

## HÁBITOS DE ALIMENTACIÓN DE *Sancassania mycophaga* (= *Caloglyphus mycophagus*) (ACARI: ACARIDAE) SOBRE LOS NEMATODOS *Haemonchus contortus* (L<sub>3</sub>) Y *Panagrellus redivivus*

✉ Lilitiana Aguilar-Marcelino<sup>1\*</sup>, María Teresa Quintero-Martínez<sup>2</sup>, Pedro Mendoza-de-Gives<sup>1</sup>, Carlos Ramón Bautista-Garfias<sup>1</sup>, María Eugenia López-Arellano<sup>1</sup>, David Emanuel Reyes-Guerrero<sup>1</sup>.

Unidad de Helminología, CENID-PARASITOLOGÍA VETERINARIA, INIFAP. Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla. No. 8534, Jiutepec, Mor., C.P. 62550, México<sup>1</sup>. Laboratorio de Parasitología, FMVZ-UNAM, Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, CP 04510, México<sup>2</sup>.

✉ Correo: aguilar.lilitiana@inifap.gob.mx

**RESUMEN.** Se determinó la actividad de alimentación *in vitro* del ácaro *Caloglyphus mycophagus* sobre larvas infectantes (L<sub>3</sub>) del nematodo parásito de ovinos *Haemonchus contortus*, así como en el nematodo de vida libre *Panagrellus redivivus*. Se adicionaron 1000 nematodos de cada especie y 2 ácaros en cajas Petri (2 cm de diámetro x 1 cm altura)(n=10), durante 5 días a temperatura de laboratorio (28 °C). Los nematodos fueron cuantificados y se realizó una comparación con un grupo control (sin ácaros). Los resultados se presentan en porcentaje de reducción. Se obtuvo un 81% de reducción de la población de *H. contortus* (L<sub>3</sub>) y un 100% la población de *P. redivivus*. Los resultados sugieren que *C. mycophagus* puede ser un candidato potencial para el control biológico del nematodo parásito de ovinos *H. contortus*.

**Palabras Clave:** ácaros nematófagos, nematodos, control biológico.

### Feeding habits of *Sancassania mycophaga* (= *Caloglyphus mycophagus*) (Acari: Acaridae) on *Haemonchus contortus* (L<sub>3</sub>) and *Panagrellus redivivus*

**ABSTRACT.** The feeding activity *in vitro* of the mite *Caloglyphus mycophagus* on *Haemonchus contortus* infective larvae (L<sub>3</sub>) and on a mixed stage population of the free-living nematode *Panagrellus redivivus*, was evaluated. The confrontation was carried out into Petri dishes (2 cm diam x 1 cm high) (n=10). One thousand nematodes of each specie and 2 mites were put into each plate, for 5 days at room temperature (28 °C). Nematodes were quantified and a comparison with respect to a control group (without mites) was carried out. Results were expressed as a reduction percentage. The *H. contortus* larvae population was reduced to 81%; meanwhile, 100% reduction was recorded with *P. redivivus*. These results suggest that *C. mycophagus* can be considered as a potential candidate for trials of biological control of *H. contortus*.

**Key words:** nematophagous mites, nematodes, biological control.

## INTRODUCCIÓN

El nematodo parásito de ovinos *H. contortus* es hematófago y tiene un impacto negativo en la ganadería (Liébano-Hernández *et al.*, 2011). El método de control es el uso de productos de origen químico; sin embargo, se ha generado el fenómeno de la resistencia antihelmíntica (Torres-Acosta *et al.*, 2012), residualidad en carne y leche, contaminación del medio ambiente y daño a organismos benéficos (Márquez-Lara, 2008). En la naturaleza existen diversos antagonistas naturales de nematodos como hongos nematófagos, bacterias, nematodos caníbales, protozoarios, virus y ácaros que son interesantes en los sistemas de producción orgánica como herramientas útiles en el control de plagas agropecuarias (Bilgrami, 1994; 2008). El ácaro *C. mycophagus* vive en el suelo, se alimenta de restos de plantas en descomposición, hongos,

nematodos fitopatógenos, se ha observado invadiendo cuerpos en descomposición de aves e insectos atribuyéndoles hábitos foréticos con la mosca domestica (*Musca domestica* L.) (Chmielewski, 2003). Con base en lo anterior, en el presente estudio se evaluaron los hábitos de alimentación de *C. mycophagus* sobre los nematodos *P. redivivus* (todos los estadios evolutivo) y larvas de *H. contortus* (L<sub>3</sub>).

