

Nemátodos entomopatógenos

I. Biología y ciclo de vida

M. en C. Juan Suárez Sánchez¹
y Dra. Josefina Pérez Vargas²

Manejo integrado y control biológico de insectos plaga

Dentro de la teoría del control biológico, una adecuada regulación y supresión de plagas de insectos, debe involucrar el manejo integrado de las mismas. El Manejo Integrado de Plagas (MIP) implica la aplicación, al mismo tiempo, de varios métodos de control, que finalmente establezcan un equilibrio poblacional, a niveles en que no puedan afectar adversamente el entorno que habitan (Smith y van den Bosch, 1967; Huffaker, 1972; Bottrell, 1979).

Por su parte, el control biológico es una ciencia que nace como tal a mediados del siglo XIX, y se define operacionalmente como: "la acción de enemigos naturales que mantienen las poblaciones de insectos que constituyen plagas en niveles más bajos de los que serían observados en ausencia de dichos enemigos naturales" (Ehler, 1990). Entre los enemigos naturales de éstos, se incluyen varios géneros de insectos parasitoides, artrópodos depredadores y patógenos microbianos (virus, bacterias, hongos, protozoarios y nemátodos).

Los entomólogos dividen el control biológico en dos grandes áreas de investigación (Ehler, 1990): 1) "Control biológico natural", siendo éste el que se efectúa por enemigos naturales nativos, 2) "Control biológico aplicado", en el que

existe la intervención del hombre. Éste presenta, a su vez, subsecuentes divisiones, surgiendo así el "control biológico clásico" (introducción de especies exóticas de parasitoides y depredadores provenientes del lugar donde es originaria la plaga) y "control biológico por aumento" (liberación masiva y periódica de entomófagos, conocida como inundación, o la liberación de unos pocos individuos que sobrevivirán por varias generaciones, llamada inoculación).

Debido a la gran cantidad de organismos que se pueden usar como agentes de control de insectos, la división del control biológico se maneja generalmente como: "control macrobiológico", en el que quedarían clasificados parasitoides y depredadores; y "control microbiológico o microbiano", contemplando en éste a toda la diversidad de microorganismos entomopatogénicos.

Un tipo de microorganismos clasificados dentro del control microbiológico que han dado excelentes resultados en la supresión de plagas de insectos, cuando se les ha utilizado como bioinsecticidas, son los *nemátodos entomopatógenos*. Sin embargo a pesar de la comprobada efectividad entomopatogénica de estos organismos, su uso intensivo está restringido por la dificultad que representa tratar de propagarlos a gran escala, en procesos *in vitro*. Esto se debe fundamentalmente a su gran complejidad estructural y bio-

lógica. Son precisamente estos aspectos los que se exponen en seguida.

Generalidades sobre nemátodos entomopatógenos

Los nemátodos son en general organismos translúcidos, usualmente de forma alargada y más o menos cilíndrica. El cuerpo se encuentra cubierto por una cutícula elástica no-celular. La superficie del cuerpo de los nemátodos presenta una apariencia de estrías transversas o de anillos externos. Estas estructuras no son segmentaciones verdaderas sino superficiales dado que se localizan en la cutícula.

Poseen sistemas excretorio, nervioso, digestivo, reproductivo y muscular; pero carecen de sistemas circulatorio y respiratorio. El canal alimentario consiste de una boca localizada terminalmente, seguida por el estoma o cavidad bucal, un esófago, intestino y recto con el ano abierto ventralmente. Los nemátodos son usualmente organismos unisexuados. (Brown, 1977).

Estos organismos incluyen muchas especies de vida parásita y libre. Las formas de vida libre se distribuyen ampliamente en el agua y el suelo. Las especies parásitas lo son de plantas, moluscos, anélidos, artrópodos y vertebrados. Como ya se menciono resultan de particular interés los nemátodos parásitos de insectos (*entomopatógenos*), ya que esta propiedad les

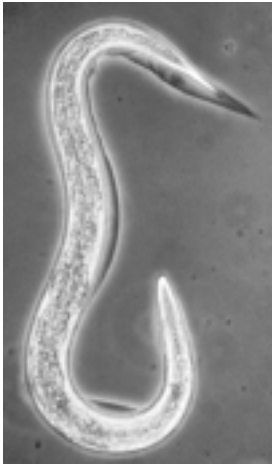


Figura 1.

Imagen de un infectivo juvenil de *Steinernema* spp. (nematodo entomopatogeno).

confiere características bioinsecticidas para el combate de plagas de insectos.

