

CAPITULO 5
ENFERMEDADES EN INSECTOS CAUSADAS POR NEMATODOS

5.1. INTRODUCCION

Los nemátodos son gusanos cilíndricos y muy abundantes en la naturaleza constituyen aproximadamente el 90% de la fauna multicelular de invertebrados en los suelos agrícolas. En los 15 primeros centímetros de una hectárea de tierra agrícola se pueden encontrar billones de nemátodos. La mayoría tienen la forma de gusanos y miden menos de un milímetro. Han evolucionado para alimentarse de diferentes tipos de organismos como bacterias, hongos, plantas superiores y aún humanos. Se considera que hasta el momento sólo se ha registrado menos de un 10% de los nemátodos que existen. Por lo tanto no es sorprendente encontrarlos matando, esterilizando o debilitando una gran variedad de insectos. En habitats donde hay adecuada humedad se encuentran nemátodos parásitos de insectos reduciendo significativamente poblaciones de insectos plagas tales como simuliidos, mosquitos, chironomidos, langostas, chisas y larvas de lepidópteros.

Los nemátodos parásitos a insectos se encuentran en la cavidad del cuerpo de los insectos y obtienen aminoácidos y otras sustancias nutritivas directamente de la hemolinfa del insecto. Estos nemátodos varían considerablement en tamaño, variando desde 0,5 a 10,0 nm en los sphaerularidos; 0,5 a 6,0 nm en los steinernematidos y 0,5 a 500 nm en los mermítidos. Los nemátods son usualmente bisexuales y se convierten en adultos después de que mudan mediante un proceso similar a una metamorfosis gradual.

Aunque los nemátodos parásitos a insectos se incluyen normalmente con los patógenos microbiales de insectos tales como bacterias, virus, hongos y protozoarios, ellos probablemente deberían estar en un grupo separado. Algunos mermítidos a menudo alcanzan una longitud de 50 centímetros los que deberían considerarse como parásitos macrobiales. Algunos nemátodos ejercen el parasitismo en insectos como los típicos parásitos hymenópteros. Otros del género Steinernema llevan una bacteria que la liberan en la hemolinfa del insecto causando una septicemia. También se ha descubierto que algunos nemátodos sirven de portadores de virus a insectos.

Los avances en los estudios sobre nemátodos parasíticos a insectos y sus implicaciones en el control de estos han sido revisados frecuentemente por varios autores (Nickle 1974, 1981; Poinar 1971, 1975; Pramer y Al-Rabiái 1973; Steinhaus 1964; Welch 1963, 1965). Este capítulo presenta el estado actual de la investigación con las especies de nemátodos más promisorias para el control de insectos y los estudios que en esta área se han desarrollado en Colombia.

5.2. TAXONOMIA Y BIOLOGIA

Los nemátodos que infectan insectos pertenecen a la clase Nematodea. Todos los nemátodos son semejantes en su apariencia general. Su cuerpo no segmentado y alargado tiene poca o ninguna variación en diámetro, aunque estos terminan en punta en uno o en ambos extremos. La taxonomía de estos nemátodos no es muy clara y está en constantes revisiones debido al descubrimiento permanente de nuevas especies y a la escasez de personal científico dedicado a estas actividades. El Dr. W.R. Nickle del Servicio de Investigaciones Agrícolas de los Estados Unidos en Beltsville, Maryland ha dedicado considerable esfuerzo al desarrollo de esta área (Nickle 1967, 1970, 1972a, 1973, 1977; Mulvey y Nickle 1978).

Los nemátodos parasíticos a insectos pertenecen a tres grupos taxonómicos. Cada grupo difiere de los otros por características tanto morfológicas como biológicas. Los estados parasíticos encontrados dentro del cuerpo de los insectos son diferentes morfológicamente de los estados infectivos. En general si se encuentran uno o dos gusanos largos en el insecto probablemente se trata de mermítidos. Si hay uno ó unos pocos nemátodos de tamaño medio y aproximadamente 5000 larvas de nemátodos, probablemente pertenecen a los grupos sphaerulariidos o entaphelenchidos. Si se encuentran muchas hembras y machos de tamaño medio en insectos muertos o moribundos junto con 100.000 a 200.000 larvas pequeñas de nemátodos y bacterias es probablemente una especie de Steinernema (=Neoplectana). Identificaciones más avanzadas se deben dejar en manos de expertos que tienen acceso a adecuadas bibliotecas y colecciones. La patología causada por los tres grupos de nemátodos es también diferente. Steinernema feltiae causa una muerte rápida al insecto, a menudo al cabo de 24 horas. Mermítidos causan la muerte del insecto al emerger del huésped debido a que perforan el integumento del in-

secto causando la pérdida de fluidos esenciales. Sphaerulariidos y entaphelenchidos generalmente causan debilitamiento, reducción en la producción de huevos, o esterilidad en el insecto.

El ciclo de vida de los nemátodos se caracteriza por presentar tres estados: el huevo, varias formas juveniles y el adulto. La forma juvenil más joven demora algún tiempo aunque corto como organismo libre y durante este período localizan e invaden su huésped. La búsqueda es al azar, pero se sabe que los nemátodos son capaces de moverse en la dirección de gradientes de bióxido de carbono y amonio y pueden existir otras bases químicas para detectar e invadir sus huéspedes.

Los nemátodos son básicamente animales acuáticos y su supervivencia se favorece en habitats húmedos. Aquellos que son parásitos de animales tienden a localizarse en la sangre, tracto digestivo o en varios órganos internos de su huésped. Los parásitos de plantas frecuentemente habitan tejidos radiculares húmedos y especies que viven en el suelo habitan la parte acuosa de los ambientes terrestres o llevan una película superficial de agua cuando se mueven en sus alrededores. Sin embargo, el tercer estado juvenil de algunas especies de nemátodos parásitos de insectos están particularmente bien adaptados para sobrevivir bajo condiciones adversas. Ellos son una forma inactiva, protegida con una cubierta cuticular de cera que es hidrofóbica y resistente a químicos y desecación.

Los nemátodos entomófagos son parásitos obligados. Buscan activamente y penetran el cuerpo de larvas, pupas o adultos de insectos. Presentan estiletes que, con la ayuda de secreciones enzimáticas de las glándulas esofageales, son capaces de entrar al cuerpo de insectos en unos pocos minutos. Una vez dentro de la cavidad hemocélica de la larva, el nemátodo obtiene alimento de la hemolinfa por difusión a través de su cutícula. Estos nemátodos utilizan algunos de los aminoácidos y esteroides que el insecto produce para su nutrición y producción de huevos. Por lo tanto en insectos parasitados por nemátodos es común la esterilidad o la reducción en la producción de huevos.

A continuación se discuten los grupos taxonómicos más importantes:

5.2.1. Mermithidae

Los miembros de esta familia se caracterizan porque no presentan tetradas en el esofago. Los Mermithidae infectan varios tipos de insectos, arañas, sanguijuelas, crustáceos, nemátodos y otros invertebrados. Los insectos son los huéspedes más comunes de mermitidos atacando como mínimo 15 órdenes de insectos. El parasitismo por mermitidos es generalmente fatal para el insecto. Las larvas de mermitidos se encuentran generalmente en la cavidad del cuerpo de todos los estados del insecto susceptible. El nemátodo parásito pasa por varias mudas dentro de la cavidad del cuerpo del insecto, se nutre de su hemolinfa y aumenta en longitud desde cerca de 0,5 mm hasta 10,0 mm o más. Es común encontrar mermitidos con longitudes entre 20-25 cm en insectos. Descripciones taxonómicas de los principales géneros de esta familia las presentan Nickle (1972a) y Mulvey y Nickle (1978).