## MATERIALES Y MÉTODO

### Localización

El presente estudio se llevó a cabo en la Unidad de Helminología del Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ubicado en Jiutepec, Morelos, México y en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México ubicado en Ciudad Universitaria Coyoacán, Distrito Federal, México.

### Material biológico

Los ácaros fueron aislados a partir de muestras de suelo y hojarasca, provenientes del poblado de San Juan Tlacotenco, Morelos, México, (Fig. 1) y transportadas en bolsas de plástico al laboratorio de Helminología del CENID-PAVET, INIFAP. Éstos fueron transferidos a placas de Petri (PP) (60x15 mm) conteniendo medio agua-agar al 5% y se agregaron nematodos *P. redivivus* como fuente principal de alimento, para facilitar su reproducción e incrementar la población.

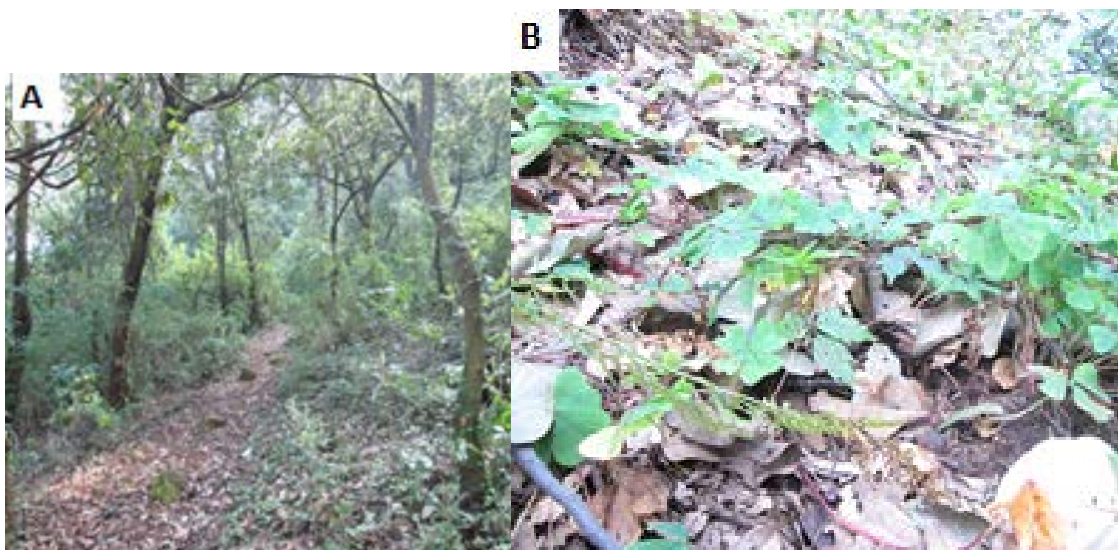


Figura 1. A) Aspecto del ecosistema del poblado de San Juan Tlacotenco, Morelos, México y B) colecta de muestras de suelo para el aislamiento de ácaros nematófagos.

Se realizaron transferencias de ácaros cada siete días a PP conteniendo agar estéril al 5%, con la finalidad de obtener una colonia pura de ácaros (Fig. 2). Se colocaron cinco ácaros en un portaobjetos para su montaje y utilizando el medio Hoyer (Faraji y Karg, 2006) para su identificación morfológica, se revisaron un total de 20 laminillas. De manera general los ácaros fueron examinados con un microscopio de contraste de fases (40X y 100X). Para la

identificación taxonómica de los ácaros se utilizaron las claves de Hughes (1976). Las preparaciones de los ácaros se encuentran en la Unidad de Helmintología del CENID-PAVET, INIFAP. Los cultivos de ácaros fueron mantenidos a temperatura ambiente, bajo condiciones de oscuridad.

