

# Virulencia, producción y desplazamiento de nematodos entomopatógenos sobre larvas del picudo de la guayaba *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae) en laboratorio

Yalaxy Delgado-Ochica<sup>1✉</sup>, Adriana Sáenz Aponte<sup>1</sup>

Received: 01-10-2012 Accepted: 11-11-2012 Published on line: 27-11-2012

Edited by Alberto Acosta ✉

**Virulence, production and dispersal of entomopathogenic nematodes to larvae of the guava weevil *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. Abstract.** The guava weevil *Conotrachelus psidii* Marshall is a major pest affecting guava cultivation in Santander, Colombia; it causes serious losses in the quality and the volume of fruit produced. Biological control is a viable option for pest management; entomopathogenic nematodes (EPNs), particularly, have shown good results (63-90% mortality) in controlling fourth instar larvae of the guava weevil. In this study we evaluated the effect of seven species of EPNs isolated in Colombia: *Steinernema websteri* JCL006, *Steinernema* sp. 1 JCL024, *Steinernema* sp. 2 JCL007, *Steinernema* sp. 3 JCL027, *S. colombiense* SNI0198, *Heterorhabditis bacteriophora* HNI0100 and *Heterorhabditis* sp. SL0708 on fourth instar larvae of the guava weevil in laboratory conditions, and measured the production and the displacement of the most virulent. *Heterorhabditis* sp. SL0708 induced mortality of 85%, *Steinernema* sp. 1 JCL024 75% and *S. colombiense* SNI0198 55%, the other species of EPNs, less than 25% mortality. Increased production of JI by weevil larva was recorded in *Heterorhabditis* sp. SL0708, which also showed greater recognition capability when the host was *C. psidii*.

**Keywords:** Biological control, *Heterorhabditis* sp., juvenil infective, *Steinernema* sp.

**Resumen.** El picudo de la guayaba *Conotrachelus psidii* Marshall es una de las principales plagas del cultivo de la guayaba en Santander - Colombia, causa pérdidas severas afectando la calidad y cantidad de los frutos. El control biológico es una opción viable para el manejo de la plaga y en especial, los nematodos entomopatógenos (NEPs) han mostrado buenos resultados (63-90% mortalidad) para el control de larvas de cuarto instar del picudo de la guayaba. En el presente estudio se evaluó el efecto de siete especies de NEPs aislados en Colombia: *Steinernema websteri* JCL006, *Steinernema* sp. 1 JCL024, *Steinernema* sp. 2 JCL007, *Steinernema* sp. 3 JCL027, *S. colombiense* SNI0198, *Heterorhabditis bacteriophora* HNI0100 y *Heterorhabditis* sp. SL0708 sobre larvas de cuarto instar del picudo de la guayaba en condiciones de laboratorio. También se evaluó la producción y el desplazamiento de las especies de NEPs más virulentas. Se registró que *Heterorhabditis* sp. SL0708 genera una mortalidad del 85% sobre el picudo de la guayaba, *Steinernema* sp. 1 JCL024 del 75% y *S. colombiense* SNI0198 del 55%, las otras especies de NEPs generaron mortalidad menor al 25%. La mayor producción de JI por larva del picudo se registró en *Heterorhabditis* sp. SL0708, la cual también mostró mayor capacidad de reconocimiento cuando el hospedero es *C. psidii*.

**Resumo.** O bicudo-da-goiaba *Conotrachelus psidii* Marshall, é uma das principais pragas do cultivo da goiaba no Sanander - Colômbia. Ocasiona perdas muito grandes, afetando a qualidade e a quantidade dos frutos. O controle biológico é uma opção viável para o manejo da praga, especialmente, os nematóides entomopatogênicos (NEPs) mostraram bons resultados (63-90% mortalidade) para o controle do quarto instar do bicudo-da-goiaba. No presente estudo foi avaliado o efeito de sete espécies de NEPs isolados na Colômbia: *Steinernema websteri* JCL006, *Steinernema* sp. 1 JCL024, *Steinernema* sp. 2 JCL007, *Steinernema* sp. 3 JCL027, *S. colombiense* SNI0198, *Heterorhabditis bacteriophora* HNI0100 e *Heterorhabditis* sp. SL0708, sobre larvas de quarto instar do picudo da goiaba no laboratório. A produção, e o deslocamento das espécies mais virulentas também foram medidos. Para *Heterorhabditis* sp. SL0708 foi registrada mortalidade de 85%, para *Steinernema* sp. 1 JCL024 do 75% e para *S. colombiense* SNI0198 do 55%, as outras espécies de NEPs causaram mortalidade do inseto menor que 25%. A maior produção de JI por larva do bicudo foi registrada em *Heterorhabditis* sp. SL0708, a qual também mostrou maior capacidade de reconhecimento quando o hospedeiro é *C. psidii*.

