

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**



**Detección, Identificación y Distribución Natural de Nemátodos
Entomopatógenos (Heterorhabditidae y Steinernematidae) en
Sistemas Agroecológicos de Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.**

POR

ARON VAZQUEZ LOPEZ

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLOGO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Febrero, 2006

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARO**

**DIVISIÓN DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**

**Detección, Identificación y Distribución Natural de Nemátodos
Entomopatógenos (Steinernematidae Y Heterorhabditidae) en Sistemas
Agroecológicos de Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.**

Presentado Por:

ARON VAZQUEZ LOPEZ

TESIS

**Que se Somete a la Consideración del H. Jurado Examinador como Requisito
Parcial para Obtener el Título de:**

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLOGO

**Aprobada
Presidente del Jurado**

Dr. Sergio Rene Sánchez Peña

Sinodal

Sinodal

Dr. Melchor Cepeda Siller

M.C. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda

Sinodal

Biol. Guillermina Reyna Sustaita

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

M.C. Arnoldo Oyervides García

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Febrero, 2006.

Soñé que tenía una entrevista con Dios...

¿Te gustaría entrevistarme? Dios pregunto. “Si tienes tiempo,” le dije. Dios sonrió contestando... “Mi tiempo es eterno” ¿Qué quieres preguntarme? ¿Qué opinas de mí...? Pregunte. y Dios me respondió...

“Estas tan ansioso por el futuro, que olvidas el presente, vives la vida sin presente como si nunca fueses a morir, y mueres como si nunca hubieses vivido...”

“Pierdes tu salud por hacer dinero y luego usas tu dinero para recobrar tu salud”

Las manos de Dios tomaron las mías y estuvo en silencio por un rato y entonces le pregunte... ¿Padre, dime, que lecciones quieres que yo aprenda?

Dios respondió con una sonrisa:

Que aprendas que no puedes hacer que todos te amen y lo que puedes hacer es amar a los demás.

Que aprendas que lo mas valioso no es lo que tengas en vida, si no que tienes en vida.

Que aprendas que no es bueno compararte con los demás.

Que aprendas que una persona rica no es la que tiene más, sino la que necesita menos.

Que aprenda que únicamente toma unos segundos herir profundamente a una persona que amas, y que puede tomar muchos años cicatrizar la herida.

Que perdonar se aprende perdonando...

Que aprenda que hay personas que te aman entrañablemente, y que muchas veces no saben como expresarlo...

Que aprendas que dos personas pueden mirar la misma cosa y las dos percibir algo diferente.

Que perdonar a los otros no es fácil, que perdonarse a si mismo es el primer paso...

Y que aprendas que yo siempre estoy aquí para ti... Siempre.

Autor desconocido

DEDICATORIAS

**A MIS PADRES: ALVARO VAZQUEZ ALFARO
ROSELIA LOPEZ VELASCO**

Porque aparte de darme Amor, Cariño y Comprensión me abrieron con singular sacrificio el camino de la vida. A ustedes mis más grandes amigos y mejores maestros.

A ti padre.

Por ser esa persona tan especial en mi vida, por darme la oportunidad de superarme y por creer en mí. A quien a través de tu esfuerzo y sufrimiento me has dado uno de las mejores herencias; porque se que para apoyarme trabajaste bajo el sol todos los días. GRACIAS A TI PADRE SOY ALGUIEN EN LA VIDA.

A ti madre.

Por ser lo más hermoso de tenerte, porque me diste la vida, cariño, cuidados y sacrificios; por tus oraciones y consejos. MIL GRACIAS MAMÁ.

A mis hermanos.

Rosemberg

Jorge

Blanca Flor

Bella Suceli

Yanci del Rocio

Por comprenderme y apoyarme en todo momento. Por los momentos felices y tristes que vivimos. Gracias a ustedes tengo la mejor familia del mundo. DIOS LOS BENDIGA

A mi madrina Amparo Vázquez Alfaro

Por apoyarme moral y económicamente, porque siempre ha deseado lo mejor para mí. Nunca olvidare lo que hizo por mi. No te defraudare.

A mi Amada Novia Amparo Gordillo García

Por ser el pedacito de cielo y el rayito de sol que abriga mi alma. Por ser la flor más hermosa y el motivo de inspiración durante los momentos difíciles de mi carrera. Por ser la mujer más especial y el amor de mi vida con quien he pasado los momentos mas maravillosos de mi vida. Mil gracias por comprenderme y entregarme todo tu amor. TE AMO MI AMOR.

A Reina García García

Por ser una de mis mejores amigas. Por tu amistad, confianza y sencillez. Mil gracias por tus consejos y los momentos maravillosos que compartimos como amigos.

A Concepción López García

Por ser una de mis mejores amigas. Por tu amistad, confianza y sencillez. Mil gracias por tus consejos y los momentos maravillosos que compartimos como amigos.

A mis compañeros de la generación 100

En particular a: Alejandro Cabrera, Florencio, Pedro, Bernardo, Rolando, Ronulfo, Gloria Elisa, Concepción, Peralta, Bianca, Yair entre muchos otros con los que compartí infinitos momentos de alegría durante mi estancia en la universidad.

AGRADECIMIENTO

A DIOS:

Por haberme dado la vida. Por ser mi compañero y amigo en todo momento. Por iluminarme en mi formación profesional y por conducirme con humildad en los momentos de triunfos y sufrimientos. GRACIAS BENDITO DIOS. "SIEMPRE TE LLEVO EN MI CORAZÓN"

A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO.

Con cariño por haberme abierto las puertas y darme la oportunidad de cumplir con uno de mis mayores deseos. Por acogerme en su internado y aulas y llenarme de infinito conocimiento, el cual aprovecharé y pondré en practica toda mi vida. GRACIAS ALMA TERRA MATER. "SIEMPRE PONDRÉ MUY EN ALTO TU NOMBRE"

AL Dr. SERGIO RENE SÁNCHEZ PEÑA.

Expreso mi humilde y profundo agradecimiento por confiar en mi y por la oportunidad brindada para realizar esta investigación, por su magnifica accesoria y por su gran apoyo moral y económico para la culminación de esta tesis. CON TODO RESPETO MIL GRACIAS

A LA M.C. Ma. ELIZABETH GALINDO CEPEDA.

Por su valiosa aportación durante mi formación profesional y trabajo de tesis. MIL GRACIAS.

AL Dr. MELCHOR CEPEDA SILLER.

Por su valiosa aportación durante mi formación profesional y trabajo de tesis. MIL GRACIAS.

A LA BIOL. GULLERMINA REYNA SUSTAITA.

Por su gran apoyo y amistad brindada durante mi estancia en la universidad y realización de tesis. MIL GRACIAS

A CONAFE Y UAAAN.

Por lo 10 años de beca que me sirvieron para mi formación profesional. No los defraude "estoy y estaré al servicio de ustedes"

A COMPAÑEROS DE ARAMARK.

Con admiración y respeto a todos mis compañeros de trabajo (German, Jesús Alberto, Teodoro, Limber, Leo, Javier, Porfirio, Don Manuel, Juan Rico, Isaura, Darinel, Isidro etc.), con los cuales convivimos en el trabajo todos los fines de semana.

AL ING. JESÚS JOAQUIN MORALES LOPEZ

Con admiración y respeto por sus consejos y por enseñarme gratas experiencias y a valorar la vida estudiantil y laboral. MIL GRACIAS

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIAS.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	V
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	ix
ÍNDICE DE CUADROS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
I.- INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS GENERALES.....	2
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
HIPÓTESIS.....	2
II.-LITERATURA REVISADA	
¿Qué son los Nematodos?.....	3
Relaciones entre los Insectos y los Nematodos Entomopatógenos.....	3
Origen de la Nematología Entomopatogenica.....	4
Uso Especifico de Nematodos Entomopatógenos.....	5
Aislamientos de Cepas de Nematodos Entomopatógenos.....	6
Atributos de los Entomopatógenos.....	8
Rango de Hospederos.....	8
Virulencia.....	8
Eficiencia en la Transmisión.....	8
Persistencia.....	9
Dispersión.....	9
Ventajas del Uso de Nematodos Entomopatógenos.....	10
Limitantes del Uso de Nematodos Entomopatógenos.....	11
Perspectivas del Uso de Nematodos Entomopatógenos en México.....	11
Potencial de los Nematodos Entomopatógenos.....	12
Características: Clase Secernentea.....	14
Características: Orden Rhabditida.....	14

Taxonomía; <i>Heterorhabditis</i>	15
Características.....	15
Morfología.....	15
Ciclo de Vida y Patogenicidad.....	16
Modo de Acción.....	17
Sintomatología.....	17
Especies de <i>Heterorhabditis</i> y Bacteria Mutualista.....	18
Taxonomía: <i>Steinernema</i>	18
Características.....	19
Morfología.....	19
Ciclo de Vida y Patogenicidad.....	19
Modo de Acción.....	20
Sintomatología.....	21
Especies de <i>Steinernema</i> y Bacteria Asociada.....	21
Toxicidad a Vertebrados.....	22
Supervivencia de los Juveniles.....	22

III.- MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y Descripción del Área de Estudio.....	23
Tipos de Hábitat.....	23
Colectas de Muestras de Suelo.....	23
Aislamiento de los Nematodos Entomopatógenos.....	25
Estudios Taxonómicos.....	26
Variable Evaluada.....	26

IV.- RESULTADOS

Detección.....	27
Identificación.....	39
Distribución.....	39

V.- DISCUSIONES.....	41
VI.- CONCLUSIONES.....	42
VI.-LITERATURA CITADA.....	43

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1	Presencia de nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis</i> spp en muestras de diversos agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.....	27
2	Presencia de nematodos entomopatógenos <i>Steinernema</i> spp en muestras de diversos agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.....	28
3	Presencia de nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis</i> spp en muestras de diversos agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.....	29
4	Presencia de nematodos entomopatógenos <i>Steinernema</i> spp en muestras de diversos agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.....	29
5	Primer muestreo. X^2 evaluada con muestras positivas de <i>Steinernema</i> spp y <i>Heterorhabditis</i> spp por cultivo.....	31
6	Segundo muestreo. X^2 evaluada con muestras positivas de <i>Steinernema</i> spp y <i>Heterorhabditis</i> spp por cultivo.....	32
7	Primer muestreo. X^2 evaluada con muestras positivas de <i>Heterorhabditis</i> spp por cultivo.....	33
8	Segundo muestreo. X^2 evaluada con muestras positivas de <i>Heterorhabditis</i> spp por cultivo.....	34
9	Primer muestreo. X^2 evaluada con muestras positivas de <i>Steinernema</i> spp por cultivo.....	35

10	Segundo muestreo. X^2 evaluada con muestras positivas de <i>Steinernema</i> spp por cultivo.....	36
11	Primer muestreo. Frecuencia de muestras negativas con nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis</i> spp y <i>Steinernema</i> spp.....	37
12	Segundo muestreo. Frecuencia de muestras negativas con nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis</i> spp y <i>Steinernema</i> spp.....	38
13	Frecuencia con muestras de nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis</i> spp y <i>Steinernema</i> spp.....	38
14	Existencia de nematodos entomopatógenos <i>Steinernema</i> (S) y <i>Heterorhabditis</i> (H), en el primer muestreo, asociados en cultivo en la región de estudio.....	39
15	Existencia de nematodos entomopatógenos <i>Steinernema</i> (S) y <i>Heterorhabditis</i> (H), en el primer muestreo, asociados en cultivo en la región de estudio.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Croquis del muestreo de suelo en los diferentes Agroecosistemas.....	24
2	Gráfico comparativo del primer muestreo. Nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis</i> spp y <i>Steinernema</i> spp en agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.....	28
3	Gráfico comparativo del segundo muestreo. Nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis</i> spp y <i>Steinernema</i> spp en agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.....	30

INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas han sido el método más utilizado por algunas décadas, pero sus efectos sobre organismos no objetivos, contaminación del agua, residuos en cosechas y alimentos, el desarrollo de resistencia en los insectos a los químicos y el incremento a la degradación microbial (Georgis, 1992; Gaugler, 1988), han originado un clima político y social en contra de ellos (Georgis y Hague, 1991).