Los cambios morfológicos en insectos causados por parasitismo de mermitidos se notan en los adultos de chironomidos y hormigas. Chironomidos aparentemente tienen muchos parásitos y sin duda sus niveles de población están influenciados por estos parásitos. Los cambios morfológicos que causan los mermitidos en el insecto consisten en que el macho toma unas características de la hembra y la hembra algunas del macho. En las hormigas los cambios morfológicos ocurren en las castas, tornándose a estados intermedios. A éstos se les ha dado nombres como mermitogynos, mermitergados y mermitostratiodes. Mermitogynos son formas intermedias entre soldados y hembras fecundas, mientras que mermitostratiodes son formas de hembras que tienen la cabeza como la de los soldados. Mermitogynos y mermitergados poseen abdomenes hinchados, mientras que sus cabezas y tórax permanecen más pequeños (Nickle 1972b).

Se conocen cuatro tipos diferentes de ciclos de vida (Nickle 1974) en los mermitidos los cuales se presentan a continuación:

a, Mermis nigrescens en saltamontes. La hembra después de copular en el suelo,

se arrastra hasta la parte superior de las plantas muy temprano en la mañana después de una lluvia o fuerte rocío y deposita cientos de huevos, la hembra del nemátodo vuelve al suelo. Los huevos, que tienen apéndices filamentosos sobre su cubierta, se secan y se adhieren bien a las hojas esperando ser consumidos por saltamontes. Una vez ingeridos los huevos por los saltamontes, eclosionan rápidamente y las larvas preparásiticas del nemátodo entran en la cavidad del cuerpo del saltamonte. La larva se desarrolla adentro y al final usa sus dientes que son en forma de lanza, para hacer un orificio de salida. La larva postparásitica emerge de la cavidad del cuerpo, luego va al suelo y muda al estado adulto y copula. Después de copular el macho muere y la hembra deposita sus huevos en las hojas de las plantas. Parece ser que Mermis mirabilis y quizás Allomermis trichotopson, ambos parásitos tropicales, tienen el mismo tipo de ciclo de vida.

b. Romanomermis culicivorax en mosquitos. Este nemátodo también se ha conocido con el sinónimo de Reesimermis nielsenii. Los huevos de este mermítido son depositados en la base de los pantanos en que se crían los mosquitos, ahí eclosionan y las larvas preparásiticas penetran en los primeros instares de los mosquitos. Este pequeño nemátodo a menudo migra al tórax, crece rápidamente obteniendo alimento de la hemolinfa y emerge del último instar larval del mosquito, matándolo antes de que empupe. Al cabo de 2-3 semanas después de emerger el mosquito, el nemátodo muda, copula y deposita hasta 3000 huevos en la base del pantano (Figura 1). R. culicivorax sólo afecta mosquitos y se ha encontrado naturalmente atacando 30 huéspedes y bajo condiciones de laboratorio un total de 55 huéspedes. Entre los géneros de mosquitos más importantes que afecta están: Aedes, Anopheles, Culex, Culiseta, Psorophora, Uronotaenia, Toxorhynchites y Orthopodomyia.

Este parásito se puede criar sobre mosquitos en el laboratorio a bajo costo y se ha utilizado en el control biológico de insectos. En Julio de 1976 los laboratorios "Fairfax Biological" lanzaron al mercado el nemátodo R. culicivorax bajo el nombre comercial "Skeeter Doom" (Figura 2) para el control de muchas especies de larvas de mosquitos (Nickle 1976).

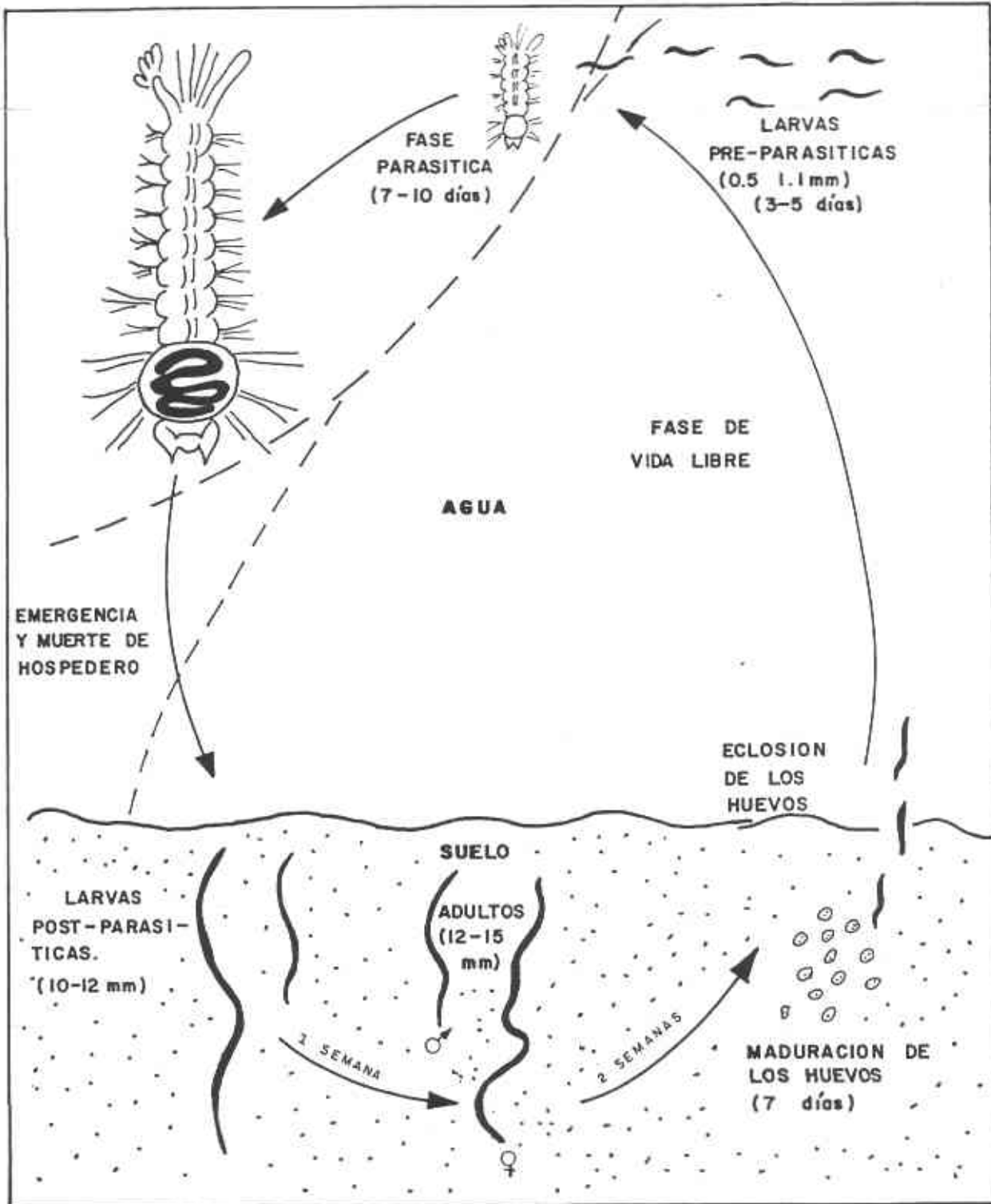


FIGURA 1. Diferentes estados en el ciclo de vida del nemátodo *Romanomermis culicivorax* (Adaptado de Valderrama 1984).