1 Laboratorio de Control Biológico, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C., Colombia.

## Introducción

La mayor producción de guayaba en Colombia se encuentra en el Departamento de Santander con 51.176 toneladas (34%) de las 145.665 toneladas a nivel nacional, seguido por Boyacá (20%), y Tolima (12,3%). A partir de la guayaba se sustenta la agroindustria del bocadillo, cuya producción anual en Santander se valora en más de US\$24 millones anuales (1), sin embargo, su producción se ha visto afectada por la plaga conocida como el picudo de la guayaba *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae). El daño es realizado por las larvas que se alimentan de las semillas y la pulpa, que provocan un ennegrecimiento y endurecimiento de la parte afectada. Las excretas de la larva en el interior de la guayaba ocasionan petrificación del fruto, maduración prematura y caída del mismo (2), haciendo al fruto inservible para cualquier forma de consumo y para la agroindustria del bocadillo.

El ciclo del picudo dura en promedio 199 días: huevo, 4 a 7 días; la larva pasa por cuatro instares larvales, del primero al tercero ocurren dentro del fruto, 42 a 56 días; el cuarto instar larval ocurre en el suelo, 60 a 90 días; pupa en el suelo, 30 a 60 días. Los adultos salen del suelo entre los 20 y 30 días después. La infestación en los frutos por parte de las larvas, se ha observado el valor más alto durante la cosecha, que va desde inicios de septiembre hasta diciembre (1, 3).

El control del picudo en Santander es muy escaso y difícil, dado que los guayabales se encuentran silvestres ó asociados a sistemas silvopastoriles, por lo que ésta plaga genera pérdidas económicas significativas y aumenta sus poblaciones en cada cosecha (1). Debido a las pérdidas provocadas, se buscan estrategias económicamente viables para el sistema agrícola de la región y ecológicamente sostenibles para el control del picudo, que puedan ser incorporadas a un programa de Manejo Integrado de Plagas (MIP) como el control biológico, control cultural, uso de feromonas, desarrollo de plantas resistentes, entre otras alternativas (4).

Uno de los agentes de control biológico son los nematodos entomopatógenos (NEPs) de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae (Rhabditida), los cuales son organismos patógenos obligados de insectos. Están asociados en un mutualismo con bacterias que causan septicemia y

otras afecciones letales en el huésped. El ciclo de vida del nematodo tiene diferentes etapas de las cuales el Juvenil Infeccioso (JI) es de vida libre que parasita al hospedero, al que busca mediante desplazamiento activo (crucero) o pasivo (emboscador). La asociación nematodo-bacteria es la que determina la efectividad y selectividad de estos controladores, razón por la cual se realizan gran variedad de ensayos en laboratorio para establecer la patogenicidad y virulencia de las especies de para seleccionar la especie a ser implementada en el control de un determinado organismo (5).

Los NEPs son potenciales agentes para el control del picudo de la guayaba dado que varios de sus estados ocurren en o sobre el suelo, lo que podría desencadenar una estrategia racional para manejar esta plaga, como se ha demostrado en otros estudios. Del Valle *et al.* (5, 6) y Dolinski *et al.* (7) demostraron la alta susceptibilidad del cuarto instar larval del picudo de la guayaba por parte de *Heterorhabditis banjardii* LPP7 (mortalidad 80%) y *Heterorhabditis indica* Hom1 (mortalidad 85%) en experimentos de laboratorio e invernadero a una dosis de 100 nematodos por larva del picudo de la guayaba (5-7).

Teniendo en cuenta la importancia del cultivo, los daños generados por el picudo y la posibilidad de los nematodos entomopatógenos para controlar esta plaga, se evaluó la virulencia de siete especies de NEPs aislados en Colombia, sobre larvas de cuarto instar del picudo. Además de la producción y desplazamiento de JIs de las especies más virulentas, bajo condiciones de laboratorio.

## Materiales y métodos

Se evaluaron siete especies de NEPs (**Tabla 1**). De la 1 a la 6 son aislamientos obtenidos por CENICAFE, cuyos análisis de la secuencia de rDNA las clasificó como especies diferentes (8). La especie *Heterorhabditis* sp. SL0708 es un aislamiento realizado en la Pontificia Universidad Javeriana, cuyo ciclo de vida y patogenicidad, entre otras características, ha mostrado ser una especie distinta a *Heterorhabditis bacteriophora* (9).

La producción y la obtención de los JIs recién emergidos (sin fase de almacenamiento), de las diferentes especies de NEPs utilizadas en este estudio,

se realizó a partir de larvas de último instar de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) con trampas White a 25°C, siguiendo las recomendaciones de Sáenz y Olivares (10) y Realpe-Aranda (11).

