

DEPREDACIÓN *in vitro* DEL ÁCARO *Sancassania mycophaga* (= *Caloglyphus mycophagus*) Berlese (ACARI: ACARIDAE) CONTRA EL NEMATODO FITOPATÓGENO *Nacobbus aberrans* (J₂)

Liliana Aguilar-Marcelino¹✉, Edgar Villar-Luna², Olga Gómez-Rodríguez³, Jesús Antonio Pineda Alegría¹, Iván Morales-Soto⁴ y Pedro Mendoza-de-Gives¹

¹Unidad de Helmintología, CENID-Parasitología Veterinaria, INIFAP. Carretera Federal Cuernavaca-Cuatla. No. 8534, Jiutepec, Mor. C. P. 62550, México.

²CONACYT-Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-IPN. Unidad Michoacán. Justo Sierra 28, 59510, Jiquilpan, Michoacán, México.

³Fitopatología. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo, Km. 36.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Texcoco, Estado de México, México.

⁴Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca. Avenida Universidad S/N. Col. Cinco Señores, Oaxaca, Oax. C. P. 68120, México.

✉ Autor de correspondencia: aguilar.liliana@inifap.gob.mx

RESUMEN. En la presente investigación se evaluó *in vitro* la capacidad de depredación del ácaro *Caloglyphus mycophagus* sobre el nematodo fitopatógeno *Nacobbus aberrans* (J₂) en placas de Petri que contenían medio agua-agar al 5 %. El diseño experimental se conformó por tres grupos (n = 10). El primer grupo fungió como testigo y contenía 500 larvas de *N. aberrans* (J₂); el segundo grupo (testigo) cinco ácaros adultos de sexo indistinto de *C. mycophagus*; el grupo tres (tratado) contenía la interacción del mismo número de *N. aberrans* (J₂) y *C. mycophagus*. Las placas de Petri fueron mantenidas durante cinco días dentro de laboratorio bajo condiciones controladas de humedad y de temperatura. El porcentaje de depredación de *C. mycophagus* se obtuvo mediante una tasa de estimación de los promedios de larvas por cada grupo. Los datos fueron transformados a $\sqrt{x} + 0.5$ y se realizó la prueba de "t" de student (programa SAS). Se observó una reducción en la población de *N. aberrans* (J₂) del 94.41% ($P < 0.05$) por el ácaro *C. mycophagus*. Los resultados muestran una evidencia de los hábitos de depredación *in vitro* de *C. mycophagus* sobre *N. aberrans* (J₂) y podría considerarse como un antagonista potencial de nematodos fitopatógenos.

Palabras clave: Ácaro nematófago, antagonista natural, depredador, presa, biocontrol.

In vitro depredation of *Sancassania mycophaga* (= *Caloglyphus mycophagus*) (Acari: Acaridae) against phytopathogenic nematode *Nacobbus aberrans* (J₂)

ABSTRACT. In the present research the predation capacity of the mite *Caloglyphus mycophagus* on the phytopathogenic nematode *Nacobbus aberrans* (J₂) was evaluated in Petri plates containing 5% water-agar medium. The experimental design consisted of three groups (n = 10). The first group served as control and contained 500 larvae of *N. aberrans* (J₂); The second group (control) five adult mites of indistinct sex of *C. mycophagus*; Group three (treated) contained the interaction of the same number of *N. aberrans* (J₂) and *C. mycophagus*. Petri dishes were kept for five days in the laboratory under controlled humidity and temperature conditions. The percentage of *C. mycophagus* predation was obtained by estimating the average of larvae per group. The data were transformed to $\sqrt{x} + 0.5$ and the student "t" test (SAS program) was performed. A reduction in the *N. aberrans* (J₂) population of 94.41% ($P < 0.05$) was observed for *C. mycophagus* mite. The results show evidence of *in vitro* depredation habits of *C. mycophagus* on *N. aberrans* (J₂) and could be considered as a potential antagonist of phytopathogenic nematodes.

Keywords: Mite nematophagus, natural antagonist, predator, prey, biocontrol.