Estudios hechos por el control de Culex pipiens quinquefasciatus mostraron que R. culicivora puede lograr un 100% de control cuando se usa en una proporción de nemátodos a mosquitos mayor de 3 a 1. Debido a que el nemátodo mata el mosquito antes de que empupe y por consiguiente no es transportado por los adultos, su distribución no es uniforme. Sin embargo, esto se obvia al distribuirlo el hombre a nuevas áreas.

c. Perutilimermis culicis en el mosquito Aedes sollicitans (Walker). Las hembras depositan varios miles de huevos de este mermítido en la base de los pantanos donde crecen los mosquitos y las larvas pequeñas preparasíticas penetran los primeros instares larvales de los mosquitos. El nemátodo permanece en la cabeza y tórax y no crece. Cuando el mosquito empupa, el nemátodo migra al abdomen y no empieza a crecer sino hasta después de que el mosquito adulto ha chupado sangre. Luego crece rápidamente y generalmente esteriliza la hembra del mosquito, más tarde emerge como una larva postparasítica, matando el mosquito. Posteriormente el nemátodo entre en el estanque, muda, copula y deposita los huevos. Este mermítido es específico al huésped. Los niveles de parasitismo registrados van desde 17% a 88% y en algunos casos hasta un 100%.

d. Amphimermis bogongae y Hexameris cavicola en Agrotis infusa (Boisduval).

Los huevos de estos mermítidos los depositan en el suelo y musgos de las cuevas, ahí eclosionan las larvas parasíticas salen de las cuevas y penetran los adultos de Agrotis infusa. Estas polillas permanecen quietas en la parte superior de las cuevas por varios meses y más tarde, los individuos parasitados caen al piso de la cueva y mueren. Aunque este nicho de la cueva es único, la penetración aparentemente sólo ocurre en el estado adulto ya que los estados inmaduros del insecto no están presentes en la cueva.

5.2.2. Sphaerulariidae

Esta familia está conformada por 21 géneros y 116 especies (Nickle 1967). Estos nemátodos se encuentran en la cavidad del cuerpo de una gran variedad de insectos. Las disecciones de insectos infectados revelan uno o unos pocos nemátodos de tamaño medio entre 1-10 mm de longitud y miles de pequeños nemátodos

de 0,5 mm de longitud. Existen como mínimo 5 tipos de ciclos de vida en éste grupo y son más complicados que los de otras familias. Estos sphaerularidos pueden haber evolucionado de los nemátodos que se alimentan de hongos. Los estados libres son similares a nemátodos parásitos de plantas. El efecto de estos nemátodos en sus huéspedes puede ir desde la reducción en la producción de sus huevos hasta una esterilización total y muerte del insecto huésped.

a. Contortylenchus elongatus en Scolytidae. Los huevos de este nemátodo son depositados por la hembra en la cavidad del cuerpo de los adultos de escolítidos. Los huevos eclosionan en la hemolinfa, produciendo entre 5.000 y 7.500 larvas de nemátodos. Crecen y mudan hasta el último estado larval, migran al extremo posterior de los coleópteros, penetran las paredes del recto y salen afuera del coleóptero junto con las heces, las cuales usa la hembra del coleóptero para formar los nichos para los huevos. Estos nemátodos luego mudan al estado adulto, copulan y las hembras buscan larvas de escolítidos. Después de penetrar en la cavidad del cuerpo de las larvas del huésped, la pequeña hembra se agranda e hincha hasta cerca de 3-8 mm de longitud y empieza a depositar huevos dentro del insecto justo en el momento en que éste empieza a transformarse en adulto. Por consiguiente, en éste ciclo de vida, que es el más simple de los cinco tipos, hay tres formas de adultos, el macho, la hembra de aproximadamente 0,5 mm y la hembra grande de unos 3-8 mm de largo. Este último estado es realmente una hembra pequeña que se ha hinchado.

b. Heterotylenchus autumnalis en Musca autumnalis DeGeer. La disección de moscas parasitadas revelan miles de nemátodos de cuatro tipos en la cavidad del cuerpo y en los ovarios del insecto. Se encuentran una o más hembras adultas, 12 a 24 hembras partenogenéticas y miles de huevos y larvas de nemátodos. Un examen más detallado de los ovarios del insecto revelan grupos de nemátodos machos y hembras sin copular en sitios normalmente ocupados por los huevos del insecto. Los huevos del nemátodo son depositados en estiércol. Después de copular el macho muere y la hembra fertilizada entra en la cavidad del cuerpo de la larva de la mosca aparentemente a través de la pared del cuerpo. Dentro de la larva de la mosca, la pequeña hembra del nemátodo se desarrolla hasta el estado adulto parasítico, el cual deposita sólo unos pocos huevos en la hemolinfa. To-

dos estos huevos dan lugar a hembras partenogénicas las cuales depositan miles de huevos, que a su vez desarrollan machos y hembras pequeñas. Cuando crecen hasta alcanzar una longitud de cerca de un milímetro, ~~penetran los ovarios de los~~ insectos, completando su ciclo de vida. En este ciclo de vida presentan cuatro formas de adultos diferentes: el macho y la hembra pequeñas (1 mm de largo), la hembra partenogénica (1,5 mm de longitud) y la hembra adulta parasítica que es hinchada (2-8 mm de largo).

c. Sphaerularia bombi en abejorros. Los huevos de este nemátodo son depositados en la cavidad del cuerpo de adultos de abejorros por nemátodos que evierten completamente su útero. El útero sale del pequeño nemátodo hembra después de penetrar el insecto. Luego el útero se expande entre 10.000 a 20.000 veces el volumen del cuerpo original de la hembra. El cuerpo del nemátodo aparenta ser un pequeño apéndice del útero. El útero alcanza unos 15 mm de longitud y es bastante grueso. Aunque no se conoce muy bien el ciclo de vida de este nemátodo se asume que las larvas en su último estado dejan los abejorros y mudan al estado adulto. Después de copular las hembras del nemátodo penetran las larvas pequeñas de los abejorros que se encuentran en el suelo. Por consiguiente la principal diferencia en este ciclo de vida es que la hembra del nemátodo parasito expelle su útero y éste se torna en un gran saco de 15 mm lleno de huevos.

d. Fergusobia currieri en la mosca de la agalla del eucalipto. Los huevos de este nemátodo son depositados en la cavidad del cuerpo de la mosca y después de eclosionar, las larvas crecen y más tarde migran al oviducto de la mosca. La mosca al ovipositar coloca a su vez sus huevos como larvas de nemátodos en las yemas florales de eucaliptos donde los nemátodos se desarrollan rápidamente en hembras partenogénicas. La formación de las agallas empieza antes de que los huevos del insecto eclosionen. Los nemátodos partenogénicos, encontrados en agallas del insecto, rápidamente depositan huevos y las larvas que resultan dan origen a nemátodos machos mientras que las larvas de la mosca alcanzan el tercer instar. Las hembras partenogénicas continúan depositando huevos dando lugar a hembras. Estas hembras son producidas al tiempo que las larvas de la mosca alcanzan la madurez en su tercer instar. Los nemátodos copulan y poco antes de que la larva de la mosca empupe, penetran en ella encontrándose hasta siete hem-

bras infectivas fertilizadas dentro del insecto. Durante el estado de pupa del insecto, el parásito crece rápidamente y la hembra parasítica ya desarrollada ~~deposita los huevos~~ en la cavidad abdominal de la mosca poco antes de su emergencia. Por consiguiente, la principal diferencia en el ciclo de vida de este parásito comparado con Heterotylenchus, es que la hembra partenogénica y su progenie de machos y hembras pequeñas se encuentran en las agallas del insecto en vez de la cavidad del cuerpo del insecto.

