Hustache (Coleoptera: Curculionidae)* en Ecuador. INIAP – Estación experimental Santa Catalina.
- Jiménez, J., López, J. C. & Soto, A. (2012). Pathogenicity of Two Entomopathogenic Nematodes on *Metamasius Hemipterus Sericeus* (Coleoptera: Curculionidae). *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. U de Caldas*, 16(2), 87-97. <http://www.scielo.org.co/pdf/bccm/v16n2/v16n2a09.pdf>
- Kaya, H. K. & Gaugler, R. (1993). Entomopathogenic Nematodes. *Annual review of Entomology*, 38(1), 181-206. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.38.010193.001145>
- Kaya, H.K. & Stock, S.P. (1997). Techniques in insect nematology. In L. Lacey, *Manual of Techniques in Insect Pathology* (pp. 281-324). Academic Press.
- Klein M.G. (1990). Efficacy against soil-inhabiting insect pests. In: R. Gaugler & H. K. Kaya (eds.), *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control* (p). CRC Press. Lacey, L., Frutos, R., Kaya, H. & Vail, P. (2001). Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future. *Biological control*, (21), 230-248. <http://dx.doi.org/10.1006/bcon.2001.0938>
- Leite, L. G., Machado, L. A., Goulart, R. M., Tavares, F. M. & Filho, A. B., (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. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000500010>
- López, R. A. & Soto, A. (2016). Aislamiento de nematodos entomopatógenos nativos en cultivos de caña panelera y pruebas de patogenicidad sobre *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. U. de Caldas*, 20(2), 114-123. <https://revistasoj.s.ucaldas.edu.co/index.php/boletincientifico/article/view/3799>
- Molina-Acevedo, J. P., Moino Jr. A., Sousa-Cavalcanti, R. S., Andalo, V. & Aparecida-Mendonça, L. A. (2006). Efecto de temperatura, concentración y tiempo de almacenamiento en la supervivencia de nemátodos entomopatógenos. *Revista Colombiana de Entomología*, 32(1): 24-30. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v32n1/v32n1a04.pdf>
- Neher, D.A. (2010). Ecology of plant and free-living nematodes in natural and agricultural soil. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 48, 371-394. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114439>
- Niño, L., Acevedo, E. & Becerra, F. (2000). *Control de adultos del gusano blanco de la papa con trampas de follaje*. FONAIAP Divulga.
- Niño, L., Acevedo, E., Becerra, F. & Guerrero, M. (2004). Aspectos de biología y fluctuación poblacional del gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax* Hustache (Coleoptera: Curculionidae) en Mucuchíes estado de Mérida, Venezuela. *Entomotrópica*, 19(1), 15-19. <http://www.bioline.org.br/pdf/em04002>
- Parada-Santamaría, J. C. (2002). *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934) (Rhabditida: Steinernematidae) en Cundinamarca – Colombia. *Agronomía Colombiana*, 20 (3): 47-54 <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/24499>.

- Parsa, S., Alcazar, J., Salazar, J. & Kaya, H., (2006). An indigenous Peruvian entomopathogenic nematode for suppression of the Andean potato weevil. *Biological Control*, 39(2), 171-178. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.04.003>
- Pérez, C. N. (2004). *Manejo ecológico de plagas*. :Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural- CEDAR.
- Poinar, G. O. (1979). *Nematodes for biological control of insects*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781351074957>
- Porazinska, D. L., Giblin-Davis, R., Faller, L., Farmerie, W., Kanzaki, N., Morris, K., Powers, T. O., Tucker, A. E., Sung, W. & Thomas, K. W. (2009). Evaluating high-throughput sequencing as a method for metagenomic analysis of nematode diversity. *Mol. Ecol. Res.*, 9, 1439–1450. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02611.x>
- Rodríguez, M., Herrera, I. C. & Monzón, A. J. (2019). Caracterización de aislados nativos de nematodos entomopatógenos y uso potencial contra *Spodoptera frugiperda* (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua. <http://repositorio.una.edu.ni/id/eprint/3830>
- Sepúlveda, P. A., López, J. C. & Soto, A. (2008). Efecto de dos nematodos entomopatógenos sobre *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae). *Revista Colombiana de Entomología* 34(1), 62-67. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-04882008000100008&script=sci_abstract&tlng=es
- Shapiro, D. I., Gaugler, R., Tedders, W. L., Brown, I. & Lewis, E. E. (2002). Optimization of inoculation for *in vivo* production of entomopathogenic nematodes. *Journal of Nematology*, 34(4), 343-350. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2620594/>
- Sierra-Ariza, L. J., Suarez, K. D., Villamil, J. E. & Alvarado, Á. E. (2017). La Investigación en el cultivo de papa en la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. *Respuestas*, 22(2),102-115. <https://doi.org/10.22463/0122820X.1211>
- Thomas, G. M., & Poinar, G. O. (1979). *Xenorhabdus* gen. nov., a genus of entomopathogenic, nematophilic bacteria of the family Enterobacteriaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 29(4), 352-360. <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-29-4-352>
- Torres, P. R. & López, A. (1996). Control microbiológico del gusano blanco de la papa *Premnotyptes vorax* (Coleoptera: Curculionidae) con *Beauveria* sp. y *Metarhizium* sp. En: XXIII Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, Socolen, Cartagena, Colombia.
- Touray, M., Gulcu, B., Ulug, D., Gulsen, S. H., Cimen, H., Kaya, H. K., Cakmak, I. & Hazir, S. (2020). Evaluation of different sponge types on the survival and infectivity of stored entomopathogenic nematodes. *J. Invertebr. Pathol.*, 171, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107332>
- Urtubia, I., France, A & Fernández, C. (2016). Producción in vitro de aislamiento nativo del nemátodo entomopatógeno *Steinernema unicornium* (QU-N85) para el control del burrito de la vid (*Naupactus xanthographus*). Tercer Simposio Chileno de Control Biológico. Centro Cultural Bernardo OHiggins, Chillán Viejo, Chile.
- Woodring, J. L. & Kaya, H. K. (1998). *Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: a handbook of techniques*. *South Cooperative Series Bulletin* 331, 1-30.
- Yanggen, D., Crissman, C. & Espinosa, P. (2003). Los plaguicidas: impactos en producción, salud y medio ambiente en Carchi, Ecuador. Quito: Abya Yala.