



## CULTIVO SINCRONICO AXÉNICO Y DIFERENCIACIÓN EN ESTADIOS DE DESARROLLO DEL NEMÁTODO ENTOMOPATOGENO *Steinernema carpocapsae*.

Juan Suárez Sánchez\*, Yaneli Velázquez Montes de Oca.

\*Av. Tecnológico S/N, Col. Valle de Anáhuac, Ecatepec de Morelos, Estado de México, C. P. 55210, Laboratorio de Biotecnología Ambiental, tel.: 5000 2300, ext. 2227, fax.: 5000 2304, e-mail: juansuarez\_34@yahoo.com.mx.

*Palabras clave:* *Steinernema*, *Nemátodos entomopatógenos*, *Control biológico*.

**Introducción.** El nemátodo microscópico *Steinernema carpocapsae*, ha sido probado exitosamente como agente de control de insectos-plaga que dañan cultivos de plantas de importancia económica (3). De aquí surge el interés de producirlo a gran escala y usarlo en la formulación de bioinsecticidas (1).

En este trabajo se presenta la metodología mediante la cual, a partir de hembras adultas gigantes de 1ª generación de *Steinernema carpocapsae* desarrollándose *in vitro*, se aislaron huevecillos axénicos para establecer inóculos y cultivos puros de *Steinernema carpocapsae* en sustratos líquidos. Con este procedimiento resulta innecesario, utilizar larvas de la "palomilla de la cera" *Galleria mellonella*, insecto del cual habitualmente se aíslan *in vivo* las hembras grávidas de 1ª generación de *Steinernema*.

**Metodología. 1.** A partir de un cultivo *in vitro* de 72 hrs. de edad de *Steinernema carpocapsae* sobre ANCC, se aislaron hembras grávidas gigantes de primera generación. **2.** Los nemátodos aislados, se lisaron con hipoclorito alcalino (NaOH 0.4 M + NaClO 0.2 M). **3.** La suspensión de nemátodos lisados se centrifugó a 2300 rpm por 2 minutos. Los huevecillos libres se lavaron utilizando una solución reguladora de fosfatos (2, 4). **4.** Los huevecillos obtenidos se usaron para la propagación en cultivos axénicos en medio líquido MBmHb.

**Resultados y discusión.** El cultivo de *Steinernema carpocapsae* describió una curva sigmoide de crecimiento (Figura 1). A lo largo de esta se observó la aparición sincrónica de estadios de desarrollo bien diferenciados (Figura 2). De los días 1 a 6 se observó el desarrollo desde estadios juveniles (J1) pasando por J2 (día 2), J3 (día 3 y 4), preadultos J4 (día 5), hasta alcanzar el estadio adulto J5 (día 6).

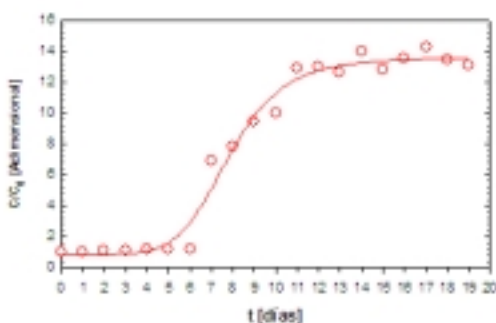


Fig. 1. Evolución de la concentración adimensional de *Steinernema carpocapsae* en cultivo axénico en medio MBmHb a 25 °C.



Fig. 2. A) Juvenil J1, B) Juvenil J3, C) Macho adulto (J5) y D) Hembra adulta grávida (J5) de *Steinernema carpocapsae*.

La reproducción comenzó el día 6 y alcanzó la máxima concentración celular el día 12 donde los especímenes eran juveniles J3 que se transformaron a lo largo de 8 días más (día 20) en infectivos juveniles IJ.

**Conclusiones.** Un número de hasta 300 huevecillos viables se recuperaron por cada hembra adulta de *S. carpocapsae*. El procedimiento ensayado es sencillo de implementar. El crecimiento sincrónico observado puede ser muy útil para realizar estudios de dinámica de la población, modelos de crecimiento y metabolismo o genética de estos organismos.

**Agradecimiento.** Financiamiento: Proyecto CoSNET 1032-03P.

### Bibliografía.

1. Chavarría, N; Espino, J; Sanjuan, R; Rodríguez, A. 2006. Monoxenic liquid culture of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* using a culture medium containing whey. Kinetic and modeling. *J. of Biotechnol.* Vol(125): 75-84.
2. Ehlers, R; Strauch, O. 1994. Establishment of axenic and monoxenics cultures summary of a practical workshop session. 204-205. En: Burnell, A; Ehlers, R; Masson, J. Eds. Genetics of entomopathogenic nematode-bacterium complex. European commission directorate-general XII, science, research and development environment research programme. Luxemburg.
3. Georgis, R; Hague, N. 1992. Nematodes as biological insecticides. *Biological Control.* Vol(2): 29-33.
4. Lunau, S; Stoessel, S; Schmidt-Peisker, A; Ehlers, R. 1993. Establishment on monoxenic inocula for scaling up *in vitro* cultures of the entomopathogenic nematodes *Steinernema spp.* and *Heterorhabditis spp.* *Nematologica.* Vol(39): 385-391.