Asociaciones ambientalistas han forzado la atención en la industria para el desarrollo e incremento de investigaciones sobre otros métodos de control alternativo y menos tóxicos para el manejo de plagas (Georgis y Poinar, 1994).

El papel del control microbiano en la protección de cultivos y bosques, se ha expandido con el descubrimiento y desarrollo de nuevos agentes de control microbiano. Por su selectividad y mínimo impacto ambiental, los organismos entomopatógenos pueden ser componentes ideales en programas de manejo integrado de plagas.

Como resultado de los progresos que durante los últimos 20 años se han hecho sobre la taxonomía, biología, genética, ecología, rango de hospederos, aplicaciones tecnológicas, pruebas de laboratorio, pruebas de campo etc. de los nematodos entomopatógenos y su bacteria simbiótica (Bedding, 1998), los nematodos del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* han surgido como excelentes candidatos de biocontrol alternativo de insectos plaga por la impresionante y combinación única de los atributos que poseen (Gaugler y Kaya, 1990). Sin embargo, el conocimiento que se tienen en el país con respecto a los nematodos entomopatógenos y su uso, es escaso.

El conocimiento sobre la biología de los nematodos, comportamiento, condiciones bióticas y abióticas que favorecen su presencia, así como un

conocimiento profundo sobre el insecto plaga y la relación nematodo-huésped, permitirán favorecer la efectividad de estos organismos como agentes de control biológico que se pueden utilizar con gran éxito en la agricultura mexicana.

Por tanto el uso de microorganismos entomopatógenos requiere del conocimiento del hábitat que permita determinar ciertos parámetros climáticos y las condiciones del entorno en los cuales un microorganismo se reproduce, prevalece, disemina, persiste o interacciona con su medio ambiente.

Por lo anterior este trabajo tiene como:

Objetivo General

Determinar la presencia y distribución natural de los nematodos entomopatógenos (Familia: Steinernematidae y Heterorhabditidae) en diversos sistemas Agroecológicos de Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Objetivo Específico

Determinar los géneros y especies de nematodos entomopatógenos.

Hipótesis

Existen nematodos entomopatógenos en suelos de agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.

LITERATURA REVISADA

¿Qué son los Nematodos?

Son organismos filiformes, poseen cabeza con un aparato bucal terminal y cola generalmente terminada en punta. El tracto digestivo consiste en un estomago y esófago, que juntos ocupan una tercera parte del cuerpo. En la parte posterior, el intestino ocupa las otras dos terceras partes. Las gonadas de la hembra la constituye una vulva, vagina y uno de los dos oviductos y ovarios que se extienden anteriormente y posteriormente de donde la vulva se localiza. Los nematodos juveniles no poseen estructuras genitales externas. El ciclo de vida de los nematodos consta de tres estados de desarrollo que son: huevo, juvenil y adulto. Los huevos son microscópicos. Los adultos hembras pueden ser identificados por una abertura ventral de la vulva cerca de la mitad del cuerpo o hacia la cola. También puede ser identificada por la presencia de huevos o nematodos jóvenes dentro de su cuerpo. Los adultos machos pueden ser distinguidos por la presencia de espículas en la región de la cola y por la estructura aplanada o hinchada de la cola (Castillo, 1995; Cepeda, 1997).

Relaciones entre los Insectos y los Nematodos Entomopatógenos

Las relaciones hospedero-nematodo se han observado en diferentes hábitats y en ellas se ha estudiado la atracción del nematodo hacia el hospedero, las fuentes de alimentación, así como la influencia de estímulos químicos. Existen diferentes asociaciones entre los nematodos y los insectos, siendo las más importantes: a) forésis; b) parasitismo facultativo; c) parasitismo obligado (Alves, 1986)

Diversas investigaciones concuerdan que los nematodos son atraídos hacia los insectos por la presencia de CO₂ la temperatura del cuerpo del insecto, la presencia de la bacteria *Xenorhabdus nematophilus*, componentes fecales del

insecto, el insecto hospedero y el plasma del insecto hospedero. El grado de esta atracción varía entre las especies del insecto (Lopez s/f; Arredondo *et al.*, 1999).

Origen de la Nematología Entomopatogenica

Los nematodos entomófilos, parásitos de insectos, o nematodos entomopatógenos, han sido conocidos desde el siglo XVII. Sin embargo, fue hasta 1930 en que se considero la posibilidad de usar nematodos para el control del escarabajo japonés *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) (Nickle, 1984). La nematología y micología de entomopatógenos han emergido como disciplinas dinámicas e innovadoras en el control biológico de insectos plaga (Gaugler, 1988).

Investigaciones recientes han indicado que bajo un buen manejo pueden ser utilizados para controlar *Helicoverpa* spp. Sin embargo, debido a estrictos requerimientos de humedad de los estados infectivos del nematodo, su potencial de control más apropiado debe de circunscribirse contra plagas del suelo. En estudios de migración de insectos, se reporta el parasitismo natural de *Steinernema* sobre el gusano elotero ocurrió en un 52.5%; mientras que para el gusano cogollero se reporta en un 24.2% de los lotes muestreados en la región comprendida entre los puntos limites de Brownsville, Matamoros y Camargo, Tamps (Raulston *et al.*, 1988).

Los nematodos entomopatógenos de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae, son considerados excelentes agentes de control biológico que habitan en el suelo (Gaugler y Kaya, 1990) y ambientes crípticos (Begley, 1990).

Las familias Heterorhabditidae y Steinernematidae son usadas principalmente en cultivos agrícolas en aquellos insectos que poseen un estadio susceptible en el suelo o en la superficie del mismo, como: el gorgojo negro vine-enredadera

Otiorhynchus sulcatus; el gorgojo de la raíz de los cítricos, *Pachnaeus litus*; el trozador negro *Agrotis ipsilon*; el cortador de las poaceas *Papapediasis teterrella* y en insectos que ocurren en habitats crípticos, especialmente las especies taladradoras o perforadoras (Kaya, 1993).

Uso Específico de Nematodos Entomopatógenos

En la actualidad especies particulares son ampliamente reconocidos por su potencial como agentes de control biológico y entre ellos se reportan los siguientes:

Steinernema carpocapsae infecta a mas de 250 especies de insectos, pertenecientes a aproximadamente a 75 familias que se extienden a casi 11 ordenes de insectos (Poinar, 1979)

Steinernema scapterisci utilizado en el control biológico clásico contra grillos topos *Scapteriscus vicinus* (Smart y Nguyen, 1990), y aquellas que parasitan totalmente termitas y otros ortópteros (Nguyen y Smart, 1992:1994)

López (s/f) menciona que los nematodos entomopatogenicos son importantes en el manejo de las siguientes plagas: *Fungus gnatus* (*Bradysia* spp) que es una plaga en ornamentales producidos bajo invernaderos, esta plaga daña la corteza en las ornamentales y reduce el vigor de las plantas. El complejo de picudos barrenadores en cítricos (*Diaprepes abbreviatus*, *Artipus floridanus*) y el picudo radical de los cítricos *Pachnaeus litus*, *P. opalus* también *Otiorhynchus ovalus* y *O. sulcatus* o picudos de los viñedos en cultivos de moras y fresas, y plagas como *Heliothis zea* y *Spodoptera frugiperda* y el trozador negro (*Agrotis ipsilon*).

Lezama *et al.*, (1996) reporta la susceptibilidad de larvas de *Anastrepha ludens* (Diptera:Tephritidae) a diversos nematodos entomopatógenos

(Steinernematidae y Heterorhabditidae). Se encontró que la plaga es susceptible en diferentes grados a los nematodos probados; *S. riobravis* y *S. carpocapsae* cepa All mataron un 90% de larvas y pupas; *H. bacteriophora* cepa NC mato el 82.5%; *S. feltiae* el 81.25%; la cepa *S. carpocapsae* Tecomán causo el 76% de mortalidad, mientras que *H. bacteriophora* Tecomán y *S. glaseri* el 52.5%. estos resultados sugieren que las especies *S. riobravis* y *S. carpocapsae* cepa All tienen potencial como agentes de control biológico contra *A. ludens*

Aislamiento de Cepas de Nematodos Entomopatógenos

Reporte de investigadores han mostrado que los microorganismos entomopatógenos son comunes y se encuentran ampliamente distribuidos en todos los suelos de los continentes y han sido aislados de una diversidad de ecosistemas para conocer parte de su biología, morfología y distribución. Es posible que muchas especies adicionales puedan ser descubiertas, debido a la metodología práctica de encontrar especies de nematodos adaptados localmente, ya que usualmente tienen determinados una base geográfica (Salas *et al.*, 2000)

En México solamente se ha reportado la cepa mexicana *Steinernema carpocapsae*, que originalmente fue recuperada de larvas infectadas de la palomilla de la manzana *Cydia pomonella*, en Allende, Chihuahua por Caltagirone (Poinar, 1990)

Las especies y cepas nativas de Heterorhabditidos y Steinernematidos, han sido aislados de insectos del suelo y de insectos infectados en muchas partes del mundo. Los resultados de extensas inspecciones utilizando el método de cebado, han demostrado que están ampliamente distribuidos y son comunes en todos los continentes (Poinar, 1990), incluso en el desierto (Glazer, 1993), aunque parecen estar extremadamente agrupados dentro de algunos sitios (Stuart y Gaugler, 1994;

Cambell *et al.*, 1997). Únicamente en la Antártida no existe evidencia de su coexistencia (Griffin *et al.*, 1990)

Lezama *et al.*, (2004) Menciona la presencia de nematodos entomopatógenos (Steinernematidae y Heterorhabditidae) en suelos cultivados con cítricos, en el estado de Colima, México. Identifica al género *Steinernema* spp en un 90.90% y *Heterorhabditis* spp en un 9.10% del total de las muestras positivas.