Los nemátodos más importantes con características entomopatógenas se localizan en el orden Rhabditida, dentro de ella las familias más importantes debido al número de géneros entomopatógenos que albergan son *Steinernematidae* y *Heterorhabditidae*.

Steinernema y *Heterorhabditis* (Figura 1) son los géneros de nemátodos entomopatógenos que debido a sus características biológicas se han empleado con mucho éxito junto con otros agentes insecticidas, en el Manejo Integrado de Plagas (MIP). Los nemátodos de ambos géneros a pesar de que son en la naturaleza parásitos obligados, ya que completan su ciclo de vida solo en el interior de diversas clases de insectos, han sido cultivado exitosamente *in vitro*, potenciando con ello su empleo como bioinsecticidas, dada la factibilidad de producirlos a gran escala.

En la naturaleza steinernemátidos y heterorhabdítidos invariablemente se encuentran ligados a un simbiote de naturaleza bacteriana (Forst et al., 1997). Dicha bacteria pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, identificándose los géneros *Xenorhabdus* spp. (en el caso de steinernemátidos) y *Photorhabdus* spp. (en el caso de Heterorhabditidos). Además del mutualismo que en la naturaleza les une para sobrevivir, se ha encontrado que los cultivos *in vitro* —al menos en el

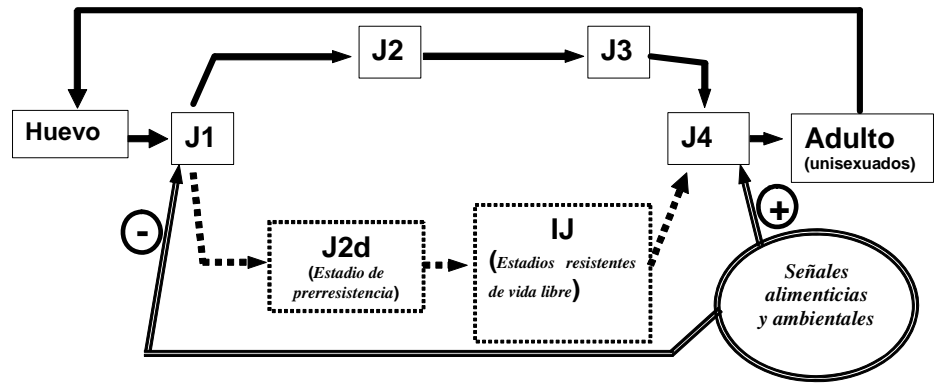


Figura 2.

Ciclo de vida de *Steinernema* spp. Mostrando las vías alternas de desarrollo.

caso de *Steinernema*—, mejoran sustancialmente cuando se realizan en un sustrato en donde previamente haya crecido su simbiote bacteriano específico *Xenorhabdus* (Akhurts, 1980).

Ciclo de vida de los nemátodos entomopatógenos del género *Steinernema*

La mayoría de los nemátodos tienen ciclos de vida en los que experimentan tres importantes estados de desarrollo: huevo, estadio juvenil (a las formas inmaduras de nemátodos se les denomina preferentemente como "formas juveniles" o simplemente "juveniles", para evitar confusiones con el término "larval" el cual es propio de insectos) y adulto (Chitwood y Chitwood, 1974). La hembra grávida deposita los huevos en el medio ambiente que la rodea, la forma juvenil usualmente experimenta una transformación estando dentro del huevo y emerge de éste como una forma juvenil de segundo estadio. La mayoría de las especies de nemátodos se transforman hasta en cuatro ocasiones antes de convertirse en adultos. Estos cambios los puede sufrir la juvenil aún estando dentro del huevo, libre en el medio ambiente o dentro del insecto huésped. Algunos nemátodos parásitos de insectos producen formas resistentes, las cuales se designan como "juveniles resis-

tentes", "resistentes", "infectivas juveniles", "dauer" ó "IJ".

Las formas juveniles resistentes son el tercer estadio del nemátodo, estas formas usualmente se encuentran encapsuladas en la cutícula del segundo estadio. Este fenómeno se observa frecuentemente en los rhabditidos a los cuales pertenece *Steinernema* spp. Muchos nemátodos de vida libre producen también juveniles resistentes (Poinar, 1990).