Para la obtención de larvas de cuarto instar del picudo de la guayaba, se colectaron frutos infestados con la plaga provenientes de Guavatá (Santander). En el laboratorio se separaron las larvas de cuarto instar (longitud de 10-12 mm y coloración crema) y las larvas de otros instares se depositaron en bandejas plásticas con guayaba para permitir su desarrollo. Las larvas seleccionadas para los ensayos se dejaron 24 horas en observación antes de ser utilizadas, y se escogieron aquellas que se movían y

presentaban coloración uniforme (sanas).

**Pruebas de virulencia de JI:** Se realizó un ensayo completamente al azar de ocho tratamientos; siete especies de NEPs y un control sin NEPs (agua destilada), con 10 replicas cada uno y una repetición en el tiempo, como se ha realizado en otros estudios (7). Cada unidad experimental consistió en una caja de petri de 3 cm de diámetro, con 16 g de arena de río estéril húmedo, se colocaron 100 JI y una larva de cuarto instar del picudo de la guayaba con el volumen de agua para completar la capacidad del campo del sustrato (30% de humedad P/P); las unidades experimentales contaban con una sola

**Tabla 1.** Especies y cepas de nematodos entomopatógenos evaluados para el control del picudo de la guayaba *C. psidii*.

Especie	Cepa	Municipio/ Departamento	Vegetación asociada	pH del suelo	% contenido de arcilla: limo: arena
<i>Steinernema websteri</i>	JCL006	Chinchiná – Caldas	Bosque, café – guamo	3,5-5,2 4,4-5,9	10-17: 23-33: 54-66 10-21: 14-24: 63-72
<i>Steinernema</i> sp. 1	JCL024	Buenavista - Quindío	Bosque, Café	4,4-5,9	10-21: 14-24: 63-72
<i>Steinernema</i> sp. 2	JCL007	Chinchiná - Caldas	Café - guamo	3,9-5,2 4,4-5,9	10-17:23-33: 54-66
<i>Steinernema</i> sp. 3	JCL027	Sasaima -Cundinamarca	Plátano	4,5	10-21:14-24: 63-72
<i>Steinernema colombiense</i>	SNI0198	Quimbaya - Quindío	Cafetal	4,9	35:25:40
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	HNI0100	Fresno -Tolima	Sin datos	Sin datos	Materia orgánica 5,9% Sin datos
<i>Heterorhabditis</i> sp.	SL0708	Alcalá - Valle del Cauca	Guadual	4,7	12,8: 19,8: 68,7

larva, dado que cuando estas son perturbadas, son bastante agresivas; se incubaron a 24°C  $\pm$  1. Se registró la mortalidad cada 24 horas durante 15 días. Las larvas del picudo muertas se disectaron para comprobar la presencia de nematodos.

**Producción de JI a partir de larvas del picudo de la guayaba:** Las especies de NEPs que generaron porcentajes de mortalidad superiores al 50%, se les evaluó la producción de JI por larva de cuarto instar del picudo de la guayaba. Las larvas del picudo infectadas se incubaron a 25°C y después de 5 días, se montaron en trampas White modificadas (11, 12) para la recuperación de los JI. Los conteos de los JI

se realizaron diariamente por dilución, siguiendo las recomendaciones de Kaya y Stock (12).

**Búsqueda por el hospedero:** Se usaron columnas de arena para evaluar la capacidad de los JI para desplazarse, encontrar y matar las larvas de cuarto instar del picudo de la guayaba, dado que en el suelo se profundizan a 10 cm en promedio. Se seleccionaron las especies de NEPs que presentaron la mayor virulencia (+70%) y producción de JI.

Se utilizó un tubo de PVC de 10 cm de alto por 5 cm de diámetro, en el lado inferior se dejó una caja de petri pequeña (5 cm de diámetro). En el fondo de cada tubo, se ubicó una larva de *C. psidii*