### Nematodos

#### *Haemonchus contortus* (Trichostrongylidae)

Se inoculó un ovino vía oral con una dosis de 350 HcL<sub>3</sub>/kg de peso. Después de 21 días, las heces fueron colectadas directamente del recto del ovino infectado. Se utilizó la técnica de McMaster para observar la presencia de huevos de nematodos como también estimar el número de huevos eliminados por gramo de heces y se elaboraron cultivos fecales. El material fecal fue macerado y mezclado después se incorporó en agua seis días, finalmente las HcL<sub>3</sub> fueron recuperadas de los cultivos fecales utilizando la técnica del embudo de Baermann por 12 h (Liébano-Hernández *et al.*, 2011).



Figura 2. Fotografía mostrando el ácaro *Caloglyphus mycophagus* (4X) en cultivo *in vitro* en una placa de Petri con medio agua-agar al 5%.

#### *Panagrellus redivivus* (Panagrolaimidae)

Los nematodos fueron cultivados en recipientes de plástico empleando hojuelas de avena y agua como sustrato (De Lara *et al.*, 2007). Algunos nematodos fueron transferidos al sustrato. Los recipientes fueron cubiertos con una tapa de aluminio con una ventana de malla de tela fina. Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente (25-30 °C).

### Diseño experimental

El experimento (ácaros/nematodos) fue realizado en PP (2 cm de diámetro y 1 cm de alto). Las PP (placas de Petri) contenían medio agua-agar al 5%. Se establecieron cuatro tratamientos. El tratamiento 1 (grupo testigo) se adicionaron 1000 HcL<sub>3</sub>; el tratamiento 2 (grupo testigo) se adicionaron 1000 larvas de *P. redivivus*; el tratamiento 3 (grupo tratado) se adicionaron 1000 HcL<sub>3</sub> y 5 ácaros adultos de *C. mycophagus*; el tratamiento 4 se adicionaron 1000 larvas de *P. redivivus* y 5 ácaros adultos de *C. mycophagus* (n=10). Diariamente se llevaron a cabo observaciones de las PP, utilizando un microscopio (4X). El experimento duró 5 días. Posteriormente, se retiraron los ácaros de cada placa de Petri (tratamientos). Los nematodos se recuperaron lavando cada PP con agua destilada, el líquido se almacenó en tubos Eppendorf de plástico de 1.5 mL. La cuantificación de los nematodos se realizó tomando 10 alícuotas de 5 µL cada una y se colocaron en un portaobjetos de vidrio para observarse en un microscopio óptico (10X). Los hábitos alimenticios del ácaro fueron registrados. El porcentaje de reducción de la población de nematodos por la acción de *C. mycophagus* fue estimada utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{mortalidad} = \frac{\bar{X} \text{ testigo} - \bar{X} \text{ tratado}}{\bar{X} \text{ testigo}} \times 100$$

Dónde:

Grupo testigo=Media de grupo control de nematodos recuperados;

Grupo tratado = Media del grupo tratado de nematodos recuperados;

### Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante un ANOVA, considerando el valor promedio de los nematodos recuperados en cada grupo como la variable/respuesta, posteriormente se realizó una prueba de medias Tukey (SAS Institute, 1998).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

