

***Eurhizococcus colombianus* Jakubski (1965) (Hemiptera: Margarodidae): Evaluación de su control biológico utilizando una mezcla de los nematodos entomopatógenos *Steinernema* (Rhabditida: Steinernematidae) y *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae)\***

Ana María Restrepo-García<sup>1</sup>, Laura Bernal-Arias<sup>2</sup>, Alberto Soto-Giraldo<sup>3</sup>

## Resumen

**Objetivos:** Aislar nematodos entomopatógenos (NEP) nativos y evaluar la patogenicidad de la mezcla de *Steinernema* sp. y *Heterorhabditis* sp. sobre *Eurhizococcus colombianus* en condiciones de laboratorio. **Alcance:** La mezcla de los nematodos entomopatógenos nativos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* controlan eficientemente a *E. colombianus*. **Metodología:** Se aislaron NEP nativos utilizando larvas de *Galleria mellonella* como insecto trampa, se mezclaron ambos nematodos y se evaluó su patogenicidad sobre los estados de desarrollo de *E. colombianus*. **Resultados:** Se aislaron y mezclaron NEP nativos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*. Veinticuatro h después de la infestación sobre hembras de *E. colombianus* se presentó mortalidad del 95% en la dosis de 100JI/ 25µl, mientras que a las 192 h la mortalidad fue del 100% en las dosis de 10 y 100 JI/ 25µl. Cuando los NEP se aplicaron sobre los quistes de *E. colombianus* en dosis de 10, 100 y 1000 JI/ 25 µl, el rompimiento de estos fue del 43%, 21% y 24%, respectivamente. **Conclusiones:** La mezcla de los NEP aislados controlan eficientemente los estados de desarrollo de *E. colombianus* en las dosis evaluadas.

**Palabras clave:** Perla de tierra; control biológico; manejo integrado de plagas.

***Eurhizococcus colombianus* Jakubski (1965) (Hemiptera: Margarodidae): Evaluation of its biological control using a mixture of the entomopathogenic nematodes *Steinernema* (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae)**

## Abstract

**Objectives:** To isolate native entomopathogenic nematodes (NEP) and evaluate the pathogenicity of the mixture of *Steinernema* sp. and *Heterorhabditis* sp. on *Eurhizococcus colombianus* under laboratory conditions. **Scope:** The mixture of native entomopathogenic nematodes of the *Steinernema* and *Heterorhabditis* genera efficiently control *E. colombianus*.

\*FR: 11-V-2021. FA: 30-VIII-2021.

<sup>1</sup> Ingeniera Agrónoma, Manizales, Caldas, Colombia, E-mail: anitmarie@hotmail.com

 orcid.org/0000-0002-9596-320X **Google Scholar**

<sup>2</sup> Estudiante Ingeniería Agronómica, Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia, E-mail: laura.501421149@ucaldas.edu.co

 orcid.org/0000-0002-4608-5383

<sup>3</sup> I.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:

Restrepo-García, A. M., Bernal-Arias, L. y Soto-Giraldo, A. (2022). *Eurhizococcus colombianus* Jakubski (1965) (Hemiptera: Margarodidae): Evaluación de su control biológico utilizando una mezcla de los nematodos entomopatógenos *Steinernema* (Rhabditida: Steinernematidae) y *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. Univ. Caldas*, 26(1),155-168. <https://doi.org/10.17151/bccm.2022.26.1.11>



**Methodology:** Native NEPs were isolated using *Galleria mellonella* larvae as a trap insect, both nematodes were mixed and their pathogenicity was evaluated on the development stages of *E. colombianus*. **Results:** Native NEPs of the *Steinernema* and *Heterorhabditis* genera were isolated and mixed. Twenty-four h after the *E. colombianus* infestation on females, mortality of 95% was presented at the dose of 100 JI / 25µl, while at 192 h mortality was 100% in the doses of 10 and 100 JI / 25µl. When NEPs were applied to *E. colombianus* cysts in doses of 10, 100 and 1000 JI / 25 µl, their rupture was 43%, 21% and 24%, respectively. **Conclusions:** The mixture of the isolated NEPs efficiently control the development stages of *E. colombianus* at the doses evaluated.

**Key words:** Ground pearl; biological control; integrated pest management.

## Introducción

*Eurhizococcus colombianus* (Hemiptera: Margarodidae), conocido como “perla de tierra”, es considerado una de las plagas más limitantes en cultivos de mora (*Rubus glaucus*), tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*), lulo (*Solanum quitoense*), manzano (*Malus domestica*), brevo (*Ficus carica*), aguacate (*Persea americana*), feijoa (*Feijoa sewolliana*), durazno (*Prunus persica*), fresa (*Fragaria* spp.), curuba (*Passiflora* spp.) y vid (*Vitis labrusca*), entre otros (Castrillón et al., 1998; Kondo & Gómez, 2008; Arévalo et al., 2012). La mora es el cultivo más afectado, atacando las raíces secundarias y terciarias, provocando la marchitez y secamiento de la planta, generando pérdidas en rendimientos entre el 40 al 47% (Castrillón et al., 2000; Guarín & Carvajal, 2002; Foldi, 2005, Castro et al., 2008; Ríos et al., 2010).