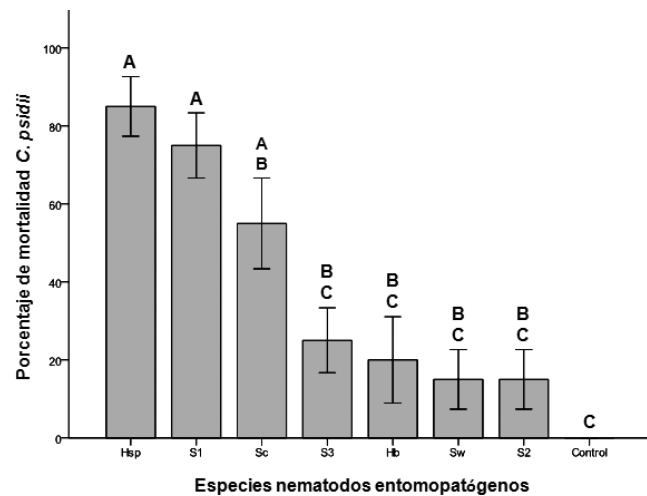
ó de *G. mellonella* inmovilizada con angeo metálico para impedir el movimiento vertical de la larva. Posteriormente se cubrió con sustrato estéril (54% arena, 26% arcilla, 19% sedimentos, pH: 4,6; 3,4% materia orgánica; 40% humedad) proveniente de Guavatá (05°55'09,2" de latitud Norte y 73° 41' 37,5" de longitud Oeste; a 1.922 m de altitud) y sobre la columna se aplicó una de tres dosis de JI (0, 200 o 500 JI/tubo). La dosis de 200 JI es la empleada en ensayos de efectividad de NEPs, mientras que la dosis de 500 JI es cercana a 250.000 JI/m<sup>2</sup>, la cual es recomendada generalmente para aplicaciones en campo (13). Las columnas se taparon manteniendo la posición vertical y se incubaron por 72 horas a 25°C. Se removieron las larvas muertas y se disectaron para verificar la presencia de nematodos. El diseño fue factorial de tres dosis, dos especies de nematodos y dos especies hospedero. Se realizaron 10 réplicas por tratamiento y se repitió el experimento una vez en el tiempo (a los 30 días).

**Análisis estadístico:** La mortalidad de cada ensayo fue convertida a porcentaje. Los datos que cumplían con los supuestos de normalidad y homogeneidad se les realizaron análisis de varianza de una vía (ANOVA); y los datos que no cumplían con los supuestos se les efectuaron la prueba de Kruskal-Wallis (H), con SPSS19. Los ensayos con diferencias significativas entre los tratamientos se analizaron con una prueba a posteriori de Tukey (paramétrico) ó de Dunnet (No-paramétrico) a una significancia de  $p \leq 0,05$ , las diferencias se indican en las figuras con diferentes letras sobre las barras.

## Resultados

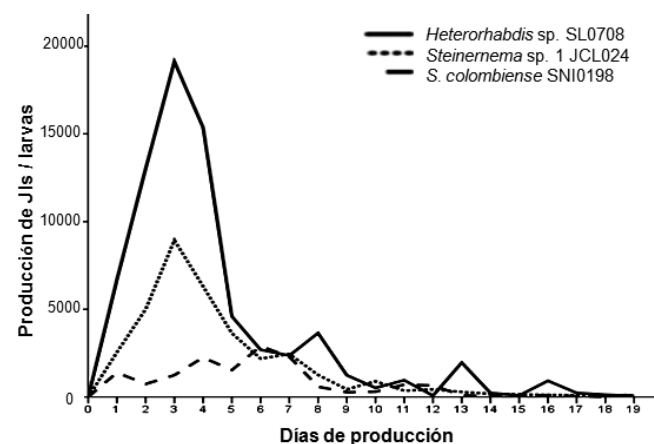
**Pruebas de virulencia de los JI:** Se encontró que el picudo de la guayaba es susceptible a las siete especies de NEPs evaluadas. La especie *Heterorhabditis* sp. SL0708 presentó la mayor virulencia (85±8%) seguida por *Steinernema* sp. 1 JCL024 (78±8%) y *S. colombiense* SNI0198 (55±12%), estas tres especies de NEPs mostraron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) con respecto al control (0%) (**Figura 1**). Las otras especies de nematodos evaluadas *Steinernema* sp. 3 JCL027, *H. bacteriophora* HNI0100, *S. websteri* JCL006 y *Steinernema* sp. 2 JCL007 presentaron 25 a 15% de mortalidad sobre las larvas del picudo. Respecto al

tiempo, la mortalidad en el 80% de los tratamientos se registró en las primeras 48 horas, hasta las 72 horas.



**Fig. 1.** Porcentaje de mortalidad ( $\pm$ ES) de las larvas de cuarto instar del picudo de la guayaba (*C. psidii*) causada por la exposición a 100JI / larva de siete especies de nematodos entomopatógenos evaluados. Hsp: *Heterorhabditis* sp. SL0708; S1: *Steinernema* sp. 1 JCL024; Sc: *Steinernema colombiense* SNI0198; S3: *Steinernema* sp. 3 JCL027; Hb: *Heterorhabditis bacteriophora* HNI0100; Sw: *Steinernema websteri* JCL006; S2: *Steinernema* sp. 2 JCL007. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias significativas (Dunnet,  $p \leq 0,05$ ).