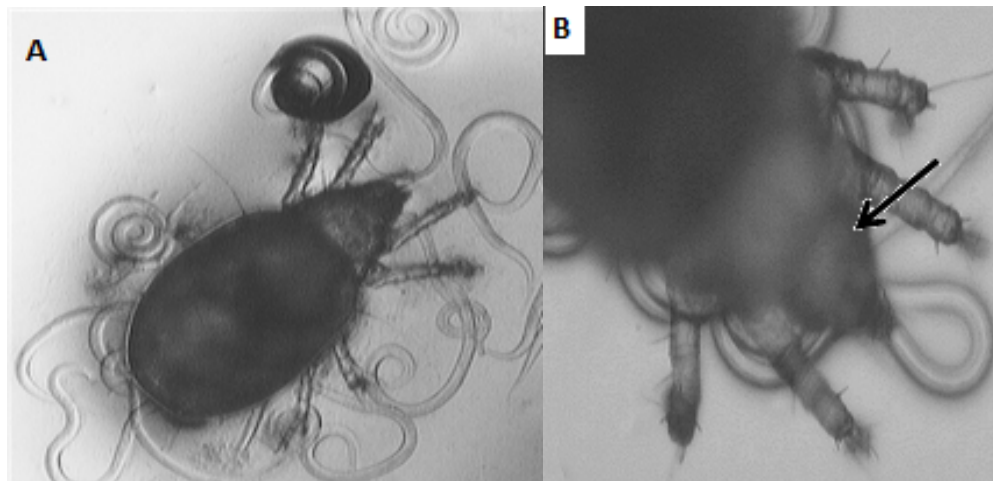
Las características morfológicas del ácaro aislado, concuerdan con la descripción por Krantz en 1975. El promedio de los nematodos recuperados de *H. contortus* y *P. redivivus* así como los porcentajes de reducción del número de nematodos por el efecto depredador de *C. mycophagus* se muestran en el cuadro 1. Los resultados del tratamiento 3 y 4, muestran los promedios y porcentajes de reducción de la población de nematodos de 81 y 100% para las especies de *H. contortus* y *P. redivivus*.

Cuadro 1. Promedios y desviación estándar de nematodos de dos especies, recuperados después de 5 días de interacción *in vitro* con el ácaro *Caloglyphus mycophagus* y porcentajes de reducción.

Nematodo	Testigo	Grupo	Grupo	% de reducción de larvas
		Tratado	Tratado	
		$\bar{x} \pm (\text{D.E})$	$\bar{x} \pm (\text{D.E})$	
<i>H. contortus</i>		439 $\pm$ (107.75)	83 $\pm$ (35.92)	81% <sup>b</sup>
		CV= 24.54%	CV=43.27%	
<i>P. redivivus</i>		763 $\pm$ (419.25)	0 $\pm$ (0)	100% <sup>a</sup>
		CV=54.95%	CV=0%	

n=10,  $\bar{x}$ =promedio, D.E= Desviación estándar, CV=Coeficiente de variación.

Letras iguales en la misma columna indican que los valores no difieren estadísticamente, según procedimiento de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).



La Fig. 3 muestra una secuencia fotográfica sobre la actividad depredadora del ácaro *C. mycophagus* sobre larvas infectantes de *H. contortus*. A) Alimentación del ácaro *Caloglyphus mycophagus* sobre larvas infectantes del nematodo *Haemonchus contortus*. B) Con una flecha se señala la captura de una larvas de *H. contortus* (L<sub>3</sub>) por un ácaro *C. mycophagus* para posteriormente alimentarse de él.



El uso de antagonistas naturales de nematodos parásitos está ganando interés en el control de plagas agrícolas y de enfermedades en la ganadería, debido al uso indiscriminado de plaguicidas y productos de origen químico para el control de estos nematodos (Márquez-Lara, 2008).

El primer registro de un ácaro alimentándose de nematodos fue reportado por Linford y Oliveria en 1938, donde observaron una actividad depredadora del ácaro *Tyrophagus putrescentiae* (Sarcoptiformis: Acaridae) sobre nematodos agalladores (*Meloidogyne* spp.). Por otro lado, Rodríguez *et al.* (1962) reportaron esta actividad depredadora en *Macrocheles muscadomestica* sobre el nematodo bacteriófago *Rhabditis* sp. Los antagonistas naturales de los nematodos están considerados como agentes potenciales de control biológico de plagas agropecuarias. Los ácaros nematófagos presentan un hábito alimenticio contra nematodos parásitos de plantas (Bilgrami, 1994, 2008).

Aguilar-Marcelino *et al.* (2014) determinaron el porcentaje *in vitro* de la reducción de las larvas infectantes de *H. contortus* y los nematodos de vida libre *P. redivivus* y *Rhabditis* sp. por el ácaro *Lasioseius penicilliger*, los resultados de la reducción de la población de los nematodos para *H. contortus* fue de un 74.5%, *P. redivivus* un 78.8% y *Rhabditis* sp. con un 68.9%, siendo el primer registro sobre el ácaro *L. penicilliger* alimentados de nematodos parásitos de animales.