*E. colombianus* presenta hábito subterráneo, se adhiere a la raíz y chupa la savia, allí se reproduce y forma nudosidades o quistes que bloquean el paso del agua y de nutrientes en la planta (ICA, 2011). Los estados de vida del insecto son: huevo, ninfas y adultos, ocasionando daño el primer, segundo y tercer estadio ninfal, ya que los adultos carecen de aparato bucal (Teixeira et al., 2002; Foldi, 2005; Kondo & Gómez, 2008). Las plantas afectadas por *E. colombianus* se debilitan, se tornan cloróticas, detienen el crecimiento y producción, emiten pocos tallos, disminuyen la floración, los frutos se quedan pequeños y secos, pierden el follaje y se pueden morir (Guarín & Carvajal, 2002; ICA, 2011). Las medidas de control se deben implementar cuando la plaga se encuentra en las etapas de huevo y ninfa móvil (Arévalo et al., 2012); sin embargo, actualmente no se conoce un control efectivo para esta plaga, las características de su complejo ciclo de vida y el desconocimiento de su ecología nutricional y comportamiento, complica su control (Guarín & Carvajal, 2002; Meneses, 2015).

Para el control de *E. colombianus*, los agricultores aplican insecticidas químicos sintéticos, especialmente carbamatos y fosforados sin resultados satisfactorios, debido a la presencia de la cera que recubre los estadios ninfales (enquistamiento)

y también porque estas se ubican entre 10 a 30 cm de profundidad, lo que implica un incremento en los costos de producción y efectos ambientales adversos, de ahí la importancia de las medidas preventivas y del manejo integrado (Guarín & Carvajal, 2002; CIAT, 2010; ICA, 2011). Por lo tanto, se recomienda utilizar agentes de control biológico que puedan permanecer en la rizosfera por largos periodos de tiempo y que logren perturbar el hábitat donde estos se desarrollan (Arévalo et al., 2012; Aristizábal et al., 2015).

Los nematodos entomopatógenos (NEP) son habitantes naturales del suelo que parasitan artrópodos, principalmente insectos en estados inmaduros, siendo las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae las que presentan mayor eficiencia en el control de plagas (Cano, 2011; López & Soto, 2016). El ciclo de vida de los nemátodos consta de huevo, cuatro estados juveniles (J1 a J4) y adulto. Los juveniles infectivos (JI) ingresan al hospedero a través de sus aberturas naturales o heridas, una vez que alcanzan el hemocele liberan bacterias simbiotas del género *Xenorhabdus* (Steinernematidae) y *Photorhabdus* (Heterorhabditidae), las cuales destruyen los tejidos internos del hospedero ocasionando la muerte del insecto por septicemia y posteriormente evidenciando una coloración típica de infección (amarilla o roja, respectivamente) (Poinar, 1979; Kaya & Stock, 1997; Burnell & Stock, 2000; Griffin et al., 2005; Burgos, 2017).

El presente estudio tuvo como objetivo aislar NEP nativos y evaluar la patogenicidad que presentan dichos organismos sobre *E. colombianus* en condiciones de laboratorio.

## Materiales y métodos

La investigación se llevó a cabo en el Centro de Investigación y Cría de Enemigos Naturales de la Universidad de Caldas (CICEN), ubicado en el municipio de Manizales, Colombia (coordenadas 5° 05' N y 75° 40' W) a temperatura ambiente (19 ± 2°C).

**Obtención de NEP nativos:** se seleccionaron diez sitios de la granja Tesorito de la Universidad de Caldas (Coordenadas 5° 01'47" N, 75° 26' 03" W), ubicada a 2280 msnm, 78% de HR, sembrados en mora y que presentaran alta infestación de *E. colombianus*. En cada sitio se tomaron cinco muestras de suelo a una profundidad de 20 cm, cada muestra pesaba aproximadamente 500 gramos. Posteriormente, las muestras se depositaron en bolsas plásticas previamente rotuladas y se llevaron al CICEN para su análisis.

Para determinar la presencia de NEP nativos se utilizó la técnica conocida como "insecto trampa" descrita por Bedding y Akhurst (1975), la cual consistió en depositar los 500 g de suelo, referentes al peso de cada una de las muestras, en un recipiente plástico (capacidad de 800 g) y diez larvas de último instar de *Galleria mellonella*

(Lepidoptera: Pyralidae), conocida por su alta susceptibilidad a dichos organismos (Zimmerman, 1986; Shapiro et al., 2002; Aranda & Bustillo, 2007).