Lezama *et al.*, (2004) reporta la presencia de nematodos entomopatógenos en suelos cultivados con caña de azúcar, del área de abasto del ingenio de Quesería, Colima encontrando 37.5% del total de las muestras nematodos entomopatógenos de los cuales 50% del total de las muestras se encontraron *Steinernema* y 5% *Heterorhabditis*, mientras que en suelos con vegetación natural el 40% del total de las muestras se encontraron solo nematodos del género *Steinernema*.

Sánchez (2000). reporta, sin confirmar identidad, la presencia de nematodos entomopatógenos *Steinernema* y *Heterorhabditis* en larvas colectadas de *Spodoptera frugiperda* y *Helicoverpa zea* en San Antonio las Alazanas, Coahuila.

Lezama *et al.*, (2004) Menciona a *Steinernema* spp y *Heterorhabditis* spp en suelos cultivados de maíz. Zepeda *et al.*, (2004) reporta la presencia de Steinernematidae y Heterorhabditidae en suelos cultivados y no cultivados de Colima. El género *Heterorhabditis* fue encontrado en suelos cultivados con maíz, melón con frecuencia de recuperación de 10.5%, y los del género *Steinernema* se aislaron de suelos cultivados con frutales, Poaceas, y en suelos no cultivados con una vegetación donde predomina el manglar, palma de cayuco, barcinos, salvia y habillo; además de mostrar frecuencias de recuperación más elevadas 68.4%.

Atributos de los Entomopatógenos

Los criterios para seleccionar un entomopatógeno y desarrollarlo para el control microbiano son complejos, y difieren de acuerdo a la estrategia de introducción que se utilice. En general se deben tomar en cuenta las características del insecto plaga, del ecosistema, y del microorganismo entomopatógeno. Olayo (1999) cita una serie de atributos que sirven como fundamento para su elección los microorganismos considerados con potencial como agentes de control microbiano. Dentro de estos atributos se cuenta:

a) Rango de hospederos. Desde el punto de vista comercial, un entomopatógeno con un amplio rango de hospederos es mejor comparado con uno específico.

b) Virulencia. Capacidad de producir enfermedad en términos de grado o velocidad de daño en el insecto. Alta virulencia es una característica esencial de todo agente microbiano que se quiere utilizar en estrategias a corto plazo, lo cual le permite tener:

- 1) Capacidad para matar más rápidamente;
- 2) Reducir los daños al cultivo, ya que tendrá la capacidad de reducir la población del insecto plaga por debajo del umbral económico o de daño.

c) Eficiencia en la transmisión. Esta es una característica importante cuando se trata de que el microorganismo entomopatógeno se establezca, persista y colonice el hábitat del insecto plaga, estos son recomendados en estrategias de control a largo plazo. Existe la posibilidad de una transmisión horizontal o vertical del patógeno en individuos infectados. La dinámica de la transmisión es gobernada por los factores bióticos que relacionan características fisiológicas y de comportamiento del hospedero y del patógeno, así como factores abióticos que tienen una particular influencia sobre procesos fisiológicos y bioquímicos involucrados en la interacción hospedero - patógeno.

d) Persistencia. Muchos de los entomopatógenos, tienen la capacidad de persistir viables por largos periodos en el ambiente. Pueden persistir ya sea en el cuerpo de los insectos infectados o bien en el ambiente (suelo, plantas) en forma de estructuras de resistencia. Esto favorece el desarrollo de epizootias en la población del insecto hospedero.

e) Dispersión. Característica de los entomopatógenos que en general es considerada como pasiva, esta se lleva a cabo a través de la lluvia, el viento o de insectos contaminados, como es el caso de los insectos hospederos, de los parasitoides y depredadores (vertebrados e invertebrados). La búsqueda de nuevos aislamientos de nematodos entomopatógenos ha permitido el descubrimiento de Steinernematidos asociados a la broca del cafeto *Hypothenemus hampei*; en este hallazgo se determino que el hecho de haber encontrado a los nematodos en brocas presentes dentro de la cereza en la planta, se debe a su alta capacidad de búsqueda y alto grado de desplazamiento en condiciones cálidas húmedas.

Ventajas del Uso de Nematodos Entomopatógenos

Alves (1986) señala algunas ventajas y limitantes que poseen estos nematodos parásitos de insectos. Ellas son:

- ✚ Resisten a otros químicos usados en la agricultura, pudiendo ser aprovechados en programas de control integrado.
- ✚ Poseen efecto sinérgico con otros agentes entomopatógenos, pudiendo aumentar la eficiencia y la economía del método.
- ✚ En muchos casos, superan a otros patógenos en los índices de mortalidad que provocan.
- ✚ Poseen buena capacidad de adaptación a nuevos ambientes.
- ✚ Tienen la capacidad de movilizarse en el ambiente y de buscar a su hospedero, si es necesario.
- ✚ No causan daño a las plantas ni a los mamíferos.
- ✚ Muchas veces se reproducen sin la presencia de los machos (hembras partenogénicas).
- ✚ Pueden ser aplicados en pastos, por no ser nocivos a los animales de cría.

Los entomopatógenos son ambientalmente seguros para otros organismos no blanco y para el ecosistema donde son liberados, esta es su principal característica, por lo que son desarrollados para el control de insectos; además estos son competitivos con otras prácticas de control, considerando su efectividad, costo de producción y seguridad al ambiente.

Limitantes del Uso de Nematodos Entomopatógenos

- Dificultad para obtener las cantidades elevadas de poblaciones de nematodos necesarias para el control, dentro de un límite económico aceptable.
- ✚ Aplicaciones de poblaciones de nematodos en condiciones ambientales desfavorables, lo cual conduce a fracasos inesperados o aparentemente inexplicables.
- ✚ La existencia de un mecanismo de defensa por parte del insecto hospedero hacia los nematodos.
- ✚ Las condiciones del almacén para conservar los nematodos entomopatógenos, requiere de condiciones adecuadas.

A pesar de los aspectos positivos enunciados anteriormente, algunas especies de estos nematodos tienen un uso restringido. Como puede observarse, las ventajas predominan sobre las limitaciones, ello refuerza la idea de que deben intensificarse los estudios sobre nematodos entomopatógenos en el marco de una agricultura ecológicamente competitiva, sostenible en el tiempo y que ofrezca productos de alta calidad.

Perspectiva del Uso de Nematodos Entomopatógenos en México

En la agricultura mexicana son pocas las expectativas documentadas sobre el uso de nematodos como agentes de control biológico de insectos plaga. Los trabajos existentes se han enfocado a dos líneas de investigación: una que involucra la búsqueda de nuevos aislamientos, y otra, principalmente con plagas del suelo, que ha consistido en pruebas de campo para determinar la efectividad de especies de

Steinernema y *Heterorhabditis* que se producen de manera comercial (Alatorre, 1999)

En México, el uso generalizado de los nematodos para el control de insectos se ha visto limitado, principalmente por la falta de disponibilidad en el mercado nacional de productos formulados a base de estos organismos entomopatógenos. Sin embargo en México durante los últimos años al igual que en el resto del mundo se nota un marcado interés en el desarrollo y utilización de diversos productos microbianos de tipo fungoso, viral, bacteriano y con nematodos (Rodríguez *et al.*, 1991)

Potencial de los Nematodos Entomopatógenos

La presencia de diversos insectos que año con año merman la calidad de los diferentes cultivos agrícolas, permite considerar a los nematodos como una alternativa con alto potencial de control, principalmente contra aquellos insectos que pasan parte de su vida en el suelo.

El conocimiento sobre la biología de los nematodos, comportamiento, condiciones bióticas y abióticas que favorecen su presencia y persistencia, así como un conocimiento profundo sobre el insecto plaga y la relación nematodo huésped, permitirán favorecer la efectividad de estos organismos como agentes de control biológico (Alatorre, 1999)

Tanto en México como en otros países, se sugiere realizar estudios basados en el conocimiento del complejo de plagas y sus enemigos naturales, seguido de un detallado estudio de su biología y ecología. Este método permite a las especies endémicas de patógenos ser seleccionados con base a criterios de infectividad, persistencia, especificidad y adaptabilidad. Esta es una estrategia a largo plazo que requiere de investigación intensiva, sin embargo el conocimiento sobre el papel que

juegan estos enemigos naturales y su manipulación ha sido útil en el manejo de algunos insectos plaga. El estudio de los atributos biológicos de los enemigos naturales es una estrategia recomendada para anticipar el impacto de los enemigos naturales que tendrán sobre la población de la especie plaga (Harris 1973; Rosen, 1983).

Existe otra alternativa más rápida pero que involucra riesgos, es la introducción de patógenos exóticos. Esta opción podría ser más atractiva en situaciones donde el riesgo inherente por las introducciones esta justificado por las perdidas económicas causadas por la plaga y cuando la especie nativa ha fallado para controlar el problema; esta estrategia puede ser adoptado en el corto plazo, con previas evaluaciones sobre su efectividad en agroecosistemas comerciales, aunque hay que tomar en cuenta que la introducción de entomopatógenos exóticos con un conocimiento limitado de la plaga, del patógeno y del medio ambiente puede conducir a fracasos. Actualmente se llevan a cabo diversos programas de control biológico clásico en México, entre los que destaca el de la broca del café como uno de los mas relevantes (Barrera *et al.*, 1990).

Una tercera alternativa considera el efecto de la manipulación del hábitat; cultivos mezclados incrementaran la diversidad de la materia orgánica del suelo y quizás mejoraran la persistencia de los patógenos. La preservación de reservorios para los patógenos es crucial en la regulación de poblaciones del huésped (Hoechberg, 1989). Esta alternativa puede considerarse como la mejor estrategia, considerando los beneficios a largo plazo tanto económicos como ecológicos.

Características: Clase Secernentea

Usualmente presentan fasmidios, los anfidios (pares de órganos quimiotáxicos localizados lateralmente sobre la cabeza o anteriores al cuello) son generalmente pequeños en forma de poro, raras veces ovaladas, como una ranura, en posición anterior a los labios. Carecen de glándulas caudales. Órganos sensoriales de la cabeza, papilas muy raramente setosas. El estilete tiene protuberancias basales y abre ventralmente. Esófago: tielencoide, afelencoide, rhabditoideo. Machos usualmente con bursa, a veces con un poro de papilas genitales. Sistema excretor con uno o dos glándulas. subventrales con canales laterales presentes y en la parte terminal del conducto cuticularizado. Deiridios presentes (Yepez, 1972).

