

Cultivo *in vitro* de ácaros nematófagos *Lasioseius penicilliger* y *Caloglyphus mycophagus* como agentes de biocontrol

In vitro culture of nematophagous mites *Lasioseius penicilliger* and *Caloglyphus mycophagus* as biocontrol agents

LILIANA AGUILAR-MARCELINO^{1*}, PEDRO MENDOZA-DE GIVES¹, MARÍA TERESA QUINTERO-MARTÍNEZ²,
MARÍA EUGENIA LÓPEZ-ARELLANO¹, CARLOS RAMÓN BAUTISTA-GARFÍAS¹,
DAVID EMANUEL REYES-GUERRERO¹ Y AGUSTÍN OLMEDO-JUÁREZ¹

¹ Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria, INIFAP.

Carr. Fral. Cuernavaca-Cuautla N° 8534, Col. Progreso, Municipio de Jiutepec, Mor. C.P. 62550, México. Tel. 01800-088-2222, ext. 80419

² Departamento de Parasitología, Laboratorio de Acarología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, Circuito Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, C.P. 04510, México.

*Correo electrónico: aguilar.liliana@inifap.gob.mx

ENVIADO EL 11 DE AGOSTO DE 2015/ ACEPTADO EL 17 DE AGOSTO DE 2015

RESUMEN

El uso de antagonistas naturales de nematodos ha atraído la atención de investigadores en la búsqueda de un método alternativo de control biológico que permita disminuir las cargas parasitarias del ganado a niveles que no afecten la producción animal. Existe una larga lista de microorganismos que han sido identificados como enemigos naturales de nematodos e incluyen virus, protozoarios, platelmintos, insectos, tardígrados, nematodos depredadores de otros nematodos, bacterias, hongos nematófagos y ácaros. El presente estudio, fue diseñado para establecer un método para cultivar dos ácaros nematófagos *Lasioseius penicilliger* y *Caloglyphus mycophagus* como agentes de control biológico bajo condiciones de laboratorio. La tasa de depredación y el incremento poblacional fueron evaluados sobre el nematodo de vida libre *Panagrellus redivivus* en cultivos de agar agua con diferentes colores. Asimismo, se reporta el número de generaciones de ácaros *L. penicilliger* producidas desde el año 2009 y *C. mycophagus* desde 2013 hasta la fecha. Los resultados muestran 100% de actividad depredadora en todos los medios con diferentes colores evaluados. En total después de 14 días de incubación, cuarenta ninfas y 17 ácaros adultos fueron recuperados en promedio de un total de 5 adicionados inicialmente. El color rojo promovió la reproducción de *L. penicilliger*. Estos resultados pueden ser cruciales para futuros estudios enfocados a evaluar el uso potencial de ácaros en el control de nematodos parásitos de animales.

Palabras clave: Ácaros depredadores, nematodos parásitos, control biológico.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos gastrointestinales (ngi) parásitos son responsables de enfermedades graves de los animales y son una de las principales preocupaciones en la industria ganadera; por ejemplo, *Haemonchus contortus* y *Teladorsagia circumcincta* son considerados como los nematodos parásitos económicamente más importantes de ovinos en las regiones tropicales y templadas frías. (Zainalabidin et al., 2015)

En años recientes se han estimado pérdidas asociadas a la presencia de parásitos en los animales de interés zootécnico a nivel mundial, lo

ABSTRACT

The use of natural nematode antagonists is gaining the attention of researchers looking for an alternative method of biological control that allows lowering the animal's parasitic burdens at levels that do not affect animal production. The identified natural nematode enemies include a long list of microorganisms ie. virus, protozoa, plathelminths, insects, tardigrades, nematode predatory nematodes, bacteria, nematophagous fungi and mites. The present study was designed to establish a method to cultivate two nematophagous mites, *Lasioseius penicilliger* and *Caloglyphus mycophagus*, as biocontrol agents under laboratory conditions. The predation rate and the population increase of *L. penicilliger* were evaluated on the free-living nematode *Panagrellus redivivus* in different colour water agar cultures. Also, the number of generations produced in vitro for *L. penicilliger* since 2013 and for *C. mycophagous* since 2009 to present, is reported. Results show 100 percent predatory activity in all the colour agar media assessed and 40 nymphs and 17 adult mites were obtained as an average. Red colour promoted the reproduction of *L. penicilliger*. These results may be crucial for further studies focused on evaluating the potential use of mites in the control of animal parasitic nematodes.

Key words: predatory mites, parasitic nematodes, biological control.

que representa el 10% del valor de la producción. (Orihuela y Vázquez-Prats, 2009).