Específicamente en el caso de los steinernemátidos, cuando estadios IJ -de resistencia- alcanza el interior del cuerpo de un insecto, se desarrollan rápidamente alcanzando pronto el estadio J4 -preadulto-. La madurez completa de adultos bien diferenciados y unisexuados se tiene a las 48-72 hrs. Después de copular las hembras una vez grávidas, ovipositan, liberando fases juveniles en menos de 96 hrs. Estas fases juveniles repiten el ciclo de desarrollo y reproductivo si es que encuentran en el medio alimento suficiente —esta parte del ciclo se presenta en el diagrama con una línea continua—. Se especula que son "señales" de naturaleza química asociadas precisamente con la cantidad de alimento aún disponible y la densidad poblacional las que intervienen en la bifurcación -nodo- que *Steinernema* presenta en su ciclo de vida. Haciendo caso a dichas señales es que *Steinernema* detecta que el medio ambiente ya no es fa-

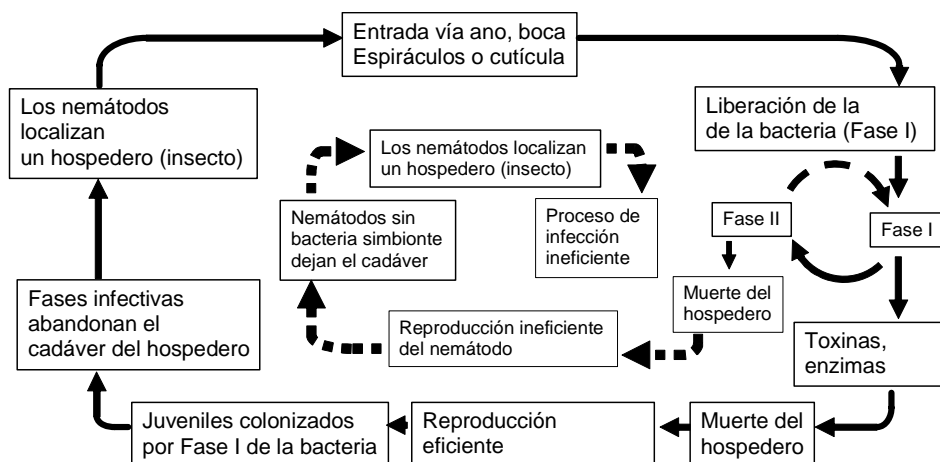


Figura 3.

Ciclo de vida de los nemátodos entomopatógenos del género *Steinernema spp* en la que se ilustra la participación de su simbiote bacteriano *Xenorhabdus spp*.

vorable y después de eclosionar dirige su desarrollo a un estadio juvenil de prerresistencia -J2d- para transformarse finalmente en un organismo de resistencia II infectiva juvenil—esta parte del ciclo se presenta en el diagrama con una línea discontinua— el cual abandona el cadáver de su hospedero, iniciando una vez más un lapso de vida libre en la cual busca otro hospedero en el que pueda volver a repetir su ciclo vital (Figura 2). La causa de la transformación en fases juveniles de resistencia II, es aparentemente, la alta densidad poblacional de nemátodos, relacionándose además con la presencia de una feromona y la baja cantidad de nutrientes disponibles en el cadáver (Popiel et al., 1989)

Interacción nemátodo-bacteria

El ciclo de vida de *Steinernema*, solo se puede cumplir debido a la participación de su simbiote bacteriano. Distintas especies de *Steinernema* se han asociado con infecciones naturales de insectos y todas ellas forman asociaciones mutualistas con bacterias (Dutki 1959; Thomas y Poinar, 1979). La bacteria, en cuestión se clasifica dentro del género *Xenorhabdus* (Poinar y Thomas 1965, 1966; Akhurst, 1980, 1982, 1986).

Diversas variedades de *Steinernema* han sido aislado de diferentes áreas geográficas (Poinar, 1979, 1990). El tercer

estadio del nemátodo II es infectivo y de vida libre. Durante su etapa de vida libre, el nemátodo no come y lleva consigo dentro del intestino a su bacteria simbiote *Xenorhabdus spp*.

Cuando una infectiva juvenil II de *Steinernema spp*. localiza un insecto hospedero, logra la infección penetrando al interior del mismo por las aberturas naturales, como son la boca, el ano o los espiráculos, aunque esta última vía de entrada no parece factible (Poinar y Himsforth, 1967). El nemátodo penetra mecánicamente hasta el hemocele y una vez ahí libera a su simbiote *Xenorhabdus spp*. La bacteria liberada prolifera y causa la muerte del insecto por septicemia en un lapso de entre 24 y 48 horas, estableciendo condiciones de desarrollo favorables para el nemátodo, debido a la lisis de los tejidos del hospedero y la inhibición de otros microorganismos por la liberación de ciertos antibióticos (Maxwell et al., 1993). Al morir el hospedero, los nemátodos se reproducen pasando por varias generaciones (Figura 3). Eventualmente formas infectivas del nemátodo llevando en su intestino células de *Xenorhabdus spp*., emergen del cadáver del hospedero, 8 a 14 días después de la infección. Las infectivas juveniles pueden permanecer vivas por un largo periodo de tiempo en el suelo, y bajo condiciones

de laboratorio, algunas pueden vivir incluso por 5 años (Suárez 1997).