**Producción de JI por larva del picudo de guayaba:** *Heterorhabditis* sp. SL0708, *Steinernema* sp. 1 JCL024 y *S. colombiense* SNI0198 fueron las especies que presentaron porcentajes de mortalidad superiores al

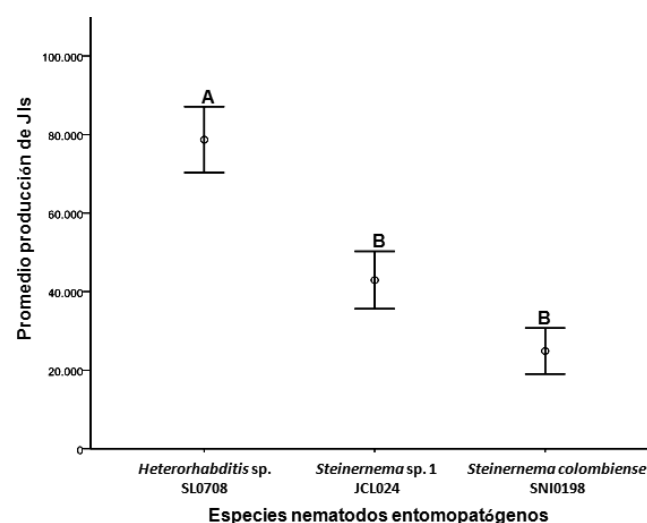


**Fig. 2.** Producción de JI de tres especies de nematodos entomopatógenos por larva de cuarto instar del picudo de la guayaba *C. psidii* en el tiempo.



50%, sobre las cuales se evaluó la producción de JI/larva del picudo de la guayaba. La mayor producción se registró al tercer día, y el 80% de producción de los JI se alcanzó en los primeros ocho días, con incremento en la producción algunos días después en las tres especies evaluadas (**Figura 2**).

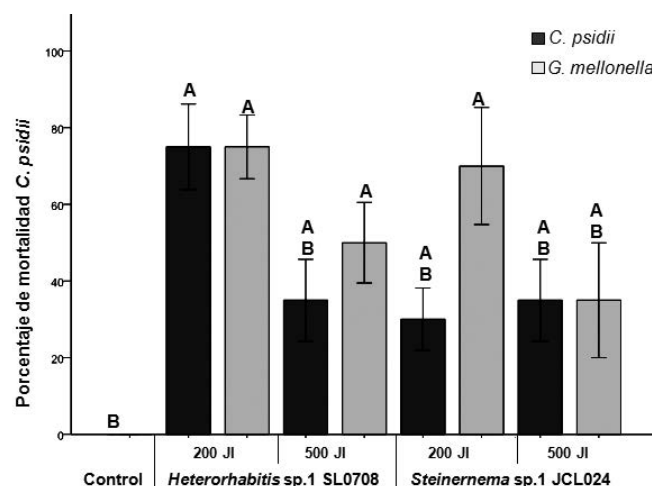
*Heterorhabditis* sp. SL0708 fue la especie que produjo el mayor número promedio de JI por larva ( $78.701 \pm 8.387$ ), seguido por *Steinernema* sp. 1 JCL024 ( $42.924 \pm 7.319$ ) y *S. colombiense* SNI0198 ( $24.879 \pm 5.885$ ) (**Figura 3**). Se presentaron diferencias estadísticas ( $p \leq 0,05$ ) entre *Heterorhabditis* sp. SL0708 y las otras dos especies.



**Fig. 3.** Producción de JI ( $\pm$ ES) de tres especies de nematodos entomopatógenos por larva de cuarto instar del picudo de la guayaba *C. psidii*. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

**Búsqueda por el hospedero:** Para las pruebas de las columnas de arena se evaluó *Heterorhabditis* sp. SL0708 y *Steinernema* sp. 1 JCL024 por presentar porcentajes de mortalidad superiores al 50%. No se registraron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre los porcentajes de mortalidad de *C. psidii* y *G. mellonella*, pero si entre estos dos huéspedes con el control y entre las dosis ( $p \leq 0,05$ ) (**Figura 4**). El aislado *Heterorhabditis* sp. SL0708 presentó el mayor porcentaje de mortalidad sobre larvas del picudo de la guayaba ( $75 \pm 11\%$ ) en la dosis de 200 JI; en la dosis de 500 JI la mortalidad fue menor ( $35 \pm 11\%$ ). *Steinernema* sp. 1 JCL024 sobre larvas del picudo generó una mortalidad de  $30 \pm 26$ - $35 \pm 34\%$ , en las

dosis de 200 JI e 500 JI, respectivamente. Para *G. mellonella* las dos especies de nematodos evaluadas mostraron mortalidad entre 75 y 35% (dosis de 200 y 500 JI respectivamente).