Se ha notificado que el nematodo *Haemonchus contortus* presenta una prevalencia a nivel nacional de 37% en abomaso de ovinos (González-Garduño et al., 2011) y 88,86% en Malasia (Zainalabidin et al., 2015). Por esta razón, el hombre ha utilizado diferentes productos químicos para el control de nematodos parásitos; sin embargo, el uso constante de medicamentos contra dichos parásitos ha generado el desarrollo de resistencia antihelmíntica. (Encalada-Mena et al., 2014; Becerra-Nava et al., 2014; Van den Broom et al., 2015)

Entre los diferentes métodos de control de los ngi que han estudiado se encuentra el con-

trol biológico (Mendoza de Gives et al., 2006). Este método utiliza antagonistas naturales que comúnmente se encuentran en el ambiente, como: virus, insectos, turbelarios, bacterias, protozoarios, tardígrados, nematodos depredadores de otros nematodos, hongos nematófagos y ácaros. (Bilgrami, 1994; Bilgrami, 2008; Mendoza de Gives-Torres-Acosta, 2012)

Los ácaros son artrópodos que pertenecen a la familia de los arácnidos (Arachnida: Acari) y subclase Acari y se dividen en diversos órdenes, Ixodida, Mesostigmata, Trombidiformes y Sarcotiformes (Lindquist et al., 2009) y en cada orden se encuentran varias subórdenes, familias, géneros y especies; constituyen el grupo más diverso y en la actualidad se han descrito aproximadamente 50 mil especies; sin embargo, se estima que existen cerca de un millón.

Respecto a su morfología los ácaros de los diferentes órdenes poseen tres pares de patas en su fase larval y cuatro en los estadios de ninfas y adulto macho y hembra. (Rodríguez-Vivas et al., 2015)

Actualmente se han notificado dos especies de ácaros que corresponden a *Lasioseius penicilliger* (Aracnida: Mesostigmata) y *Caloglyphus mycophagus* (= *Sancassania mycophaga*) (Acari: Acaridae), ambas consideradas como especies depredadoras de nematodos gastrointestinales parásitos de ovinos (Aguilar-Marcelino et al., 2014; García-Ortiz, 2015). Estas especies pueden encontrarse en una diversidad de sustratos, como en suelos, hojarasca y en asociación con algunos insectos y vertebrados. (Cristian and Karg, 2006)

En la presente investigación se muestran los resultados de las condiciones de cultivo *in vitro* de dichos ácaros y los requerimientos para su mantenimiento en el laboratorio, la determinación de la tasa de consumo de *L. penicilliger*, así como el incremento poblacional del mismo ácaro *in vitro* utilizando como alimento estadios juveniles del nematodo bacteriófago *P. redivivus* con medios de cultivo de diferentes colores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

La presente investigación se llevó a cabo en el Departamento de Helminología del Centro

Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria (CENID-PAVET), del INIFAP, ubicado en Jiutepec, Morelos, México y en el Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (UNAM), ubicado en Coyoacán, Distrito Federal, México.

Aislamiento del ácaro

Lasioseius penicilliger

Los ácaros fueron aislados en el año 2009 a partir de una placa de Petri con agar conteniendo una muestra de suelo proveniente de Martínez de la Torre, Veracruz (México), preparados inicialmente para la obtención de hongos nematófagos.

Los ácaros fueron transferidos a placas de Petri con medio agua-agar al 2%, posteriormente se adicionó un número indeterminado de especímenes de vida libre de nematodos *Rhabditis sp.*, *Panagrellus redivivus* y *H. contortus* (L3) como fuente principal de alimento para facilitar su reproducción e incrementar la población. Se realizaron pases periódicos de ácaros (cada 5 días) a cajas con agar estéril con la finalidad de obtener una colonia pura de ácaros. Los cultivos de ácaros se mantuvieron a temperatura ambiente (28 ± 2) bajo condiciones de oscuridad. (Aguilar-Marcelino et al., 2014)

Aislamiento del ácaro

Caloglyphus mycophagus

Los ácaros fueron aislados en el año 2013 a partir de muestras de hojarasca y suelo provenientes del poblado de San Juan Tlacotenco, Morelos, México; para el aislamiento de dicho microorganismo se siguió la misma metodología previamente descrita para el ácaro *L. penicilliger*; cabe mencionar que para este caso se utilizó al nematodo bacteriófago *Panagrellus redivivus* y *H. contortus* (L3) como fuente principal de alimento, los pases de ácaros fueron periódicos y se incrementó a 7 días. (Aguilar-Marcelino et al., 2014)

Identificación morfológica del ácaro *L. penicilliger*

Cinco individuos fueron transferidos a portaobjetos para su montaje con el uso del medio

de Hoyer (Faraji y Karg, 2006) para su identificación, se prepararon 20 laminillas. Los ácaros fueron examinados bajo un microscopio (4X y 10X). Las características morfológicas se observaron con un microscopio de contraste de fases (10X, 40X, y 100X). La identificación taxonómica de los ácaros fue realizada utilizando las claves de Hughes (1976).

