

EVALUACIÓN *in vitro* DE *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (ASTIGMATINA: ACARIDAE) CONTRA LOS NEMÁTODOS *Haemonchus contortus* (Rudolph) (L₃) Y *Panagrellus redivivus* (Goodey)

Gabriela González-Juárez^{1,2}, Liliana Aguilar-Marcelino¹✉, Gloria Sarahí Castañeda-Ramírez² y Guillermo López-Guillén³

¹Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP, Km 11 Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla, N°. 8534, C. P. 62550, Jiutepec, Estado de Morelos, México.

²Universidad Mesoamericana. Privada de Acacias, 201. La pradera, C. P. 62170. Cuernavaca Morelos, México.

³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas, C. P. 30780, Mexico.

✉ Autor de correspondencia: aguilar.liliana@inifap.gob.mx

RESUMEN. La parasitosis ocasionada por el nematodo de ovinos *Haemonchus contortus* (Rudolph) causa pérdidas económicas importantes en el mundo. El control convencional de este parásito se hace por medio de productos químicos que trae como consecuencia efectos adversos en el ambiente y la salud. Por lo que el control biológico es una alternativa deseable para el control de *H. contortus*. La capacidad depredadora del ácaro *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) se ha evaluado escasamente contra nematodos parásitos de ovinos. Por tal motivo, en el presente estudio se evaluó la capacidad depredadora del ácaro *T. putrescentiae* contra *H. contortus* (L₃) y *Panagrellus redivivus* en condiciones *in vitro*. Los resultados mostraron que el ácaro depredador *T. putrescentiae* redujo el número de larvas de nematodos *H. contortus* y *P. redivivus* (Goodey), hasta en 81.83 y 73.88 %, respectivamente a las 120 h.

Palabras clave: Biocontrol, antagonistas naturales, ácaros nematófagos, nematodos parásitos de ovinos.

In vitro assessment of *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (Astigmata: Acaridae) against the nematodes *Haemonchus contortus* (Rudolph) (L₃) and *Panagrellus redivivus* (Goodey)

ABSTRACT. The parasitosis caused by the parasitic nematode of sheep *Haemonchus contortus* (Rudolph) causes significant economic losses in the world. The conventional control of this parasite is done by means of chemical products that bring adverse effects on the environment and health. Thus, biological control is a desirable alternative for the control of *H. contortus*. The predatory capacity of the *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) mite has been poorly evaluated against parasitic nematodes of sheep. For this reason, the present study evaluated the predatory capacity of the *T. putrescentiae* mite against *H. contortus* (L₃) and *P. redivivus* under *in vitro* conditions. The results showed that the predatory mite *T. putrescentiae* reduced the number of *H. contortus* and *P. redivivus* (Goodey) nematode larvae, up to 81.83 and 73.88 %, respectively at 120 h.

Keywords: Biocontrol, Natural antagonists, Nematophagous mites, Parasitic nematodes of sheep.

INTRODUCCIÓN

El nemátodo *Haemonchus contortus* (Rudolph) (Nematoda: Trichostrongylidae), es un parásito abomasal que causa grandes pérdidas económicas para los productores de ovinos en todo el mundo. Este parásito se controla por medio de productos de origen químico. Sin embargo, se ha generado resistencia antihelmíntica (Torres-Acosta *et al.*, 2012), residualidad en carne y leche, contaminación del medio ambiente y daño a organismos benéficos, tales como los escarabajos estercoleros, lombrices de suelo y ácaros nematófagos (Márquez-Lara, 2008). Actualmente se han buscado métodos alternativos de control contra estos parásitos, uno de estos métodos utilizado es el control biológico o biocontrol.

En la naturaleza existen diversos antagonistas naturales de nematodos, tales como bacterias, nematodos depredadores, insectos, protozoarios, virus, hongos nematófagos y ácaros que son interesantes para el control de plagas agropecuarias y de importancia veterinaria (Bilgrami, 1994;

2008; Ramírez-Barquín, 2020). El ácaro *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) ha sido reportado como un agente de control biológico, tiene buena capacidad depredadora, pues se alimenta de diferentes estadios de insectos y microorganismos (Christian y Karg, 2006). En este contexto, es importante estudiar el potencial depredador de *T. putrescentiae* contra nemátodos parásitos de animales e insectos causantes de plagas de productos almacenados. El objetivo de este trabajo fue evaluar en condiciones in vitro, la actividad depredadora del ácaro *T. putrescentiae* sobre los nemátodos *Haemonchus contortus* y *Panagrellus redivivus* (Goodey).