e. Parasitylenchus diplogenus en moscas de las frutas. Una sola hembra grande de este nemátodo deposita huevos en la cavidad del cuerpo de la mosca de la fruta huésped, los huevos eclosionan, las larvas crecen, alcanzan la madurez, copulan y las hembras empiezan a depositar los huevos en el hemocelo del huésped. Estas larvas crecen hasta el último estado y dejan las hembras huéspedes via el oviducto. Los nemátodos caen sobre o cerca del material en el cual las larvas de Drosophila se encuentran. Los nemátodos mudan, llegan al estado adulto, copulan, y las hembras entran en otra larva del insecto huésped. Por consiguiente en éste ciclo de vida hay cinco formas de nemátodos adultos: las dos formas sexuales y la única hembra grande.

5.2.3. Entaphelenchidae

Las hembras de este nemátodo depositan los huevos en la cavidad del cuerpo de los insectos. Los huevos eclosionan y las larvas del nemátodo crecen hasta el último estado larval, saliendo del insecto huésped a través del oviducto o del recto, finalmente entran al suelo o al medio donde las larvas huéspedes viven. Los nemátodos mudan, copulan y las hembras infectan las larvas del huésped. El nemátodo se hincha y empieza a depositar los huevos. Este ciclo de vida es similar al de Contortylenchus, sin embargo los Entaphelenchidae están en una superfamilia diferente a la Aphelenchoidea.

5.2.4. Steinernematidae

Los huevos son depositados en el hemocelo de los insectos huéspedes. Estos eclosionan y producen larvas, las cuales maduran, copulan y depositan huevos

en el hemocelo del mismo insecto. Se producen cientos de miles de larvas en un sólo insecto muerto. Lo que hace tan eficiente a este ciclo de vida es el hecho de que las larvas encapsuladas, después de ser ingeridas por la larva del insecto, penetran al intestino y liberan una bacteria mutualística en la hemolinfa del insecto que causa septicemia y muerte del insecto. La bacteria luego se multiplica y provee abundante alimento al nemátodo y su progenie. Este ciclo de vida tiene tres formas diferentes el macho, la hembra y numerosas larvas. Los nemátodos adultos que se producen a lo último son generalmente más pequeños que la primera generación. A menudo se encuentran machos y hembras de diferentes tamaños.

a. Steinernema feltiae en varios lepidópteros. Mucha investigación se ha hecho con especies de este género especialmente con la raza DD-136 (Poinar 1967, Poinar et al. 1971, Welch 1963, Nickle 1972b) denominada por George O. Poinar como Neoplectana carpocapsae Weiser y por William R. Nickle como N. dutkyi Jackson. Recientemente se encontró que son sinónimos de S. feltiae Filipjev. Este nemátodo tiene un amplio rango de huéspedes matando muchas especies de insectos de los órdenes: Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera, Coleoptera, Orthoptera, Hemiptera, Homoptera e Isoptera.

El estado infectivo (Figura 3), que es el tercer estado larval encapsulado en la cutícula del segundo, busca el huésped y penetra el cuerpo del insecto a través del canal alimenticio. Después de alcanzar el hemocelo, se libera la cápsula y el nemátodo libera una bacteria (Poinar 1966), la cual mata el insecto por lo general al cabo de 24 horas. La bacteria propicia un medio adecuado para la reproducción del nemátodo y a la vez produce sustancias que inhiben la putrefacción del cadáver del insecto. Una larva de Galleria mellonella puede producir hasta 100.000 larvas de nemátodos (Figura 4). Dutky (1959) fue el primero en registrar la asociación de S. feltiae con una bacteria y Poinar y Thomas (1965) la aislaron de la cavidad intestinal del nemátodo denominándola Achromobacter nematophilus Poinar y Thomas. Recientemente el Comité Internacional de Bacteriología Sistemática rechazó éste nombre.

La asociación entre la bacteria y el nemátodo es del tipo mutualístico.

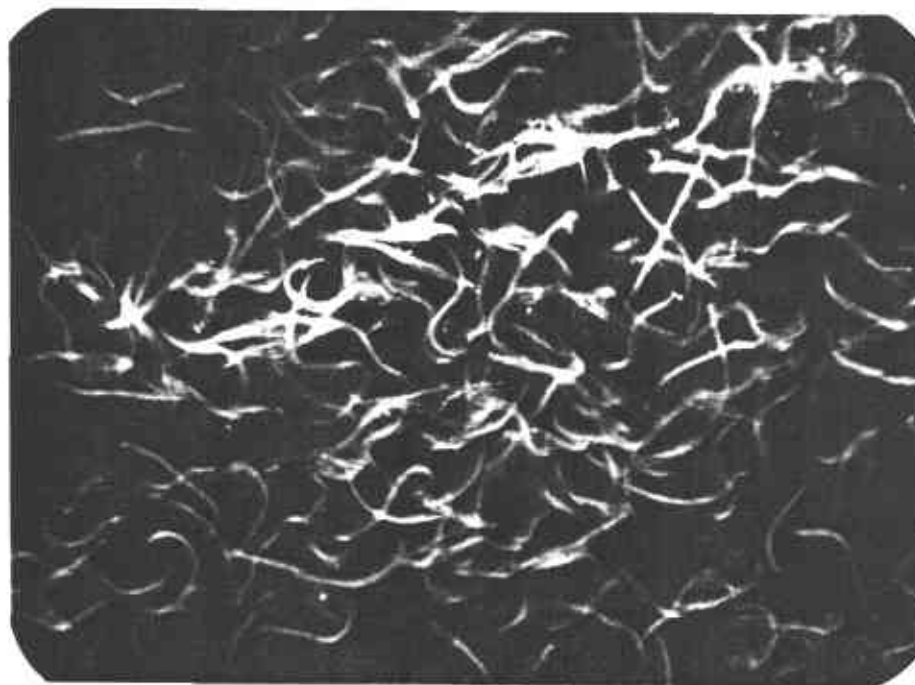


FIGURA 3. Formas juveniles infectivas de Steinernema en una suspensión acuosa, vistas bajo un estereoscopio.