Las muestras permanecieron en un ambiente fresco y sin exposición a luz directa por diez días, durante este tiempo se realizó el suministro de riego empleando agua lluvia, se invirtió la posición de los recipientes cada 8 h para permitir la movilidad de las larvas y la capacidad de búsqueda de los nematodos (Rodríguez, 2019). A partir del cuarto día se inició la extracción de larvas muertas, repitiendo el proceso a los seis, ocho y 10 días. Los especímenes que presentaron el cuadro típico de infección por la acción de los NEP fueron desinfectados con una solución de hipoclorito de sodio al 0,05% y separados en “trampas White” (Poinar, 1979; Kaya & Stock, 1997), posteriormente se realizó la cosecha de NEP a los cinco, siete y nueve días después de la infestación.

**Pruebas de patogenicidad sobre *E. colombianus*:** En la Granja Tesorito se colectaron especímenes de perla de tierra en plantas de mora (*Rubus glaucus*), uchuva (*Physalis peruviana*) y lengua de vaca (*Rumex crispus*) y se trasladaron al CICEN. Se realizaron inoculaciones de la mezcla de ambos nematodos NEP nativos (*Steinernema* y *Heterorhabditis*) mediante el método tópico (aislados en individuos de *G. mellonella*), colocando los especímenes de *E. colombianus* en cajas de petri sobre un papel filtro y se aplicaron 5,0 ml de la solución de nematodos (Rodríguez, 2019); cuatro días después se verificó la infección mediante el método de la observación de síntomas (cambio de color, tejido blando, presencia de grasa alrededor y dentro del espécimen) con ayuda de un estereomicroscopio marca Olympus®.

Para los bioensayos se utilizaron platos para cultivo de tejidos Falcon® de fondo plano con seis celdas individuales por plato, en el fondo de cada celda se colocaron dos rodajas de papel filtro Watmann #1, sobre las que se aplicaron con micropipeta las concentraciones de JI a evaluar (10, 100 y 1000 JI/ 25 µl) provenientes de las pruebas de patogenicidad sobre *E. colombianus* (Jiménez et al., 2012). Cada dosificación se ajustó previamente por recuentos al estereomicroscopio con ayuda de una cámara de conteo de nematodos en solución de agua lluvia.

Para verificar la supervivencia de las perlas enquistadas se siguió la metodología empleada por González et al. (1969): 1. Presencia de filamentos cerosos secretados a través de los orificios espiraculares y, 2. Sumersión, ya que la mayoría de los quistes vivos se hunden al introducirlos en agua. Las evaluaciones de mortalidad se realizaron a las 48, 96, 144 y 216 h después de la infestación, esta variable se asumió cuando apareció uno de los síntomas mencionados anteriormente. Los especímenes muertos se ubicaron en cámara White para observar la multiplicación de los nematodos y el tiempo de emergencia.

El experimento se realizó sobre quistes y hembras en diferentes unidades experimentales y bajo un diseño completamente al azar conformado por cuatro tratamientos (3 dosis + testigo), al tratamiento testigo se aplicó agua lluvia. Cada tratamiento constó de seis repeticiones y se colocaron en cada celda cinco quistes o cuatro hembras de *E. colombianus* (según el tratamiento), finalmente, las unidades experimentales se sellaron y dejaron a temperatura ambiente a baja oscuridad. Para el análisis estadístico de la mortalidad respecto al tratamiento y al tiempo se utilizó el programa estadístico SAS® University Edition y se realizaron pruebas de Tukey al 5% de probabilidad.

## Resultados y discusión

De acuerdo con los aspectos de infección se pudo constatar que el género de NEP que presentó mayor patogenicidad sobre perla de tierra fue *Steinernema* (Rhabditida: Steinernematidae) (coloración amarilla) con un 70% en hembras y un 66% en quistes, los porcentajes restantes correspondieron al género *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae) (coloración rojiza).

Los porcentajes de mortalidad más altos con respecto al tiempo se presentaron con las dosis de 100 JI/ 25µl para hembras (Figura 2) y 10 JI/ 25µl para quistes (Figura 7) hecho atribuido posiblemente a la baja competencia intraespecífica para ingresar al hospedante en dichos tratamientos, resultados similares a los encontrados por Sepúlveda et al. (2008) en ensayos realizados sobre individuos de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae) y O' Callaghan et al. (2014) en estudios sobre *G. mellonella*. En la dosis de 1000 JI/ 25µl se observó que para obtener mortalidad del 100% se requirió más horas de evaluación.

**Efecto de la acción de NEP nativos sobre hembras de *E. colombianus*.** Después del periodo de infección con los NEP, se evidenció la mortalidad de los individuos al observar la ausencia de movimiento y la sintomatología propia de afectación por dichos organismos (Figura 1A, B y C).

A.