INTRODUCCIÓN

El nematodo endoparásito sésil y fitopatógeno *Nacobbus aberrans* (Thorne) también se le conoce como "agallador" por la formación de agallas pequeñas que induce la formación de nódulos en las raíces de sus hospedantes. Infecta naturalmente a plantas de tomate, chile, remolacha, papa, frijol entre otras. Los síntomas de infección de plantas por *N. aberrans* presentan reducción de crecimiento apical, clorosis con márgenes enrollados y marchitamiento y presencia de agallas en las raíces. El nematodo presenta

dimorfismo sexual, su ciclo de vida incluye varias fases juveniles: J₁, J₂, J₃, J₄ y adulto (Villar-Luna, 2008). Las pérdidas económicas son cuantiosas en diversos cultivos agrícolas (Franco *et al.*, 1999).

El control de este nematodo ha sido mediante productos químicos (nematicidas); sin embargo, los residuos de la aplicación de estos productos afectan al ambiente y mantos acuíferos. Existen otras alternativas de control de *N. aberrans* como: el control genético, cultural (solarización de suelo, aplicación de materia orgánica al suelo) (Sánchez-Portillo, 2010) y el control biológico. El control biológico utiliza antagonistas naturales como los hongos, virus, tardígrados, protozoarios, bacterias, nematodos depredadores de otros nematodos y ácaros (García-Ortiz *et al.*, 2015).

El ácaro *Caloglyphus mycophagus* (Méglin) habita en el suelo y se alimenta de restos de plantas en descomposición, hongos, nematodos de vida libre y también se ha observado invadiendo cuerpos en descomposición de aves e insectos atribuyéndoles hábitos foréticos con la mosca domestica (*Musca domestica* L.) (Chmielewski, 2003). Estudios notifican que el ácaro *C. mycophagus* es un antagonista natural de nematodos parásitos de ovinos (Aguilar-Marcelino *et al.*, 2015), por tal motivo en la presente investigación se evaluó *in vitro* la capacidad de depredación de *C. mycophagus* sobre *N. aberrans* (J₂).

MATERIALES Y MÉTODO

El presente estudio se llevó a cabo en la Unidad de Helmintología del Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CENID-PAVET, INIFAP) ubicado en Jiutepec, Morelos, México.

Material biológico. *Nacobbus aberrans* (J₂). Las larvas se obtuvieron de raíces agalladas de jitomate (cultivo monoxénico). La extracción de huevos se realizó siguiendo la metodología descrita por Vrain (1977) y la obtención de juveniles (J₂) se realizó según Villar-Luna *et al.* (2009).

***Panagrellus redivivus* (Goodey, 1945) Panagrolaimidae.** La cepa del nematodo bacteriófago *P. redivivus* fue empleada para alimentar la población de ácaros y fue proporcionada por el Dr. Roberto de Lara de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM, Campus Xochimilco, México). Los nematodos se cultivaron en recipientes de plástico empleando hojuelas de avena comercial y agua. Se mezcló el agua con las hojuelas de avena y se esterilizaron en un horno de microondas durante cinco minutos (De Lara *et al.*, 2007).

Posteriormente, se transfirieron algunos nematodos al sustrato a temperatura ambiente y se cubrieron con una tapa elaborada a base de tela fina para evitar la entrada de insectos y al mismo tiempo tener buena ventilación (De Lara *et al.*, 2007). Después de una semana los nematodos incrementaron su población.

Ácaro. *Caloglyphus mycophagus*. Los ácaros fueron aislados en el año 2013 a partir de muestras de hojarasca y suelo provenientes del poblado de San Juan Tlacotenco, Morelos, México. Para el experimento, los ácaros fueron transferidos a placas de Petri con medio agua-agar al 5 %, posteriormente se adicionó un número indeterminado de especímenes de vida libre de nematodos como fuente principal de alimento para facilitar su reproducción e incrementar la población. Se realizaron pases periódicos de ácaros (cada cinco días) a cajas con agar estéril con la finalidad de obtener una colonia pura de ácaros. Los cultivos de ácaros fueron mantenidos a temperatura ambiente (28 ± 2) (Hernández-Bacao *et al.*, 2015).

Diseño experimental (DE). El DE se conformó por tres grupos (n = 10). El primer grupo fungió como testigo y contenía 500 larvas juveniles de *N. aberrans* (J₂); el segundo grupo (testigo) cinco ácaros adultos de sexo indistinto de *C. mycophagus*; el grupo tres (tratado) contenía la interacción del mismo número de nematodos de *N. aberrans* (J₂) y ácaros de *C. mycophagus*. Las placas de Petri fueron mantenidas durante cinco días dentro de laboratorio bajo condiciones controladas de humedad y de temperatura (28 ± 2 °C). La cuantificación de los nematodos se realizó tomando diez alícuotas de 5 µl de volumen cada una y se colocaron en un portaobjetos de vidrio para observarse

en un microscopio óptico (10X) y realizar la lectura.