Características: Orden Rhabditida

Algunas especies de Rhabditidos asociados a insectos actúan como parásitos facultativos, mientras otros presentan relaciones foréticas (Poinar 1975). Dentro de las formas parasíticas destacan las familias *Steinernematidae* y *Heterorhabditidae*, las cuales han desarrollado un estado parasítico especial en el que buscan a su huésped activamente y entran al hemocele; ambas familias están asociadas mutualísticamente a las bacterias *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* respectivamente, que les confiere la característica de mayor virulencia (Arredondo *et al.*, 1999).

Los estados infectivos de estos nematodos presentan atributos tanto de parásitos como de entomopatógenos. Como parásito tienen quimiorreceptores y son móviles, y como patógenos son muy virulentos, matando a sus huéspedes rápidamente (Kaya y Gaugler 1993); son seguros para vertebrados, plantas y otros invertebrados (Poinar, 1989)

Taxonomía: *Heterorhabditis* (Según Poinar, 1976)

Reino:..... Animal
Phylum:.....Nematoda
Clase:..... Secernentea
Orden:..... Rhabditida
Familia:..... Heterorhabditidae
Género:..... *Heterorhabditis*
Especie: spp

Características

Son patógenos obligados de insectos que matan a su hospedante. Desarrollan dos generaciones en el insecto. Son hermafroditas en la primera generación y anfimicticos en la segunda generación (participación de machos y hembras). Esta familia fue establecida con *Heterorhabditis bacteriophora* como especie tipo (Guzmán *et al.*, 1999)

Morfología

En los infectivos juveniles, el poro excretor está localizado posterior al anillo nervioso. Los machos presentan bursa, tienen espículas apareadas y separadas, tienen nueve pares de papilas genitales y gubernáculo presente. Tienen seis labios que pueden estar parcialmente fusionados en la base y cada labio con una única papila labial. Ellos presentan una asociación mutualista con la bacteria *Photorhabdus luminescens*. Tienen la capacidad de parasitar la mayoría de órdenes y familias de insectos, pueden ser cultivados *In vivo* o *In vitro* en forma masiva sobre medios artificiales y los estadios infectivos (J3) pueden ser almacenados por mucho tiempo, conservando su capacidad infectiva (George *et al.*, 1979)

Ciclo de Vida y Patogenicidad

La infección de Heterorhabditidos es iniciada por el tercer estado juvenil (J3); este está adaptado morfológica y fisiológicamente para permanecer en el medio ambiente sin alimentarse durante largos periodos. Dentro de las adaptaciones morfológicas se menciona al aparato digestivo, el cual no es funcional; la boca y el ano están cerrados. La bacteria simbiótica *Photorhabdus luminescens* juega un papel nutricional importante dentro del huésped, además de matar rápidamente al insecto, permite a los nematodos tener un amplio rango de huéspedes (Poinar, 1979)

El estado infectivo está adaptado para buscar y sobrevivir en el suelo, sin embargo el tipo de suelo y la humedad microambiental son importantes para su desplazamiento. Algunas especies realizan preferentemente su búsqueda sobre o cerca de la superficie del suelo, tal es el caso de *Heterorhabditis bacteriophora* (Alatorre y Kaya, 1990)

Los juveniles infectivos tienen la tendencia de buscar activamente a su huésped, ocurriendo esta en respuesta a estímulos físicos y químicos producidos por el huésped (gradientes de CO₂, temperatura del hospedero, producto de excreciones del huésped). Choo *et al.*, (1989) proponen con base en la habilidad para encontrar a su huésped, que los Heterorhabditidos tienen mayor habilidad que los steinernematidos, sin embargo esta característica de búsqueda puede incrementarse seleccionando a las poblaciones de nematodos a través de varias generaciones (Gaugler *et al.*, 1991)

Las vías de entrada más comunes son la boca, ano, espiráculos, sin embargo *Heterorhabditis* posee un diente dorsal que usa para romper la cutícula del insecto y

entrar directamente al hemocele (Guzmán *et al.*, 1999). La reproducción en los Heterorhabditidos (Juvenil a Juvenil) es de doce días. El J3 abandona el cadáver en busca de un nuevo huésped. Los juveniles infectivos no se alimentan pero pueden vivir por varias semanas de las sustancias que tienen almacenadas como reservas y por varios meses al entrar en estado anhidrobiótico (Womersley, 1990)

Modo de Acción

Los infectivos juveniles que invadieron el hemocele liberan la bacteria *Photorhabdus luminescens* que coloniza rápidamente al insecto, provocándole la muerte por septicemia dentro de un período de 48 horas.

Al mismo tiempo, la bacteria produce antibióticos para evitar que crezcan otras bacterias contaminantes dentro del cuerpo del insecto. Estas bacterias y sus subproductos proveen al nematodo los componentes necesarios para su desarrollo, mientras que el nematodo actúa como vector permitiendo que la bacteria entre al insecto.

Sintomatología

Los cadáveres del huésped del nematodo son de color rojo, rojo ladrillo, púrpura, naranja o algunas veces verde y presentan luminiscencia en la oscuridad (Woodring y Kaya, 1988)

Especies de Heterorhabditis y Bacteria Mutualista

Boemare *et al.*, 1993. Mencionan que el género se compone de ocho especies, todos ellos asociados mutualísticamente a la bacteria *Photorhabdus luminescens*.

<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (= <i>Heliothidis</i>) Poinar, 1976.	<i>Photorhabdus luminescens</i>
<i>Heterorhabditis zelandica</i> Wouts, 1979	<i>Photorhabdus luminescens</i>
<i>Heterorhabditis megidis</i> Poinar et al. 1987	<i>Photorhabdus luminescens</i>
<i>Heterorhabditis indicus</i> Poinar et al. 1992	<i>Photorhabdus luminescens</i>
<i>Heterorhabditis argentinensis</i> Stock, 1993	<i>Photorhabdus luminescens</i>
<i>Heterorhabditis brevicaudis</i> Liu, 1994	<i>Photorhabdus luminescens</i>
<i>Heterorhabditis marelatus</i> Liu y Berry, 1996	<i>Photorhabdus luminescens</i>
<i>Heterorhabditis hawaiiensis</i> Gardber et al. 1994	<i>Photorhabdus luminescens</i>

Taxonomía: *Steinernema* (Según Chitwood y Chitwood, 1937)

Reino:..... Animal
 Phylum:..... Nematoda
 Orden:..... Rhabditida
 Clase:..... Secernentea
 Familia:..... Steinernematidae
 Género:..... *Steinernema*
 Especie: spp

Características

Son patógenos obligados de insectos que matan su hospedante. Producen 2 a 3 generaciones en el cadáver. El cadáver presenta una coloración ocre, amarillo pardo o negro y no presenta luminiscencia en la oscuridad. *Steinernema* presenta machos y hembras (no hermafroditismo). La copula entre hembra y macho es necesaria para la reproducción (Nguyen y Smart, 1996)

Morfología

Las características que distinguen a los infectivos juveniles de los Steinernematidae es la presencia de un poro excretor localizado en posición anterior al anillo nervioso. Los machos no tienen bursa y tiene de 21 a 23 papilas genitales. El estoma es corto y ancho, el esófago compuesto de un cuerpo cilíndrico, espículas apareadas y separadas y gubernáculo presente. Tienen una asociación mutualística con bacterias del género *Xenorhabdus*, las cuales son transportadas en su intestino (George *et al.*, 1979)

Ciclo de Vida y Patogenicidad

La infección por Stinerematidos es iniciada por el tercer estado juvenil (J3); este está adaptado morfológicamente y fisiológicamente para permanecer en el medio ambiente sin alimentarse durante largos periodos. La bacteria simbiótica *Xenorhabdus* spp., juega un papel nutricional importante dentro del huésped, además de matar rápidamente al insecto, permite a los nematodos tener un amplio rango de huéspedes (Poinar, 1979)

Al igual que los heterorhabditidos están adaptados para buscar y sobrevivir en el suelo, sin embargo el tipo de suelo y la humedad microambiental son de suma importancia para su desplazamiento. Algunas especies realizan preferentemente su búsqueda sobre o cerca de la superficie del suelo, tal es el caso de *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema glaseri* (Alatorre y Kaya, 1990)

Los juveniles infectivos tienen la tendencia de buscar activamente a su huésped, ocurriendo esto en respuesta a estímulos físicos y químicos producidos por el huésped. Cada estado subsiguiente se alimenta y muda hasta el próximo estado, esto es de J2 a J3 y luego a J4 y finalmente al estado adulto. Las vías de entrada más comunes son la boca, ano y espiráculos. La reproducción de los Steinernematidos (Juvenil a Juvenil) toma alrededor de 10 días, periodo en que se completa dos ciclos de vida. El J3 abandona el cadáver en busca de un nuevo huésped y al igual que los *Heterorhadtis* pueden vivir por varias semanas o meses (Womersley, 1990)

Modo de Acción

El infectivo juvenil transporta la bacteria *Xenorhabdus* sp. en la porción ventricular de su intestino. Después de que el nematodo ha alcanzado el hemocele, la bacteria es liberada dentro de la hemolinfa donde se propaga. Esta causa la muerte del hospedante por septicemia dentro de 48 horas, principalmente porque al multiplicarse producen enzimas proteolíticas (destructoras de proteínas). El nematodo se alimenta de la bacteria y tejidos del hospedante. Estas bacterias y sus subproductos proveen al nematodo los componentes necesarios para su desarrollo, principalmente de su sistema reproductor. La bacteria depende totalmente de los nematodos para poder llegar a la hemolinfa y parasitar los insectos. Una vez el nematodo dentro del insecto, éste inhibe sus defensas antibacterianas. La bacteria produce una toxina que mata al insecto y produce antibióticos que evitan el crecimiento de otras bacterias contaminantes (Akhurst, 1980)

Sintomatología

Las especies de *Steinernema* matan a su huésped. Los cadáveres de los huéspedes de *Steinernema* cambian de color crema a naranja, amarillo o café y no presentan luminiscencia en la oscuridad (Woodring y Kaya, 1988)

Especies de *Steinernema* y Bacteria Asociada

Guzmán *et al.*, 1999. mencionan que existe 16 especies descritas del genero *Steinernema* encontradas infectando de forma natural a insectos.

