

Nemátodos como Biorreguladores

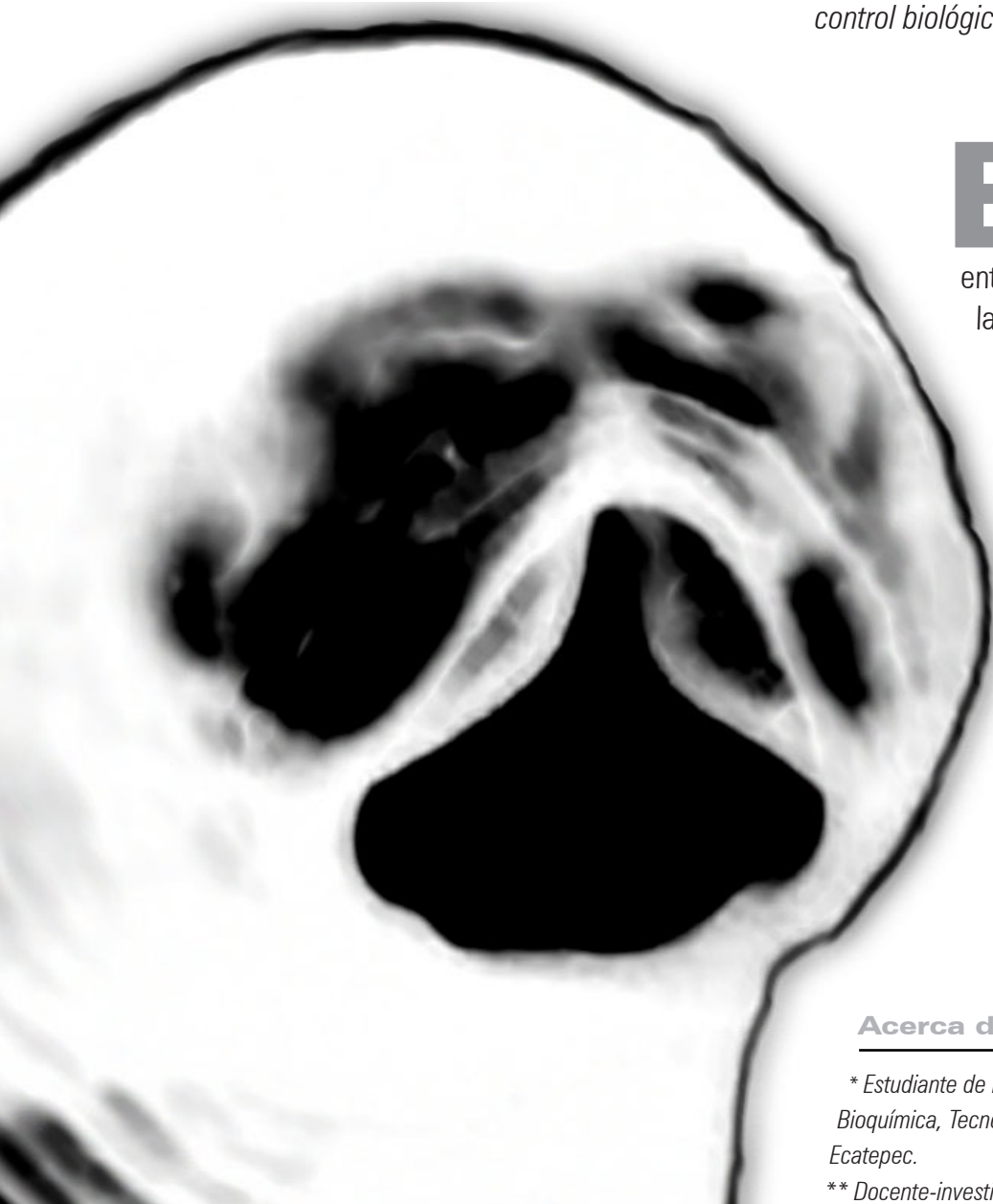
en el Control de Plagas Agrícolas de Insectos

Q.B.P. Yaneli Velázquez Montes de Oca*

Dra. Josefina Pérez Vargas**

M. en C. Juan Suárez Sánchez**

Palabras clave: *Nemátodo, bioinsecticida, control biológico.*



Existen diversas relaciones entre insectos y nemátodos presentes en la naturaleza, entre las más importantes, destaca la patogénica. Esta es característica de una alta especialización, debido a que solamente los nemátodos han desarrollado la particularidad de transportar e introducir una bacteria simbiote con ellos, dentro de la cavidad del cuerpo de los insectos, siendo además los únicos patógenos de insectos con un amplio rango de hospedantes que incluye la mayoría de sus órdenes (Poinar, 1990).