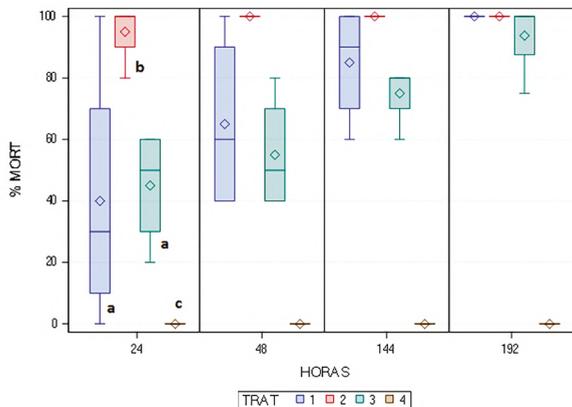
B.





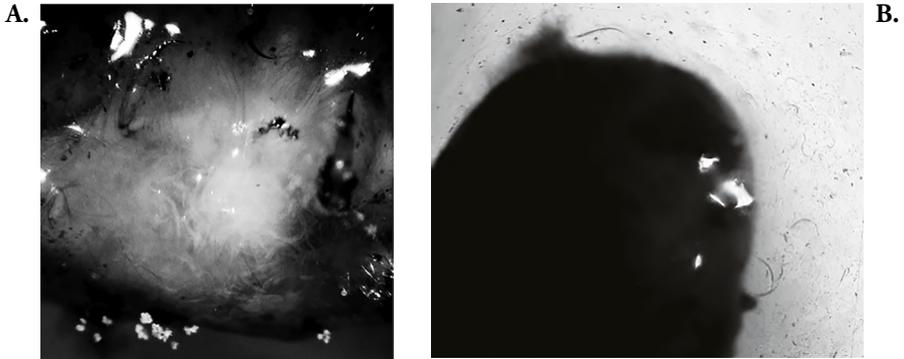
**Figura 1.** Supervivencia y mortalidad de hembras. **A.** Hembra sana; **B.** Cambio de coloración izq. Amarilla, der. Roja; **C.** Presencia de grasa en el exterior del insecto. Fuente: elaboración propia.

El análisis estadístico arrojó diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $P = < 0,0001$ ) al igual que en los tiempos de evaluación ( $P = < 0,0001$ ), por su parte, la interacción entre dosis y horas evaluadas presentó significancia con un valor  $P = 0,0113$ . A las 24 h de evaluación, las hembras de perla de tierra infestadas con 100JI/ 25 $\mu$ l (tratamiento 2) presentaron mortalidad del 95%, mientras que las infestadas con 10JI/ 25 $\mu$ l (tratamiento 1) y con 1000JI/ 25 $\mu$ l (tratamiento 3) presentaron mortalidad del 40 y 45%, respectivamente ( $P = < 0,0001$ ) (Figura 2).



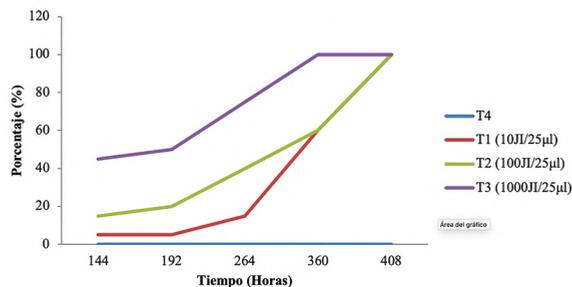
**Figura 2.** Porcentajes de mortalidad de hembras de *E. colombianus* bajo el efecto de diferentes concentraciones de mezcla de NEP nativos a las 24, 48, 144 y 192 horas. Trat 1: 10JI/ 25 $\mu$ l, Trat 2: 100JI/ 25 $\mu$ l, Trat 3: 1000JI/ 25 $\mu$ l y Trat 4: Testigo. Nota: promedios en cada tratamiento con distinta letra presentan diferencias altamente significativas de acuerdo con Tukey al 5%. Fuente: elaboración propia.

A las 192 h de evaluación, las hembras de perla de tierra infestadas con 10JI/ 25 $\mu$ l y con 100JI/ 25 $\mu$ l presentaron mortalidad del 100%, mientras que las infestadas con 1000JI/ 25 $\mu$ l la mortalidad fue del 94% ( $P= 0,0001$ ). La emergencia natural de los NEP se inició a las 144 h y finalizó a los 17 días después de la infestación (Figura 3 A y B).



**Figura 3.** A y B. Emergencia natural de NEP en hembras.  
Fuente: elaboración propia.

A pesar de que los NEP en la dosis de 100JI/ 25 $\mu$ l ocasionaron mayor rapidez en la mortalidad de *E. colombianus*, la emergencia de estos organismos de manera natural fue superior en la dosis de 1000JI/ 25 $\mu$ l con un porcentaje del 45% ( $P= < 0,0001$ ) (Figura 4), posiblemente debido a la competencia entre los nemátodos dentro del huésped, pues penetraron varios nemátodos a un solo organismo y por lo tanto no hubo espacio para que todos se pudieran reproducir. Estos resultados son similares a los encontrados por Sepúlveda et al. (2008) en estudios realizados sobre *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae) donde afirma que los días para el inicio de la emergencia de los NEP difiere entre dosis, mas no entre aislamientos.