El porcentaje de reducción de la población de nematodos por la acción de *C. mycophagus* fue estimado utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Reducción de nematodos} = \frac{\bar{X}_{\text{testigo}} - \bar{X}_{\text{tratado}}}{\bar{X}_{\text{testigo}}} \times 100$$

Dónde:

Grupo testigo = Media de grupo control de nematodos recuperados;

Grupo tratado = Media del grupo tratado de nematodos recuperados;

(García-Ortiz *et al.*, 2015)

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados mediante una prueba de “t” de student considerando los promedios de nematodos recuperados en cada serie como la variable dependiente. Para homogeneizar las varianzas, los datos se transformaron logarítmicamente utilizando la fórmula $\sqrt{x + 0.5}$ para comparar las medias de cada tratamiento se utilizó la prueba de Tukey, el programa utilizado fue el Statistical Analysis System (SAS) (SAS Institute, 1998). El análisis consideró un valor de significancia estadística $\alpha = 0.05$ (García-Ortiz *et al.*, 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los promedios, la desviación estándar y el coeficiente de variación, así como el porcentaje de reducción *in vitro* de larvas de *N. aberrans* (J₂) en placas de Petri por acción del ácaro *C. mycophagus* del presente estudio se muestran en el Cuadro 1. Respecto al grupo testigo que contenía las larvas juveniles de *N. aberrans* (J₂) se obtuvo un promedio de 288 de J₂, una desviación estándar de 124.9 y un coeficiente de variación de 43.3 %, asimismo del grupo tratado se obtuvo un promedio de 16.1 y una desviación estándar de 38.1 y un coeficiente de variación de 239.1 %. El porcentaje de reducción *in vitro* de J₂ de *N. aberrans* por acción del ácaro *C. mycophagus* fue del 94.1.

Cuadro 1. Promedios, desviación estándar, coeficiente de variación y el porcentaje de reducción *in vitro* de larvas juveniles de *Nacobbus aberrans* (J₂) en placas de Petri por acción del ácaro *Caloglyphus mycophagus*.

Series	Grupos	Promedios ± DE	% de reducción de nematodos
1	Testigo (<i>N. aberrans</i> J ₂)	288 ± 124.9 C.V. = 43.3 %	-----
2	Tratado (<i>N. aberrans</i> J ₂ y <i>C. mycophagus</i>)	16.1 ± 38.5 C.V. = 239.1 %	94.41%

n = 10, DE = Desviación estándar, C. V. = coeficiente de variación ($P < 0.05$).

En la figura 1, se muestra con una flecha la depredación del ácaro *C. mycophagus* contra una larva de *N. aberrans* (J₂).

Los nematodos formadores de agallas que afectan al sistema radicular de diferentes plantas, representan una de las plagas más importantes a nivel mundial en diversos cultivos agrícolas, principalmente en los países tropicales y subtropicales donde se encuentran ampliamente distribuidos. En México, los nematodos agalladores han sido identificados en veintitrés de los 32 Estados (Carillo-Fasio *et al.*, 2000; Cid del Prado *et al.*, 2001; Guzmán-Plazola *et al.*, 2006).

El uso de productos agroquímicos tiene efectos secundarios negativos por su alta toxicidad; pudiendo persistir como residuos contaminantes en los cultivos, además del riesgo potencial sobre organismos benéficos en el suelo (Barres *et al.*, 2007). Las principales medidas de control de los

nematodos agalladores son: el uso de nematicidas químicos, la rotación de cultivos, el uso de cultivos resistentes, solarización de suelos (Hu y Qi, 2010). Por tales motivo estos productos se han restringido y muchas veces prohibido, teniendo como reto la búsqueda de alternativas que los sustituyan. Para el control de este tipo de plagas se han propuesto alternativas diferentes al uso de agroquímicos, como es el control biológico.



Figura 1. Depredación del ácaro *Caloglyphus mycophagus* sobre una larva juvenil de *Nacobbus aberrans* (J₂) en una placa de Petri tipo “relojero” (10 X).

El control biológico es una medida reguladora, cuyo objetivo no es acabar con el organismo blanco, sino controlar su población para reducir sus efectos nocivos, a diferencia del control químico, que han sido dirigidos a eliminar en su totalidad los nematodos fitopatógenos.