Acerca de los autores...

* Estudiante de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.

** Docente-investigador del TESE.

Los géneros *Heterorhabditis* y *Steinernema* incluyen la mayor cantidad de especies entomopatógenas y han sido detectados en regiones de todo el mundo (Woodring y Kaya, 1988; Wrigth y Patel, 1996). Su utilidad práctica para el control de numerosos insectos plaga, así como su inocuidad ante otros animales, las plantas y el medio, los ha convertido en organismos muy importantes para la protección de siembras de poca extensión, arboledas de frutales y jardines, entre otros, principalmente como parte del Manejo Integrado de Plagas.

Nemátodos entomopatógenos

Los organismos del género *Steinernema* son nemátodos entomopatógenos obligados, que presentan un estadio infectivo (IJ), tienen doble cutícula y región bucal sin dientes dorsales, las hembras son de tamaño variable dependiendo de los nutrientes a su disposición y poseen un desarrollo ovovivíparo, donde los juveniles pueden matar a las hembras.

Tienen fertilización cruzada y producen hasta dos generaciones dentro del hospedante. Se reconocen 15 especies y varios tipos de cepas. Anteriormente el género se conocía como *Neoplectana*.

Los organismos del género *Heterorhabditis*, son igualmente entomopatógenos obligados, de estadio juvenil infectivo similarmente con doble cutícula y en la cabeza una especie de armadura (diente, protuberancia o espina) en el lado dorsal. Las hembras jóvenes pueden ser hermafroditas o normales, los machos sólo se producen en la generación de fertilización cruzada y poseen bursa. Presentan una generación hermafrodita inicial seguida por otra de fertilización normal dentro del hospedante.

Bacterias mutualistas *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*.

Las bacterias mutualistas *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*, se encuentran dentro del tracto digestivo de *Steinernema* y *Heterorhabditis*, respectivamente. Son enterobacterias de forma bacilar y Gram (-) con anaerobiosis facultativa, que no tienen estadios resistentes ni se encuentran libres en la naturaleza, sino solamente en los nemátodos o insectos hospedantes. Cuentan con dos fases: primaria y secundaria, siendo la primera la fase infectiva. Una vez dentro del insecto, lo mata por septicemia en un periodo de 24 a 48 horas.

Aspectos ecológicos

Los nemátodos presentan un ciclo de vida simple, que incluye el huevo, cuatro estadios juveniles y adulto. El tercer estadio juvenil es el infectivo, donde puede localizar al hospedante y penetrarlo por sus aberturas naturales, para luego atravesar las paredes internas y pasar al homocele, donde comienza a liberar la bacteria, la cual se multiplica repetidamente y coloniza al insecto para finalmente causar su muerte.

Los nemátodos inmaduros ingieren las células bacterianas y los tejidos del hospedante, para luego desarrollarse en adultos. Dentro del hospedante pueden producirse dos o tres generaciones y luego emergen los juveniles infectivos en búsqueda de nuevos hospedantes. La especificidad de la asociación se conoce ahora que opera a nivel de la provisión de aceites esenciales por la bacteria y la retención de la bacteria dentro del intestino.

El tiempo del ciclo de vida (de la infección a la salida de los juveniles) es de 7 a 10 días en *Steinernema* y de 12 a 15 días para *Heterorhabditis*.

Requerimientos ambientales

Ninguna de las especies de los nemátodos entomopatógenos es resistente a la desecación rápida, sin embargo, en los estadios juveniles infectivos poseen la capacidad de sobrevivir ante periodos lentos de desecación, durante varios días. Esto tiene una influencia en su actividad y efectividad. De esta forma, la evaporación lenta del suelo en los hábitats de los insectos favorecen su efectividad, y de hecho en estos lugares se ha demostrado un mayor poder de acción. No obstante, la desecación tan rápida de las partes aéreas de las plantas, se considera la razón primaria del inadecuado control de algunas especies (Piggott et al., 2000).

