

# Nematodos entomopatógenos

M<sup>o</sup> del Mar Martínez de Altube  
Alejandro Martínez Peña

IDEBIO S.L.  
idebio@helcom.com

Los nematodos son unos gusanos cilíndricos no segmentados cuyo tamaño sólo permite visualizarlos por microscopía. Se pueden dividir en dos grandes grupos, los de vida libre y los parásitos. Los nematodos parásitos a su vez se dividen en parásitos de plantas (fitopatógenos) y parásitos de animales (parásitos de vertebrados y parásitos de invertebrados).

El grupo más importante de nematodos parásitos de invertebrados es el de nematodos entomopatógenos (NEP), que son nematodos parásitos de insectos.

Los nematodos entomopatógenos pertenecen a dos familias incluidas en el orden Rhabditida: Steinernematidae y Heterorhabditidae. Los NEP presentan una relación simbiótica con una bacteria (*Xenorhabdus* y *Photorhabdus*, para los Steinernematidae y Heterorhabditidae, respectivamente) que les confiere las particulares características del complejo nematodo-bacteria.

Dentro del ciclo de vida de los nematodos entomopatógenos hay un estado llamado infectivo juvenil (IJ) que es la única etapa infectiva y de vida libre de su ciclo.

En esta fase puede sobrevivir varios meses en el suelo sin alimentarse, buscando activamente hospedadores.



Adulto de *Rhynchophorus ferrugineus* parasitado.

## Ciclo de vida

Los IJ penetran en sus hospedadores normalmente por los orificios naturales, es decir por la boca, ano o espiráculos. Una vez que llegan a la hemolinfa del insecto, liberan sus bacterias, que causan la muerte del insecto por septicemia (infección generalizada) en un período de aproximadamente dos días. Las bacterias, a la vez que se multiplican, producen condiciones favorables

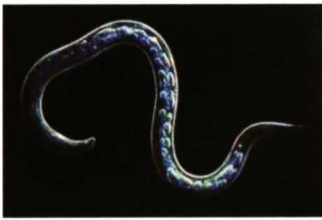
para la alimentación de los nematodos, que a su vez requieren la presencia de la bacteria simbiótica para reproducirse y completar su ciclo. Los nematodos se desarrollan hasta el estado de adultos y se reproducen dentro del cadáver. En el caso de que los nutrientes se acaben, el ciclo termina en el estadio IJ, que incorpora las bacterias y emigra del cadáver buscando nuevos insectos hospedadores.

## Forma de actuación

### Entrada en el insecto hospedador.

Una de las más importantes funciones del nematodo es la de ser vector de la bacteria.

Esta se encuentra con varias formas de resistencia, que el nematodo es capaz de superar para transportarla hasta la hemolinfa del insecto.



Infectivo juvenil.



Infectivo juvenil.



Cópula. Hembra rodeada por un macho.



Larva de *Sciarido* parasitado.



Larva de *Rhynchophorus ferrugineus* parasitada.

### Infección bacteriana.

En la hemolinfa es donde el nematodo libera la bacteria y esta actúa, está adaptada para resistir el sistema inmune del insecto hospedador. La bacteria entomopatogénica provee nutrientes para ella misma y para el nematodo mediante la secreción de gran variedad de enzimas extracelulares que degradan los tejidos del hospedador.

### Metabolitos bacterianos.

Además de estos aportes nutricionales que la bacteria proporciona al nematodo, ésta produce antibióticos y bacteriocinas que impiden la entrada de organismos oportunistas en el cadáver del insecto. También entre los metabolitos producidos por la bacteria se encuentran compuestos tóxicos para algunos nematodos fitopatógenos.

### Rango de plagas

Estos nematodos presentan un amplio rango de hospedadores, la mayor parte de ellos en algún momento de su ciclo de vida permanecen en el suelo, pero también son susceptibles algunos insectos que no habitan el suelo en ningún momento de su ciclo de vida.

La mayoría de insectos susceptibles pertenecen a los órdenes Lepidoptera y Coleoptera.