Recientemente, se reportó por vez primera evidencia de la actividad depredadora *in vitro* del ácaro nematófago *Lasioseius penicilliger* sobre larvas infectantes del parásito de ovinos mostrando un porcentaje de reducción de la población cercano al 80 % (Aguilar-Marcelino *et al.*, 2014).

Por otra parte García-Ortiz *et al.* (2015) evaluaron la capacidad de depredación de *L. penicilliger in vitro* sobre los nematodos de tres diferentes grupos taxonómicos: larvas infectantes de *Teladorsagia circumcincta* (nematodo parásito de rumiantes), larvas de *Meloidogyne sp.*(J₂) (nematodo parásito de plantas) y *Caenorhabditis elegans* (nematodo bacteriófago), se determinó el porcentaje de reducción de la población inicial de nematodos después de cinco días de confrontación (nematodo-ácaro depredador). Los resultados mostraron que *L. penicilliger* se alimentó de las tres especies de nematodos presa, mostrando diferentes preferencias. El porcentaje de reducción de la población fue un 95.1 para *Meloidogyne sp.*, 80.5 para *C. elegans* y 79.2 para *T. circumcincta*.

En un estudio realizado por EI-atta *et al.* (2014) investigaron los efectos de la temperatura sobre el desarrollo, la reproducción y el consumo de diferentes dietas de *Sancassania berlesei* y también alimentados con masas de huevos del nematodo agallador *Meloidogyne spp.* Los ácaros se mantuvieron a 20, 25 y 30 °C en la oscuridad. Los resultados del estudio mostraron que los ácaros que se alimentaron de las masas de huevos de *Meloidogyne spp.* y su tiempo de desarrollo disminuyó a temperaturas más altas. El tiempo de desarrollo de *S. berlesei* desde la fase de huevo hasta adulto fue similar en las hembras y machos mantenidos a la misma temperatura. Las hembras adultas tuvieron un periodo de vida por más tiempo que los machos a 25 °C, pero no a los 20 o 30 °C.

En general, las hembras mostraron una mayor tasa de consumo de alimentos que los machos. Las hembras pusieron el mayor número de huevos a 20 y 25 °C (199.7 y 189.8 huevos/hembra) cuando se alimentaron de las masas de huevos de *Meloidogyne spp.*

Respecto al ácaro *C. mycophagus* presenta ventajas en sus características biológicas como un posible agente potencial de control de nematodos fitopatógenos; por su ciclo de vida corto, reproducción partenogenética, estas características biológicas permiten incrementar su población a mediano plazo. Los ácaros nematófagos son organismos considerados como buenos candidatos para ser utilizados en pruebas de depredación *in vivo* con nematodos parásitos de plantas, ya que es factible incrementar substancialmente el número de individuos de su población en condiciones de laboratorio, por lo que podrían llegar a ser considerados como agentes potenciales de control biológico y de esta manera reducir las poblaciones de nematodos fitopatógenos y agalladores.

Cabe mencionar que aún falta realizar varios estudios *in vitro* y a nivel de campo para evaluar el efecto depredador de ácaros de la especie *C. mycophagus* sobre diferentes nematodos fitopatógenos. El uso de *C. mycophagus* deberá considerarse como una alternativa adicional y diferente, además de combinar con otras estrategias de control del nematodo agallador *Nacobbus aberrans* (J₂) en programas integrales de control de estas importantes plagas agrícolas.

CONCLUSIÓN

Los hábitos de depredación *in vitro* de *C. mycophagus* sobre las larvas de *N. aberrans* (J₂) le confiere la capacidad de fungir como un antagonista potencial del fitonematodo como una alternativa de control biológico de plagas agropecuarias.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la PIBT. Itzayana Díaz Nuriulú de Laboratorio de Helminología del CENID-PAVET, INIFAP, por el apoyo en el mantenimiento *in vitro* de la colonia del ácaro *C. mycophagus*.

