

## REVISIÓN DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS AISLADOS EN MÉXICO

Juan Reyes Delgado-Gamboa<sup>1</sup>, Jaime Ruíz-Vega<sup>1</sup>, Teodulfo Aquino-Bolaños<sup>1</sup>, Sergio Girón-Pablo<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca. IPN. Calle Hornos 1003. Santa Cruz Xoxocotlán. C.P. 71230. Oaxaca. México. juan\_rdg@hotmail.com; jruiyv@yahoo.com; aquino22@hotmail.com; serciidi@hotmail.com.

**RESUMEN:** Los nematodos entomopatógenos (NEPs) se consideran como agentes potenciales para el control de plagas en ambientes crípticos, encontrándose en diversidad de hábitats a través del mundo. El objetivo del presente estudio fue hacer una revisión de los trabajos publicados sobre cepas nativas de NEPs que han sido aisladas e identificadas en México. Los estados en los que se ha reportado la presencia de NEPs son Colima, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Sonora, Tamaulipas, Veracruz y Zacatecas. Los aislamientos se realizaron colectando muestras de suelo y se utilizó la técnica de insecto-trampa con larvas de *Galleria mellonella* (L.). En la mayoría de los casos hubo una mayor presencia de especies en el género Steinernematidae que de Heterorhabditidae. Es posible que esta diferencia se deba a las características reproductivas de cada género. Así mismo, las diferencias climático-edaáficas en los diferentes sitios de estudio pueden influir, tanto en las variaciones de las densidades, como en la presencia de NEPs.

Palabras clave: Control de plagas, *Galleria mellonella*, Steinernematidae, Heterorhabditidae.

### Review Isolation of native Entomopathogenic nematodes in México

**ABSTRACT:** Entomopathogenic nematodes (EPN) are considered potential control agents for insect pests in cryptic environments and are found in many habitats worldwide. The aim of this study was to elaborate a review to include published references on native EPN isolated and identified in Mexico. There has been reports of native EPN in the states of Colima, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Sonora, Tamaulipas, Veracruz and Zacatecas. These isolates were obtained from soil samples using the *Galleria mellonella* (L.) baiting technique. In most cases, there was a larger number of species in the steinernematidae than in the heterorhabditidae genera. It is likely that these differences are related to reproductive traits in each genus. Also, differences in climate and soils can influence the density levels and presence of EPN.

Key words: Insect control, *Galleria mellonella*, Steinernematidae, Heterorhabditidae.

### Introducción

El control biológico es una estrategia de control de plagas a través de la utilización de parasitoides, depredadores y patógenos (Rodríguez-Del Bosque, 2012). Una parte importante dentro de éste, la constituye el control microbiano, en donde el uso de nematodos entomopatógenos (NEPs) en el manejo de plagas ha cobrado importancia en años recientes (Lacey *et al.* 2001). La mayoría de las especies en uso actual provienen de USA, por lo cual se hace necesario identificar especies locales que podrían ser más eficientes para el control de plagas nativas que las especies exóticas.

Los nematodos entomopatógenos que habitan en el suelo se encuentran ampliamente distribuidos en diferentes ecosistemas terrestres en todos los continentes, excepto en la Antártica (Ngo-Kanga, *et al.*, 2012). Estos son reconocidos con potencial para el manejo de insectos con hábitat críptico como barrenadores y algunas plagas edafícolas o que presentan una fase de desarrollo en el suelo (Gaugler, 2002; Alatorre, 2012). Los nematodos entomopatógenos de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae presentan una asociación simbiótica con bacterias específicas del género *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* respectivamente, ubicadas en el intestino de los infectivos juveniles (JI). Después de localizar a su hospedero susceptible el JI invade a través de las aberturas

naturales (boca, ano, espiráculos, membranas intersegmentales) y penetra al hemocele (Lewis *et al.* 2006). Los JI liberan la bacteria, la cual causa una septicemia letal, usualmente dentro de 24-48 horas (Mekete *et al.*, 2005). Los nematodos se alimentan de la bacteria y del cadáver en descomposición del insecto, se reproducen por 2-3 generaciones dentro del cadáver completando su desarrollo y emergen como juveniles de tercer estadio o JI, dispersándose dentro del suelo en búsqueda de nuevos hospederos (Alatorre, 2012).