Lepidóptera: *Chilo* spp., *Spodoptera littoralis*, *Pieris rapae*, *Agrotis segetum*, *Cossus*, *Zeuzera pyrina*...

Coleóptera: *Melolontha* spp., *Otiorynchus* spp., *Vesperus xartati*, *Cosmopolites sordidus*, *Capnodis tenebrionis*.

También son susceptibles algunas especies de los órdenes, Tisanóptera (*Frankliniella occidentales*), Díptera (*Ceratitis capitata*) Homóptera (*Bemisia tabaci*, *Trialeurodes vaporariorum*, *Dysmicoccus vaccini*), Heteróptera (*Dysdercus peruvianus*), Isóptera (*Reticuloterme* spp), Orthóptera (*Locusta migratoria*).

Además se ha comprobado un importante efecto nematostático contra nematodos fitopatógenos de los tipos *Meloidogyne* spp., *Tylenchorhynchus* spp., *Globodera* spp. y Criconematidos.

Los NEP son compatibles con gran cantidad de productos químicos, por ello son una buena herramienta de control tanto para programas manejo integrado, como programas de lucha biológica.

Idebio S.L., es una compañía de biotecnología que ha dedicado los diez últimos años, al desarrollo de diferentes productos para una nueva agricultura biológica, intentando reducir el uso de productos químicos.



A la izquierda, raíz de pepino atacado por *Meleoidogyne*.  
A la derecha, raíz de pepino sana tratada con Biorend®.



Raíz de tomate con ataque fuerte de *Meloidogyne* sp.

Con este fin, se han desarrollado dos productos diferentes, Biorend® y Biorend R® (Biorend + Nematodos entomopatógenos).

Biorend® es un producto natural derivado de la quitina, orgánico, biodegradable, no tóxico, no contaminante y se usa en la agricultura como bioestimulante protector de cultivos.

Su ingrediente activo es la N-acetil-glucosamina (Quitosano) un polímero derivado de la quitina, principal componente para la producción del Biorend®. La quitina es el segundo polímero más abundante en la naturaleza, se puede encontrar en las paredes celulares de algunos hongos patógenos, en los esqueletos de insectos, y en el cartílago bovino. Se puede extraer de los caparzones de los crustáceos marinos como centollas y centellones, ambos abundantes en Magallanes, región antártica de Chile.

El Biorend® se absorbe sistemáticamente por las plantas a través de las semillas o raíces. Como consecuencia de esto se

produce un crecimiento más fuerte del cultivo. Debido a la composición del Biorend® (derivado de la quitina), el cultivo, en teoría, piensa que esta siendo atacado por un patógeno, induciendo una respuesta de defensa en la planta a este ataque. Esta respuesta se manifiesta en cambios bioquímicos, citogenéticos y estructurales que se traducen en un aumento significativo en la producción y en la biomasa. Algunos de estos importantes efectos son:

- Aumenta el desarrollo del sistema aéreo y radicular (Ait Barka E. et al, 2003), permitiendo a las plantas ocupar más suelo pudiendo absorber con ello más agua y nutrientes.
- Aumenta significativamente la resistencia y el grado de lignificación de las plantas (Walker-Simmons, M 1984) haciéndolas menos susceptibles a condiciones de stress como sequía, frío, y menos susceptibles a los ataques de insectos u hongos, especialmente en aquellos casos donde el sistema radicular está implicado.



Raíz de tomate sana tratada con Biorend®.

- Estimula la síntesis de compuestos bioquímicos, que se producen cuando se desencadenan los mecanismos de defensa en las plantas frente al ataque de patógenos. (Hadwinger et al, 1981, 1984; Hirano, S. and Nagao, N. 1989).
- Activa genes de resistencia y la síntesis de proteínas inhibitoras. (Walkers-Simons et al, 1983)
- Reduce la deshidratación post-transplante mejorando significativamente su desarrollo y aumentando las producciones. (Bitelli, M et al. 2001).
- Reduce la transpiración en las plantas y aumenta la eficiencia fisiológica en el uso de agua. (Lee, Y, 1999), (Bitelli, M et al, 2001).
- Tiene efecto fungiestático (Allan, C.R. and Hadwiger, L.A. 1979) frente a algunos hongos patógenos que causan enfermedades con un impacto económico importante y que

son difíciles de controlar con productos químicos como son, *Fusarium spp.*, *Phytophthora spp.*, *Botrytis spp.*, y otros.