El nemátodo puede matar a su hospedero sin estar presente la bacteria simbiote, pero es incapaz de reproducirse, mientras que la bacteria no puede invadir el hemocele del insecto hospedero, sin la ayuda del nemátodo (Han & Ehlers, 2000). *Xenorhabdus spp*. presenta dos fases (Akhurst y Boemare, 1986), designadas como: fase I (forma primaria) y fase II (forma secundaria). La fase primaria es aislada de nemátodos infectivo y tiende a ser inestable, pasando rápidamente a la fase II. La fase secundaria es aislada de cadáveres viejos de insectos o de cultivos de nemátodos *in vitro*. Las diferencias entre las dos fases de la bacteria pueden ser detectadas por pruebas bioquímicas y por la producción de metabolitos, además de la facultad de soportar la reproducción eficiente de nemátodos *in vitro* que se logra cuando esta presente la fase primaria (Woodring y Kaya 1988, Akhurst y Boemare 1990).

Especificidad por el hospedero

La especificidad por el hospedero en los nemátodos entomopatógenos tiene diversos rangos. Existen nemátodos que se asocian con sólo una especie de insectos, otros en cambio tienen un rango de hospederos bastante amplio. En base a su especificidad se clasifican en

tres grupos: monógenos (altamente específicos), oligógenos (moderadamente específicos o con un rango de hospederos restringido) y polígenos (poco específicos o con un gran rango de hospederos).

Los nemátodos que son parásitos obligados de insectos, en general son monógenos u oligógenos. Por ejemplo, el mermithido *Perutilimermis culicis* (*Aganomermis culicis*) parasita específicamente a *Aedes sollicitans*; mientras que el tetradonematido *Tetradonema plicans* ha sido encontrado solamente en algunos tipos de moscas (sciaridos). Como ejemplo de especies oligógenas, tenemos al mermithido *Mermis nigrescens*, el cual infecta varias especies de chapulines, el allantonemátido *Heterotylenchus autumnalis*, que ha sido identificado sólo en pocas especies de moscas (muscidos), y el mermithido, *Romanomermis cucilivorax*, que infecta en la naturaleza a 17 especies de mosquitos y en condiciones controladas de laboratorio se ha logrado que infecte a 40 especies diferentes. El parásito facultativo, *Deladenus spp* es oligogénico e infecta polillas (siricidos), a un escarabajo asociado a las polillas, y a varias especies del género *Rhyssa*, los cuales son himenópteros parasitoides de polillas. En contraste algunos steinernematidos y heterorhabditidos, parásitos obligados en la naturaleza, son poligénicos. Por ejemplo *Steinernema carpocapsae* infecta a más de 250 especies de insectos de diferentes ordenes bajo condiciones de laboratorio. *Heterorhabditis bacteriophora* es otro nemátodo entomopatógeno que se encuentra en un amplio rango de hospederos. Un steinernematido que tiene un rango restringido de hospederos es *Steinernema kushidae* (Stoffolano 1973).

Finalmente es muy importante mencionar, que debido las características biológicas y de comportamiento que poseen los nemátodos entomopatógenos justifican ampliamente el motivo de ser considerados como agentes potenciales de control biológico. De entre estas características destacan las siguientes:

- I) Pueden tener capacidad de infección sobre varias clases de insectos.**
- II) Llevan a cabo un búsqueda activa de sus hospederos.**
- III) Pueden persistir durante largos periodos de tiempo en el suelo (su reservorio natural).**
- IV) Son totalmente inoocuos para todo tipo organismos de vertebrados y plantas.**

Referencias bibliográficas...

Akhurst, R. J., Morphological and functional dimorphism in *Xenorhabdus spp.* bacteria symbiotically associated with the insect pathogenic nematodes *Neoplectana* and *Heterorhabditis*, *J. Gen. Microbiol.*, 121, 303, 1980.

Akhurst, R. J., Antibiotic activity of *Xenorhabdus spp.*, bacteria symbiotically associated with insect pathogenic nematodes of the families *Heterorhabditidae* and *Steinernematidae*, *J. Gen. Microbiol.* 128, 3061, 1982.