En México, es poca la información con respecto al potencial, identificación y distribución de nematodos entomopatógenos nativos, que puedan permitir la selección de aislamientos promisorios como alternativa de control de plagas.

El objetivo del presente estudio de revisión fue hacer un listado de las cepas nativas que han sido aisladas e identificadas en la república Mexicana.

### **Cepas nativas de nematodos entomopatógenos**

La colecta de nematodos entomopatógenos a nivel estado de Oaxaca Ruíz-Vega, *et al.*, (1998), permitió aislar la cepa de *Steinernema feltiae* (Ruiz *et al.*, 2003), mientras que Aquino-Bolaños, *et al.*, (2006), aisló *Steinernema carpocapsae*. La identificación de estas cepas se realizó con base en su morfometría.

También en los Valles Centrales de Oaxaca, en campos cultivados con maíz, Girón-Pablo *et al.*, (2012), colectaron 55 muestras de suelo, de las cuales en 27 hubo presencia de nematodos, de los cuales 81% fueron del género *Steinernema* spp, y 19% *Heterorhabditis* spp. Las cepas fueron identificadas mediante secuenciación de ADN por PCR, encontrando *Heterorhabditis mexicana*, *Steinernema carpocapsae* y *Steinernema feltiae*, lo cual avala las identificaciones anteriores.

En Guanajuato, Negrete-García (2013) reportó el aislamiento de dos cepas del género *Steinernema*, sin embargo, la alineación de las secuencias de los nuevos aislados no se agruparon con ninguna de las especies del género.

En Hidalgo, Pérez-Santos (2009) reportó el aislamiento de dos cepas de nematodos pertenecientes al género *Steinernema* spp.

En los Altos de Jalisco, Díaz-Maderos (2002) reportó el aislamiento de una cepa de *Heterorhabditis* spp.

En Sonora, Stock, *et al.*, (2009), aislaron en cadáveres de ninfas de la cigarra *Dicerorpocta ornea* (Homoptera: Cicadidae) en campos cultivados con espárrago en Caborca, la cepa de *Heterorhabditis* spp., la cual posteriormente fue caracterizada tanto morfológica y molecularmente como *Heterorhabditis sonorensis*.

En Tamaulipas, Rodríguez Solano, *et al.*, (2004), colectaron 100 muestras de 50 sitios establecidos con pastos y en ninguna muestra hubo presencia de nematodos entomopatógenos.

En seis estados del Pacífico Centro Mexicano (Colima, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Sinaloa y Veracruz), González-Ramírez, (2006), colectó 147 muestras de suelo de 89 localidades, en donde reportó una tasa de recuperación del 23.8%, es decir, un total de 35 muestras positivas, de las cuales 20 correspondieron a Colima, siete a Jalisco, siete a Michoacán, una a Nayarit y ninguna a Sinaloa y Veracruz. Del total de muestras positivas, al género *Steinernema* spp. correspondió el 71.4% y a *Heterorhabditis* spp. el 28.6%.

En Veracruz, en áreas de cultivo de caña de azúcar, Grifaldo-Alcántara (2011), colectó un total de 18 muestras de suelo, de donde obtuvo tres aislados de nematodos entomopatógenos, los cuales después de realizar la caracterización morfológica y molecular, señala que los tres aislamientos pertenecen a la misma especie y presentan similitud con *Steinernema riobravis*.

En el sur de Zacatecas, Salas-Luévano *et al.*, (2001), indican que de un total de 73 muestras de suelo colectadas de 39 sitios, en el 34.2% de las muestras se aislaron nematodos, de ese total, el 27.4% correspondió al género *Heterorhabditis* spp., mientras que el 6.8% restante a *Steinernema* spp.

En los estados de Michoacán, Colima, Jalisco y Tamaulipas, Lezama-Gutiérrez, *et al.*, (2001), examinaron 76 muestras de suelo de 19 localidades y reportaron haber encontrado tres cepas del género *Steinernema* spp., en Michoacán, una más también de *Steinernema* spp., en Colima y para este mismo estado una cepa de *Heterorhabditis* spp.

### Discusión

Lacey y Kaya (2000) mencionan que factores edáficos tales como textura, humedad y pH, influyen en la presencia de nematodos entomopatógenos en el suelo.

Por otro lado, varios estudios reportan una tendencia estacional en la ocurrencia de nematodos entomopatógenos, con un incremento particular en primavera (Rio y Cameron, 2000) u otoño (Efron *et al.*, 2001).