<i>S. affinis</i> Bovien, 1937	Xenorhabdus bovienii
<i>S. anomali</i> Kozodoi, 1984	<i>Xenorhabdus sp.</i>
<i>S. carpocapsae</i> Weiser, 1955	<i>Xenorhabdus nematophilus</i>
<i>S. feltiae</i> Filipjev(= <i>Neoplectana bibionis</i> Bovien)	<i>Xenorhabdus bovienii</i>
<i>S. glaseri</i> Steiner, 1929	Xenorhabdus poinarii
<i>S. intermedia</i> Poinar, 1985.	<i>Xenorhabdus bovienii</i>
<i>S. krausseii</i> Steiner, 1923	No identificada
<i>S. kushidai</i> , Mimiya, 1988	No identificada
<i>S. rara</i> Daucet, 1986	No identificada
<i>S. ritteri</i> Doucet and Doucet, 1990	No identificada
<i>S. scapterisci</i> Nguyen and Smart, 1990	No identificada
<i>S. longicaudatum</i> Shen y Wang, 1991	No identificada
<i>S. neocurtilis</i> Nguyen and Smart, 1992	No identificada
<i>S. riobravis</i> Caballinas et. al. 1994	No identificada
<i>S. puertoricensis</i> Roman y Figueroa, 1994	No identificada
<i>S. bicornutum</i> Tallosi et al., 1995	No identificada

Toxicidad a Vertebrados

De todos los vertebrados sometidos a estados infectivos de nematodos entomopatógenos, solo dos especies de renacuajos han sido susceptibles (Poinar, 1990). En lo referente a las bacterias, pruebas realizadas sobre conejos, ratas y ratones expuestos a *Xenorhabdus nematophilus* en ruta oral, intradermal, subcutánea, intraperitoneal, por inhalación y contacto, sugieren que no hay infección, patología o reacciones tóxicas (Popiel y Hominick, 1992)

Supervivencia de los Juveniles

El tiempo que *Steinernema* y *Heterorhabditis* sobreviven en ausencia de su huésped, depende de factores como la temperatura, humedad, enemigos naturales, tipo de suelo y la especie de nematodo. *Steinernema carpocapsae* y *S. glaseri* sobreviven mejor en suelo arcillo-arenoso con baja humedad relativa (2-4%) (Kung *et. al.* 1990 a, b).

Las formas infectivas de *S. scapterisci* sobreviven durante 13 semanas en suelo arenoso y areno-arcilloso en el punto en que ocurre la marchitez de las plantas, demostrando con esto que los niveles de humedad no constituyen un factor crítico para la supervivencia de estas especies. *H. bacteriophora* se desplaza a varios centímetros hacia arriba o hacia abajo del punto donde son aplicados, mientras que *S. carpocapsae* se desplaza lateralmente; este comportamiento demuestra la importancia que tienen la selección de especie de nematodos como agentes de control biológico de insectos (Arredondo *et al.*, 1999)

Si se desea utilizar los nematodos entomopatógenos en el suelo, necesitamos entender sus interacciones en este medio ambiente. Esta información permitirá optimizar el potencial de estos organismos en el control de insectos del suelo.

MATERIALES Y METODOS

Localización y Descripción del Área de Estudio

La realización de este trabajo e investigación se llevo a cabo en los campos de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” en el área de Buenavista, perteneciente al municipio de Saltillo, Coahuila, ubicada a los 25°22'41” de latitud norte y 101°00'00” de longitud oeste, con una altitud de 1743 m.s.n.m. La región cuenta con un clima semiárido, temperatura media anual de 21.7° C y una precipitación media anual de 368 mm.

Tipos de Hábitat:

Se colectaron muestras de suelos de diversos cultivos en el mes de Noviembre del 2005. Siendo los cultivos a estudiar maíz (*Zea mays*), suelo rastreado (región bajío), ajo (*Allium sativum*), canal de riego, hortalizas, malezas (región bajío), avena (*Avena fatua*), pinos (*Pinus cembroides*), jardín, girasol (*Helianthus annuus*), malezas(región UAAAN), suelo rastreado (región UAAAN).

Colecta de Muestras de Suelo:

Para tomar la muestra el sitio se limpio, removiendo la hojarasca y las malezas. Para verificar la existencia de nematodos entomopatógenos, la recolección de las muestras de suelo se realizó por el método intencional cubriendo diversos agroecosistemas. Dentro de cada cultivo o área de muestreo se seleccionaron al azar 5 sitios, y en cada uno de ellos se recolectaron 5 muestras de suelo de

aproximadamente 2.5 Kg. cubriendo un área aproximada de 20 m², con 50 metros de separado entre sitio (Stock *et al.*, 1999).

Las muestras que se obtuvieron en cada sitio, se mezclaron uniformemente y se colocaron en una bolsa de polietileno (3kg 41 X71 cms), para prevenir la pérdida de agua, la cual se etiquetó y se colocó en una hielera a 15° C para mantenerlos en condiciones de frío durante su traslado al laboratorio para inmediatamente procesarlos y analizarlos por separado.

Primer muestreo (BAJIO)

Segundo muestreo (UAAAN)

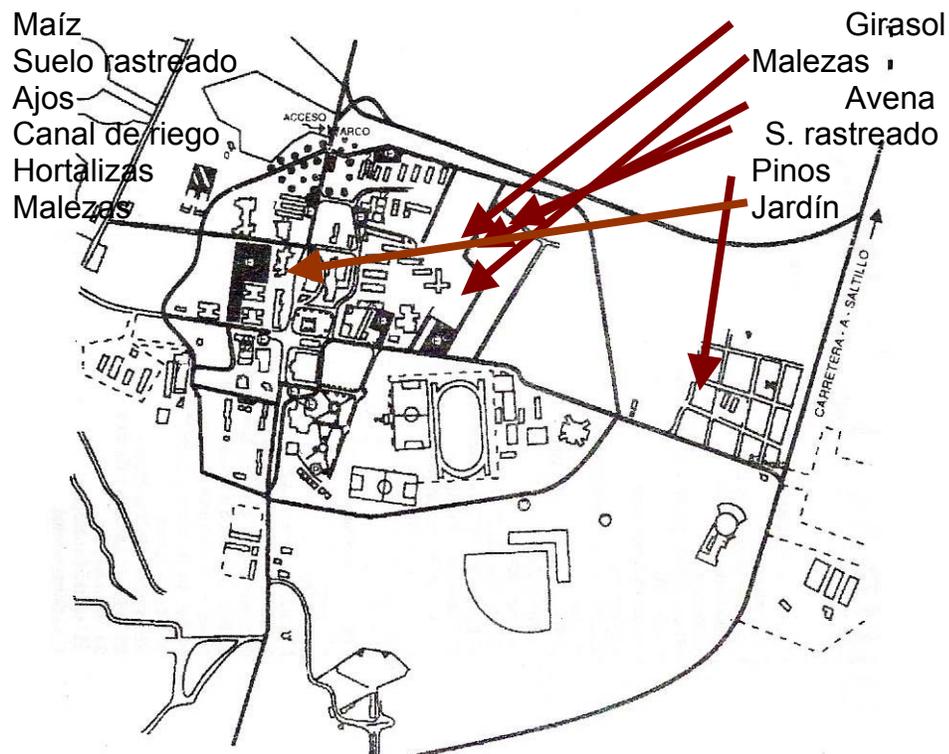


Figura 1. Croquis del muestreo de suelo en los diferentes agroecosistemas

Aislamiento de los Nematodos Entomopatógenos:

Con la finalidad de detectar la presencia de los nematodos entomopatógenos, se aislaron de las muestras de suelo con la técnica de cebado (Bedding y Arkhurst, 1975). Las muestras de suelo se tamizaron, y una cantidad de 400 g. se colocó en un recipiente de plástico de 500 ml humedeciendo la muestra obtenida.

En seguida a cada contenedor se agregaron 3 larvas del último estadio de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), los cuales se taparon, invirtieron y etiquetaron permaneciendo a temperatura ambiente ($25^{\circ} \pm 3^{\circ}$ C) durante siete días (Stock *et. al.*, 1999).

Después del periodo de incubación las larvas se recuperaron para su examinación. Los cadáveres se recolectaron, los cuales se lavaron con agua de la llave, y se desinfectaron superficialmente por inmersión en hipoclorito de sodio al 0.1% durante 30 segundos. Después se pasaron tres veces en recipientes con agua destilada estéril (Woodring y Kaya, 1988). En seguida se colocaron dentro de una caja petri (60 x 15 mm) sobre un papel filtro Whatman N0.2.

Después de 2 a 3 días en las cajas Petri los cadáveres que mostraron signos y síntomas característicos de infecciones por nematodos entomopatógenos (Poinar, 1979). Se observaron bajo un microscopio estereoscópico, para comprobar la presencia de Steinernematidos y Heterorhabditidos (Poinar, 1979; Hominick y Briscoe, 1990).

Posteriormente para coleccionar los juveniles infectivos que emergieron de los cadáveres, se transfirieron e incubaron en cámara húmeda, que consistió en un recipiente de plástico de 500 ml de capacidad colocando dentro un pedazo de algodón empapado de agua de llave.

Estudios Taxonómicos:

Para identificar los nematodos hasta el nivel de género, considerando las características de coloración que presentaron los cadáveres de *T. molitor* (Woodring y Kaya, 1988) así como características morfológicas.

Para corroborar la identificación se enviaron a Florida State University, USA con el Dr. Nguyen y el Dr. Khuong especialistas mundiales en identificación de nematodos entomopatógenos.

Variable Evaluada

Numero de muestras positivas

Para medir la discrepancia que existió en las frecuencias observadas y esperadas se utilizo el estadístico χ^2 dado por:

$$\chi^2 = \frac{(o_1 - e_1)^2}{e_1} + \frac{(o_2 - e_2)^2}{e_2} + \dots + \frac{(o_K - e_K)^2}{e_K} = \sum_{j=1}^K \frac{(o_j - e_j)^2}{e_j}$$

Siendo:

Ho: No existe diferencia en la frecuencia de muestras positivas para nematodos entomopatógenos en los diferentes agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila

Ha: Existe diferencia en la frecuencia de muestras positivas para nematodos entomopatógenos en los diferentes agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila

RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación se presentan los resultados obtenidos en el presente trabajo, la interpretación de los mismos será discutida por la variable evaluada para una mejor comprensión.

Detección

Fecha de Muestreo (14 de noviembre-2005)

Agroecosistema	Presente		No presentes		total	
	n	%	n	%	n	%
maíz	1	4	24	96	25	100
s. rastreado(bajío)	0	0	25	100	25	100
ajo	0	0	25	100	25	100
canal de riego	19	76	6	24	25	100
hortalizas	8	32	17	68	25	100
malezas(bajío)	2	8	23	92	25	100
total	30	20	120	80	150	100

Tabla 1. Presencia de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis* spp en muestras de diversos Agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coah.