**Fig. 4.** Porcentaje de mortalidad ( $\pm$ ES) de las larvas de cuarto instar del picudo de la guayaba (*C. psidii*) y de larvas de último instar de *G. mellonella* causada por *Heterorhabditis* sp. SL0708 y *Steinernema* sp. 1 JCL024 en dosis de 200 JI y 500 JI en las columnas de arena. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias significativas (Dunnett,  $p \leq 0,05$ ).

## Discusión

En los ensayos de laboratorio se aplicaron 100 JI/larva como se ha propuesto en la literatura (12), para evaluar la susceptibilidad de un hospedero y realizar el proceso de selección de la especie de NEP potencial para ser implementada como agente de control biológico. De las pruebas de laboratorio, las siete especies de nematodos evaluadas produjeron mortalidad larval, donde una especie de *Heterorhabditis* y una de *Steinernema* generaron mortalidades significativamente mayores a las otras especies. Dolinski *et al.* (14) evaluaron nueve especies de NEPs en larvas de cuarto instar del picudo de la guayaba, quienes plantean que todas las especies de *Heterorhabditis* evaluadas fueron más virulentas (80-75%) que las especies de *Steinernema* (65-45%), lo que difiere con el presente estudio, donde *H. bacteriophora* HNI0100 presentó 25% mortalidad.

El tiempo de mortalidad registrado para todas las especies de NEPs evaluadas sobre *C. psidii* ( $<72$

horas) fue menor en el presente estudio a la que se ha registrado para esta plaga, la cual, se encuentra en los primeros tres días para *H. banjardi* LPP7 (5), diez días para *H. indica* y 44 días para *S. riobrave* (14). El presente estudio se realizó con larvas recién emergidas del fruto, aproximadamente de seis semanas, mientras que en los estudios de Del Valle *et al.* (5) y Dolinski *et al.* (14) se realizaron con larvas que se encontraban al final de su cuarto instar larval, terminando sus ensayos en estado de prepupa. Estos resultados son coincidentes con lo registrado para el picudo de la nuez *Curculio caryae* (Coleoptera: Curculionidae), cuyas larvas más maduras parecen ser más resistentes a la infección de los NEPs que las larvas más jóvenes (15). En el caso de *C. psidii*, el cuarto instar larval es el estado en el cual abandona el fruto para profundizarse en el suelo, se vuelve inactivo y se convierte en prepupa; la prepupa es morfológicamente similar al cuarto instar larval, pero es un poco más pequeña, su cutícula pierde humedad y se vuelve más dura (16), por lo que el avance de sus estadios puede afectar posiblemente la capacidad de penetración de los NEPs.

La producción acumulada de los JIs para *Heterorhabditis* sp. SL0708 en larvas de *G. mellonella* es de 150.000 a 280.000 JI/larva (10), estos valores son correspondientes a lo obtenido para *C. psidii* (74.071 JIs), teniendo en cuenta que éste representa un poco menos de la mitad del peso comparado con *G. mellonella*; para *H. bacteriophora* la producción acumulada es de 78.750 JI/larva de *G. mellonella* y para *S. colombiense* es de 86.250 JI/larva (11). Adicionalmente, estas producciones pueden ser muy variables, ya que oscilan entre 30.000 y 240.000 JI/larva dentro del mismo hospedero, esto depende principalmente de la capacidad del hospedero para suplir los requerimientos nutricionales de los nematodos (10). Estas producciones indican que *Heterorhabditis* sp. SL0708 tiene la capacidad de penetrar, matar y multiplicarse dentro del picudo de la guayaba, salir nuevamente al ambiente en busca de nuevos hospederos y probablemente persistir en el tiempo.

El tiempo de producción de los JIs de *Heterorhabditis* sp. SL0708, *Steinernema* sp. 1 JCL024 y *S. colombiense* SNI0198 a partir de larvas de *C. psidii* es similar a lo registrado en larvas de *G. mellonella*, donde la producción es mayor en los primeros 3 días y disminuye a través del tiempo, y durante

los diez primeros días de emergencia se obtienen las mayores producciones de nematodos, con un 90% de los JI (10 - 17). La producción de los JIs de *Heterorhabditis* sp. SL0708 inició a los 7-10 días después de la infección, por lo que se puede decir que éste nematodo presenta dentro del picudo de la guayaba un ciclo de vida largo y uno corto, según lo reportado en *G. mellonella*, en el cual se presenta un ciclo de vida largo y dos cortos (10).