**Figura 4.** Porcentaje de emergencia de una mezcla de *Steinernema* y *Heterorhabditis* en hembras de *E. colombianus* a través del tiempo.  
Fuente: elaboración propia.

La capacidad que tienen los NEP de multiplicarse sobre hembras de *E. colombianus* y emerger de manera natural es una característica deseable en los controladores biológicos, ya que permite su permanencia y distribución en un rango más amplio de cultivo ejerciendo control sobre posteriores generaciones de la plaga.

Tal como lo mencionan Arévalo et al. (2012), en la presente investigación se observó que cuando *E. colombianus* completa su desarrollo ninfal y pasa a la etapa adulta, puede salir del quiste y comportarse como hembra móvil o mantenerse dentro de la capa cerosa. La hembra muere cuando realiza la postura dejando el ovisaco lleno de huevos (Figura 5A), el cual presenta color blanquecino, paredes frágiles y quebradizas (Soria & Dal Conte, 2005); en los casos en que la hembra abandona la protección cerosa, oviposita uniendo los huevos uno a uno en forma de cadena (Figura 5B) (Arévalo et al., 2012).



**Figura 5.** Posturas de *E. colombianus*. A. Ovisaco; B. Hembra.  
Fuente: elaboración propia.

Para implementar prácticas de control del insecto es importante conocer el porcentaje de hembras adultas que emergen de la protección cerosa, ya que estas distribuyen su progenie con mayor facilidad en un rango más amplio del cultivo. Se ha reportado un porcentaje de hembras móviles entre el 24% y el 44% y un control del 100% por acción del nematodo entomopatógeno *Steinernema carpocapsae* Weiser bajo condiciones de laboratorio (Hickel & Schmitt, 1997; Arévalo et al., 2012). Estos resultados son similares a los encontrados en la presente investigación, en donde se evidenció 100% de mortalidad de *E. colombianus* desde la dosis de menor concentración de NEP (10JI/ 25µl).

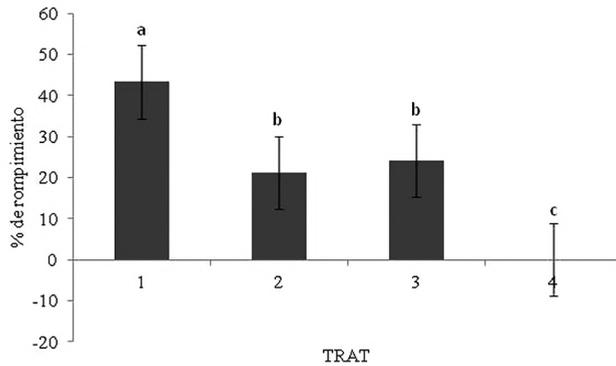
Efecto de la acción de NEP nativos sobre quistes de *E. colombianus*. Los quistes evaluados permanecieron en contacto con la solución de NEP por 12 días. Durante este tiempo no se observó sintomatología que evidenciara mortalidad del insecto por causa de los NEP debido a la dureza de su cutícula. Sin embargo, a partir de

las 48 h después de la infestación se observó rotura de algunos especímenes en todos los tratamientos (exceptuando el testigo), lo que permitió su registro en los datos de mortalidad (Figura 6A). Los quistes vivos se identificaron por la presencia de filamentos cerosos como indicadores de la actividad de las ninfas enquistadas (González et al., 1969) (Figura 6B).



**Figura 6.** Mortalidad y supervivencia de quistes de *E. colombianus*.  
**A.** Quistes reventados; **B.** Presencia de filamentos cerosos.  
Fuente: elaboración propia.

Los resultados estadísticos mostraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $P = <0,0001$ ) al igual que los tiempos de evaluación ( $P = 0,0018$ ); por su parte, la interacción entre dosis y horas evaluadas presentó significancia con un valor  $P = 0,0413$ . El tratamiento 1 (10 JI/ 25  $\mu$ l) arrojó diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos, por su parte los tratamientos 2 y 3 (100 y 1000 JI/ 25  $\mu$ l) mostraron resultados estadísticamente iguales: el rompimiento de los quistes fue del 43%, 21% y 24% cuando se aplicaron dosis de 10, 100 y 1000 JI/ 25  $\mu$ l, respectivamente (Figura 7), posiblemente debido a la competencia intraespecífica que se presenta al ingresar al huésped en dosis de mayor concentración, condición reportada anteriormente por Kaya & Koppenhöfer (1996).