Identificación morfológica del ácaro *C. mycophagus*

Cinco ácaros fueron transferidos a portaobjetos para su montaje con el uso del medio de Hoyer (Faraji y Karg, 2006). Se examinaron 20 laminillas (montajes) con un microscopio de contraste de fases (40X y 100X). Para la identificación taxonómica se utilizaron las claves descritas por Hughes (1976) y Hernández-Bacao et al. (2015)

Procesamiento del ácaro *Lasioseius penicilliger* para microscopía electrónica de barrido

Cincuenta ácaros *L. penicilliger* (machos y hembras) fueron obtenidos a partir de cultivos *in vitro*. Los especímenes se hirvieron durante 5 s con agua destilada con la finalidad de relajar y limpiar las estructuras rígidas corporales; posteriormente se realizaron tres lavados con agua destilada en agitación suave. Para el proceso de fijación de las muestras se utilizó una solución de glutaraldehído al 2,5% y se dejaron incubar durante 12 h. Transcurrido este tiempo, se realizaron tres lavados durante 5 min cada uno utilizando un amortiguador de fosfatos pH 7.4. Para el proceso de deshidratación los especímenes se colocaron en diferentes concentraciones de alcohol, como se describe a continuación: 30, 40, 50, 60, 70, 90 y 100%. Posteriormente, las muestras fueron incubadas durante 40 min, cabe mencionar que la concentración del 100% duró 15 min. Finalmente, los especímenes fueron montados en rejillas que constan de una canasta de malla inoxidable del n° 50, de 1 cm³. Los especímenes fueron depositados en el contenedor metálico con alcohol al 100%; se retiró el contenido de alcohol, el cual fue intercambiado por CO₂ durante el secado a punto crítico. Las

muestras libres de agua permanecieron en recipientes cerrados para evitar la rehidratación. La preparación para el recubrimiento de las muestras fue montada en bases metálicas con cinta adherible utilizando pinzas entomológicas para evitar dañar las estructuras de los ácaros. Posteriormente se aplicó una capa delgada de oro-paladio con el equipo Sputter Coater; de esta forma, la muestra fue observada a distintas distancias utilizando diferentes tamaños de apertura del lente del microscopio electrónico de barrido.

Producción de nematodos

Rhabditis sp.

Los especímenes fueron obtenidos a partir de muestras de suelo de Jiutepec, Morelos; México. Los nematodos fueron extraídos utilizando la técnica de Baermann por 12 h. La producción masiva de nematodos se llevó a cabo transfiriendo nematodos a placas de Petri contenido agua-agar al 2% y suplementados con 0,5 g de crema de cacahuete comercial e incubados a temperatura ambiente (28 ± 2 °C) durante 5 días.

Panagrellus redivivus

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 nematodos 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 nematodos fueron transferidos al sustrato frío. 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 nematodos se incrementó de manera considerable. (De Lara et al., 2007)

Haemonchus contortus

La obtención de larvas infectantes (L3) de *H. contortus* se realizó a través de la administra-

ción oral de 350 L3 de *H. contortus*, en un ovino donador, que se mantuvo bajo condiciones controladas de alojamiento y alimentación en las instalaciones del CENID-PAVET, INIFAP. Las muestras fueron procesadas para la obtención de L3 en cultivos a partir de heces positivas a la presencia de huevos del parásito, siguiendo la metodología citada por Liébano-Hernández et al. (2011). Después de seis días de incubación se obtuvieron las L3, mediante la técnica del embudo de Baermann por 12 h.

Preparación de medios de diferentes colores de cultivo para la producción del ácaro *L. penicilliger*

Se utilizó el medio de cultivo agua-agar al 4%; asimismo, se elaboró una solución a base de colorante vegetal. Para la pigmentación del agar se pesaron 5 g de cada color: azul, café, verde y rojo, además de la base sal, los medios fueron esterilizados durante 20 min y posteriormente se vertieron en placas de Petri (2 cm de diámetro por 1 cm de alto) en la campana de flujo laminar bajo condiciones asépticas.

Diseño experimental

Para determinar la tasa de consumo e incremento poblacional del ácaro *L. penicilliger*, se conformaron 5 tratamientos, que se describen a continuación: Tratamiento 1), Testigo (medio de cultivo incoloro), en el que en cada placa de Petri se colocaron 2 adultos del ácaro *L. penicilliger* y adicionalmente, 900 larvas del nematodo *P. redivivus* (estadios juveniles). En los tratamientos 2, 3, 4 y 5 se colocó el mismo número de especímenes de ácaros y larvas, solo se modificó el color del medio de cultivo: Tratamiento 2) agar-color azul, Tratamiento 3) agar-color café, Tratamiento 3) agar-color verde, Tratamiento 3) agar-color rojo. Para el análisis estadístico se llevó a cabo un diseño completamente al azar donde la unidad experimental fue la placa de Petri conteniendo medio agua-agar al 4%. Cada grupo estuvo conformado por 8 repeticiones ($n = 8$). Las placas de Petri de todos los tratamientos fueron incubadas a 25 ± 2 °C en una estufa. Se realizó una evaluación inicial y posteriormente a los 14 días bajo un microscopio estereoscopio

(4X y 10X), donde se cuantificó y registró el número de huevos, ninfas, protoninfas, deutoninfas y adultos del ácaro *L. penicilliger*. Para determinar el número de nematodos *P. redivivus* sobrevivientes, los nematodos fueron recuperados mediante la técnica de embudo de Baermann, previamente las placas de Petri se lavaron con agua corriente vertiendo el contenido en el embudo de Baermann donde reposaron durante 12 h para permitir la sedimentación de los nematodos.