Agroecosistema	Presente		No presentes		total	
	n	%	n	%	n	%
Maíz	0	0	25	100	25	100
s. rastreado(bajío)	0	0	25	100	25	100
ajo	0	0	25	100	25	100
canal de riego	6	24	19	76	25	100
hortalizas	9	36	16	64	25	100
malezas (bajío)	3	12	22	88	25	100
total	18	12	132	88	150	100

Tabla 2. Presencia de nematodos entomopatógenos *Steinernema* spp en muestras de diversos Agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.

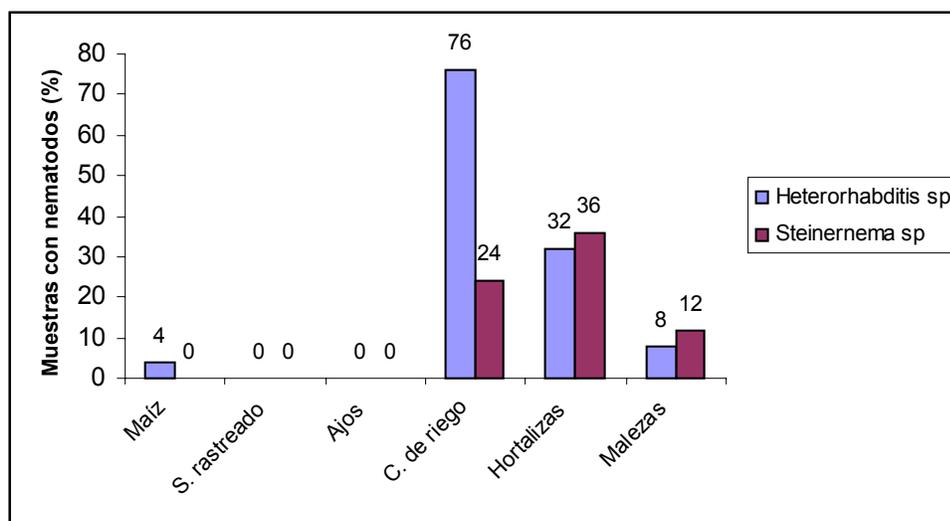


Figura 2. Gráfico comparativo del primer muestreo. Nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis* spp y *Stienernema* spp en Agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Fecha de Muestreo (28 de Noviembre 2005)

Agroecosistema	Presente		No presentes		total	
	n	%	n	%	n	%
Avena	1	4	24	96	25	100
Pinos	1	4	24	96	25	100
Jardin	2	8	23	92	25	100
Girasol	0	0	25	100	25	100
Malezas (UAAAN)	16	64	9	36	25	100
S.rastreado (UAAAN)	1	4	24	96	25	100
total	21	14	129	86	150	100

Tabla 3. Presencia de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis* spp en muestras de diversos Agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila

Agroecosistema	Presente		No presentes		total	
	n	%	n	%	n	%
Avena	0	0	25	100	25	100
Pinos	2	8	23	92	25	100
Jardin	4	16	21	84	25	100
Girasol	1	4	24	96	25	100
Malezas (UAAAN)	3	12	22	88	25	100
S.rastreado(UAAAN)	0	0	25	100	25	100
total	10	6.66	140	93.33	150	100

Tabla 4. Presencia de nematodos entomopatógenos *Steinernema* spp en muestras de diversos Agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.

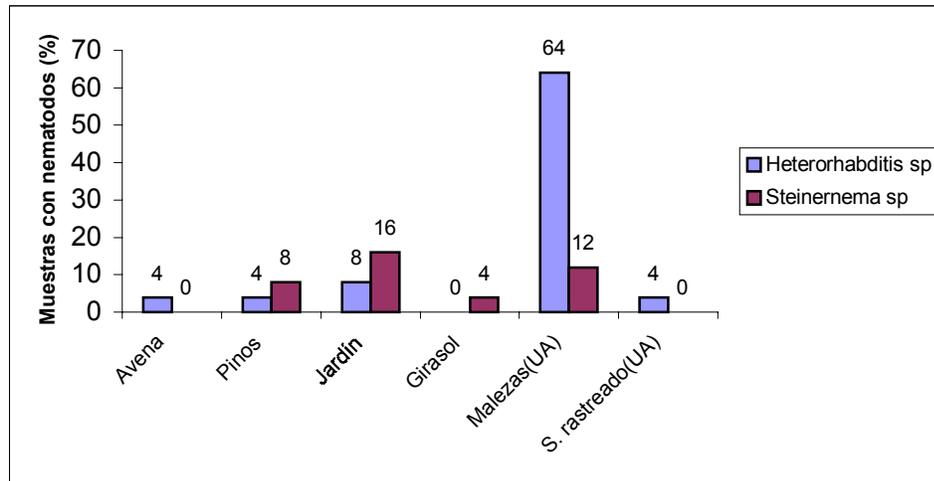


Figura 3. Grafico comparativo del segundo muestreo. Nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis* spp y *Steinernema* spp en Agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Resultados de la investigación demuestran que los muestreos de suelos para detectar la presencia de nematodos entomopatógenos dieron como resultado en muestra positiva para el género de *Heterorhabditis* un 17.0%; mientras que para el género de *Steinernema* se presentó un 9.33% del total de las muestras observadas. Dichos resultados nos dan la idea de la importancia que tiene la presencia de estos microorganismos en los suelos los cuales pueden ser reguladores naturales de organismos plaga.

METODO ESTADÍSTICO χ^2

Para medir la discrepancia existente en las frecuencias observadas y esperadas y las discrepancias existentes entre cultivos se utilizo el estadístico χ^2 .

CULTIVO	NO. DE MUESTRAS	MUESTRAS OBS. +	MUESTRAS ESP. +
HORTALIZAS	25	15	6.83
AJOS	25	0	6.83
MAIZ	25	1	6.83
S. RASTREADO	25	0	6.83
CANAL	25	20	6.83
MALEZAS	25	5	6.83
TOTAL	150	41	41

MUESTRAS ESP. +	MUESTRAS OBS. +	E-O	$(E-O)^2/E$
6.83	15	8.17	9.77
6.83	0	6.83	6.83
6.83	1	5.83	4.98
6.83	0	6.83	6.83
6.83	20	13.17	25.40
6.83	5	1.83	0.49

$$\chi^2=54.3$$

Cuadro 5. Primer muestreo. χ^2 evaluada con muestras positivas de *Steinernema* spp y *Heterorhabditis* spp por Cultivo

En un total de 150 muestras 41 resultaron positivas con nematodos entomopatógenos, es decir, el 27.33% del total. Por tanto es de esperarse que un 27.33% de las muestras de cada sistema agroecológico se presente positivo.

Considerando intervalos de confianza de 95 % y 99%; y $gl=5$. Las discrepancias existentes con presencia de NEP's (Nematodos entomopatógenos) en diversos agroecosistemas muestreados se concluye que existe diferencia altamente significativa entre uno o más de los cultivos muestreados por tanto se acepta la H_a y se rechaza H_o , confirmando de esta manera que si existe diferencia de frecuencia de

muestras positivas para NEP's de ambos géneros en suelos de agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila y por tanto la distribución no es homogénea.

CULTIVO	NO. DE MUESTRAS	MUESTRAS OBS. +	MUESTRAS ESP. +
AVENA	25	2	3..83
PINOS	25	3	3..83
JARDIN	25	7	3..83
S. RASTREADO	25	1	3..83
MALEZAS	25	9	3..83
JIRASOL	25	1	3..83
TOTAL	150	23	23

MUESTRAS ESP. +	MUESTRAS OBS. +	E-O	(E-O) ² /E
3..83	2	1.83	0.87
3..83	3	0.83	0.18
3..83	7	3.2	2.67
3..83	1	2.83	2.09
3..83	9	5.17	6.98
3..83	1	2.83	2.09

$$\underline{\underline{X^2=14.88}}$$

Cuadro 6. Segundo muestreo. X^2 evaluada con muestras positivas de *Steinernema* spp y *Heterorhabditis* spp por Cultivo

En un total de 150 muestras 23 resultaron positivas con nematodos entomopatógenos, es decir, el 15.33% del total. Por tanto es de esperarse que un 15.33% de las muestras de cada sistema agroecológico se presente positivo.

Considerando intervalos de confianza de 95 % y 99%; y $gl=5$. Las discrepancias existentes con presencia de NEP's en diversos agroecosistemas muestreados se concluye que existe diferencia significativa entre uno o más de los cultivos muestreados por tanto se acepta la H_a y se rechaza H_o , confirmando de esta manera que si existe NEP's de ambos géneros en suelos de agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.

CULTIVO	NO. DE MUESTRAS	MUESTRAS OBS. +	MUESTRAS ESP. +
HORTALIZAS	25	8	5
AJOS	25	0	5
MAIZ	25	1	5
S. RASTREADO	25	0	5
CANAL	25	19	5
MALEZAS	25	2	5
TOTAL	150	30	30

MUESTRAS ESP. +	MUESTRAS OBS. +	E-O	(E-O) ² /E
5	8	3	1.8
5	0	5	5.0
5	1	4	3.2
5	0	5	5.0
5	19	14	39.2
5	2	3	1.8

X²=56.0

Cuadro 7. Primer muestreo. X² evaluada con muestras positivas de *Heterorhabditis* spp por Cultivo

En un total de 150 muestras 30 resultaron positivas con nematodos entomopatógenos, es decir, el 20.00% del total. Por tanto es de esperarse que un 20.00% de las muestras de cada sistema agroecológico se presente positivo.

Considerando intervalos de confianza de 95 % y 99%; y gl=5. Las discrepancias existentes con presencia de NEP's en diversos agroecosistemas muestreados se concluye que existe diferencia altamente significativa entre uno o más de los cultivos muestreados por tanto se acepta la Ha y se rechaza Ho, confirmando de esta manera que si existe NEP's del género *Heterorhabditis* spp en suelos de agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila.

CULTIVO	NO. DE MUESTRAS	MUESTRAS OBS. +	MUESTRAS ESP. +
AVENA	25	1	1.83
PINOS	25	1	1.83
JARDIN	25	2	1.83
S. RASTREADO	25	1	1.83
MALEZAS	25	6	1.83
JIRASOL	25	0	1.83
TOTAL	150	11	11

MUESTRAS ESP. +	MUESTRAS OBS. +	E-O	(E-O) ² /E
1.83	1	0.83	0.38
1.83	1	0.83	0.38
1.83	2	0.17	0.02
1.83	1	0.83	0.38
1.83	6	4.17	9.50
1.83	0	1.83	1.83

$$\underline{\underline{X^2=12.49}}$$

Cuadro 8. Segundo muestreo. X^2 evaluada con muestras positivas de *Heterorhabditis* spp por Cultivo

En un total de 150 muestras 11 resultaron positivas con nematodos entomopatógenos, es decir, el 7.33% del total. Por tanto es de esperarse que un 7.33% de las muestras de cada sistema agroecológico se presente positivo.