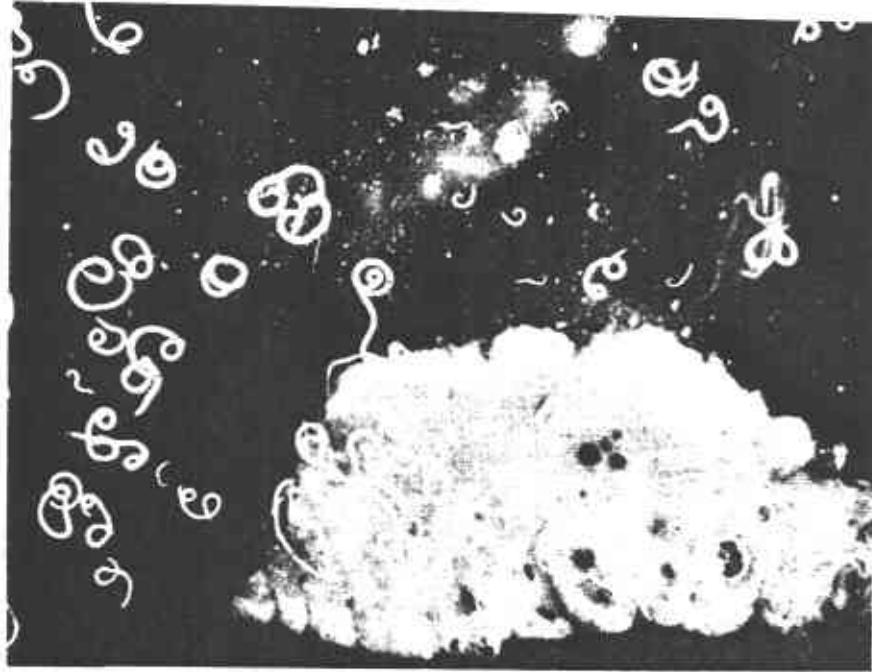


FIGURA 4. Larva de Galleria mellonella de la cual están emergiendo miles de nemátodos de la especie Steinernema feltiae (Tomado de Poinar 1971).

La bacteria es protegida por las formas juveniles infectivas del Steinernema y una vez que éstas penetran una larva hospedante, liberan la bacteria. A su turno la bacteria al causar septicemia en el insecto ~~provee el ambiente ne-~~cesario para la reproducción del nemátodo dentro del hospedante (Poinar y Thomas 1966).

5.2.5. Heterorhabditidae

a. Heterorhabditis bacteriophora Poinar en Heliothis. este nemátodo fue encontrado en 1975 en Australia infectando poblaciones de Heliothis punctigera plaga de la alfalfa. El ciclo de vida de H. bacteriophora ha sido estudiado usando larvas de Galleria mellonella (Milstead y Poinar 1978). Este nemátodo al igual que S. feltiae existe en una relación simbiótica con una bacteria gram-negativa en forma de varilla, que la libera cuando los estados juveniles invaden el hemocelo del huésped. El insecto muere al cabo de 16-48 horas dependiendo de la dosis y temperatura ambiental. Las formas juveniles se desarrollan en hembras hermafroditas, que luego depositan algunos de sus huevos en el tejido graso del cadáver de sus huéspedes. Estos huevos dan lugar a machos y hembras. El resto de los huevos son retenidos en el cuerpo de las hembras hermafroditas donde utilizan tejido parental y se desarrollan en formas juveniles maduras antes de escapar hacia el tejido graso donde se produce otro desarrollo hacia una segunda generación de hermafroditas.

Tanto las formas sexuales como las hermafroditas producen juveniles invasores que empiezan a dejar el cadáver del huésped a los 8-10 días después de la muerte de éste. Las formas juveniles se pueden almacenar en una solución salina durante 14 meses a 7°C. Este nemátodo se puede reproducir en una gran variedad de insectos de los órdenes Lepidoptera, Coleoptera, Díptera y Orthoptera. Se considera que H. bacteriophora puede convertirse en un nemátodo útil en el control de varios insectos plagas.

5.3. PRODUCCION MASIVA Y USO DE NEMATODOS

Varios nemátodos se han producido masivamente para evaluarlos en aplicaciones

a gran escala para el control de insectos. Los métodos de producción son sencillos pero requieren del insecto huésped. La especie Romanomermis culicivorax es hasta el momento el primer nemátodo que se usa comercialmente en el control de mosquitos.

La cría masiva de R. culicivorax se desarrolla en la siguiente forma (Nickle 1972). Los estados preparasíticos se obtienen inundando los cultivos con agua 16-24 horas antes de su uso. El inóculo de nemátodos deseado se obtiene diluyendo el agua que contienen los nemátodos preparasíticos, contando los nemátodos en muestras de 0,1 ml y extrapolando para la cantidad diluída.

Normalmente se usa la especie de mosquito Culex pipiens quinquefasciatus Say para criarlo, estos se exponen a los nemátodos y se crían en bandejas galvanizadas de 136x52x5 cm. Para una producción máxima se usan 20.000 larvas de mosquitos (cerca de 3/cm²) que se exponen a 240.000 nemátodos preparasíticos (relación 1:12). Siete días después de la exposición, los mosquitos se colectan y colocan en recipientes especialmente contruídos para colectar los nemátodos.

Después de que han emergido los nemátodos, 10-15 g en peso húmedo de éstos se colocan en bandejas de aluminio (22x33x5 cm) cubiertas con parafina, la cual contiene arena fina, limpia y estéril cubierta a una profundidad de un centímetro con agua. Los cultivos se cubren con tapas plásticas y se almacenan. Después de aproximadamente tres semanas, los nemátodos visiblemente muertos se sacan, el agua se decanta cuidadosamente y el exceso de agua se absorbe con toallas de papel. Los cultivos se almacenan por unas 4-15 semanas antes de usarlos.

Otra especie de Mermithidae, Filipjevimermis leipsandra Poinar y Welch, también se ha criado masivamente (Creighton y Fassuliotis 1982). Esta especie es muy promisoría para el control de Diabrotica balteata LeConte y otros crisomelidos.

La especie Steinernema feltiae antes conocida como Neoaplectana carpocapsae ha sido objeto de muchas investigaciones para usarlo en el control de muchos insectos. El procedimiento para su cría es fácil de llevar a cabo usando lar-

vas de Galleria mellonella (L.) (Dutky et al. 1964) las cuales se pueden mantener en laboratorio en grandes numeros usando diversas dietas como la descrita por Bustillo (1976).

Las larvas de G. mellonella que están próximas a empupar son las más apropiadas para la cría de S. feltiae (Figura 5). En platos de petri se colocan dos papeles de filtro en su base y se saturan con agua destilada. Luego se adiciona 1-2 ml de una suspensión de nemátodos (Figura 5B) que contenga unos 10.000 nemátodos/ml. Posteriormente se introducen varias larvas de la polilla en el plato de petri las cuales al cabo de 24-48 horas deben estar muertas por la acción del nemátodo (Figura 5C). Estas larvas se deben colocar sobre platos de petri invertidos a los cuales se les enrolla papel filtro y quedan en contacto con una solución de formalina al 0.1% (Figura 5E) en una bandeja que se tapa herméticamente con parafilm u otro material apropiado para evitar evaporación y contaminaciones. Esta bandeja constituye una trampa para la captura de los nemátodos que salen de la larva, la cual ocurre al cabo de 10-14 días después de la infección. Los nemátodos se continúan colectando periódicamente hasta cuando cese la producción. Una larva puede llegar a producir 300.000 nemátodos. Estos se pueden almacenar en agua con formalina al 0,1% con aireación (Figura 5A) o en una nevera a 7°C por aproximadamente un año sin perder su infectividad.

La producción masiva de este nemátodo se ha llevado a cabo en varios laboratorios para evaluarlo en el campo. Los laboratorios Nutrilite Products, Inc., de California lo han distribuído bajo el nombre Biotrol NCS-DD-136.

En nemátodo DD-136 ha sido utilizado en ensayos de campo (Drooz 1960) y en pequeña escala comercial para el control de insectos plagas de cultivos agrícolas (Dutky 1959; Welch y Briand 1961a, 1961b). El principal problema en los ensayos de campo ha sido la humedad para obrar exitosamente. Webster y Bronskill (1968) obtuvieron buenos resultados en ensayos de laboratorio mediante la adición de una sustancia retenedora de agua, un retardante de la evaporación y un surfactante. Ellos aumentaron el promedio de mortalidad de las larvas de Prisiphora erichsonii (Htg.) de 24 a 90%.