Para la cuantificación de los nematodos se realizó la toma de 10 alícuotas de 5 µL de volumen cada una y los nematodos se recuperaron y colocaron en un portaobjetos de cristal para observarse en un microscopio óptico (10X) y para realizar la lectura. Los hábitos alimenticios del ácaro contra el nematodo *P. redivivus* fueron observados, registrados y fotografiados diariamente. El porcentaje de reducción de la población de nematodos por la acción de *L. penicilliger* fue estimado utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Reducción de nematodos} = \frac{\bar{x} \text{ testigo} - \bar{x} \text{ tratado}}{\bar{x} \text{ testigo}} \times 100$$

donde:

Grupo testigo = Media de grupo control de nematodos recuperados;

Grupo tratado = Media del grupo tratado de nematodos recuperados.

(García-Ortiz et al., 2015)

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante un diseño completamente al azar considerando los promedios de nematodos recuperados en cada serie como la variable dependiente. Para homogeneizar las varianzas, los datos se transformaron logarítmicamente utilizando la fórmula $\sqrt{x+0.5}$. Para comparar las medias de cada tratamiento se utilizó la prueba complementaria de Tukey y el programa utilizado fue el Statistical Analysis System (SAS) (SAS Institute, 1998). El análisis consideró un valor de significancia estadística $\alpha = 0.05$. (García-Ortiz et al., 2015)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización morfológica de los ácaros *L. penicilliger* y *C. mycophagus*

En las fotografías de microscopía electrónica de barrido (Figura 1 a-b) se puede observar la morfología del ácaro adulto *L. penicilliger* (Berlese, 1916), que se caracteriza por la presencia de un escudo holodorsal y dorsal; también se observan sedas en la parte acicular de su cuerpo; sin embargo, la presencia de sedas dorsales-caudales se observan a la mitad posterior del dorso, con un máximo de 15 pares de sedas y de 1 a 12 pares de sedas en la parte lateral de la membrana al escudo holodorsal. Los ácaros adultos machos presentan una abertura genital en el borde anterior de la región del esternón. (Christian & Karg, 2006)

Las características morfológicas del ácaro aislado concuerdan con la descripción de Hughes (1976) y corresponden a *L. penicilliger*.

Respecto al ácaro *C. mycophagus*, este posee un cuerpo de color blanquecino y blando, a menudo recubierto con sedas largas y finas (Clancy, 1981). La longitud del idiosoma está en su mayor proporción ocupando el sistema digestivo y está compuesto por la cavidad oral, en la cual se encuentran un par de glándulas salivales, seguida de una faringe, esófago, tubo de Malpighi (TM) que desembocan en un extremo en el ciego y el otro TM en el estómago, que mide cerca de 230 μm . El gnatosoma está unido al idiosoma de forma artrodial, en las hembras y machos mide 780 μm . El ácaro

C. mycophagus tiene un par de quelíceros, los cuales se encuentran dentados con una espina en forma de cizalla, también un par de pedipalpos (Hughes, 1976). El sistema nervioso está formado por una estructura que contiene una masa ganglionar, esta masa está posicionada en ambos lados del esófago y recorre en sentido posterior y anterior el cuerpo del ácaro para inervar los quelíceros, pedipalpos, el estómago y la región ventral de los músculos (protectores y retráctiles), finalmente desaparece en la región de los genitales, la cual es asimétrica y se localiza en la parte latero-ventral del cuerpo y los músculos copulatorios que se encuentran posteriores al recto. La quetotaxia es similar a *C. berlesi* difiriendo en el tarso (T1), ya que es más corto en *C. mycophagus* (Hughes, 1976). Las características morfológicas del ácaro aislado, concuerdan con la descripción de Hughes (1976) y corresponden a *Sancassania mycophaga* (= *Caloglyphus mycophagus*) (Acari: Acaridae).

Condiciones de cultivo *in vitro* de ácaros nematófagos

El ácaro nematófago *L. penicilliger* fue alimentado con los siguientes nematodos “presa”: *Rhabditis* sp., *Panagrellus redivivus* y *H. contortus* (L3). Cabe mencionar que a partir de su aislamiento y hasta el momento de llevar a cabo este experimento (2009) el número de generaciones fue de 60. Por otra parte, el ácaro *C. mycophagus* fue alimentado con los nematodos: *P. redivivus* y *H. contortus* (L3), el número de generaciones