MATERIALES Y MÉTODO

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Helmintología, del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad (CENID-SAI) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), localizado en Jiutepec, Morelos, México.

Material biológico. El aislamiento de *T. putrescentiae* pertenece al laboratorio del CENID-SALUD ANIMAL E INOCUIDAD-INIFAP. Esta cepa fue obtenida a partir de cultivos de hongos en el año 2013. Se utilizaron cajas de Petri (60 x 15 mm) conteniendo medio agua-agar al 5 %, se realizaron pases cada siete días con la finalidad de obtener una colonia pura de ácaros.

Posteriormente, se adicionó un número indeterminado de especímenes de vida libre de nemátodos *P. redivivus* como fuente principal de alimento para facilitar su reproducción e incrementar la población (Aguilar-Marcelino *et al.*, 2014). Los cultivos de ácaros se mantuvieron a temperatura ambiente (28 ± 2 °C) bajo condiciones de oscuridad. Para la obtención de larvas infectantes (HcL3) de *H. contortus*, se seleccionó un ovino macho de tres meses de edad y libre de parásitos. El ovino fue infectado por vía oral con 350 larvas (L3) por kg de peso vivo. El animal fue mantenido bajo condiciones controladas de alojamiento y alimentación ad libitum en las instalaciones del CENID-SAI, del INIFAP. A los 21 días post infección, se recolectaron las heces en una palangana y se realizaron coprocultivos (Liébano-Hernández, 2011). A los siete días de haber realizado el coprocultivo se recuperaron las larvas por la técnica del embudo de Baermann.

Por otro lado, se empleó una cepa del nematodo de vida libre *P. redivivus*, proporcionada por el Dr. Roberto de Lara, de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM, Campus Xochimilco, México). Los nemátodos fueron cultivados en recipientes de plástico empleando hojuelas de avena comercial y agua como sustrato. Las hojuelas de avena y el agua se mezclaron y se esterilizaron en un horno de microondas por 5 min (De Lara *et al.*, 2007).

Algunos nemátodos fueron transferidos al medio de avena (temperatura ambiente). Los recipientes se cubrieron con una tapa de aluminio con una ventana de malla de tela fina para permitir la oxigenación y evitar la entrada de insectos. Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente (28 ± 2 °C). Después de una semana la población de nemátodos se incrementó de manera considerable.

Diseño experimental. El experimento se realizó en cajas de Petri (PP) (2 cm de diámetro x 1 cm de altura). Las PP contenían medio agua-agar al 5 %. Se establecieron cuatro tratamientos que consistieron en cuatro grupos y se dividieron en tres tiempos (24, 48 y 120 h). Grupo 1 (control), consistió en 500 larvas infectantes (L3) de *H. contortus*; Grupo 2 (control), consistió de 500 larvas del nematodo de vida libre *P. redivivus*; Grupo 3 (grupo tratado), se adicionaron 500 larvas infectantes (L3) de *H. contortus* y dos ácaros adultos de *T. putrescentiae*; Grupo 4 (grupo tratado), se adicionaron quinientas larvas de *P. redivivus* y dos ácaros adultos de *T. putrescentiae* ($n = 8$).

Diariamente se llevó a cabo observaciones de las PP, utilizando un microscopio estereoscópico. El experimento duró cinco días (120 h), posteriormente se retiraron los ácaros de cada PP

(tratamientos). Los nematodos se recuperaron con ayuda de una pizeta con agua destilada, el líquido que contenía a las larvas se almacenó en tubos de plástico de 15 ml, posteriormente los tubos se centrifugaron a 1500 rpm durante 3 min. Una vez que los nematodos se sedimentaron, se eliminó el sobrenadante para obtener un volumen final de 0.5 ml, los cuales se almacenaron en tubos Eppendorf de 2 ml.