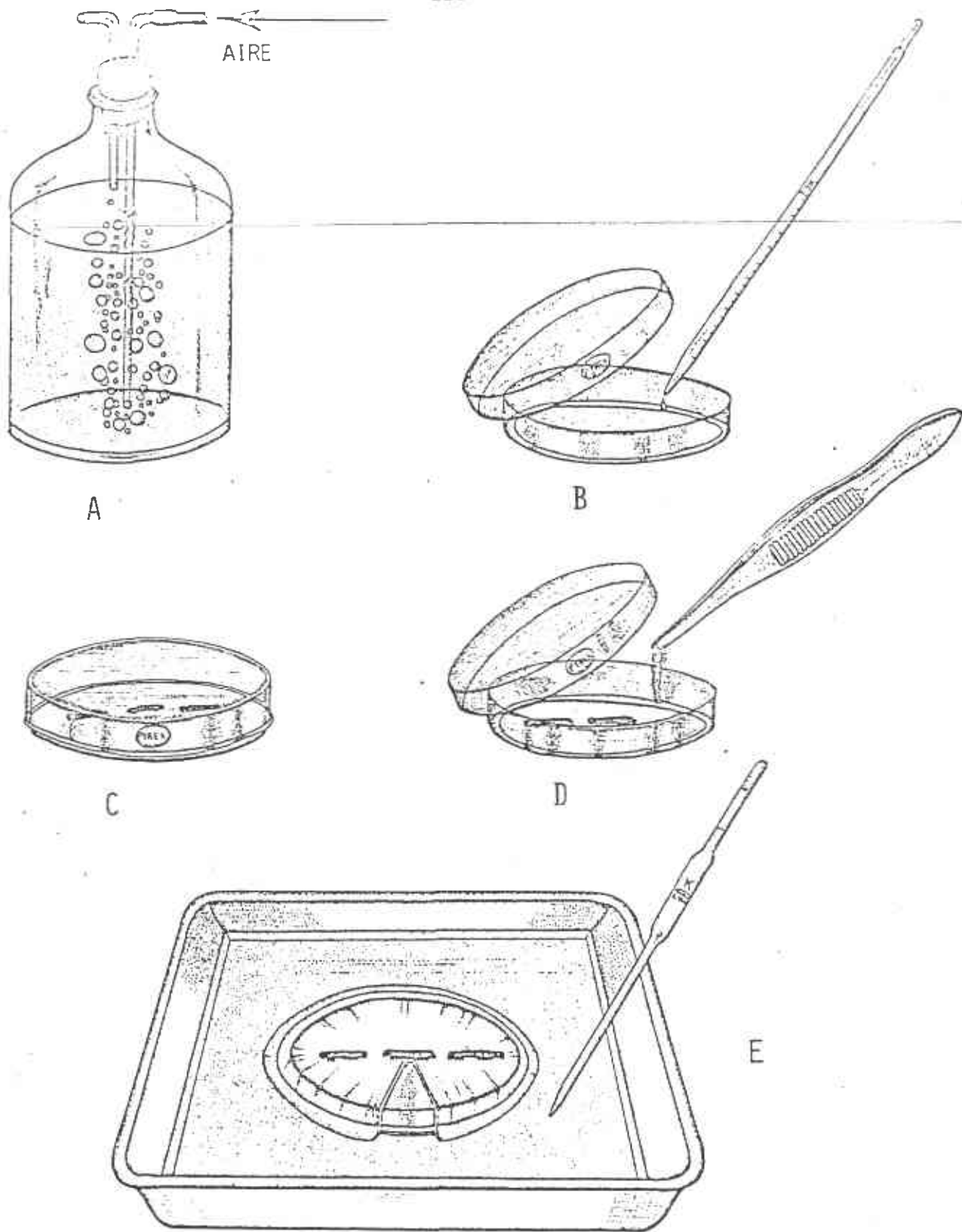


FIGURA 5. Diagrama indicando los diversos pasos para la cría de *Steinernema feltiae*; A) mantenimiento de los nemátodos en agua con suministro de aire; B) adición de una suspensión de nemátodos; C) infección de las larvas; D) remoción de larvas muertas; E) trampa para la colección de nemátodos que emergen de larvas (Adaptado de Martignoni y Steinhaus 1961).

Simons y Poinar (1973) demostraron que los estados juveniles infectivos de S. feltiae son capaces de sobrevivir humedades relativas muy por debajo del punto de marchitamiento de las plantas. Ellos sugieren que ~~la aplicación~~ al suelo de los nemátodos es más práctica que aplicarlos sobre las partes aéreas de las plantas donde podrían estar sometidos a una rápida y letal desecación.

En ensayos para el control de la polilla de la manzana Cydia pomonella usando S. feltiae se han obtenido controles hasta del 90%. El nemátodo se puede aplicar con equipos convencionales de aspersión aérea y terrestre (Lindegren et al 1981a). Actualmente se están llevando a cabo ensayos para utilizar esta especie contra aquellas plagas que permanecen ocultas y viven en un medio de relativamente alta humedad (Lindegren et al. 1981b). Recientemente se ha encontrado que S. feltiae puede ser un factor de regulación de poblaciones de moscas de las frutas como Ceratitis capitata (Wiedeman), Dacus cucurbitae Coquillet y D. dorsalis Hendel (Lindegren y Vail 1986). Las larvas que emergen de las frutas y caen al suelo a empupar son el estado susceptible para que se asperje el nemátodo y lograr así su control.

La encapsulación de nemátodos puede ser de gran utilidad en su uso. La encapsulación de las especies S. feltiae y Heterorhadtis heliothidis (Khan, Brooks y Hirschmann) usando alginato de calcio y dandose las a larvas de Spodoptera exigua han causado mortalidades hasta del 100%, siempre y cuando se mantenga una alta humedad (Kaya y Nelsen 1985). El sistema puede ser de utilidad encapsulando los nemátodos con cebos o mezclando con semillas para controlar insectos como hormigas y tierreros.

En el caso de mermítidos Nickle (1981) ha revisado el efecto de estos en el control de plagas agrícolas, resaltando la acción natural de éstos contra especies de los órdenes Orthoptera, Coleoptera, Lepidoptera y Diptera. Las especies Mermis nigrescens y Agamerms decaudata son de importancia atacando saltamontes. Psammomermis spp. es responsable en Rusia hasta de un 60% de mortalidad en poblaciones de Popillia japonica y en Carolina del Sur Filipjevimerms leipsandra se ha encontrado que puede infectar entre 50-100% las poblaciones de Diabrotica balteata.

Las especies de Hexamermis son comunes en lepidópteros, H. albicans tiene un amplio rango de huéspedes lepidópteros y se encuentra en muchas partes del mundo. Entre los insectos que infectan están Diatraea saccharalis en caña de azúcar, Spodoptera frugiperda en maíz y el barrenador de las meliáceas, Hypsipyla grandella (Zeller) (Nickle y Grijpma 1974).

5.4. REGISTROS DE NEMATODOS EN COLOMBIA

Son muy pocas las especies de nemátodos encontradas en Colombia (Tabla 1) lo que refleja la falta de personal especializado en esta área para reconocer las numerosas especies que se encuentran en nuestro medio. Lo anterior se agrava por la poca colaboración que se encuentra con especialistas foráneos para que estudien nuestras especies nativas.