**Figura 7.** Porcentaje de rotura (mortalidad) de quistes de *E. colombianus* bajo el efecto de diferentes concentraciones de mezcla de nematodos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*. Trat 1:10JI/ 25µl, Trat 2: 100JI/ 25µl, Trat 3: 1000JI/ 25µl y Trat 4: Testigo.  
 Nota: promedios en cada tratamiento con distinta letra presentan diferencias altamente significativas de acuerdo con Tukey al 5%.  
 Fuente: elaboración propia

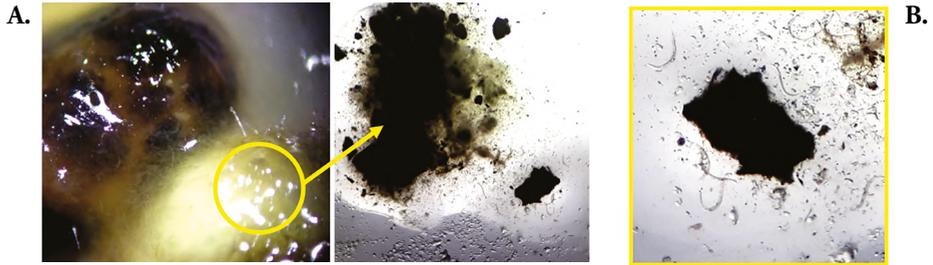
A medida que se presentó la rotura de quistes se realizó el montaje de trampa White, observando los síntomas característicos: cuadro típico de infección (Figura 8A), tejido blando y presencia de grasa en el exterior del espécimen (Figura 8B), emergencia natural de nematodos (Figura 8C), rotura artificial de quistes y presencia de nematodos (Figura 8D). Sepúlveda et al. (2008) evaluaron NEP sobre *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae) y encontraron emergencia natural de estos organismos, mas no en todos los individuos. A las 288 h después de la infestación con los NEP se disectaron, con la ayuda de un bisturí entomológico, los quistes que no habían presentado rotura, encontrándose NEP en todos los individuos y dosis evaluadas.

**A.**



**B.**



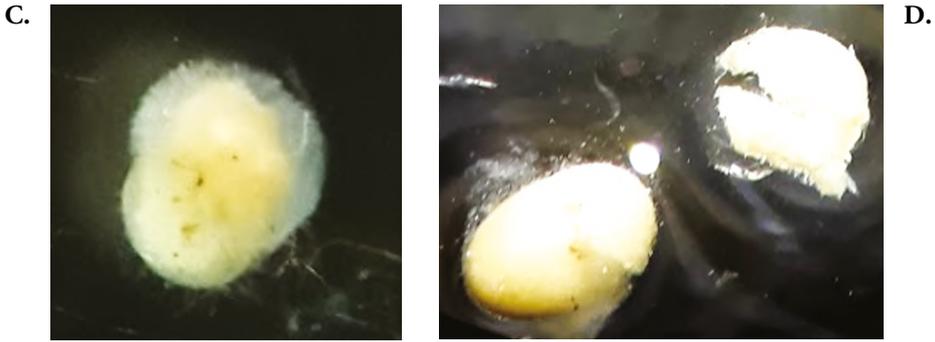


**Figura 8.** Sintomatología de patogenicidad por NEP. **A.** Cuadro típico de infección: der. *Steinernema*, izq. *Heterorhabditis*; **B.** Tejido blando y presencia de grasa en el exterior del espécimen; **C.** Emergencia natural de nematodos; **D.** Rotura artificial de quistes (izq.) y presencia de nematodos (der). Fuente: elaboración propia.

Adicionalmente, se evaluó la dosis de 100 JI/ 25 $\mu$ l sobre ovisacos (Figura 9A), huevos individuales y el estado ninfal I (Figura 9B) con el fin de comprobar la patogenicidad en otros estados de la perla de tierra. Al realizar la rotura de los especímenes de manera artificial se verificó la presencia de grasa (Figura 9C) y en algunos ejemplares se observó la presencia de nematodos (Figura 9D). Cuando los huevos de *E. colombianus* están cerca a la eclosión, la capa cerosa se torna débil con el fin de permitir la salida de las ninfas (Arévalo et al., 2012), condición que puede ser aprovechada por el nematodo para penetrar el ovisaco y generar control, resultados que se corroboran en la presente investigación al encontrar el cuadro típico de infección por NEP en los huevos contenidos en dichos especímenes (Figura 9A).

Los anteriores hallazgos difieren de los reportados por Aristizábal et al. (2015), en evaluaciones con los nematodos *Steinernema colombiense* cepa SIN0198 y *Heterorhabditis bacteriophora* (línea Fresno HNI0100) sobre *E. colombianus* en mora, encontrando que ninguna de las especies fue patógena contra los estados inmaduros y solamente *S. colombiense* fue moderadamente infectiva contra los adultos a 105 JI/ml.





**Figura 9.** Otros hallazgos. A. Cuadro típico de infección en huevos; B. Cuadro típico de infección en Ninfa I; C. Grasa alrededor de Ninfa I; D. Degradación de huevos y salida de NEP.  
Fuente: elaboración propia.