Los rangos de temperatura aceptables para la supervivencia, infección y desarrollo, varían con la especie y la cepa. En general, los nemátodos steinernematidos permanecen activos a temperaturas más bajas que los heterorhabditidos, y esto se relaciona con su posible origen en climas templados, aunque se considera que para ser activos, comúnmente los primeros tienen un rango de temperatura mucho mayor. Otro factor físico importante es la radiación solar, ya que se ha visto que los rayos ultravioleta tienen efectos negativos sobre los nemátodos, aunque con la incorporación de sustancias protectoras este efecto disminuye o se elimina completamente.

La trascendencia de los factores bióticos ha sido menos estudiada, sin embargo, se conoce que los nemátodos entomopatógenos cuentan con varios tipos de antagonistas (patógenos, competidores e incluso depredadores) y que los insectos ofrecen algunas defensas naturales frente a la invasión y el parasitismo, tanto en forma de barreras morfológi-

cas como por el movimiento lento del hospedante.

Rango de hospedantes

Los nemátodos entomopatógenos tienen un amplio rango de hospedantes, con más de 200 especies de insectos, pertenecientes a casi todos los órdenes, aunque algunas especies de nemátodos suelen marcar su preferencia por algunos insectos en particular.

La Tabla 1 muestra la lista de las principales especies de insectos en algunos cultivos importantes, que son susceptibles a estos nemátodos.

A escala mundial se han realizado numerosos ensayos sobre la seguridad de su empleo, teniendo en cuenta además la asociación que presentan con la bacteria mutualista, siendo comprobada su inocuidad a las plantas y vertebrados, de ahí que no existan restricciones para su registro en los distintos países. No obstante, se indica que muchos insectos benéficos como parasitoides y polinizadores pueden ser susceptibles, al menos en algún momento del ciclo de vida, pero el daño que causan se asume como muy ligero en relación con su beneficio.



Tabla 1. Principales plagas agrícolas susceptibles a nemátodos entomopatógenos en algunos cultivos.

CULTIVO	PLAGA	
	Nombre científico	Nombre común
Plátano	<i>Cosmopolites sordidus</i>	Gorgojo negro del plátano
Frijoles	<i>Diabrotica spp.</i>	Tortuguilla
Cítricos	<i>Pachnaeus litus</i>	Picudo del cítrico
Café	<i>Hypothenemus hampei</i>	Broca del grano del cafeto
Maíz	<i>Spodoptera exigua</i>	Rosquilla verde
Algodón	<i>Pectinophora gossypiella</i>	Rosada del algodonoero
Frutales	<i>Ceratitis capitata,</i>	Mosca de la fruta
Cacahuate	<i>Elasmopalpus lignosellus</i>	Zancudo del ajonjolí
Papa	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	Escarabajo de la papa
Arroz	<i>Chilo spp.</i>	Barrenador del arroz
Remolacha	<i>Chrysomelidae</i>	Escarabajos
Caña de azúcar	<i>Diatraea saccharalis,</i> <i>Diaprepes abbreviatus</i>	Talador de la caña de azúcar Vaquita de la caña
Camote	<i>Cylas formicarius</i>	Gorgojo del camote
Tomate	<i>Spodoptera spp.</i>	Orugas
Col	<i>Plutella xilostella</i>	Palomilla de dorso diamante
Ornamentales	<i>Otiorhynchus sulcatus</i>	Gorgojos

Producción *in vitro*: cultivo sólido y fermentación

La necesidad de hacer más económica y productiva la obtención de los nemátodos, hizo que surgiera la producción en cultivo sólido de estos organismos. Los factores importantes para ello son: que el cultivo sea monoxénico (que los nemátodos y su bacteria asociada sean los únicos agentes bióticos), el uso de la forma primaria de la bacteria, una superficie grande para que los nemátodos puedan crecer, una fuente de esterol para los nemátodos y una base alimentaria para las bacterias.

El método más utilizado es el de Beeding (1986), que utiliza un medio de homogenados de vísceras de pollo, placas de polimetano como material para adecuar la superficie y frascos grandes de vidrio o bolsas que pueden ser procesadas en la autoclave para contenedores.

El proceso puede ser semiautomatizado, aunque sus críticos le señalan problemas en su estabilidad de producción, por la consistencia de los materiales usados y de fácil contaminación.

El método *in vitro* es la producción por fermentación líquida, usando cultivos monoxénicos de nemátodos, el cual es el foco principal de atención de la producción comercial a gran escala.

Presentan muchos aspectos positivos, aunque por ser objeto de patentes de las firmas comerciales, la información está restringida. Así, tenemos que son de escalado fácil, confiables, emplean materiales estables y uniformes; sin embar-

go, se conoce que la producción de los steinernemátidos está más adelantada y se obtienen en forma relativamente sencilla, incluso con fermentadores de 80 mil litros.