Los estudios en nuestro país se reducen al registro de las cinco especies relacionadas en la Tabla 1 y a unos pocos ensayos realizados con las especies introducidas R. culicivorax y S. feltiae.

Existe interés en utilizar en gran escala el nemátodo R. culicivorax contra especies de mosquito como Aedes aegypti en programas de salud pública auspiciadas por el gobierno (Quiñones y Suárez 1985).

El insecto Zulia colombiana es una plaga del pasto braquiaria y frecuentemente se ve infectado con el nemátodo Caenorhabditis sp. Ensayos a nivel de invernadero no han mostrado una alta patogenicidad. Usando concentraciones de 10^3 nemátodos/ml de agua sólo se obtuvo una mortalidad del 20% en las ninfas y 5% en el estado adulto (Arango 1985).

El nemátodo S. feltiae se ha evaluado en Colombia contra el cogollero del maíz, S. frugiperda. Las evaluaciones de campo han mostrado que el nemátodo puede controlar hasta un 70% de la población (Landazabal et al. 1973). El cogollero del maíz mantiene una alta humedad lo cual facilita la supervivencia del nemátodo en este nicho.

TABLA 1. Especies de nemátodos parasíticos a insectos encontrados atacando insectos de importancia agrícola en Colombia

NEMATODO	INSECTO	CULTIVO	LOCALIDAD
<u>Caenorhabditis</u> sp	<u>Zulia colombiana</u>	Pasto braquiaria	Cauca
<u>Cephalobellus</u> sp	<u>Ancognata scarabaeoides</u> B.	Papa, trigo	Pasto
<u>Hexameris</u> spp.	<u>Aeneolamia varia</u> (F.)	Pasto braquiaria	Villavencio
	<u>Diatraea saccharalis</u>	Sorgo	Villavencio
	<u>Sopodoptera frugiperda</u>	Arroz	Villavencio
		Maíz	Bello, Palmira
		Pastos	Villavencio
<u>Steinernema</u> spp.	<u>Cyrtoneumus bergi</u>	Yuca	Palmira
	<u>Premnotrypes vorax</u>	Papa	Cundinamarca
Mermithidae no identificado	<u>Oxydia trychiata</u>	Pino pátula	San Félix (Ant.)

Steinernema feltiae también se ha evaluado contra plagas forestales en Colombia. El defoliador Oxydia trychiata (Guenée) plaga de pino pátula y ciprés es susceptible a S. feltiae. Bajo condiciones simuladas se demostró que el nemátodo se puede usar cuando la larva baja al suelo a empupar (Bustillo 1976). El nemátodo se debe aplicar en este estado del ciclo de vida de O. trychiata dirigido al suelo donde las condiciones de humedad le son favorables para su supervivencia.

Spodoptera frugiperda es parasitado naturalmente por Hexameris sp (Figura 6). Evaluaciones de parasitismo de S. frugiperda durante varios años han demostrado que este nemátodo es uno de los factores de mortalidad más importantes en los cultivos de maíz en Antioquia en épocas de alta humedad. Los porcentajes de mortalidad alcanzan niveles entre 11,6 a 22,1% durante el segundo semestre, los cuales disminuyen prácticamente a cero durante el primer semestre cuando la precipitación es menor (Bustillo 1986).

5.5. CONCLUSIONES

Solamente cinco especies de nemátodos se han registrado atacando insectos en Colombia lo que refleja la necesidad de intensificar los reconocimientos en esta área, entrenar personal en estas labores y buscar cooperación internacional con otros científicos para el desarrollo de estas investigaciones. En otras partes del mundo el uso de nemátodos como agentes de control microbial es una realidad como se observa por el uso de Romanomermis culicivorax en el control de mosquitos y Steinernema feltiae en el control de varios lepidópteros.

Estas dos especies se han evaluado en Colombia. R. culicivorax puede llegar a ser un agente de control de utilidad en campañas sanitarias contra la malaria atacando los mosquitos vectores. Su uso se podría confinar a aquellos lugares críticos de malaria aplicándolo a las aguas estancadas que sirven de reproducción para los mosquitos. Una campaña de esta naturaleza requiere como es lógico el apoyo gubernamental.

La especie S. feltiae puede ser también de utilidad para el control de S.

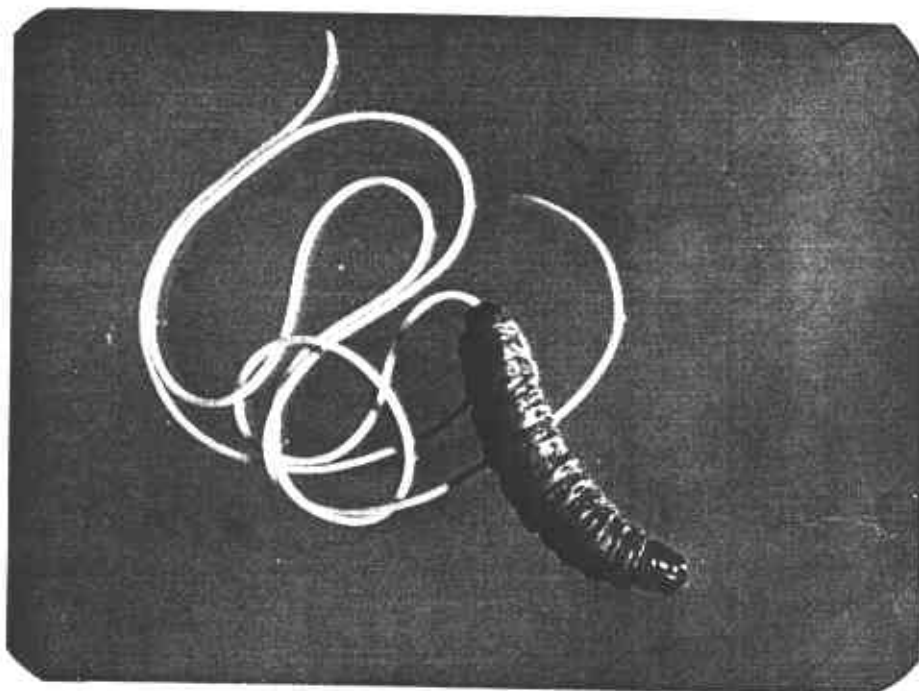


FIGURA 6. Larva de Spodoptera frugiperda de la cual emergió el mermí-
tido Hexameris sp. Observe la longitud del nemátodo que
puede alcanzar hasta 30 cm.

frugiperda en maíz debido a que el cogollo del maíz mantiene una alta humedad que favorece la supervivencia del nemátodo. En ecosistemas forestales también se podría usar contra especies de defoliadores que como Oxydia trychiata, Glena bisulca y Cargolia arana, cuando cumplen su desarrollo larval bajan al suelo a empupar. Es en este estado cuando el nemátodo podría asperjarse para que infecte el estado de prepupa.