## Conclusiones

En esta investigación se evidenció que cuando las hembras de *E. colombianus* se infestaron con las cepas nativas de NEP se presentó emergencia natural de dichos microorganismos. Cuando los NEP se aplicaron sobre los quistes en dosis de 10, 100 y 1000 JI/ 25  $\mu$ l, el rompimiento natural de estos fue del 43%, 21% y 24%, respectivamente. Sin embargo, la patogenicidad al terminar los tiempos de evaluación fue del 100%. En la dosis de 10 JI/ 25  $\mu$ l se obtuvo control del 100% de perlas enquistadas y hembras adultas, mientras que a la dosis de 100 JI/ 25  $\mu$ l se presentó mortalidad mayor al 90% sobre hembras en las primeras 24 h. Estos resultados demuestran el uso potencial que presentan las cepas nativas de *Steinernema* y *Heterorhabditis* como agentes de control biológico de *E. colombianus*.

## Contribución de los autores

Ana María Restrepo García: Conceptualización, montaje de experimento, toma de datos, análisis de resultados y escritura del documento. Laura Bernal Arias: Montaje de experimento, toma de datos y análisis de resultados. Alberto Soto Giraldo: Conceptualización, metodología, adquisición de fondos, análisis de resultados, revisión de escritura y edición del documento.

## 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

- 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. Colombia*, 58(2): 142-157.
- Arévalo, H., Londoño, M. E. & Tobón W. A. (2012). Tabla de vida de *Eurhizococcus colombianus* Jakubski (Hemiptera: Margarodidae) en cuatro estructuras vegetales. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.*, 15(1): 125-133. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0123-42262012000100014&lng=es&nrn=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0123-42262012000100014&lng=es&nrn=iso)
- Aristizabal, L. F., Ortiz, A. L., Quintero, J. C., López-Núñez, J. C., Toro, H. & Arthurs, S. P. (2015). Effect of Colombian strains of *Steinernema colombiense* (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) against *Eurhizococcus colombianus* (Hemiptera: Margarodidae) and *Aeneolamia* sp. (Hemiptera: Cercopidae). *Florida Entomologist.*, 98(3): 981-983.
- Bedding, R. A. & Akhurst, R. J. (1975). A simple technique for Soil, the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21: 109-110.
- Burgos, E. A. (2017). Efecto del ataque de nematodos entomopatógenos nativos del género *Steinernema* sobre el gusano cortador de la papa (*Agrotis bilitura* Guenée). Universidad de Chile Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. <https://bit.ly/3nZhVJW>
- Burnell, A. & Stock, S. P. (2000). *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts lethal pathogens of insects. *Nematology*, 2(1): 31-42.
- Cano, M. A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una Revisión. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 14(2): 15-31. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-42262011000200003&script=sci\\_abstract&lng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-42262011000200003&script=sci_abstract&lng=es)
- Castrillón, A. C., Urrea, C. F., Guevara, M. N. & Rodríguez, J. E. (1998). Reacción de diferentes clones de lulo al ataque de la Perla de tierra (*Eurhizococcus* spp.) en zonas de clima frío moderado del departamento de Caldas. En: Centro de Desarrollo Tecnológico de Frutales. eds. Memorias Segundo Seminario de Frutales de Clima Frío Moderado. p.153-160. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/17728>
- Castrillón, A. C., Urrea, C. F., Guevara, M. N. & Pineda, S. M. (2000). Algunos aspectos biomorfológicos y agroecológicos de la Perla de tierra en zonas de clima frío moderado del departamento de Caldas. En: Centro de Desarrollo Tecnológico de Frutales eds. Memorias Tercer Seminario de Frutales de Clima Frío Moderado. p.125-131. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/21206>
- Castro, L., Flores, D., Navarro, R. & Gaviria, B. (2008). Moras silvestres (*Rubus* spp.) como patrones para mora de Castilla (*R. glaucus*) y su reacción a perla de tierra (*Eurhizococcus colombianus*). *Revista Universidad Católica de Oriente*, 26: 20-29.
- CIAT. (2010). Reconocimiento y evaluación de enemigos naturales asociados a perla de la tierra *Eurhizococcus colombianus* Jakubski (1965) en tres zonas productoras de mora. Informe final técnico. En: proyecto productores de lulo y mora competitivos mediante selección participativa de clones élite, manejo integrado del cultivo y fortalecimiento de cadenas de valor Fontagro. pp 30-36. [https://www.fontagro.org/wp-content/uploads/2006/01/final\\_infotec\\_06\\_16.pdf](https://www.fontagro.org/wp-content/uploads/2006/01/final_infotec_06_16.pdf)
- Foldi, I. (2005). Ground pearls: a generic revision of the Margarodidae sensu stricto (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea). *Ann. Soc. Entomol. France.*, 41(1): 81-125.
- González, M. F., Kido, H., Marín, A. & Hughes, P. (1969). Biología y ensayos preliminares de control del margarodes de la vid, *Margarodes vitis* (Philippi). Argentina. 31pp. <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/agritec/NR37912.pdf>
- Griffin, C., Boemare, N. & Lewis, E. (2005). Biology and behaviour. In: P. Grewal, R.-U. Ehlers and D. Shapiro-Ilan (Eds.). *Nematode as Biocontrol Agents*. CAB International, Wallingford, U.K. 47-59.
- Guarín, J. H. & Carvajal, L. D. (2002). La Perla de tierra *Eurhizococcus colombianus* Jakubski (Homoptera: Margarodidae) en los frutales de clima frío. En: Centro de Desarrollo Tecnológico de Frutales eds. Memorias Cuarto Seminario de Frutales de Clima Frío Moderado. p. 153-162. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/17666>
- Hickel, E. R. & Schmitt, A. T. (1997). Prospecção do controle de pérola-da-terra, *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel), com nematódeos entomopatógenos, *Steinernema carpocapsae* All. Reuniao Sul – Brasileira sobre pragas de solo, pp. 103-105. Santa Maria: UFSM. <https://bit.ly/3zt3HTL>
- ICA. (2011). Manejo fitosanitario del cultivo de la mora (*Rubus glaucus* Benth). Medidas para la temporada invernal. Bogotá. <https://www.ica.gov.co/getattachment/b7e061eb-cbd3-4f80-9518-c771712405eb/-nbsp3bmanejo-fitosanitario-delcultivo-de-la-mora.aspx>
- Jiménez, J. A., López, J. C. & Soto, A. (2012). Patogenicidad de dos nematodos entomopatógenos sobre *Metamasius hemipterus* sericeus (Coleoptera: Curculionidae). *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. U. de Caldas*, 16(2): 87-97.
- Kaya, H. K., Koppenhöfer, A. (1996). Effects of microbial and other antagonistic organism and competition in entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 357-371.
- Kaya, H. K. & Stock, S. P. (1997). Techniques in insect nematology. *Manual of Techniques in Insect Pathology*, Academic Press. California, U.S.A. 1: 281-324.
- Kondo, D. T. & Gómez, C. E. (2008). La perla de tierra, *Eurhizococcus colombianus* Jakubski, una nueva plaga de la vid, *Vitis labrusca* L. en el Valle del Cauca, Colombia. Novedades técnicas. Corpoica C.I. Palmira. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/34302>
- 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. DOI: 10.17151/bccm.2016.20.2.8.
- Meneses, E. (2015). Bases para el manejo agroecológico de *Eurhizococcus colombianus* Jakubski (Hemiptera: Margarodidae) en cultivos de mora del Oriente Antioqueño. Tesis. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias. Medellín, Colombia. <http://bdigital.unal.edu.co/50978/1/32106491.2015.pdf>
- O' Callaghan, K. M., Zenner, A. N. R. L., Hartley, C. J. & Griffin, C. T. (2014). Interference competition in entomopathogenic nematodes: Male *Steinernema* kills its own members and members of other species. *International Journal of Parasitology*, 44(13): 1009-1017.
- Poinar, G. O. (1979). *Nematodes for biological control of insects*. Boca Raton, Florida. 227 p.