Así mismo, las diferencias climáticas en los diferentes sitios de estudio influyen en la presencia y las densidades de nematodos entomopatógenos. Estas dinámicas son atribuidas a la migración vertical en el perfil del suelo de las especies como resultado de los cambios en las condiciones ambientales (García del Pino y Palomo, 1996), tales como la capacidad de retención de humedad del suelo.

Los resultados anteriores evidencian una mayor presencia de steinernematidos comparados con los aislamientos de heterorhabditidos. Es posible que esta diferencia se deba a las características propias de desarrollo de los géneros a que pertenecen. Los NEPs tienen dos ciclos distintivos de reproducción. En el caso de heterorhabditidos, los JI maduran y dan origen a adultos hermafroditas, los cuales posteriormente dan paso a una o dos generaciones amfimíticas (compuestas por hembras y machos), mientras los steinernematidos presentan una reproducción sexual al existir individuos hembras y machos, por lo cual todas las generaciones son amfimíticas, lo cual favorece una mayor diversidad genética y especiación (Hominick *et al.*, 1996). En este sentido Hominick *et al.*, (1996), comenta que la biodiversidad de los steinernematidos es mayor que la de los heterorhabditidos, lo cual al parecer favorece una mayor presencia de los primeros; hasta la actualidad se han identificado 70 especies de *Steinernema* y 17 de *Heterorhabditis* (Lewis y Clarke, 2012).

Otra posible explicación al respecto se daría por el hecho de que los steinernematidos presentan un tipo de comportamiento para ubicar a su presa llamado emboscador (“ambusher”), por lo tanto tienden a permanecer inmóviles cerca de la superficie del suelo, esperando el paso de un insecto, con lo cual conservan su energía (Griffin, 2012).

### Perspectivas de aislamiento e identificación de nuevas cepas de nematodos

Dada la alta biodiversidad de México, particularmente en los estados del sur-sureste, es recomendable llevar a cabo muestreos extensivos e intensivos de suelos tanto *in situ* como *ex situ*, para el aislamiento de cepas locales de NEPs.

Es además necesario realizar una identificación lo más rigurosa posible, no solo quedándose a nivel de género, sino realizar la identificación a nivel de especie por morfología y morfometría, así como el uso de herramientas moleculares mediante secuenciación de ADN por técnicas de PCR.

### Literatura Citada

Alatorre R. R. 2012. Nematodos Entomopatógenos. En: Taller: Teoría de la aplicación de insecticidas microbianos. XXXV Congreso Nacional de Control Biológico. Puebla, México.

