

PRODUCCIÓN EN FERMENTACIÓN SÓLIDA DEL NEMATODO ENTOMOPATÓGENO *Heterorhabditis* spp Y SU SIMBIONTE *Photorhabdus luminescens*

Alfonso Alvarez Villa, Mayra de la Torre Martínez, Francisco Javier Almendariz Tapia, María Teresa Certucha Barragán, Onofre Monge Amaya
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Ciencia de los Alimentos, Hermosillo CP 83304, alvarezvillaa@gmail.com

Palabras clave: Heterorhabditis, Photorhabdus, Parámetros cinéticos.

Introducción. Los nematodos, tienen papeles ecológicos clave como descomponedores y depredadores de organismos. Muchos nematodos de suelo comen bacterias (1). El nematodo entomopatógeno del género *Heterorhabditis* infecta y mata insectos con la ayuda de toxinas producidas por su bacteria simbiótica del género *Photorhabdus* (2,3). Esta asociación simbiótica entre nematodo-bacteria se ha implementado con éxito en programas de control biológico y manejo integrado de plagas en todo el mundo (4,5). Para la formulación de insecticidas a base de *Heterorhabditis* spp es importante realizar estudios enfocados a la producción masiva en sistemas de fermentación.

En el presente estudio se aisló de una muestra de suelo agrícola el nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis* spp con su bacteria simbiote *Photorhabdus luminescens*. Se determinaron los parámetros cinéticos en fermentación sólida del cultivo monoxénico *Heterorhabditis* spp-*Photorhabdus luminescens*.

Metodología. El aislamiento del nematodo-bacteria se realizó agregando 10 larvas de *Galleria mellonella* como cebo en 300 g de muestra de suelo proveniente de Guasave, Sinaloa, México. Las larvas infectadas por nematodos se colocaron en trampas de White para la obtención de los nematodos en la fase de infectivos juveniles (IJ). Para aislar y purificar la bacteria simbiote, se tomó con una jeringa de 1 mL, 100 μ L de concentrado de nematodos para inocular en agar Mac Conkey y NBTA. Para el cultivo monoxénico nematodo-bacteria se realizó en 18 placas de Petri con 20 g de medio de cultivo sólido agar aceite de maíz, se inocularon las placas con 1 mL de cultivo de *Photorhabdus luminescens* con concentración de 7.4×10^9 células/mL para incubar a 25 °C, a las 24 horas de incubación se agregó 1 mL de inóculo de nematodos con una concentración inicial de 13500 IJ/mL. Los datos obtenidos en la cinética de crecimiento se ajustaron a un modelo de Gompertz reparametrizado.

Resultados. Las larvas de *Galleria mellonella* presentaron coloración típica (purpura) por infección de *Photorhabdus luminescens*, además la bacteria coincidió con las características morfológicas, por lo cual el nematodo entomopatógeno presente en el suelo pertenece al género *Heterorhabditis* el cual se muestra en la Fig. 1. En la Fig. 2 se muestra la cinética de crecimiento de *Heterorhabditis* spp, los parámetros cinéticos obtenidos fueron C_{max} de 708685 nematodos/placa, C/C_0 de 52.49, μ_{max} de 0.33 días⁻¹ y λ de 3.29 días. Se obtuvo una relación de 35434 IJ por gramo de medio en la producción de *Heterorhabditis* spp. El sistema de fermentación en medio sólido le proporcionó al nematodo el oxígeno para reproducirse ya que el nematodo permanece en la superficie del sólido.



Fig. 1. Vista en el microscopio con lente objetivo de 10 X de *Heterorhabditis* spp en la fase IJ.

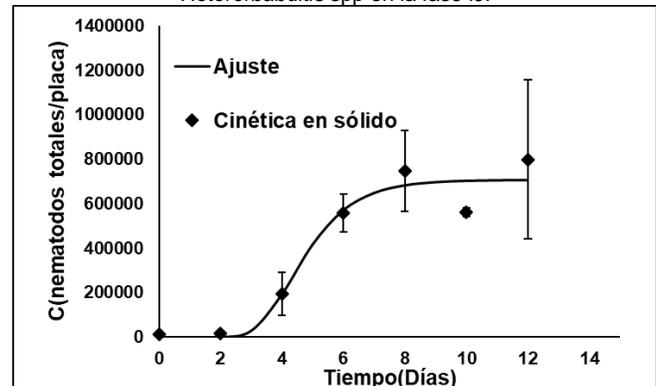


Fig. 2. Cinética de crecimiento de *Heterorhabditis* spp en cultivo monoxénico en sólido.

Conclusiones. Se aisló el nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis* spp y su bacteria simbiote *Photorhabdus luminescens* el cual puede utilizarse para el control de plagas. Se diseñó una tecnología para la producción masiva de *Heterorhabditis* spp en medio sólido en la que se obtiene alta concentración de infectivos juveniles (IJ).

Agradecimientos. Proyecto CONACYT "Desarrollo de un insecticida de nueva generación a partir de nematodos entomopatógenos nativos de la zona norte del país y metabolitos secundarios de sus bacterias simbiotes".

Bibliografía.

- Solomon E et al. (2013). Esponjas, cnidarios, ctenóforos y protóstomos. En: *Biología*. Cengage Learning.
- Dillman A R et al. (2012). *PLoS Pathog.* 8 (3): 1-4.
- Caccia M et al. (2018). *Crop Prot.* 114: 162-166.
- Grewal P S, Ehlers R U & Shapiro-Ilan D I. (2005). Morphology and Systematics of Nematodes Used in Biocontrol. En: *Nematodes as Biological Control Agents*. CAB International.
- Maneesakorn P et al. (2011). *Mol Phylogenet Evol.* 59 (2): 271-280.