- Ríos, G., Vásquez, L., Arévalo, H. & Londoño, M. (2010). Caracterización biofísica y socioeconómica del sistema de producción de mora en los departamentos de Antioquia y Caldas, con énfasis en el problema de perla de la tierra. VII Seminario Internacional de Frutas Tropicales. Agroindustria e Innovación. Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, Colombia. 98p.
- Rodríguez, M. J. (2019). Caracterización de aislados nativos de nematodos entomopatógenos y uso potencial contra *Spodoptera frugiperda*. Tesis de maestría. Universidad Nacional Agraria, Facultad de Agronomía. Nicaragua.
- Sepúlveda, P. A., López, J. C. & Soto, A. (2008). Efecto de dos nematodos entomopatógenos sobre *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae). *Rev. Colomb. Entomol.*, 34(1): 62-67.
- 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.
- Soria, S. De J, Dal Conte, A. F. (2005). Bioecologia e controle das pragas da videira. Embrapa. Circular Técnica 63. Bento Gonçalves, RS Dezembro. 20 P. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/541436/1/cir063.pdf>
- Teixeira, I., Botton, M. & Loeck, A. E. (2002). Avaliação de Inseticidas Visando ao Controle de *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel) (Hemiptera: Margarodidae) em Novos Plantios de Videira. *Neotrop. Entomol.*, 31(3): 457-461. [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1519-566X2002000300017&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-566X2002000300017&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)
- Zimmermann, G. (1986). The Galleria bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. *Journal of Applied Entomology*, 102: 213-215.