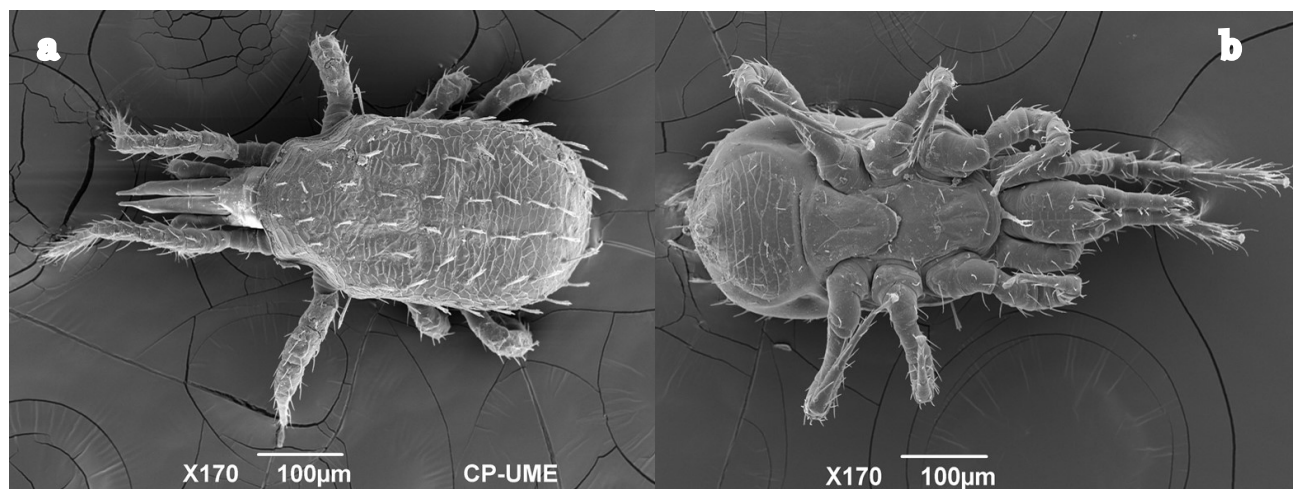


Figura 1 a-b. Fotografía de microscopía electrónica de barrido, vista dorsal de un ácaro adulto nematófago *Lasioseius penicilliger*.

que se obtuvieron desde el año 2009 fue de 36. La identificación taxonómica de ambos géneros se realizó siguiendo las claves de Huges (1979) y los cultivos se han mantenido a una temperatura de 28 ± 2 °C. Ambas cepas pertenecen al CENID-PAVET (PAVET: Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria) del INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias).

4.3 Tasa de consumo *in vitro* del ácaro *Lasioseius penicilliger*

Los resultados de la tasa de consumo del ácaro *L. penicilliger* sobre la población administrada del nematodo *P. redivivus* en medios de cultivo de diferente color después de la confrontación a 25 °C, mostraron que la depredación fue del 100% después de 14 días, en todos los medios de colores (rojo, azul, incoloro, café y verde); sin embargo, el color rojo mostró una mayor cantidad de ácaros depredadores recuperados, siendo en promedio 40 ninfas y 17% adultos, lo que indica que este color es un factor promotor de su reproducción. Respecto al incremento de la población de los ácaros (diferentes estadios evolutivos), el promedio de ácaros adultos, ninfas y el promedio de la población de ácaros recuperados por cada grupo de color de medio agar se muestran en el Cuadro 1 y las Figuras 2 y 3. El resultado de la comparación de medias a través de la prueba Tukey mostró que el tratamiento de color rojo en el agar e incoloro fueron diferentes a los tratamientos de color azul, café y verde en cuanto al incremento de la población general de ácaros. En la fase de adultos no hubo diferencias entre los tratamientos con respecto al color, en contraste con la fase de ninfa, en donde el tratamiento con color azul resultó diferente a todos los trata-

Cuadro 1. Promedios de ácaros (adultos y ninfas) de diferentes estadios evolutivos recuperados a partir de su incubación durante 14 días en cinco distintos medios de cultivo.

Color del medio de cultivo	Adultos	Ninfas	Ácaros
Rojo	2,12 a	2,65 ab	4,77 a
Azul	2 a	4,87 a	6,87 ab
Incoloro	1,12 a	1,37 b	2,5 a
Café	1 a	2,75 ab	3,75 ab
Verde	0,75 a	0,87 b	1,62 b

Letras iguales en la misma columna indican que los valores no difieren estadísticamente, según test de Tukey ($P \geq 0.05$).

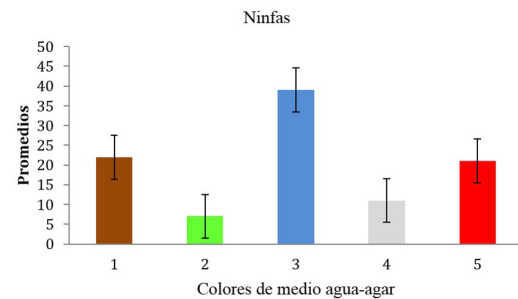


Figura 2. Promedios de ninfas del ácaro *Lasioseius penicilliger* recuperadas a partir de 5 diferentes medios de diferentes colores (1=café, 2=verde, 3=azul, 4=incoloro, 5=rojo).