El porcentaje de reducción de la población de nematodos por la acción del ácaro depredador *T. putrescentiae* fue estimada utilizando la siguiente fórmula: porcentaje de reducción = promedio grupo tratado-promedio grupo control / promedio grupo tratado x 100.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El promedio de las larvas recuperadas de *H. contortus*, así como los porcentajes de reducción por el efecto depredador del ácaro *T. putrescentiae*, se muestran en el Cuadro 1. El porcentaje más alto de reducción de nematodos *H. contortus* por *T. putrescentiae* fue de 81.37 % a las 120 h. Mientras que el porcentaje más alto de reducción de nematodos *P. redivivus* por *T. putrescentiae* fue de 73.88 % a las 120 h.

Cuadro 1. Tiempo de exposición, promedio de larvas recuperadas (\pm desviación estándar) y porcentajes de reducción (%) de los nematodos *H. contortus* (L3) y *P. redivivus* recuperados después de 120 h de exposición al ácaro depredador *T. putrescentiae* en condiciones in vitro.

Tiempo de exposición (h)	Promedio de GC	Promedio de GT	% de reducción del GC	% de reducción del GC
<i>H. contortus</i>				
24	102 \pm 17.50	49 \pm 17.35	48.03	51.96
48	102 \pm 20.57	40 \pm 15.39	39.21	60.78
120	102 \pm 26.40	19 \pm 10.94	18.62	81.37
<i>P. redivivus</i>				
24	102 \pm 19.85	51 \pm 20.24	50.00	50.00
48	103 \pm 21.54	45 \pm 19.61	43.68	56.31
120	134 \pm 27.56	35 \pm 16.34	26.11	73.88

GC = Grupo control; GT = Grupo tratado.

En la Figura 1, se muestra una secuencia fotográfica de la depredación sobre los nematodos *H. contortus* y *P. redivivus* por *T. putrescentiae*. Se observa como el ácaro depredador *T. putrescentiae* captura y se alimenta de larvas del nematodo *H. contortus* y *P. redivivus*, respectivamente.

En este trabajo se reporta por primera vez la capacidad depredadora del ácaro *T. putrescentiae* sobre larvas infectantes (L₃) de *H. contortus*. Anteriormente, Aguilar-Marcelino (2012) reportó la actividad depredadora de los ácaros *Lasioseius penicilliger* Berlese (Mesostigmata: Ascidae) y *Caloglyphus mycopaghus* (Megnin) (Astigmatina: Acaridae) sobre larvas infectantes (L₃) de *H. contortus*. Los porcentajes de reducción de nematodos *H. contortus* y *P. redivivus* por el ácaro depredador *T. putrescentiae*, que se encontraron en la presente investigación, son similares a los reportados para el ácaro depredador *C. mycophagus* sobre larvas infectantes (L₃) del nematodo *H. contortus* y *P. redivivus* (de vida libre), los cuales fueron mayores al 80 % (Aguilar-Marcelino et

al., 2015). Cruz *et al.* (2012), también reportaron el potencial depredador de *T. putrescentiae* sobre larvas de *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae), una plaga de importancia económica de *Nicotiana tabacum* L. en almacén. Los investigadores encontraron hasta 78 % de mortalidad de larvas de *L. serricone* en presencia de *T. putrescentiae*.

