

# EMISIÓN, PERCEPCIÓN Y RESPUESTAS CONDUCTUALES DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS A SEMIOQUÍMICOS

Y. Reyes-Vidal y \*M. de la Torre

Coordinación de Ciencia de los Alimentos, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Km. 0.6 Carretera a la Victoria, Hermosillo, Sonora, 83000, México. \*Corresponding author: mdelatorre@ciad.mx

## ABSTRACT

Reyes-Vidal, Y. and M. de la Torre. 2009. Emission, perception, and behavioral responses of entomopathogenic nematodes to semiochemicals. *Nematopica* 39:213-223.

Entomopathogenic nematodes of Heterorhabditidae and Steinernematidae families are the most used for biological control of insect pests. Recognition of one member of a species by another member of the same species and recognition of the natural host, as well as the recognition of the specific symbiotic bacteria, are due to the capacity of nematodes to perceive, respond to, and emit chemical cues. Semiochemicals mediate interactions between organisms. Those emitted and affecting members of the same species are named pheromones, while the signals called allelochemicals are involved in interspecific interactions. The occurrence of both types of semiochemicals has been demonstrated in entomopathogenic nematodes, although alarm pheromones and apneumones (chemicals derived from a non-living source that benefit the receiver) have not yet been demonstrated. Even herbivore-damaged plants emit volatile organic compounds that attract nematodes. The physicochemical characteristics of the cues, as well as the nematodes responses, are associated with the ecology and behavior of the nematode species, i.e. with habitat, reproductive behavior, foraging strategies and preferred penetration route of host, but also with the habitat and behavior of the host. Therefore, cues and emitted responses are quite diverse. Furthermore, the same chemical compound can elucidate positive and negative behaviors in different species. Unfortunately, only very few reports have an ecological holistic approach of the very complex system nematode-bacteria-host-plant-soil and the chemical nature of most cues is unknown, especially sexual pheromones. A better understanding of this complex system, the signals, and the nematode ecological behavior will help to enhance the efficacy of entomopathogenic nematodes in the field, as well as the process for mass production of these biological control agents *in vivo* and *in vitro*.

## RESUMEN

Reyes-Vidal, Y. and M. de la Torre. 2009. Emisión, percepción y respuestas conductuales de los nematodos entomopatogénos a semioquímicos. *Nematopica* 39:213-223.

Los nematodos entomopatogénos pertenecientes a las familias Heterorhabditidae y Steinernematidae se utilizan como agentes de control biológico. La capacidad de los nematodos para percibir, responder y emitir señales químicas está involucrada en el reconocimiento de un miembro de la especie por otro de la misma especie, en el reconocimiento del hospedante natural y en el de su bacteria simbiote. Los semioquímicos son el grupo de compuestos que median las interacciones entre los organismos. Las feromonas son aquellos compuestos que son emitidos por los miembros de una especie y afectan a los individuos de la misma especie, mientras que los aleloquímicos son compuestos involucrados en interacciones entre diferentes especies. En nematodos se han encontrado feromonas y aleloquímicos, pero no hay registros de la existencia de feromonas de alarma y tampoco de la respuesta de estos organismos a apneumonas (compuestos de origen no-biótico que inducen una respuesta benéfica en el receptor). En cuanto a respuestas de nematodos entomopatogénos a aleloquímicos, se ha encontrado que las plantas dañadas por insectos herbívoros emiten compuestos volátiles que los atraen. Tanto las características fisicoquímicas de los compuestos que actúan como señales, como las respuestas de los nematodos, están asociadas con la ecología y conducta habitual de las distintas especies. Debido a ésto, la naturaleza de los semioquímicos y las respuestas que inducen, son muy diversas. Inclusive un mismo compuesto puede inducir respuestas diferentes en distintas especies. Desafortunadamente, hay pocos estudios con un enfoque holístico de la ecología nematodo-bacteria-

hospedante-hábitat, y se desconoce la naturaleza química de la mayoría de las señales, especialmente de las feromonas sexuales. Una mejor comprensión del sistema nematodo-bacteria-hospedante-hábitat, de las señales y del comportamiento ecológico de los nematodos, indudablemente contribuiría a incrementar la eficiencia de los nematodos entomopatógenos en el campo, y la del proceso para la producción masiva de estos biocontroladores *in vivo* e *in vitro*.