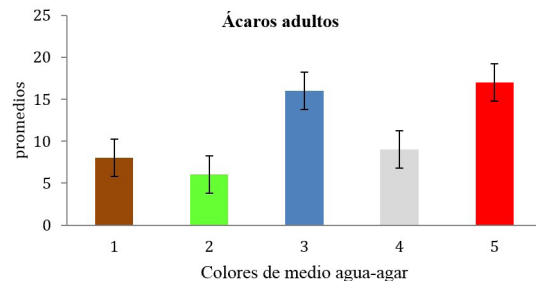


Figura 3. Promedios de ácaros adultos *Lasioseius penicilliger* recuperadas a partir de 5 diferentes medios de diferentes colores (1=café, 2=verde, 3=azul, 4=incoloro, 5=rojo).

mientos. Por otra parte, los colores rojo y café no mostraron diferencias en adultos, mientras que el color verde e incoloro no mostraron diferencias en cuanto a adultos recuperados.

El presente estudio muestra información relevante en cuanto al aislamiento y cultivo *in vitro* de dos ácaros nematófagos con uso potencial para el control de nematodos de importancia pecuaria. En un trabajo previo se evaluó la actividad nematófaga *in vitro* de *L. penicilliger* en contra de *H. contortus* (L3), *Rhabditis sp.* y *P. redivivus* en agua agar al 2%, reportando tasas de reducción del 80, 81 y 64%, respectivamente, después de cinco días de incubación. (Aguilar-Marcelino et al., 2014)

Hasta ahora existe muy poca información sobre el posible uso de ácaros para el control de parásitos de rumiantes. Los trabajos publicados sobre la actividad nematófaga de ácaros han sido enfocados principalmente al control de plagas agrícolas. La actividad depredadora de una cepa de *L. penicilliger* fue demostrada en contra del nematodo fitoparásito *Tylenchostrongylus dubius* que afecta al crecimiento de diferentes cultivos, principalmente de papa, en donde causa un importante daño al sistema

radicular (Muraoka & Ishibashi, 1976), ocasionando junto con otros nematodos fitopatógenos, pérdidas económicas de gran importancia en diversos cultivos (Rajendra, 2013). En otro estudio se evaluó la actividad de otra especie *L. scapularis* contra otro nematodo parásito de cultivos *Aphelenchus avenae*, causante de severas pérdidas en cereales y en cultivos de hongos comestibles (Gitanjali & Azad, 2006), y se demostró que un solo nematodo en presencia de 10 especímenes del nematodo presa es capaz de reducir hasta en 76,8% el número de nematodos juveniles y 95,1% de nematodos adultos (Imbriani & Mankau, 1983). Por otra parte, la capacidad depredadora de *C. mycophagus* (también conocido como *Sanicassania mycophaga*) es muy amplia, ya que se han observado alimentándose de huevos y larvas de insectos (Christian y Karg, 2006); también se alimenta de las etapas juveniles del nematodo agallador *Meloidogyne spp.* y además, posee la capacidad de reducir plagas de manera indirecta mediante la transmisión y dispersión de esporas de hongos entomopatógenos (Christian y Karg, 2006; Palizi et al., 2009). En este contexto, es importante estudiar el potencial depredador de *C. mycophagus* contra nematodos parásitos de animales y plantas, ya que podrían llegar a ser una alternativa biológica contra estos parásitos. En una extensa búsqueda de literatura sobre el ácaro *C. mycophagus* solamente se encontró un informe de este organismo depredando a un nematodo de importancia pecuaria *H. contortus* (L3) y a un nematodo de vida libre *P. redivivus* (Aguilar-Marcelino et al., 2014). Con base en lo anterior, en el presente estudio se aisló y caracterizó morfométricamente el ácaro *C. mycophagus*. Una ventaja de evaluar ácaros con potencial para el control de plagas agrícolas y pecuarias es que poseen una dualidad de alimentación, ya que son bacteriófagos y tienen la capacidad de convertirse en depredadores de nematodos (Karakas, 2007). Esta condición permite reproducirlos con relativa sencillez bajo condiciones de cultivo *in vitro* en un medio adecuado y agregando nematodos presa como fuente adicional de alimentación.