- Tiene un efecto nematostático y una mejor absorción del agua debido al aumento en la producción de raíces y raicillas. (Magunacelaya, J.C. M. Peña. A 2005)

- Aumenta la producción y la cosecha. (Fernández Rodríguez E.J. et al 2002).

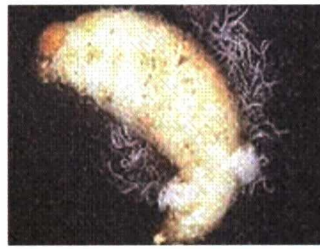
- Tiene algunos efectos positivos para el almacenaje de alimentos bañando frutas y verduras en él. (Galed, G et al. 2004).

- Estimula la microflora antagonista de nematodos fitopatógenos. (Kloeper, J.W et al.)

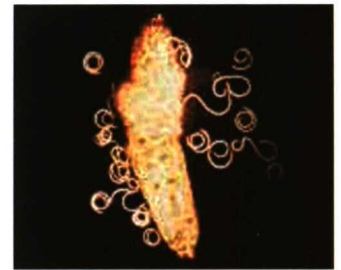
Idebio S.L tiene amplia información experimental sobre el Biorend®, que ha conseguido trabajando conjuntamente con universidades y estaciones experimentales.

El otro producto Biorend R®, es una combinación de este producto derivado de la quitina más nematodos entomopatógenos, obteniendo con esta mezcla, dos efectos diferentes. De una manera los nematodos entomopatógenos controlan la plaga y por otro lado el Biorend® bioestimula y protege el cultivo para una mejor recuperación después del ataque de una plaga.

Diferentes cepas de nematodos fueron aisladas en distin-



Larva de *Otiorhynchus sulcatus* parasitada por NEP.



*Galleria* parasitada.

tas regiones de España y después fueron testada frente a distintos insectos plaga como *Galleria mellonella*, *Capnodis tenebrionis*, *Anoxia villosa*, *Agrotis spp* para determinar su capacidad para parasitarios. Después de que las cepas más virulentas fueron seleccionadas, se pasó a la producción

masiva de nematodos en medio líquido en fermentadores.

Después de los buenos resultados obtenidos en el laboratorio con los nematodos entomopatógenos, se realizaron ensayos de campo de 1.000 - 2.500 m<sup>2</sup> en frutales de hueso (albaricoque y cerezos) contra *Capno-*

**Actara**  
Insecticida para el control de las moscas blancas

Desde el principio y gota a gota,  
el mejor aliado para acabar con adultos y larvas.

**AVANZA CON FUERZA**

gota a gota  
syngenta

PROTECCIÓN SELECTIVA



Larva de *Capnodis tenebrionis* después de tratamiento.

*dis tenebrionis* con Biorend R® entre 1998-2001, intentando conocer el mejor momento de aplicación y la dosis adecuada, de acuerdo con el ciclo de vida de esta plaga. Se evaluaron diferentes métodos de aplicación como riego por goteo, inyección, poceta y pulverización para ver si existían diferencias en la eficacia de los nematodos usando estos distintos métodos. También se evaluó la persistencia de los nematodos en el suelo. Y de la misma manera se evaluaron los efectos del Biorend® en los árboles.

Después de dos años teniendo buenos resultados, la compañía empezó a comercializar el producto, aplicando dosis de un millón de nematodos por árbol mas 3-5 litros de Biorend® por hectárea, durante la primavera y el otoño por el riego por goteo en zonas de regadío y mediante inyección en zonas de secano durante, al menos, tres años.