## INTRODUCCIÓN

Los nematodos entomopatógenos de las familias Heterorhabditidae y Steinernematidae se utilizan para el control de insectos plaga. Estos nematodos establecen una simbiosis mutualística con bacterias de los géneros *Photorhabdus* y *Xenorhabdus*, respectivamente (Kaya y Gaugler, 1993). Los juveniles infectivos (JI) son estadios juveniles de la tercera etapa (J3) que están adaptados a sobrevivir por períodos largos en el suelo y son las formas infectivas de los nematodos. Después de penetrar al hemocelo del hospedante, los JI liberan a la bacteria simbiote, ésta se reproduce, prolifera y finalmente ocasiona la muerte del insecto (Strauch y Ehlers, 1998). Los JI se alimentan de los nutrientes provenientes de la degradación bacteriana del cadáver del insecto e ingieren a la bacteria simbiote, así continúan su desarrollo, se diferencian a adultos, se reproducen y el ciclo de vida continúa. Existen compuestos químicos en la hemolinfa del insecto y otros producidos por la bacteria simbiote, que probablemente funcionan en los nematodos entomopatógenos como señales que inducen el proceso de diferenciación (Strauch y Ehlers, 1998; Ciche y Ensign, 2003). Por último, al agotarse los nutrientes, los J3 se transforman en JI, emergen del cadáver del insecto y al encontrar a un nuevo hospedante el ciclo se repite.

Debido a su ciclo de vida, los nematodos entomopatógenos tienen que interactuar con elementos de su entorno, con sus hospedantes naturales, con su bacteria simbiote y con otros individuos de su misma especie. Esta interacción se da gracias a su

capacidad para percibir, emitir y responder a diversos tipos de señales. Por ejemplo, los nematodos entomopatógenos pueden percibir compuestos químicos emitidos por las raíces de las plantas, que son el hábitat de hospedantes potenciales. También tienen la habilidad de responder a compuestos volátiles producidos por el insecto y al contacto con los desechos dejados por el posible hospedante, tales como heces y restos de cutícula, de tal manera que pueden seguir su rastro (Lewis *et al.*, 2006). Finalmente, la formación de JI y la emergencia del cadáver del insecto son también respuestas a estímulos químicos. (Lewis *et al.*, 2006). En el caso del género *Steinernema*, el reconocimiento y la interacción entre machos y hembras con fines reproductivos son mediados también por sustancias químicas (Lewis *et al.*, 2002).

Los semioquímicos (del griego semeion, señal o marca) son aquellos compuestos químicos que sirven como señales para transmitir información entre individuos (Law y Regnier, 1971). A los que median la comunicación entre individuos de la misma especie se les conoce como feromonas, y a los que inducen respuestas entre individuos de distintas especies como aleloquímicos. Las feromonas a su vez se clasifican como feromonas sexuales, epidiéticas y de alarma; mientras que los aleloquímicos se subdividen en kairomonas, alomonas, sinomonas y apneumonas.

Para un uso más eficiente de los nematodos entomopatógenos como agentes de control biológico y para mejorar los procesos de su propagación masiva, es necesaria una comprensión holística de la ecología del complejo nematodo-bacteria y de su

hábitat, en el que las señales químicas son fundamentales. Por tal motivo, en este trabajo se revisa y discute la información existente en relación a la emisión de semioquímicos por parte de todos los actores, las respuestas inducidas y la naturaleza química de algunos de ellos.

## FEROMONAS

Como se mencionó anteriormente, las feromonas son compuestos químicos que inducen una respuesta fisiológica o conductual entre individuos de la misma especie. Puesto que a la fecha no se pudieron encontrar registros sobre la presencia de feromonas de alarma en nematodos entomopatógenos, la revisión se limita a feromonas sexuales y feromonas epidiéticas.

### *Feromonas sexuales*

Se han encontrado feromonas sexuales tanto en nematodos parásitos de plantas y animales, como en nematodos de vida libre (Huettel, 1986). Estas señales químicas están involucradas en el comportamiento previo al apareamiento, generalmente en la atracción hacia individuos de otro sexo y en la agregación. Lewis *et al.* (2002) encontraron que los machos adultos de *S. carpocapsae* eran estimulados por señales químicas producidas por las hembras vírgenes de su especie, y que las hembras ya apareadas eran menos atractivas. Debido a que en las hembras apareadas no se forma un tapón en la vulva, los autores sugirieron que la diferencia podría deberse a la disminución de la producción del compuesto atrayente, o a que la feromona de atracción producida por estas hembras fuera diferente a la de las hembras vírgenes. Además, encontraron que la esfera de actividad de la probable feromona era muy restringida, ya que atraía a los machos desde una distancia máxima de sólo 2.5 mm. Por lo ante-