García-Ortiz *et al.* (2015), evaluaron la capacidad de depredación *in vitro* del ácaro *L. penicilliger* sobre nematodos de tres diferentes grupos taxonómicos: *Teladorsagia circumcincta* (L<sub>3</sub>), *Meloidogyne* sp. y *Caenorhabditis elegans* el porcentaje de reducción de la población de nematodos después de cinco de interacción nematodo-ácaro fue de 95.1, 80.5 y 79.2 para *Meloidogyne* sp. *C. elegans* y *T. circumcincta* (L<sub>3</sub>).

Los ácaros nematófagos se consideran candidatos como antagonistas naturales de nematodos, por la factibilidad para incrementar su población *in vitro*, presenta un ciclo de vida corto, cabe mencionar que aún falta realizar varios estudios *in vitro* y a nivel de campo para evaluar el efecto depredador de *C. mycophagus* sobre diferentes especies de nematodos parásitos.

## CONCLUSIONES

El ácaro *C. mycophagus* aislado del poblado de San Juan Tlacotenco, Morelos, México, muestra un importante hábito depredador *in vitro* sobre los nematodos *Panagrellus redivivus* y *H. contortus* (L<sub>3</sub>).

## AGRADECIMIENTOS.

Los autores agradecen al IBT. Ricardo J. Comans Pérez y al IBT. José Mario Arizmendi López del Área 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.

- Bilgrami, A.L. 1994. Predatory behavior of a nematode feeding mite *Tyrophagus putrescentiae* (Sarcoptiformes: Acaridae). *Fundamental and Applied Nematology*, 17(4): 293-297.
- Bilgrami, A.L. 2008. Biological control potential of predatory nematodes. *In*: Ciancio, A., Mukerji (Eds.) *Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes*. pp 3-28.
- Chmielewski, M. 2003. Effect of buckwheat sprout intake on population increase of *Caloglyphus berleise* (Michael)(Acari:Acaridae). *Fagopyrum*, 20: 85-88.
- 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.
- Faraji, F. and W. Karg. 2006. A new species of *Lasioseius* Berlese from Spain (Acari: Podocinidae). *Mitteilungen aus dem. Museum für Naturkunde in Berlin*, 82(29): 239-242.
- 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 nematodes species: *Teladorsagia circumcincta*, *Meloidogyne* sp. and *Caenorhabditis elegans*. *Veterinaria México OA*, 2(1): 1-8.
- Hughes, A.M. 1976. The mites of stored food and houses. *Tech. Bull. Min. Agric. Fish. Food*. 9. p 400.
- Liébano, E.F., López-Arellano, M.E., Mendoza de Gives, P. y L.M. Aguilar. 2011. Manual de Diagnóstico para la identificación de larvas de 80 nematodos gastrointestinales en rumiantes. *Publicación Especial No. 2. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, INIFAP. Morelos, México*. pp. 1-44.
- Linford, M.B. and J.M. Oliviera. 1938. Potential agent of biological control of plant parasitic nematodes. *Phytopathology*, 28: 14-16.
- Márquez-Lara, D. 2008. Residuos químicos en alimentos de origen animal: problemas y desafíos para la inocuidad alimentaria en Colombia. *Revista Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 9(1): 124-135.
- Rodríguez, T.G., Wade, C.F. and C.N. Wells. 1962. Nematodes as natural food for *Macrocheles muscaedomesticae* (Acarina: Macrochelidae) a predator of the house fly egg. *Annals of the Entomological Society of America*, 55: 507-511.
- SAS, Institute. (1998) *Language guide for personal computer release*. 6.03 Edition. SAS Institute. Cary. North Carolina, USA. 1028.
- Torres-Acosta, J.F.J., Mendoza, P., Aguilar-Caballero, A.J. and I.A. Cuéllar-Ordaz. 2012. Anthelmintic resistance in sheep farms: update of the situation in the American continent. *Veterinary Parasitology*, 189(1): 89-96.