Actualmente hay 1.000 hectáreas de árboles frutales tratadas en España con este sistema. Y después de la eva-

luación llevada a cabo por la administración en los ensayos experimentales, este tratamiento tiene subvención por parte de la Junta de Castilla y León.

Durante los ensayos llevados a cabo entre 1998-2001 en albaricoque y cerezos pudimos observar un buen control contra otras plagas como *Anoxia villosa*, *Othiorrhynchus sulcatus*, *Ceratitidis capitata* y *Kaloteremes flavicollis*, extendiéndose los ensayos a otros cultivos como olivos, perales, cítricos, y cualquier tipo de frutal de hueso como melocotón, nectarina, y ciruela.

En 2003 se realizaron cuatro ensayos de campo comerciales de 2000 m<sup>2</sup> contra *Anoxia villosa* y *Othiorrhynchus sulcatus* en Olivo. Actualmente hay más de 150 hectáreas de Olivos tratadas de forma similar que se hace con los árboles frutales.

También cuando se estaba analizando el suelo para ver la persistencia de los nematodos entomopatógenos y se evaluaban las raíces en los ensayos llevados a cabo en albaricoque



Larva de *Capnodis tenebrionis*.

(1998-01), se pudo ver un descenso en la población de nematodos fitopatógenos como *Meloydogine spp.* Fue entonces cuando en 2004, Idebio S.L realizó 12 ensayos de campo con Biorend R® en tomate, calabacín, pimiento, judías, zanahorias, y viñedo contra *Meloydogine sp* en diferentes regiones de España. Algunos de estos ensayos fueron evaluados también por la Administración.

Este año tres regiones, Castilla la Mancha, Extremadura y Andalucía tienen una subvención para el uso de este producto para viñas de reestructuración.

En todos estos ensayos y en las aplicaciones comerciales siempre se pudo observar:

- Buen control frente a la plaga, en algunos casos con mejor efecto que los productos químicos comparados, o por lo menos el mismo control.
- Bioestimulación con mayores cosechas y una importante recuperación de los cultivos.
- Un efecto nematostático.

Debido a esto Idebio S.L. pensó que quizás hubiera un efecto sinérgico en el uso conjunto del Biorend® con los nematodos entomopatógenos y por eso decidió patentarlo. Hoy en día hay una patente internacional para el uso de esta mezcla en agricultura EP: 1 332676B1. W.O: 2002/037966 Inventor: Alejandro Martínez Peña. Propietario. Idebio S.L (2004).

Después de estos buenos resultados Idebio S.L comenzó a trabajar en Almería (2001) en cultivos hortícola de invernaderos como tomate, melón, sandía, pepino, calabacín... en ensayos comerciales de 5.000 m<sup>2</sup>. Probando, de nuevo, distintos métodos de aplicación (riego por goteo y pulverización), dosis y momentos de aplicación en función del ciclo biológico de la plaga y del cultivo, y también el numero necesario de tratamientos en función de la persistencia de los nematodos.

En la actualidad se están aplicando dosis de 500.000 nep/m<sup>2</sup> + 1 litro de Biorend® por hectárea cada diez días por el riego por goteo y aplicaciones foliares de 500.000Nep/m<sup>2</sup>. Dependiendo de la necesidad. Con ésto, los efectos que obtenemos son:

- Efecto nematostático contra *Meloydogine spp.*
- Buen control contra: *Frankliniella occidentalis*, *Bemisia tabaci*, *Trialeurodes vaporariorum* y *Spodoptera litoralis*.
- Bioestimulación del cultivo con una mayor producción y mejor calidad.

También se ha observado, en invernaderos comerciales donde solo se uso Biorend R®, sin ningún tratamiento químico, un aumento en la población de insectos autóctonos auxiliares beneficiosos como *Coenosia spp.* (Mosca tigre) y una mejor adaptación de insectos

auxiliares beneficiosos como *Orius laevigatus*, *Amblyseius barkeri*, *Encarsia formosa* y *Erectmocerus mundus* en los invernaderos.