La búsqueda de microorganismos que actúan como enemigos naturales de las fases libres de los ngi ha ganado un lugar prioritario en las estrategias de control y prevención de las nematodiasis

del ganado durante los últimos años. El uso de antagonistas naturales presenta diversas ventajas entre la que destaca la sustentabilidad del ambiente y el no dañar a organismos benéficos. Para la utilización de antagonistas naturales es importante considerar las siguientes características: a) fácil cultivo en el laboratorio, b) ciclo biológico corto, c) alta fecundidad, d) fácil aplicación, e) que solo afecte a organismos blanco, f) capacidad de búsqueda de presas, g) compatibilidad ecológica, h) adaptabilidad ambiental, i) capacidad de persistencia, j) potencial de dispersión, k) competitividad biológica y l) amplio espectro de eficiencia (Aguilar-Marcelino, 2012). El estudio sobre ácaros depredadores de nematodos, con un enfoque hacia el control de plagas de importancia agrícola y pecuaria, debe considerar aspectos importantes, como es que los ácaros seleccionados no impliquen un efecto negativo secundario. Los ácaros evaluados en la presente investigación no han sido reportados como patógenos para plantas, animales o el ser humano; sin embargo, otras especies de ácaros han sido considerados como plagas agrícolas (Blasi et al., 2015) y pecuarias. (Macey, 2009)

Los ácaros *L. penicilliger* y *C. mycophagus* presentan ventajas en sus características biológicas como posibles agentes potenciales de control de nematodos parásitos de animales y plantas, como son: un ciclo de vida corto (9-20 días), reproducción partenogenética y fácil reproducción bajo condiciones de laboratorio. Estas características biológicas permiten incrementar substancialmente el número de individuos a mediano plazo, bajo condiciones de laboratorio.

CONCLUSIONES

En la presente investigación se presentan las condiciones de cultivo *in vitro* de los ácaros *L. penicilliger* y *C. mycophagus*, así como los requerimientos para su mantenimiento en el laboratorio y se demuestra *in vitro* que el ácaro nematófago *L. penicilliger* funge como agente de biocontrol al estimar una depredación de 100% sobre *P. redivivus* en cultivo de agar-agua después de 14 días de confrontación a 25 °C en todos los medios de cultivo (rojo, azul, incoloro, café y verde). Sin embargo, el color rojo mostró una mayor cantidad de ácaros depredadores recuperados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de la presente investigación agradecen a la M.C. Noemí García Ortiz y a la M.V.Z. Dayán Itzú Hernández Bacao, del Departamento de Helminología del CENID-PAVET, INIFAP, por el apoyo en el mantenimiento in vitro de las colonias de los ácaros *Lasioseius penicilliger* y *Caloglyphus mycophagus* y a la M.C. Greta Hanako Rosas Saito, del Colegio de Postgraduados, por el apoyo en el procesamiento y toma de fotografías de microscopía electrónica de barrido.