5.6. BIBLIOGRAFIA

- Arango, G. 1985. Prueba de patogenicidad de Caenorhabditis sp, nemátodo que ataca Zulia colombiana Lallemand (Homoptera:Cercopidae). XII Congreso Socolen, Resúmenes, Medellín p.71.
- Bustillo, A.E. 1976. Patogenicidad del nemátodo Neoaplectana carpocapsae en larvas, prepupas y pupas de Oxydia trychiata. Rev. Colombiana Ent., 2(4): 139-144.
- _____. 1986. Evaluación de la importancia económica del control natural del Spodoptera frugiperda en maíz en clima medio. En: Informe anual de labores 1985B-1986A. ICA, Sección de Entomología, Medellín, 55p.
- Creighton, C.S. and G. Fassuliotis. 1982. Mass rearing a mermithid nematode, Filipjevimermis leipsandra (Mermithida:Mermithidae) on the banded cucumber beetle (Coleoptera:Chrysomelidae). J.Econ.Entomol., 75(4):701-703.
- Drooz, A.T. 1960. The larch sawfly. Its biology and control. USDA. Tech.Bull 1212. 52p.
- Dutky, S.R. 1959. Insect microbiology. Advan.Appl.Microbiol. 1:175-200.
- _____; J.V. Thompson and G.E. Cantwell. 1964. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. J.Insect Pathol. 6:417-422.
- Kaya, H.K. and C.E. NELSEN. 1985. Encapsulation of Steinernematid and Heterorhabditid nematodes with calcium alginate: A new approach for insect control and other applications. Env.Entomol. 14(5):572-574.
- Landazabal, J.; F. Fernández y A. Figueroa. 1973. Control biológico de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) con el nemátodo Neoaplectana carpocapsae en maíz (Zea mays). Acta Agronómica 23:41-70.
- Lindgren, J.E.; J.E. Dibble; C.E. Curtis, T.T. Yamashita and E. Romero. 1981a. Compatibility of NOW parasite with commercial sprayers. Calif.Agric. 35(3-4): 16-17.
- _____; T.T. Yamashita and W.W. Barnett. 1981b. Parasitic nematode may control carpenter-worm in fig trees. Calif.Agric. 35(1-2):25-26.
- _____ and P.V. Vail. 1986. Susceptibility of mediterranean fruit fly, melon fly and oriental fruit fly (Diptera:Tephritidae) to the entomogenous nematode Steinernema feltiae in laboratory tests. Env.Entomol. 15(3):465-468.
- Martignoni, M.E. and E.A. Steinhaus. 1961. Laboratory exercises in insect microbiology and insect pathology. Burgess Publ.Co., Minneapolis, 63p.
- Milstead, J.E. and G.O. Poinar. Jr. 1978. A new entomogenous nematode for pest management systems. Calif.Agric. 32(3):12.

- Mulvey, R.H. and W.R. Nickle. 1978. Taxonomy of mermithids (Nematoda: Mermithidae) of Canada and in particular of the Mackenzie and Porcupine river systems, and Somerset Island, N.W.T., with descriptions of eight new species and emphasis on the use of the male characters in identification. Canad.J. Zoology, 56:1291-1329.
- Nickle, W.R. 1967. On the classification of the insect parasitic nematodes of the sphaerulariidae Lublock, 1861 (Tylenchoidea:Nematoda). Proc. Helminthological Soc.Wash., 34:72-94.
- _____. 1970. A taxonomic review of the genera of the Aphelonchoidea (Fuchs, 1973) Thorne, 1949 (Nematoda:Tylenchida). Journal of Nematology, 2(4):375-392.
- _____. 1972a. A contribution to our knowledge of the Mermithidae (Nematoda). Journal of Nematology, 4(2):113-146.
- _____. 1972b. Nematode parasites of insects. Proc..Ann. Tall Timbers Conf. Feb. 24-25,1972. 163p.
- _____. 1973. Identification of insect parasitic nematodes - A review. Experimental Parasitology, 33:303-317.
- _____. 1974. Nematode infections. In: Insect diseases Vol. 2, p. 327-376. G.E. Cantwell, ed. Marcel Dekker, New York, 312p.
- _____. 1976. Toward the commercialization of the mermithid, Reesimermis nielsenii. J. of Nematology, 8(4):298.
- _____. 1977. Taxonomy of nematodes that parasitize insects, and their use as biological control agents. In: Biosystematics in agriculture. J.A. Romberger, ed. Allenheld, Osmund and Co., p.37-51.
- _____. 1981. Mermithid parasites of agricultural pest insects. J. of Nematology, 13(3):262-266.
- _____; and P. Grijpma. 1974. Studies of the shootborer Hypsipyla grandella. XXV Hexameris albicans a parasite of the larva. Turrialba 24(2): 222-226.
- Poinar, G.O. Jr. 1966. The presence of Achromobacter nematophilus in the infective stage of a Neoaplectana sp. Nematologia 12:105-108.
- _____. 1967. Description and taxonomic position of the DD-136 nematode and its relationship to Neoaplectana carpocapsae Weiser. Proc.Helminth. Soc.Wash. 34:199-209.
- _____. 1971. Use of nematodes for biological control of insects. In: Microbial control of insects and mites. p.181-201. A.D. Burgess and N.W. Hussey, eds. Academic Press, New York, 861p.

Poinar, G.O. Jr. 1975. Entomogenous nematodes. E.J. Brill, Leiden, 317p.

_____ ; and G.M. Thomas. 1965. A new bacterium Achromobacter nematophilus sp. nov. (Achromobacteriaceae: Eubacteriales) associated with a nematode. Inter.Bull.Bacter.Nomen. Taxon. 15:249-252.

_____ ; and G.M. Thomas. 1966. Significance of Achromobacter nematophilus Poinar and Thomas (Achromobacteriaceae: Eubacteriales) in the development of the nematode, DD-136. Parasitology 56:385-390.

_____ ; G.M. Thomas; G.V. Veremtschuck and D.E. Pinnock. 1971. Further characterization of Achromobacter nematophilus from American and soviet populations of the nematode Neoaplectana carpocapsae Weiser. Int.J.Syst.Bacteriol. 21(1):78-82.

Pramer, D. and S. Al.Rabiai. 1973. Regulation of insect populations by protozoa and nematodes. Annals New York Acad.Sci., 217:85-92.

Quiñones, M.L. y M.F. Suárez. 1985. Ensayos de cria de Romanomermis culicivorax (Nematoda:Mermithidae) en larvas de Aedes aegypti en Anapoima, Colombia. XII Congrso de Socolen, Resumenes, Medellín p.31.

Simons, W.R. and G.O. Poinar. 1973. The ability of Neoaplectana carpocapsae (Steinernematidae: Nematodea) to survive extended periods of dessiccation. J.Invertebr.Pathol. 22:228-30.

Steinhaus, E.A. 1964. Enfermedades microbianas de los insectos. En: Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas, ed. P. DeBach, Traductor: C.M. Castaños; cap. 8. p.607-645. Comp. Ed. Continental, México, 1968, 949p.

Valderrama, R. 1984. Aspectos biológicos, fisiológicos, ecológicos y posibilidades de uso de Romanomermis culicivorax R. y S. Socolen, Seminario sobre Patología de Insectos, Medellín, Mayo 11, 1984, p.123-142.

Webster, J.M. and J.F. Bronskill. 1968. Use of Gelgard M. and an evaporation retardant to facilitate control of larch sawfly by a nematode-bacterium complex. J.Econ.Entomol. 61:1370-1373.

Welch, H.E. 1963. Nematode infections. In: Insect Pathology an advanced treatise. E.A. Steinhaus, ed. Academic Press, New York, 689p.

_____. 1965. Entomophilic nematodes. Ann.Rev.Ent. 10:275-302.

_____ and L.J. Briand. 1961a. Tests of the nematode DD-136 and an associated bacterium for control of the colorado potato beetle, Leptinotarsa decemlineata. Can.Ent. 93:759-763.

_____ and L.J. Briand. 1961b. Field experiment on the use of a nematode for the control of vegetable crop insects, Proc.Ent.Soc.Ont. 91:197-202.