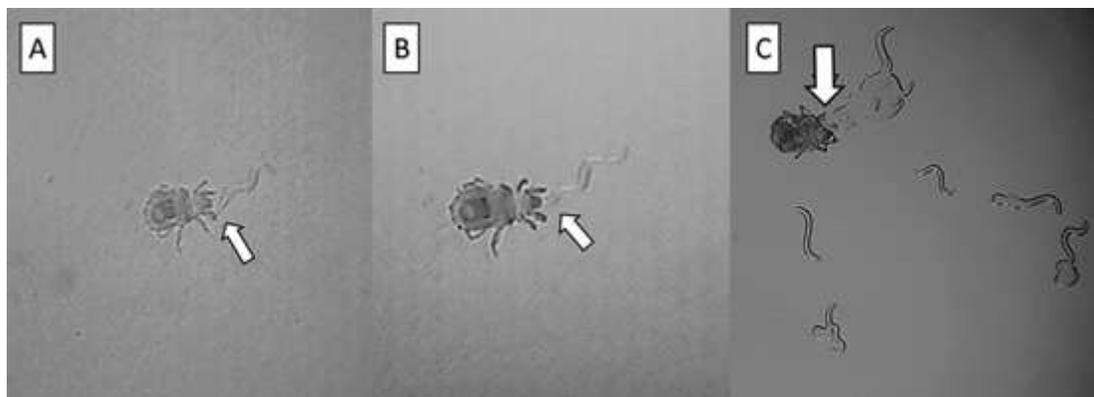


Figura 1. Ácaro *T. putrescentiae* capturando a una larva de *P. redivivus* (A). Ácaro *T. putrescentiae* alimentándose de una larva de *P. redivivus* (B). Ácaro *T. putrescentiae* alimentándose de larvas

Los ácaros nematófagos son organismos que representan múltiples ventajas para el control biológico de nematodos parásitos de ovinos particularmente *H. contortus*. El método de control biológico por medio de ácaros nematófagos contra nematodos gastrointestinales de pequeños rumiantes, es una alternativa sustentable y promisorio para su uso y aplicación en la ovinocultura.

CONCLUSIÓN

El ácaro *T. putrescentiae* presentó una importante actividad depredadora en condiciones in vitro sobre los nematodos *H. contortus* y *P. redivivus*.

Agradecimientos

El presente estudio fue financiado parcialmente por el proyecto de Recursos fiscales del INIFAP con número 834432984.

Literatura Citada

- Aguilar-Marcelino, L. 2012. *Microorganismos con uso potencial contra el nematodo de ovinos Haemonchus contortus*. Tesis de Doctorado, Colegio de Postgraduados. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Texcoco, Edo. De México. México. 178 pp.
- 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., Cid del-Prado, I.V. (2014). Evaluation of predation of the mite *Lasioseius penicilliger* (Arachnida: Mesostigmata) on *Haemonchus contortus* and bacterial feeding nematodes. *Journal of Helminthology*, 88(1): 20-3. DOI: 10.1017/S0022149X12000624
- Aguilar-Marcelino, L., Quintero-Martínez, M.T., Mendoza-de-Gives, P., Bautista-Garfias, C.R., López-Arellano, M.E. y Reyes-Guerrero, D.E. 2015. Hábitos de Alimentación de *Sancassania mycophaga* (*Caloglyphus mycophagus*) (Acarí: Acaridae) sobre los Nematodos *Haemonchus contortus* (L3) y *Panagrellus redivivus*. *Entomología mexicana*. Pp. 200-205. Recuperado de <http://www.entomologia.socmexent.org/volumen.html>
- Bilgrami, A.L. 1994. Predatory behavior of a nematode feeding mite *Tyrophagus putrescentiae* (Sarcoptiformes: Acaridae). *Fundamental and Applied Nematology*, Pp: 293-297. Recuperado de <https://core.ac.uk/reader/39856284>

- 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. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6063-2_1
- Christian, A. y Karg, W. 2006. The predatory mite *Lasioseius* Berlese, 1916 (Acari, Gamasina). *Journal Abhandlungen Berichte Naturkundemus Gorlitz*, ISSN 0373-7586 Pp: 99-250.
- Cruz, C.G. Rezende, F., Silva, R., Braga da Faroni, L., Rita, D.A., Zanuncio, J.C., Papadopoulou, S., Serrão, J.E. 2012. Potential of *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (Astigmata: Acaridae) for the Biological Control of *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, ISSN: 1516-8913. Pp: 299-303
- 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*, Pp: 29-36. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572007000100004>.
- Liébano-Hernández E., 2011. Manual de diagnóstico para la identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales en rumiantes. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México, Pp. 1-42.
- 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*, ISSN: 0122-8706. Pp: 124-135. https://doi.org/10.21930/rcta.vol9_num1_art:112.
- Ramírez-Barquín S, 2020. Evaluación del extracto hidroalcohólico del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* contra *Hymenolepis nana* utilizando ratones como modelo en vivo de estudio. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México, México. pp 15-35.
- Torres.Acosta, J.F., 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. DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.03.037