Akhurst, R. J., *Xenorhabdus nematophilus* subsp. *beddingii* (Enterobacteriaceae): a new subspecies of bacteria mutualistically associated with entomopathogenic nematodes, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 36, 454, 1986.

Akhurst, R. J., and Boemare, M. E., A non-luminescent strain of *Xenorhabdus luminescens*, *J. Gen. Microbiol.*, 132: 1917, 1986.

Akhurst, R. J., and Boemare, M. E., Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*. In: *Entomopathogenic nematodes in biological control* (R. Gaugler and H.K. Kaya, ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 75, 1990.

Bottrell, D. G., *Integrated Pest Management. Rpt. For Council Environ. Quality. U. S. Government Printing Office No. 041-011-00049-1*, Washintong, DC, 1979.

Brown, H. W., *Parasitología clínica*, cuarta edición. Interamericana, México, D.F. 320 pp. 1977.

Chitwood, B. G., and Chitwood, M. B., *Introduction to nematology*. University Park Press, Baltimore, Maryland. 334 pp. 1974.

Dutky, S. R., *Insect microbiology*, *Adv. Appl. Microbiol.*, 1, 175, 1959.

Ehler L. E., Some contemporary issues in biological control of insects and their relevance to the use of entomopathogenic nematodes. In: *Entomopathogenic nematodes in biological control* (R. Gaugler and H.K. Kaya, ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 1-18., 1990.

Forst, S., Dowds, B., Boemare, N., and Stackebrandt, E., *Xenorhabdus* and *Photorhabdus spp.* bugs that kill bugs. *Ann. Rev. Microbiol.* 51: 47, 1997.

Han, R., and Ehlers R., Pathogenicity, development and reproduction of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* under axenic in vivo conditions, *J. Invertebr. Pathol.*, 75: 55, 2000.

Huffaker, C. B., Ecological management of pest system. In J. A. Behnke, ed. *Challenging Biological Problems: Directions Toward Their Solution*. Oxford University

Press, New York, 313-342, 1972.

Maxwell, P. W., Chen, G., Webster, J. M., and Dunphy, G. B., Stability and activities of antibiotics produced during infection of the insect *Galleria mellonella* by two isolates of *Xenorhabdus nematophilus*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 60: 715, 1993.

Poinar, G.O., Jr., *Nematodes for biological control of insects*, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1979.

Poinar, G. O., Jr., Taxonomy and biology de *Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*. In: *Entomopathogenic nematodes in biological control* (R. Gaugler and H.K. Kaya, ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 23-61., 1990.

Poinar O.G., Jr., and Himsworth, P. T., *Neoplectana* parasitism of larvae of the greater wax moth, *Galleria mellonella*, *J. Parasitol.*, 9, 241, 1967.

Poinar, O. G. Jr., and Thomas, G. M., A new bacterium, *Achromobacter nematophilus* sp. nov. (*Achromobacteriaceae: Eubacteriales*) associated with a nematode, *Int. Bull. Bacteriol. Nomen. Taxon.*, 15, 249, 1965.

Poinar, G. O., Jr., and Thomas, G. M., Significance of *Achromobacter nematophilus*, Poinar and Thomas (*Achromobacteriaceae: Eubacteriales*) in the development of the nematode, DD-136 (*Neoplectana spp. Steinernematidae*), *Parasitology*, 56, 385, 1966.

Popiel, I., Grove, D. L., and Friedman, M. J., Infective juvenile formation in the insect parasitic nematode *Steinernema feltiae*, *Parasitology*, 99, 77, 1989.

Smith, R. F., and van den Bosch R., *Integrated control*. In: W. W. Kilgore and R. L. Douth, eds. *Pest Control-Biological, Physical, and Selected Chemical Methods*. Academic Press, New York, 295-350, 1967.

Stoffolano, J. G., Jr., Host specificity of entomophilic nematodes - a review. *Exp. Parasitol.* 33, 263, 1973.

Thomas, G. M., and Poinar, G. O., Jr., *Xenorhabdus* gen. nov., a genus of entomopathogenic, nematophilic bacteria of the family *Enterobacteriaceae*, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 29, 352, 1979.

Suárez, J. S., Caracterización cinética de un cultivo monoxénico en medio sumergido para la propagación masiva del nemátodo entomopatógeno *Steinernema feltiae* (*Rhabditida: Steinernematidae*), Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Tesis Profesional, 1997.

Woodring, J. L., and Kaya, H. K., *Steinernematid and Heterorhabditid Nematodes: A Handbook of Biology and Techniques*, South. Coop. Ser. Bull. 331, Arkansas Agric. Exp. Stat., 1988.