- Aquino B., T., Ruiz V., J. e Iparraguirre C., M. 2006. Control biológico del picudo negro (*Scyphophorus interstitialis* Gyllenhal) con nemátodos y hongos entomopatógenos en agave en Oaxaca, México. *Revista UDO Agrícola* 6(1): 92-101.
- Díaz-Maderos, P. 2002. Abundancia y distribución de especies de “gallina ciega” (Coleoptera: Melolonthidae), Hongos (Hypomycetes) Y nematodos entomopatógenos en los Altos de Jalisco, México. Tesis de Maestría. Área: Biotecnología. Universidad de Colima. Tecomán, Colima.
- Efron, D., Nestel, D., Glazer, I., 2001. Spatial analysis of entomopathogenic nematodes and insect hosts in a citrus grove in a semi-arid region in Israel. *Environ. Entomol.* 30, 254–261.
- García, del P. F., and Palomo, F.A. 1996. Natural occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in spanish soils. *Journal of Invertebrate Pathology*, 68, 84-90.
- Gaugler, R. 2002. *Entomopathogenic Nematology*. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Girón, P.S., Ruiz, V.J., Pérez, P.R., Sánchez, G.J.A. and Aquino, B.T. 2012. Isolation of entomopathogenic nematodes and control of *Phyllophaga vetula* Horn in Oaxaca, México. *African Journal of Biotechnology*. 11(99), pp. 16525-16531.
- González Ramírez, M. 2006. Presencia, identificación y patogenicidad de nematodos entomopatógenos (Rhabditidae: Heterorhabditidae, Steinernematidae) aislados de suelos del Pacífico Centro Mexicano. Tesis Doctoral. Área: Biotecnología. Universidad de Colima. Tecomán, Col.
- Grifaldo-Alcántara, P. F. 2011. Incidencia de nematodos entomopatógenos en areas cañeras de Veracruz y su interacción con el barrenador de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis*. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México.
- Griffin, C. T. 2012. Perspectives on the Behavior of Entomopathogenic Nematodes from Dispersal to Reproduction: Traits Contributing to Nematode Fitness and Biocontrol Efficacy. *Journal of Nematology* 44(2):177–184.
- Hominick, W.M., Reid, A-P., Bohan, D.A., and Briscoe, B.R. 1996. Entomopathogenic nematodes - biodiversity, geographical distribution and the convention on biological diversity. *Biocontrol Science and Technology*, 6 (3), 317-331.
- Lacey L. A. and Kaya H. K. 2000. *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. *J. of Invertebr. Pathol.* 84:15-23.
- Lacey, L. A.; Frutos, R.; Kaya, H. K.; Vail, P. 2001. Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future? *Biological Control* 21: 230-248.
- Lezama-Gutiérrez, R., Hamm, J. J., Molina-Ochoa, J., López-Edwards, M., Pescador-Rubio, A., González-Ramírez, M. and Styer, L.E. 2001. Occurrence of entomopathogens of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Mexican States of Michoacán, Colima, Jalisco and Tamaulipas. *Florida Entomologist* 84(1).
- Lewis, E. E., Campbell, J., Griffin, C., Kaya, H., and Peters, A. 2006. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. *Biol. Control*, 38:66-79.
- Lewis, E. E., and Clarke, D. J. 2012. Nematodes Parasites and Entomopathogens. In Kaya, H. K., y Vega, F. E. (Eds.) *Insect Pathology* (pp.397-398). Elsevier.
- Mekete, T., Gaugler, R., Nguyen, K. B., Mandefro, W., and Tessera, M. 2005. Biogeography of entomopathogenic nematodes in Ethiopia. *Nematropica* 35:31-36.
- Negrete-García, Román. 2013. Nematodos entomopatógenos procedentes de la rizosfera de suelos maiceros infestados con la gallina ciega *Phyllophaga polyphylla* Bates. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 84 p.

- Ngo-Kanga, F., Waeyenberge, L., Hauser, S. and Moens, M. 2012. Distribution of entomopathogenic nematodes in Southern Cameroon. *Journal of Invertebrate Pathology* 109:41–51
- Stock, S. P., Rivera-Orduño, B. and Flores-Lara. 2009. *Heterorhabditis sonorensis* n. sp. (Nematoda: Heterorhabditidae), a natural pathogen of the seasonal cicada *Diceroprocta ornea* (Walker) (Homoptera: Cicadidae) in the Sonoran desert. *Journal of Invertebrate Pathology*.
- Uriel Pérez Santos. 2009. Aislamiento de nematodos nativos del estado de Hidalgo con potencial para el control de plagas agrícolas. Tesis Ingeniero Agroindustrial. ICAP-UAEH. MÉXICO.
- Río, R.V.M., and Cameron, E.A., 2000. *Heterorhabditis bacteriophora*: seasonal dynamics and distribution in a sugar maple, *Acer saccharum*. *J. Invertebr. Pathol.* 75, 36–40.
- Rodríguez-Del Bosque, L.A. 2012. Bases ecológicas del control biológico. En memorias del XXIII Curso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Puebla, México.
- Rodríguez Solano, R., Almazán García, C. y Armendáriz González, I. 2004. Estudios preliminares con nematodos entomopatógenos para el control biológico de la mosca del cuerno, *Haematobia irritans* L. (Diptera: Muscidae). *Rev. Veterinaria México*. Vol. 35. No. 004.
- Ruiz V., J., Aquino B., T., Kaya H. K. y Stock, P. 2003. Colecta y evaluación de nemátodos entomopatógenos para el control de gallinas ciegas *Phyllophaga vetula* (Horn) en Oaxaca, México. *Folia Entomol. Mex.* 42: 169-175.
- Ruiz V., J., Arce G., F., García G., J. y Kaya, H. K. 1998. Colecta de nemátodos entomopatógenos para el control de larvas de escarabeidos en Oaxaca. pp. 254-256. *Memorias del XXIII Congreso Nacional de Entomología*. Acapulco, México. Extenso.