Considerando intervalos de confianza de 95 % y 99%; y $gl=5$. las discrepancias existen con presencia de NEP's en diversos agroecosistemas muestreados se concluye que existe diferencia significativa entre uno o más de los cultivos muestreados por tanto se acepta la H_a y se rechaza H_o , confirmando de esta manera que si existe NEP's del género *Heterorhabditis* spp en suelos de agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila

CULTIVO	NO. DE MUESTRAS	MUESTRAS OBS. +	MUESTRAS ESP. +
HORTALIZAS	25	9	3
AJOS	25	0	3
MAIZ	25	0	3
S. RASTREADO	25	0	3
CANAL	25	6	3
MALEZAS	25	3	3
TOTAL	150	18	18

MUESTRAS ESP. +	MUESTRAS OBS. +	E-O	(E-O)²/E
3	9	6	12.0
3	0	3	3.0
3	0	3	3.0
3	0	3	3.0
3	6	3	3.0
3	3	0	0.0

$$\underline{\underline{X^2=24.0}}$$

Cuadro 9. Primer muestreo. X^2 evaluada con muestras positivas de *Steinernema* spp por Cultivo

En un total de 150 muestras 18 resultaron positivas con nematodos entomopatógenos, es decir, el 12.00% del total. Por tanto es de esperarse que un 12.00% de las muestras de cada sistema agroecológico se presente positivo.

Considerando intervalos de confianza de 95 % y 99%; y $gl=5$. Las discrepancias existentes con presencia de NEP's en diversos agroecosistemas muestreados se concluye que existe diferencia altamente significativa entre uno o más de los cultivos muestreados por tanto se acepta la H_a y se rechaza H_o , confirmando de esta manera que si existe NEP's del género *Steinernema* spp en suelos de agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila

CULTIVO	NO. DE MUESTRAS	MUESTRAS OBS. +	MUESTRAS ESP. +
AVENA	25	1	1.83
PINOS	25	2	1.83
JARDIN	25	4	1.83
S. RASTREADO	25	0	1.83
MALEZAS	25	3	1.83
JIRASOL	25	1	1.83
TOTAL	150	11	11

MUESTRAS ESP. +	MUESTRAS OBS. +	E-O	(E-O) ² /E
1.83	1	0.83	0.38
1.83	2	0.17	0.02
1.83	4	2.17	2.57
1.83	0	1.83	1.83
1.83	3	1.17	0.75
1.83	1	0.83	0.38

$$\underline{X^2=5.93}$$

Cuadro 10. Segundo muestreo. X^2 evaluada con muestras positivas de *Steinernema* spp por Cultivo

En un total de 150 muestras 11 resultaron positivas con nematodos entomopatògenos, es decir, el 7.33% del total. Por tanto es de esperarse que un 7.33% de las muestras de cada sistema agroecològico se presente positivo.

Considerando intervalos de confianza de 95 % y 99%; y $gl=5$. Las discrepancias existentes con presencia de NEP's en diversos agroecosistemas muestreados se concluye que no existe diferencia entre los cultivos muestreados, por tanto no hay diferencia significativa para ningùn grado de confianza. Se acepta H_0 y se rechaza H_a

Como conclusión general para dichos muestreos en la prueba de X^2 solamente se presentaron estadísticamente en la misma proporción el género de *Steinernema* en los cultivos muestreados de Avena, Pinos, Jardin, Girasol, Malezas (UAAAN), Suelo rastreado (UAAAN); mientras que para *Heterorhabditis* en todos los cultivos se apreciaron discrepancias significativas, lo cual indica que existen factores edafológicos, ambientales etc. que interfieren de manera significativa en la presencia de dichos microorganismos.

**Prueba Kolmogrov - Smirnov
(Prueba para dos poblaciones)**

Fecha 14-nov-2005

Cultivo	No. de muestras negativas	
	<i>Heterorhabditis</i> spp	<i>Steinernema</i> spp
Maíz	24	25
Suelo rastreado(Bajío)	25	25
Ajos	25	25
Canal de riego	6	19
Hortalizas	17	16
Malezas(Bajío)	23	22

Cuadro 11. Primer muestreo. Frecuencia de muestras negativas con nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis* spp y *Steinernema* spp

Fecha 28-nov-2005

Cultivo	No. de muestras negativas	
	<i>Heterorhabditis</i> spp	<i>Steinernema</i> spp
Avena	24	25
Pinos	24	23
Jardín	23	21
Girasol	25	24
Malezas(UAAAN)	9	22
S. rastreado(UAAAN)	24	25

Cuadro 12. Segundo muestreo. Frecuencia de muestras negativas con nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis* spp y *Steinernema* spp

Rango/intervalo	Frecuencia	
	<i>Heterorhabditis</i> spp	<i>Steinernema</i> spp
0-3	16	16
4-7	25	23
8-11	24	24
12-15	23	25
16-19	25	25
20-23	25	25
24 >	25	25
total	163	163

Cuadro 13. Frecuencia de muestras negativas con nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis* spp y *Steinernema* spp

Dato estadístico = 0.0122699

Discusión

No hay evidencia real contra la hipótesis nula, por tanto las distribuciones generales de ambas poblaciones de nematodos entomopatógenos, no son significativamente diferentes dado con un valor de significancia de $\alpha > 0.10$

Identificación

Para identificar los nematodos hasta el nivel de género se considero las características de coloración que presentaron los cadáveres de *T. monitor*, así como características morfológicas.

Para corroborar dicha identificación se enviaron a Florida State University, USA con el Dr. Nguyen y el Dr. Khuong especialistas mundiales en identificación de nematodos entomopatógenos, identificando tentativamente a una especie cercano a *Heterorhabditis marelatus*, mientras siguen los estudios de ADN para confirmar la especie o en su caso nueva especie.

Distribución

NEP's	Maíz	S. rastreado	Ajos	C. de riego	Hortalizas	Malezas
<i>Heterorhabditis</i>	+	-	-	+	+	+
<i>Steinernema</i>	-	-	-	+	+	+

Cuadro 14. Existencia de nematodos entomopatógenos *Steinernema* (S) y *Heterorhabditis* (H), en el primer muestreo, asociados en cultivo en la región de estudio.

NEP's	Girasol	Malezas	Avena	S. rastreado	Pinos	Jardín
<i>Heterorhabditis</i>	-	+	+	+	+	+
<i>Steinernema</i>	+	+	-	-	+	+

Cuadro 15. Existencia de nematodos entomopatógenos *Steinernema* (S) y *Heterorhabditis* (H), en el segundo muestreo, asociados en cultivo en la región de estudio.

DISCUSIÓN

En este estudio se confirma la hipótesis de que en diversos agroecosistemas de Buenavista, Saltillo, Coahuila se encuentran nematodos entomopatógenos que habitan en forma natural.

Los nematodos entomopatógenos fueron encontrados en la mayoría de los suelos muestreados. Esta inspección demuestra la gran distribución y diversidad existente, por lo cual Akhurst (1989) Menciona que la diferencia en la distribución de los nematodos entomopatógenos puede deberse a la disponibilidad de insectos hospederos satisfactorios, aunque la influencia ambiental como el tipo de suelo, también pueden determinar su distribución.

La presencia de *Steinernema* spp y *Heterorhabditis* spp en los cultivos muestreados, puede ser atribuido al hecho de que plagas del suelo son susceptibles a los nematodos entomopatógenos, mismas que probablemente pueden ser responsables de mantener poblaciones de los nematodos en dichos habitats.

En suelos con y sin cultivo la presencia de entomopatógenos puede ser debido a que el suelo constituye un reservorio natural de enemigos antagonistas.

CONCLUSION

Al término de esta realización de esta investigación se puede concluir lo siguiente:

Los nematodos entomopatógenos fueron encontrados en la mayoría de los suelos muestreados y fueron identificados a nivel género.

La presencia de nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis* resalta en los agroecosistemas en el siguiente orden: canal de riego, malezas (UAAAN), hortalizas, Jardín, malezas (Bajío), Maíz, Avena, Pinos, suelos rastreado (UAAAN).

La presencia de nematodos entomopatógenos del género Steinernematidae resalta en los agroecosistemas en el siguiente orden: hortalizas, canal de riego, jardín, malezas (UAAAN), malezas (Bajío), pinos, girasol.

Resultados de la investigación indican que existe una incidencia menor de nematodos entomopatógenos en suelos con manejo agrícola mientras que en observaciones personales se determina que la humedad microambiental del suelo es un factor determinante en la presencia de nematodos entomopatógenos.

LITERATURA CITADA

- Alves, S. 1986. Controle microbiano de insectos. Editora Manole. Sao Paulo, Bra. p. 210-221
- Alatorre-Rosas R. 1999. Perspectivas del uso de nematodos entomopatògenos en Mèxico. Potencial de Nematodos entomopatògenos en el control de plagas. Colima, Col. Mèxico. Pp. 72
- Alatorre-Rosas. R. & H. K. Kaya. 1990. Interspecific competition between entomopathogenic nematodes in the genera *Heterorhabditis* and *Steinernema* for and insect host in sand. J. Invertebr. Pathol. 55:179-88
- Akhurst R. J. 1989. Morphological and functional dimorphism in *Xenorhabdus* spp. Bacteria symbiotically associates with the insect pathogenic nematodes *Neoaplectana* and *Heterorhabditis*. J. Gen. Microbiol. 121:303-9
- Arredondo Bernal H. C., Molina Ochoa J., Hernandez Velásquez V. M., 1999. Potencial de nematodos entomopatogenos en el control de plagas. 1ª edicion. Colima, Col. Mèxico . Pp.17
- Barrera, J. F., P. S. Baker, J. A. Valenzuela y A. Schwarz. 1990. introducción de dos especies de parasitoides africanos a Mèxico para el control biologico de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Folia Entomol. Mex. 79:245-247.
- Begley, J.W. 1990. Efficacy against inscts in habitatss other than soil, pp: 215-231. En: Gaugler, R. & H. K. Kaya (eds.), Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL., USA. 365 p.
- Bedding, R. A. and Akhurst, R. J. (1975). A simple technique for the detection of insect parasitic nematodes in soil. Nematologica 21: 109-110.
- Bedding R. A. 1998. New methods increase the feasibility of using *Neoaplectana* spp(Nematoda) for the control insects pests. Proc. First int. Collol. Invertebr. Pathol. Kingston , Canada 1:250254
- Boemare, N. E., R. J. Akhurst & R. G. Mourant. 1993. Deoxyribonucleic acid relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae)), symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, with the proposal to transfer *Xenorhabdus* *luminescens* a new genus *Photorhabdus* gen. Nov. int. J. syst. Bacterial. 43:249-255
- Campbell, J. F., R. Gaugler. 1973. Inter-specific variation in entomopathogenic nematodes foraging strategy: dichotomy or variation along a continuum? Appl. Nematol. 20:393- 398.