REFERENCIAS

- 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. & Cidel-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, 20-23.
- 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. pp. 1-178.
- Becerra Nava, R.; Alonso Díaz, M.A.; Fernández Salas, A. & Quiroz, R.H. (2014). First report of cattle farms with gastrointestinal nematodes resistant to levamisole in Mexico. *Veterinary Parasitology*. 29, 285-290.
- Berlese, A. (1916). Centuria prima di *Acari nuovi*. *Redia* 12, 19-67.
- Bilgrami, A.L. (1994). Predatory behaviour of a nematode feeding mite *Tyrophagus putrescentiae* (Sarcoptiformes: Acaridae). *Fundamental and Applied Nematology* 17, 293-297.
- Bilgrami, A.L.; Brey, C. & Gaugler, R. (2008). First field release of a predatory nematode, *Mononchooides gaugleri* (Nematoda: Diplogasterida) to control plant-parasitic nematodes. *Nematology* 10, 143-146.
- Blasia, E.R.E.; Buffonb, G.; Da Silva, R.Z.; Steina, C.; Dametob, A.; Ferlaab, J.N.; Beys-da-Silvaab, W.O. & Sperottoa, A.R. (2015). Alterations in rice, corn and wheat plants infested by phytophagous mite. *International Journal of Acarology*. 41(1), 10-18.
- Bowman, D.D. 2011. *Georgis: Parasitología veterinaria*. 9ª ed. Elsevier Saunders. Barcelona, España. pp. 60-79.
- Christian, A. & Karg, W. (2006). The predatory mite *Lasioseius* Berlese, 1916 (Acari, Gamasina). *Abhandlungen Berichte Naturkundemus Gortitz*. 77, 99-250.
- Clancy, G. (1981). Observations of mites associated with the low yielding crops of cultivated *Agaricus bisporus* in Australia. *Mushroom Science*, XI, 233-24.
- Hernández-Bacao, D.I.; Aguilar-Marcelino, L.; Quintero-Martínez, M.T.; Reyes-Guerrero, D.E.; Mendoza-de-Gives, P. & López-Arellano, M.E. (2015). Aislamiento y caracterización morfológica/molecular del ácaro nematófago *Sancassania mycophaga* (= *Caloglyphus mycophagus*) (Acari: Acaridae). *Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Entomología*. Acapulco, Guerrero; México (in press). pp. 193-199.
- Encalada-Mena, L.; Tuyub-Solís, H.; Ramírez-Vargas, G.; Mendoza-de-Gives, P.; Aguilar-Marcelino, L. & López-Arellano, M.E. (2014). Phenotypic and genotypic characterisation of *Haemonchus* spp. and other gastrointestinal nematodes resistant to benzimidazole in infected calves from the tropical regions of Campeche State, Mexico. *Veterinary Parasitology*. 205, 246-54.
- Faraji, F. & Karg, W. (2006). A new species of *Lasioseius* Berlese from Spain (Acari: Podocinidae). *Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin*. 82, 239-242.
- García-Ortiz, N.; Aguilar-Marcelino, L.; Mendoza-de-Gives, P.; López-Arellano, M.A.; Bautista-Garfias C.R. & González-Garduño, R. (2015). Actividad depredadora in vitro de *Lasioseius penicilliger* (Arachnida: Mesostigmata) contra tres especies de nematodos: *Teladorsagia circumcincta*, *Meloidogyne* sp. y *Caenorhabditis elegans*. *Veterinaria México* OA. 2, 1-9.
- Gitanjali, D. & Azad, T.N.S. (2006). Laboratory Screening of White Button Mushroom Strains for Resistance Against *Aphelenchoides composticola* and *Aphelenchus avenae*. *Indian Journal of Plant Protection* 34, 278-279.
- González-Garduño, R.; Córdova, P.C.; Torres, H.G.; Mendoza de Gives, P. & Arece, G.J. (2011). Prevalencia de parásitos gastrointestinales en ovinos sacrificados en un rastro de Tabasco, México. *Veterinaria México*. 42, 125-135.
- Hughes, A.M. (1976). The mites of stored food and houses. *Technical Bulletin* 9, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. London, Her Majesty's Stationery Office.
- Imbriani, J.L. & Mankau, R. (1983). Studies on *Lasioseius scapulatus*, a mesostigmatid mite predaceous on nematodes. *Journal of Nematology* 15, 523-528.
- Karakas, M. (2007). Biological control of plant parasitic nematodes. *Anadolu University Journal of Science and Technology Cilt* 8, 1-12.
- Liébano-Hernández, E.; López-Arellano, M.E.; Mendoza de Gives, P. & Aguilar-Marcelino, L. (2011). Manual de diagnóstico para la identificación de larvas de nematodos gastrointestinales en rumiantes. *Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria Manual Especial n° 2*. pp 1-48.
- Lindquist, E.E.; Krantz, G.W. & Walter, D.E. (2009). *Classification*. In: A manual of Acarology, Krantz, G.W., Walter, D.E. Editors. 3rd Ed. Texas Tech University Press. p. 807.
- Macey, M. (2009). Control of lice and mange mites in cattle. *Organic Agriculture Centre of Canada*. pp 1-2.
- Mendoza-de-Gives, P. & Torres-Acosta, J.F.J. (2012). Biotechnological use of fungi in the control of ruminant parasitic nematodes. In: Paz Silva, A.; Sol, M. (Eds.). *Fungi: Types Environmental Impact and Role in Disease*. Nova Science Publisher, Inc. pp. 389-408.
- Mendoza-de-Gives, P.; Zapata Nieto, C.; Hernández, E.L.; Arellano, M.E.; Rodríguez, D.H. & Garduño, R.G. (2006). Biological control of gastrointestinal parasitic nematodes using *Duddingtonia flagrans* in sheep under natural conditions in Mexico. *Annals of the New York Academy Sciences*. 1081, 355-359.
- Muraoka, M. & Ishibashi, N. (1976). Nematodes feeding mites and their feeding behavior. *Appl. Ento. Zool.* 11: 1-7.
- Orihuela, A. & Vázquez-Prats, V. (2009). Estrategias conductuales en la relación parásito-hospedero. *Técnica Pecuaria en México*. 46, 259-285.
- Palizi, P.; Goltapeh, M.E.; Pourjam, E. & Safaine, N. (2009). Potential of Oyster Mushrooms for the Biocontrol of Sugarbeet nematode (Heterodera Schntii). *Journal of Plant Protection. Res.* 49, 27-34.
- Rajendra, T.P. (2013). Economically important plant parasitic nematodes distribution. *ATLAS*. New Delhi. pp. 1-154.
- Rodríguez Vivas, R.I.; Ojeda Chi, M.M.; Quintero Martínez, M.T. & Vergara Pineda, S. (2015). Ácaros de importancia veterinaria. En: *Técnicas de diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria*. Roger Iván Rodríguez Vivas (Ed). México. pp. 307-332.
- SAS Institute. (1998). *Language guide for personal computer release*. 6.03 Edition. SAS Institute. Cary. North Carolina, USA. 1028.
- Van den Broom, R.; Moll, L.; Kappert, C.; Vellena, P. (2015). *Haemonchus contortus* resistance to monepantel in sheep. *Veterinary Parasitology*. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.02.026.
- Zainalabidin, F.A.; Raimy, N.; Yaacob, M.A.; Musbah, A.; Bathmanaban, A.; Ismail, E.A.; Zaini, C.M.; Zahari, Z.; Ismail, M.I. & Chandrawathani, P. (2015). The Prevalence of Parasitic Infestation of Small Ruminant Farms in Perak, Malaysia. *Tropical life Science Research*. 26, 1-8.