Algunos de estos ensayos comerciales fueron controlados por la administración y después de los buenos resultados que pudieron observar. Bio-rend R® está incluido en la lista de productos biológicos dentro del programa llevado a cabo en Almería contra insectos vectores de virus con una subvención al agricultor que use los productos incluidos en esta lista.

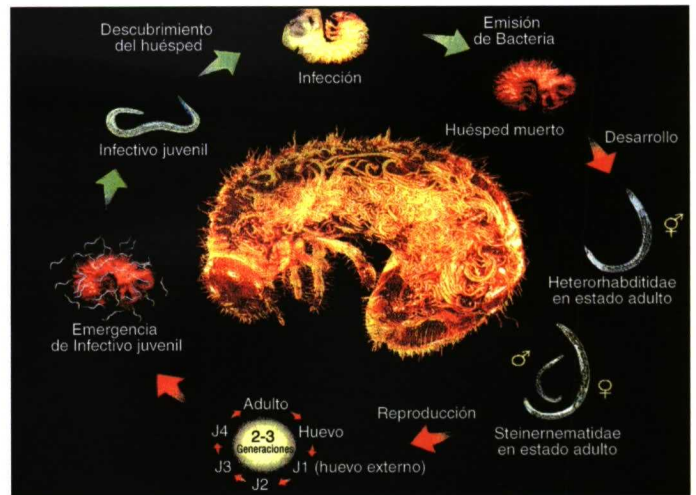
En la actualidad Idebio S.L continúa investigando para mejorar el control biológico

en invernaderos además de la realización de pruebas contra otras plagas de interés como *Rhynchophorus ferrugineus*, *Pay-sandisia archon* y *Psylla pyri*.

### Inconvenientes para el desarrollo del producto en el futuro

No tiene efecto choque, como los productos químicos, a los que los agricultores están acostumbrados. Ésto genera en ellos una situación de desconfianza unido a la poca información sobre estos nuevos productos biológicos.

La recuperación en el caso de los árboles frutales después de un ataque por parte de la plaga empieza a ser visible después



Ciclo del escarabajo parasitado.

de un año. En algunos casos, los agricultores no esperan el tiempo necesario y vuelven

al uso de productos químicos aunque no obtengan buenos resultados.

**Calidad, Diseño y Productividad al alcance del Agricultor**

**Invernaderos**

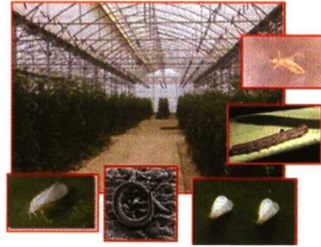
**BUREAU VERITAS**

**Coinsa**

Ctra. Balsicas - San javier, Km. 19  
30591 Balsicas (Murcia)  
Tel.: +34 968 581 130  
Fax: +34 968 580 119

info@e-coinsa.com • http://www.e-coinsa.com

**BIOREND®**



**Ciclo de vida de los nematodos entomopatógenos.**

Bajo conocimiento sobre este tipo de productos biológicos unido además a que es necesario cierto conocimiento sobre el ciclo de vida de las plaga, cultivo... En este caso, las aplicaciones no son sistemáticas como en el caso de los productos químicos.

El nivel de tolerancia para algunas plagas en invernaderos es cero, como en el caso de insectos transmisores de virus. Actualmente se utilizan sistemáticamente mezclas de 4 o 5 productos químicos distintos sin buenos resultados y generando además resistencias en los insectos imposibilitando así que se puedan establecer insectos auxiliares. No es fácil cambiar estos hábitos y mentalidad.

En Almería los invernaderos están tan juntos y no muy bien conservados, por lo que la presión de plaga es muy elevada creando interferencias con los invernaderos vecinos.

Todavía hoy, el control biológico es más caro que el control químico, pero los agricultores no reciben más por producir productos biológicos, aunque el consumidor final si encuentra diferencias en los precios de estos productos, siendo generalmente mas caros los biológicos.