Los ensayos en las columnas de arena permitieron evaluar la capacidad de búsqueda e infección de las especies de NEPs, registrando que *Heterorhabditis* sp. SL0708 tiene mayor capacidad que *Steinernema* sp. 1 JCL024 de encontrar y matar las larvas de *C. psidii* en la dosis de 200 JI. Los porcentajes de mortalidad no difieren entre las dos especies de nematodos cuando el hospedero es *G. mellonella*. Dolinski *et al.* (14) realizaron pruebas en columnas de arena para el picudo de la guayaba con dos especies de *Heterorhabditis* y una de *Steinernema*, donde los heterorhabditidos presentaron mayor mortalidad larval (70-80%), lo cual coincide con el presente estudio; sin embargo, esos porcentajes de mortalidad se alcanzaron en la dosis de 500 JI y en el presente estudio en la dosis de 200 JI. La dosis de 200 JI corresponde a  $1 \times 10^9$  JI/ha, la cual es menor a  $2,5 \times 10^9$  JI/ha que se ha registrado en la mayoría de los casos para que los NEPs sean efectivos al ser aplicados al suelo (18, 19). En situaciones donde el hospedero es particularmente susceptible ó en condiciones controladas, tales como en laboratorio e invernadero, dosis menores también pueden ser efectivas (20).

Las dos especies de NEPs presentaron porcentajes de mortalidad elevados para *G. mellonella* (70-75%) en las pruebas de las columnas de arena, lo que indica que las dos especies tienen la capacidad de desplazamiento vertical en 10 cm de profundidad, la cual es la distancia promedio en la que se encuentran las larvas de cuarto instar del picudo de la guayaba en el suelo. Este desplazamiento indica que las especies presentan estrategia de forrajeo tipo “crucero” (búsqueda activa), los cuales son más efectivos en encontrar el recurso sedentario y críptico que los tipo “emboscadores” (21, 22). La larva del picudo de la guayaba es inmóvil y permanece en el suelo por largos periodos de tiempo (60-90 días), por lo que presentar forrajeo tipo “crucero” por parte del NEP, es más efectiva para encontrar este hospedero.

Aunque las dos especies de nematodos evaluadas tienen estrategia de forrajeo tipo “crucero”, es *Heterorhabditis* sp. SL0708 la que genera mayor porcentaje de mortalidad para *C. psidii*. Se ha registrado que los NEPs presentan quimiorreceptores, con los cuales se orientan hacia su hospedero dependiendo de sus liberaciones de CO<sub>2</sub>, de otros olores como ácido láctico, heces, entre otros (21), y ese reconocimiento por un determinado hospedero va a afectar su desplazamiento y su eficacia, principalmente en los “crucero”, ya que les confiere un mayor potencial para encontrarlo (22). La mayor virulencia registrada por *Heterorhabditis* sp. SL0708 indica que su capacidad para reconocer *C. psidii* es mayor que *Steinernema* sp. 1 JCL024.

Las pruebas de columnas de arena se realizaron con sustrato del área de estudio, el cual presentó materia orgánica, con mayor cantidad de arena (54%) que de arcilla, donde la arena genera porosidad en el sustrato. La porosidad es un factor importante para los JIs dado que cuando los poros del suelo son más pequeños (poca arcilla-26%) la movilidad de los JIs decrece y se reducen los niveles de oxígeno disponibles para los JIs, disminuyendo así su capacidad de supervivencia y de percibir las señales del hospedero (10 - 22, 23). Adicionalmente, las prácticas agrícolas como la aplicación de fertilizantes y plaguicidas también pueden afectar negativamente el comportamiento de los nematodos (22), por lo que la carencia de estos dos tipos de prácticas en el área guayabera santandereana y el tipo de suelo, favorece la aplicación de los NEPs.

## Conclusión

*Heterorhabditis* sp. SL0708 fue el nematodo que presentó mayor virulencia, producción de JI por larva del picudo de la guayaba y capacidad para encontrar a *C. psidii*, es la especie que se debe evaluar en invernadero y campo para ser incorporada en programas de manejo integrado de plagas en Santander.

## Agradecimientos

A la Pontificia Universidad Javeriana por la financiación del proyecto de investigación (4138); a Rosalva Velasco, Alvaro Hernández y German Rueda agricultores de

Guavatá (Santander) por el apoyo en la consecución del material biológico.

## Conflicto de intereses

Los autores expresan que no existen más que intereses científicos alrededor de los resultados de esta investigación.