En las fermentaciones se realizan dos procesos simultáneos, la producción de nemátodos y el desarrollo de la bacteria asociada, que se inocula en un momento dado del desarrollo de la fermentación. Se utilizan homogenados de riñones y extractos de levadura o medios conteniendo harina de soya, extracto de levadura, aceite de maíz y yema de huevo, los cuales llegan a producir rendimientos tan altos como 100,000 juveniles/ml (Chavarría et al., 2006).

Como resultado del proceso tecnológico y los distintos procesos involucrados en la aplicación, el costo de los tratamientos por nemátodos oscila entre 50 y 400 dólares/ha. (dependiendo de la dosis e incluso el mercado), aunque el mejoramiento de la técnica a gran escala hace pensar en una disminución.

La Tabla 2 presenta un análisis comparativo entre los tres sistemas de producción estudiados, lo cual permite observar las ventajas y desventajas de cada uno, dependiendo de los propósitos y recursos.

Tabla 2. Análisis comparativo de tres sistemas de producción de nemátodos (Rodgers et al., 1992)

Indicador	In vivo	In vitro	
		Cultivo sólido	Fermentación
Rendimiento aproximado	4 x 10 ⁵ /insecto	6.7 x 10 ⁸ /Kg	1 x 10 ⁸ /litro
Duración del proceso (días)	8 - 15	14 - 28	16 - 24
Costos en capital	bajo/medio	bajo/medio	alto
Costos labor	alto	alto	bajo
Costo del material base	alto	bajo	bajo
Control de calidad	difícil	difícil	menos difícil
Control de la variación de la fase de la bacteria	pobre	pobre	bueno
Escalado	difícil	difícil	bueno
Control de materiales base y posibilidades de suministro	pobre	medio	bueno
Uniformidad de materiales base	pobre	pobre	bueno

Formulaciones

El producto final debe ser de fácil aplicación y poseer una adecuada protección, ya que los nemátodos son organismos vivos sujetos al deterioro y pérdida de calidad durante su almacenamiento y transportación.

Se ha determinado que la temperatura es el factor principal que afecta la movilidad, infectividad, desgaste de las reservas naturales y la supervivencia. Las altas temperaturas minimizan su efectividad, por ello se han elaborado fórmulas con distintos productos que reducen su movilidad para disminuir

el metabolismo y mejorar la estabilidad del almacenamiento, entre éstos se encuentran las arcillas y los geles de poliacrilamida y alginatos. Otros, como las pastas y gránulos, están en experimentación.

Algunos detalles de la formulación y el almacenamiento de los nemátodos, se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Formulaciones, descripción y almacenamiento de productos.

Formulación	Descripción	Almacenamiento
Gel alginato	Contenedor de 0,5 litros, 10 millones de nemátodos atrapados en matriz. Contenedor de 4 litros, 250 millones de nemátodos atrapados en matriz.	Cinco meses a temperatura ambiente, 12 meses con refrigeración. Tres meses a temperatura ambiente, seis meses con refrigeración.
Gel poliacrilamida	Tres billones de nemátodos por caja (25 x 40 x 60 cm), 109 nemátodos atrapados en dos kilogramos.	Cincodías a temperatura ambiente, Tres meses con refrigeración.
Arcilla	50 millones de nemátodos dispersos en 80 g de arcilla.	Tres meses con refrigeración.
Gel soluble	250 millones de nemátodos suspendidos en matriz encerrada en bolsa plástica (40 x 50 cm).	Tres meses a temperatura ambiente, 6 meses con refrigeración.

Aplicación

Se han utilizado diversos métodos de aplicación, dependiendo del hospedante y del ambiente, y está determinando que cualquiera que se escoja, debe distribuir los nemátodos lo más cerca posible del insecto a controlar, en ambientes donde los nemátodos puedan sobrevivir el tiempo necesario para infectar.

Entre los métodos de aplicación se encuentran:

- Uso de insectos contaminados (cadáveres).
- Jeringuillas.
- Pistilos de mano.
- Motas de algodón sumergidas en soluciones de nemátodos.
- Aspersiones de mano y automáticas.
- Por los sistemas de irrigación.
- Aplicándolos con fertilizantes líquidos.
- Aspersores normales de insecticidas con ciertos requerimientos (boquillas grandes).