No hay todavía una alta demanda de estos productos por los consumidores debido a la

**Plagas controladas por Biorend® en invernaderos.**

baja información de los problemas de los productos químicos.

**Ventajas para el desarrollo del producto en el futuro**

Es un potente agente de control biológico compatible con productos químicos. Ésto da al producto la oportunidad de que los agricultores lo usen pudiendo, en un principio, combinarlo con sus productos químicos habituales, y una vez que ellos mismos van comprobando su eficacia, ir sustituyéndolos por alternativas biológicas.

Es fácil de usar para los agricultores. Es un producto biológico, no tóxico, no contaminante, exento del requerimiento de tolerancia de acuerdo con la EPA (Environmental Protection Agency).

Este producto está certificado para agricultura biológica por IMO, CAAE.

Admitido por el Ministerio de Agricultura de España como biopesticida, en algunos casos con subvenciones para los agricultores por su uso.

No origina resistencia en las plagas.

**Para saber más...**

- En horticom news, está colgado el artículo completo con más

**Bibliografía**

- Ait Barka, E. Eullaffroy, P. Clément, C. Vernet, G. (2004) Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Rep.*
- Allan, C.R. and Hadwiger, L.A. (1979). The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Exp. Mycol.*, 3:285-287.
- Bitelli, M., Flury, M., Campbell, G.S., and Nichols, E.J. (2001). Reduccion of transpiration through foliar application of chitosan. *Journal of agricultural and forest meteorology* 107, 167-175
- Fernández Rodríguez, E. J. Camacho Ferre, F. Díaz Pérez, M. Gómez Quesada, E.M Carmona Medina, J.J. (2002). Efectos de la aplicación del quitosano (Biorend®) sobre la producción y componentes de rendimiento de pimiento bajo invernadero. Departamento de producción Vegetal. Universidad de Almería. 12º Symposium Internacional. Ecología y producción integrada en cultivos hortícolas de invernadero. *Phytoma*.
- Galed, G. Fernandez-Valle, M.E. Martinez, A. Heras A. (2004). Application of MRI to monitor the process of ripening and decay in citrus treated with chitosan solutions. *Magnetic Resonance Imaging* 22 127-137.
- Hadwinger, L.A and Loschke, D.C. (1981). Molecular communication in host-parasite interactions: Hexosamine polymers chitosan as regulator compounds in race specific and other interactions. *Phytopathology* 71, 756-762.
- Hirano, S. and Nagao, N. (1989). Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens. *Agric. Biol. Chem.*, 53 (11):3065-3066.
- Kloeper, J.W. Reddy, M.S. Rodriguez-Kabana, R., Kenney D,S, Kokalis-Burelle, N. martinez Ochoa. N. Application for Rhizobacteria in transplant production and yield enhancement. XXVI Internacional Horticultural Congress: Issues and Advances in transplant production and Stand Establishment research.
- Lee, S., Choi, H., Suh, S., Doo, Y., Oh K Choi E.J., Schroeder A. T., Low P.S., Lee Y. (1999). Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of active oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. *Plant physiology*, 121, 147-152.
- Magunacelaya, J.C. M. Peña. A (2005) Uso del quitosano para el control de enfermedades y nematodos fitoparasitos. Univerisidad de Chile. Facultad de ciencias agronómicas. Digital book: Control biológico e integrado de enfermedades y nematodos en frutales y hortalizas.
- Muzzarelli Ricardo A.A. (2001). Biocontrol harvest Chitin enzymology 121-210.
- Walker-Simmons, Mary and Clarence A. Ryan. (1984) Proteinase Inhibitor Synthesis in Tomato Leaves Induction by Chitosan Oligomers and Chemically Modified Chitosan and Chitin. *Plant Physiol.* 1984 November; 76(3): 787-790.
- Walker-Simmons, M., Jin, D. West, C.A., Hadwiger, L. and Ryan. C.A. (1984). Comparison of proteinase inhibitor-