## Referencias

1. Insuasty O, Monroy R, Díaz A, Bautista J. *Manejo fitosanitario del cultivo de la guayaba (Psidium guajava L.) en Santander*. Corpoica- ICA Imprenta nacional de Colombia. 2011, 40 p.
2. Insuasty O, Monroy R, Díaz A, Bautista J. *Manejo integrado del picudo de la guayaba Conotrachelus psidii Marshall en Santander*. Corpoica, Ica, Secretaria de Agricultura y desarrollo de Santander. 2007, 27 p.
3. Monroy E, Insuasty O. Aspectos biológicos y duración de los estadios del picudo de la guayaba *Conotrachelus psidii*. *Revista Corpoica: Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 2006; **7** (2): 73-79.
4. Dolinski C, Lancelo L. Microbial control of arthropod pests of tropical tree fruits. *Neotropical Entomology* 2007; **36** (2): 161-179.
5. Del Valle E, Dolinski C, Souza R, Samuels R. Performance de *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (28) (Nematoda: Rhabditida) seleccionada para tolerancia a elevadas no controle de *Conotrachelus psidii*, (Coleoptera: Curculionidae). *Nematología Brasileira* 2005; **29**: 199-205.
6. Del Valle E, Dolinski C, Barreto E, Souza R, Samuels R. Efficacy of *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: Rhabditida) applied in *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) insect cadavers to *Conotrachelus psidii*, (Coleoptera: Curculionidae) larvae. *Biocontrol Science and Technology* 2008; **18**: 33-41.
7. Dolinski C, Lancelo L. Microbial control of arthropod pests of tropical tree fruits. *Neotropical Entomology* 2006; **36** (2): 161-179.
8. López-núñez JC, Cano L, Góngora CE, Stock P. Diversity and evolutionary relationships of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from the Central Andean region of Colombia. *Nematology* 2007; **9** (3): 333-341.
9. Sáenz AA, López JC. Ciclo de vida y patogenicidad del aislamiento nativo *Heterorhabditis* sp. SL0708 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Revista Colombiana de Entomología* 2011; **37** (1): 43-47.
10. Sáenz AA, Olivares W. Capacidad de búsqueda de *Steinernema* sp. SNIO 198 (Rhabditida: Steinernematidae) para el control de *Sagalassa*

- valida* Walker (Lepidoptera: Glyphipterygidae). *Revista Colombiana de entomología* 2008; **34** (1): 51-56.
11. Realpe-Aranda FJ, Bustillo-Pardey AE, López-Núñez J.C. Optimización de la cría de *Galleria mellonella* (L.) para la producción de nematodos entomopatógenos parásitos de la broca del café. *Cenicafé* 2007; **58** (2): 142-157.
  12. Kaya HK, Stock P. Techniques in insect nematology. In: Lacey L.A. (ed.). *Manual of techniques in insect pathology*. San Diego, CA. 1997; 281-324.
  13. Shapiro-Ilan DI, Gouge DH, Piggott SJ, Patterson J. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. *Comparative and General Pharmacology* 2006; **38**: 124-133.
  14. Dolinski C, Del Valle EE, Stuart, R.J. Virulence of entomopathogenic nematodes to larvae of guava weevil, *Conotrachelus psidii* (Coleoptera: Curculionidae), in laboratory and greenhouse experiments. *Biological control* 2006; **38**: 422-427.
  15. Shapiro-Ilan DI, Mizell R, Campbell JF. Susceptibility of the plum curculio *Conotrachelus nenuphar* to entomopathogenic nematodes. *Journal of Nematology* 2002; **34** (3): 246-249.
  16. Monroy E, Insuasty O. Aspectos biológicos y duración de los estadios del picudo de la guayaba *Conotrachelus psidii*. *Revista Corpoica: Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 2006; **7** (2): 73-79.
  17. Sáenz A, Luque J. Cultivo *in vivo* y método de almacenamiento para juveniles infectivos de *Steinernema feltiae* (Rhabditidae: Steinernematidae). *Agronomía Colombiana* 2000; **17** (1-3): 37-45.
  18. Grewal PS, Ehlers RU, Shapiro-Ilan DI. *Nematodes as biocontrol agents*. CABI Publishing. New York. 2005, 505 p.
  19. Wilson M, Gaugler R. Factors limiting short-term persistence of entomopathogenic nematodes. *Journal Entomology* 2004; **128** (4): 250-253.
  20. Leite LG, Tavares FM, Goulart RM, Batista A, Parra JR. Patogenicidade de nematóides entomopatogênicos a larvas de 6º instar do bicho-furão, *Ecdytolopha aurantiana* (Lepidoptera: Tortricidae), e avaliação de dosagens de *Heterorhabditis indica* na mortalidade do inseto. *Revista Agrícola* 2005; **80**: 316-330.
  21. Kaya HK, Gaugler R. Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology* 1993; **38**: 181-206.
  22. Lewis EE. Behavioral ecology. In: Gaugler R. (Ed.). *Entomopathogenic Nematology*. CABI Publishing. New York. 2002, 205- 221.
  23. Koppenhofer AM, Fuzy EM. Soil moisture effects on infectivity and persistence of the EN *S. scarabaei*, *S. glaseri*, *H. zealandica* and *H. bacteriophora*. *Applied Soil Ecology* 2007; **35**: 128-139.