Literatura Citada

- Aguilar-Marcelino, L. Quintero-Martínez, M. T., Mendoza de-Gives, P., López-Arellano, M. E., Liébano-Hernández, E., Torres-Hernández, G., González-Camacho, J. M and I. V. Cid-del-Prado. 2014. Evaluation of predation of the mite *Lasioseius penicilliger* (Aracnida: Mesostigmata) on *Haemonchus contortus* and bacterial feeding nematodes. *Journal of Helminthology*, 88: 20–23.
- Aguilar-Marcelino L. 2015. Hábitos de alimentación de *Sancassania mycophaga* (= *Caloglyphus mycophagus*) (acarí: acaridae) sobre los nematodos *Haemonchus contortus* (L₃) y *Panagrellus redivivus*. *Entomología mexicana*, 2: 200–205.
- Barrés, M. T., Bello, A., Jordá, C. y J. C. Tello. 2007. La eliminación del bromuro de metilo en la protección de cultivos como modelo mundial para la conservación del medio ambiente. MAPA, Madrid. 500 pp.
- Carrillo-Fasio, J. A., García-Estrada, R. S., Allende-Molar, R., Márquez-Zequera, I. y J. E. Cruz-Ortega. 2000. Identificación y distribución de especies del nematodo nodulador (*Meloidogyne* spp.) en hortalizas, en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 18: 115–119.
- Chmielewski, M. 2003. Effect of buckwheat sprout intake on population increase of *Caloglyphus berleise* (Michael) (Acari: Acaridae). *Fagopyrum*, 20: 85–88.
- Cid del Prado, V. I., Soto, A.T. y J. A. Hernández. 2001. Distribución de especies y razas de *Meloidogyne* en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19: 32–39.
- De Lara, R., Castro, T., Castro, J. y G. Castro. 2007. Cultivo del nematodo *Panagrellus redivivus* (Goodey, 1945) en un medio de avena enriquecida con *Espirulina* sp. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 42(1): 29–36.
- Franco, J., Ramos, J., Oros, Ro., Maín, G. y N. Ortuño. 1999. Pérdidas económicas causadas por *Nacobbus Aberrans* y *Globodera* spp. en el cultivo de papa en Bolivia. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 11: 40–66.

- García-Ortiz, N., Aguilar-Marcelino, L., Mendoza de Gives, P., López-Arellano, M. E., Bautista-Garfias, C.R. and R. González-Garduño. 2015. *In vitro* predatory activity of *Lasioseius penicilliger* (Arachnida: Mesostigmata) against three nematode species *Teladorsagia circumcincta*, *Meloidogyne* sp. and *Caenorhabditis elegans*. *Veterinaria México OA*, 2: 1–8.
- Guzmán-Plazola, R. A., Jaraba, N. J., Caswell-Chen, E., Zavaleta-Mejía, E. and V. I. Cid del Prado. 2006. Spatial distribution of *Meloidogyne* species and races in the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) producing region of Morelos, Mexico. *Nematropica*, 36: 215–229.
- Hernández-Bacao, D. I., Aguilar-Marcelino, L., Quintero-Martínez, M. T., Reyes-Guerrero, D. E., Mendoza-de-Gives, P. y M. E. López-Arellano. 2015. Aislamiento y caracterización morfológica y molecular del ácaro nematófago *Sancassania mycophaga* (= *Caloglyphus mycophagus*) (Acari: Acaridae). *Entomología mexicana*, 2: 193–199.
- Hu, C., Qi, Y. 2010. Effect of compost and chemical fertilizer on soil nematode community in a Chinese maize field. *European Journal of Soil Biology*, 46: 230–236.
- Sánchez-Portillo, J. F. 2010. *Efecto de la quitina y quitosano sobre huevos y juveniles de nematodos formadores de nódulos radiculares, Nacobbus aberrans y Meloidogyne incognita bajo condiciones in vitro e in vivo*. Tesis de Maestría. Posgrado de Fitosanidad. Fitopatología. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México, México. 130 pp.
- SAS, Institute. 1998. *Language guide for personal computer release*. 6.03 Edition. SAS Institute. Cary. North Carolina, USA. 1028.
- Villar-Luna, E. 2008. *Respuesta hipersensitiva del Chile CM-334 resistente a Phytophthora capsici e infectado con Nacobbus aberrans*. Tesis de Maestría. Posgrado de Fitosanidad. Fitopatología. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México, México. 67 pp.
- Villar-Luna, E., Reyes-Trejo, B., Rojas-Martínez, R. I., Gómez-Rodríguez, O., Hernández-Anguiano, A. M. y E. Zavaleta-Mejía. 2009. Respuesta hipersensitiva en el follaje de chile CM.334 resistente a *Phytophthora capsici* infectado con *Nacobbus aberrans*. *Nematropica*, 39: 143–155.
- Vrain, T. C. 1977. A technique for the collection of larvae of *Meloidogyne* spp. and a comparison of eggs and larvae as inocula. *Journal of Nematological*, 9: 249–251.