- Castillo V. A. 1995. Nematodos parasitos de insectos. Memorias. VI Curso de control Biológico. Tapachula, Chiapas. Pp781-88
- Cepeda, S. M. 1997. El control biológico como una alternativa en el manejo de poblaciones de nematodos. Memoria. XX Congreso nacional de control biológico. Universidad de Guadalajara. Pp 195-197
- Chitwood, B. G. and Chitwood, M. B. A. 1937. an Introduction to nematology, (revised), monumental printing Co., Baltimore. Pp 372
- Choo, H. K. , H. K. Kaya, T. M. Burlando & R. Gaugier. 1989. Entomopathogenic nematodes: host finding ability in the presence of plants roots. Environ. Entomol. 18:1136-1140
- Gaugler, R. 1988. Ecological considerations in the biological control of soil-inhabiting insects pests with entomopathogenic nematodes. Agr. Ecosyst. Environ. 24(1-3):351-360.
- Gaugler, R. & H. K. Kaya. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological control. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL, USA.
- Gaugler R. , J. F. Campbell & P. Gupta. 1991. characterization and basis of enhanced host-finding in a genetically improved strain of *Steinernema carpocapsae*. J. Invertebr. Pathol. 57:234-41
- George O., Poinar Jr. 1979. Nematodes for Biological Control of insects. University of California. 3a. Ed. Berkeley, California . Pp 165-167
- Georgis, R. and Hague, N.G.M. 1991. Nematodes as biological insecticides. Pesticide Outlook 2, 29-32.
- Georgis, R. and Poinar, G.O. Jr. 1994. Nematodes as bioinsecticides in turf and ornamentals. Pp. 477-489. In: A.R. Leslie and U.S. EPA, EDS. Handbook of integrated pest management for turf and ornamentals. Boca Raton, FL, CRC Press.
- Georgis, R. (1992). Present and future prospects for entomopathogenic nematodes products. Biocontrol Sci. Technol. 2, 83-99.
- Griffin, C. T. , Downes , M. J. and Block, W. 1990. test of antarctic soils for insect parasitic nematodes Short note. Antarctic Science 2(3): 221-222
- Guzmán F.A., Alatorre R. R. 1999. Nematodos parasitos de insectos. Colegio de postgraduados. Instituto de fitosanidad. Montecillo, estado de México. Pp 189

- Harris, P. 1973. the selection of effective agents for the biological control of weeds. 3rd. Int. Symp. Bol. control weeds Montpellier, france.
- Hominick, W. M. And Briscoe, B. R. (1990). Occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida:Steinernematode) in Brithis soils. Parasitol. 100, 295-302.
- Hoechberg, M.E. 1989. The potential role of pathogens in biological control. Nature 337: 262- 265
- Kaya, H. K. & R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. Ann. Rev. Entornol. 38: 181- 206.
- Kaya, H. K. 1993. Entomogenous and entomopathogenic nematodes in bioical control, pp: 565.591. Inc: Evans, K., D. L. Trudgill & J. M. Webster (eds.) Plant parsitic nematodes in temperature agriculture. CAB International Wallingford, Oxon, UK.
- Kung, S.P., R. Gaugler & H.K. Kaya. 1990a. influence of soil pH and oxygen on persistence of Steinernema spp. J. Nematol. 22:440-45.
- Kung, S. P., R. Gaugler & H. K. Kaya. 1990b. Soil type and entomopathogenic nematodes persistence . J. Invertebr. Pathol. 55:401-6
- Lopez P. Jose Antonio. s/f. Control Biológico de Insectos mediante nematodos entomopatogenos. BASF
- Lezama G. R. , Molina O. J., Contreras Ochoa O. L. , Gonzalez R. M., Trujillo de la Luz A., Rebolledo D. O. 1996. Susceptibilidad de larvas de *Anastrepha ludens* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) a diversos nematodos entomopatogenos (STEINERNEMATIDAE Y HETERORHABDITIDAE). Vedia 3: 31-34
- Lezama, G. R., R. Alatorre-Rosas, L. F. Bojalil-Jaber, J. Molina Ochoa, M. Arenas Vargas; m: Gonzalez-Ramirez y O. Reblledo Domínguez. 1996. virulence of entomopathogenic fungi (imperfect fungi: Hyphomycetes) against the fall armyworm (Lepidoptera:Noctuidae) eggs and neonate larvae. Vedia 3:35-39.
- Lezama G. R. 2004. Liñan-Valdez W., Angel-Sahagun C. A., Garcia Zamora R., Alcatraz Tapia P. A., Tirado P. E., Molina O. J., Galindo Velasco E., Lopez Lavin M., 2004. Presencia de Hongos y nematodos entomopatògenos (Hyphomycetes) en suelos cultivados con caña de azucar, del area de abasto del ingenio Quesería. XXVII Congreso Nacional de Control Biológico, los Mochis, Sinaloa. Pp. 328-331.

- Lezama G. R., Prado Rebolledo F. J., Molina O. J. , Galindo velasco E., Angel Sahagun C. A., Bazan T. M. , Lopez Lavin M. 2004. Presencia de nematodos entomopatogenos (Steinernematidae y Heterorhabditidae) de suelos cultivados de cítricos, en el estado de Colima, México. XXVII Congreso Nacional de Control Biológico, los Mochis, Sinaloa, México Pp. 332-335
- Molina O., J.J. Hamm, R. Lezama, L. F. Bojalil J., M. Arenas & M. Gonzalez. 1996. virulence of six entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) on immature stages of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Vedalia* 3:25-29.
- Nickle, W. N. 1984. History, development and importance of insect nematology, pp: 653-727. In: Nickle, W. R. (ed.), *Plant and insect nematodes*. Marcel Dekker, New York.
- Nguyen, K. B. and Smart, G. C. Jr. (1992a). *Steinernema neocurtillis* n sp. (Rhabditida: Steinernematidae) and a key to species of the genus *Steinernema*. *J. Nematol.* 24(4):463-477.
- Nguyen, K. B. and Smart, G. C. Jr. (1994). *Neosteinerema longicurvicaudata* n s (Rhabditida: Steinernematidae), a parasitic of the termite *Reticulitermis flavipes*(Koller). *J. Nematol.* 26(2):162-174.
- Nguyen K. B. & G. C. Smart Jr. 1996. Identification of entomopathogenic nematodes in the Steinernematidae and Heterorhabditidae(Nematoda: Rhabditida) *J. Nematology* 28:286-300
- Olayo P.R. P. 1999. Entomopatogenos utilizados en el control microbial de insectos plaga. Monografía. Buenavista, Saltillo, Coahuila.
- Poinar, G. O. 1975. Entomogenous nematodes a manual and host list of insect-nematodes associations. E. J. Brill, Leiden , Netherlands 317 p.
- Poinar, G. O., Jr.,1976. Insect immunity to parasitic nematodes, in contemporary topics on immunobiology, cooper, E. L., Ed., Plenum Press. New york Pp.167
- Poinar G.O. Jr. 1979. *Nematodes for biological control of insects*. CRC Press, Boca Raton FL., USA.
- Poinar, G. O. Jr. 1989. Non-insect hosts for the entomogenous rhabditoid nematodes *Neoaplectana* (Steinernematidae) *Heterorhabditis* (Heterorhabditidae). *Rev. Nematol.* 12: 423-428.

- Poinar G. O. Jr. 1990. Biology and Taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae, PP 23-61. En: Gaugler, R. & H. K. Kaya (eds). Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press Boca Raton, F. L. USA. 3654 p.
- Popiel, I. & W. M. Hominick. 1992. Nematodes as biological control agents: part II. Advances in parasitology 31:381-433
- Raulston, J. R., J. Loera, S. D. Pair, H. E. Caballinas, 1988. parasitismo del nematodo *Steinernema* spp. Sobre pupas de gusano elotero y cogollero bajo condiciones de campo. XIV Congreso Nacional de control biológico. Buenavista, Saltillo, Coahuila. Pp. 69-71
- Salas L. M. A., Gonzalez R. M., Lezama R., Rebolledo D. O., Molina O. J. 2000. existencia de nematodos entomopatogenos (*Steinernematidae* y *Heterorhabditidae*) en agroecosistemas del cañon de Juchipila, Zacatecas, México.
- Rosen, D. and C. Huffaker. 1983. An overview of desired attributes of effective biological control agents with particular emphasis on mites In: Hoy, M., G. Cunningham and L. Knutson (eds), Biological control of pests by mites. Univ. of California. Div. Agric. Special pub. 3304
- Rodriguez del B. L. A., Alatorre R. R. 1991. Control microbiano de plagas insectiles. II curso de control biológico. UAAAN. Saltillo, Coahuila. Pp. 58
- Sánchez-Peña S. R. 2000. Entomopathogens from two Chihuahuan desert localities in México. Kluwer Academic Publisher. Biocontrol. 45: 63-78.
- Smart, G. C. Jr. and Nguyen, K. B. (1990). *Steinernema scapterisci* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae). J. Nematol. 22(2): 187-199.
- Stock, S.P., Prior, B. M. Y Kaya, H. K. (1999). Distribution of entomopathogenic nematodes (*Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*) in natural habitats in California, USA. Biodiversity and Conservation, 8:535-549.
- Womersley, Ch. Z. 1990. Dehydration survival and anhydrobiotic potential, Pp: 117-135, En: Gaugler, R.
- Woodring, J. L. & Kaya, H. K. 1988. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: a handbook of techniques. Southern Cooperative Series, Bulletin No. 331, Arkansas Agricultural Experimental Station Fayetteville, Arkansas, USA, 30 p.
- Yepez T. G., 1972. Los nematodos enemigos de la agricultura. Maracay, estado Aragua. Pp. 42-44

Zepeda-Jazo A. I., Molina O. J., Gonzalez R. M., Lezama G. R., Lopez lavin M., 2004. Distribución Natural de Nematodos Entomopatogenos(Rhabditida: Steinernematidae y Heterorhabditidae) en suelos cultivados y no cultivados de Colima. XXVII Congreso Nacional de Control Biológico. Los Mochis, Sinaloa. Pp. 43-46