Comercialización de los nemátodos entomopatógenos

Esta actividad se encuentra bien establecida en numerosos países como Estados Unidos, Europa y el Sureste Asiático, ya sea en industrias locales o en grandes corporaciones.

Existen registrados más de 40 productos comerciales a base de nemátodos entomopatógenos (Lisansky, 1993), en su gran mayoría utilizando steinerne-mátidos (ejemplos: Biovector, Biosafe, Exhibit, Nemo, SanoPlant) y en menor número heterorhabditidos (ejemplos: Otinem, Nemasys).

Su mayor empleo es en los mercados de plantas ornamentales, jardines, frutales, invernaderos, viveros de cítricos y frutales, principalmente por pequeños propietarios, que pueden comprar el producto aún en pequeñas cantidades. Un ejemplo meritorio de la utilización de este medio de combate lo constituye la experiencia de China, que produce 360 toneladas de nemátodos anualmente para controlar un solo insecto, el bórer del melocotonero (*Carposina niporensis*).

Conclusiones

Desde que el hombre comenzó a explotar los recursos del planeta, ha tratado de forzar a la naturaleza para que ésta cubra todas sus necesidades. De esta forma se crearon los primeros insecticidas, los cuales a la larga, resultaron ser nocivos para el hombre y por si fuera poco, son químicamente estables y se acumulan en agua, suelo y aire.

La importancia de los bioinsecticidas como se les llamó, no fue percibida sino hasta finales de los 70, cuando la crisis en el ambiente, causada por el uso indiscriminado de compuestos químicos comenzó a hacerse evidente; por desgracia, en muchos países todavía no se toma conciencia de este daño y se siguen usando sustancias tales como el DDT, prohibido internacionalmente.

Como ya se ha mencionado, los nemátodos entomopatógenos han adquirido una gran importancia en los últimos años, debido a su potencial uso en la formulación de bioinsecticidas; estos últimos, tienen ventajas considerables en comparación con los insecticidas químicos, algunas de ellas son:

- Resisten a otros químicos empleados en la agricultura, pudiendo ser aprovechados en programas de control integrado.
- Poseen efecto sinérgico con otros agentes entomopatógenos, pudiendo aumentar la eficiencia y la economía del método.
- En muchos casos, superan a otros patógenos en los índices de mortalidad que provocan.
- Poseen buena capacidad de adaptación a nuevos ambientes.
- Tienen la capacidad de movilizarse en el ambiente y de buscar a su hospedero, si es necesario.
- No causan daño a las plantas ni a los mamíferos.
- Pueden ser aplicados en pastos, por no ser nocivos a los animales de cría.

Sin embargo, deberán llevarse a cabo estudios más amplios para desarrollar esta nueva tecnología y así lograr un verdadero impacto en la agricultura.

Bibliografía Consultada

- Beeding, R.A. 1986. "Mass rearing, storage and transport of entomopathogenic nematodes". En R.A. Samson, J. M. Ulak and D. Peters (ed.). *Fundamental and Applied Aspects of Invertebrate Pathology*. Netherlands.303-311.
- Chavarría, N., Espino, J., Sanjuan, R. and Rodríguez, A. 2006. "Monoxenic liquid culture of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* using a culture medium containing whey. Kinetic and modeling". *Journal of Biotechnology*.125: 75-84.
- Lisanky, S.G. 1993. The market for biopesticides. En Opportunities for Molecular Biology in Crop Production Int. Symposium. Churchill College. Cambridge, United Kingdom. 27-29.
- Piggott, S. J., Perry, R. N. and Wright, D.J. 2000. "Hypo-osmotic regulation in entomopathogenic nematodes: *Steinernema spp.* and *Heterorhabditis spp.*". *Journal of Nematology* 2(5): 561-566.
- Poinar, G.O. Jr.1990. "Taxonomy and biology of steinernematidae and heterorhabditidae". En: *Entomopathogenic nematodes in Biological Control*. R. Gaugler and H. R. Kaya.23-61.
- Rodgers, B., J. Goodliman and J.D. Pearce.1992. Mass production of entomopathogenic nematodes. En: 25th Annual Meeting Society for Invertebrate Pathology. Heidelberg, Germany.
- Woodring, J. and H.K. Kaya. 1988. *Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A Handbook of Biology and Techniques*. University of California. USA.
- Wright, D.J. and N. Patel.1996. Biochemical ecology of entomopathogenic nematodes. Proceedings of third Int. Nematol. Congress.