rior, sugirieron que una feromona que fuera activa a corta distancia podría ser más efectiva que una con un mayor radio de atracción, dado el tamaño reducido del insecto hospedero. Bone y Shorey (1978) mencionan que las feromonas de los nematodos son solubles en agua, por lo que debido a que la difusividad de los compuestos en agua es menor que en el aire, después de varios minutos o aun horas de que la feromona fue liberada por el nematodo, el radio de acción sería muy limitado. Pero esto no sería una limitante puesto que en el insecto las hembras y los machos de los nematodos se encuentran cercanos y su densidad poblacional es relativamente elevada.

En un trabajo previo, Neves *et al.* (1998) encontraron que la solución Tyrode en la que las hembras vírgenes de *S. carpocapsae* Az20 o de *S. carpocapsae* Breton habían sido incubadas por 3 h a 23°C, atraía a los machos de ambas cepas, por lo que concluyeron que estas señales de atracción no eran cepa-específicas. En estos ensayos el 25% de la población de machos se desplazó más de un 1 cm, lo que contradice lo registrado por Lewis *et al.* (2002) respecto a que el atrayente solo actúa a distancias muy cortas. Por lo que es posible que las hembras de esta especie produzcan no uno, sino varios atrayentes, y que unos actúen a corta distancia y otras a distancias mas largas. Además, no se puede descartar que los machos también produzcan feromonas sexuales. Sin embargo, a la fecha son más las interrogantes que las respuestas y se desconoce la naturaleza química de las feromonas sexuales de los nematodos entomopatógenos.

En nuestro grupo de investigación observamos que las hembras de *S. carpocapsae* cuando alcanzan la madurez sexual tienden a agruparse, y que los machos son atraídos hacia estos agregados y salen de los mismos permaneciendo ceccade las hembras.

Estos resultados sugieren que las hembras producen feromonas de agregación que actúan sobre ellas mismas y que inducen en los machos una conducta de arresto (datos no publicados). No sabemos aun si se trata de compuestos químicos diferentes, o si un mismo compuesto desencadena las distintas respuestas observadas.

Además de ser atraídos por las hembras, los machos ajustan la cantidad o calidad de su esperma en respuesta a las oportunidades de fertilización. Por ejemplo, los machos de algunos insectos pueden modificar el tamaño de sus testículos, el número de espermatozoides o la composición del semen, en respuesta a su medio ambiente social (Gage, 1995). En el caso de los nematodos entomopatógenos, se observó que los machos de *S. longicaudum*, cuando se desarrollan solos, ya sea en su insecto hospedante o *in vitro*, no contenían esperma; pero cuando estos machos estuvieron posteriormente con las hembras de su especie o bien, se desarrollan con ellas, tenían esperma en la región proximal de los testículos y en la vesícula seminal. Inclusive aun cuando las hembras y los machos fueron separados mediante una barrera permeable, las hembras estimularon la madurez sexual de los machos, lo que sugiere que compuestos químicos producidos por las hembras, inducen la madurez sexual en los machos (Ebssa *et al.*, 2008).

#### *Feromonas epidiéticas*

Las feromonas epidiéticas son producidas por miembros de una especie para regular la densidad de población, como respuesta a altas densidades poblacionales, o cuando los sitios de alimentación están ocupados por otros miembros de la misma especie. Esta feromonas se asocian también con la disminución de la fecundidad (Huettel, 1986). San-Blas *et al.* (2008) encontraron que los JI de *S. feltiae*, emer-

gían de los cadáveres de *Galleria mellonella* al acumularse amoniaco, proveniente de las heces de los nematodos, y que la concentración de amonio que se requería para que se iniciara la salida era de aproximadamente 2.5 mg de N como NH<sub>4</sub><sup>+</sup> por g de *G. mellonella*. De hecho, los autores sugieren que la emergencia de los JI del cadáver podría ser una respuesta de repulsión de los nematodos a la acumulación de amonio.

### ALELOQUÍMICOS

Grewal *et al.* (1993b) sugirieron que aunque en el laboratorio los JI de los nematodos entomopatógenos tienen una gama amplia de hospedantes, en el suelo deben ser capaces de reconocer hospedantes específico. Puesto que los aleloquímicos son compuestos que causan respuestas fisiológicas o conductuales entre miembros de distintas especies, estos compuestos seguramente desempeñan un papel importante en la interacción hospedante-nematodo. Según la respuesta que elicitan en el receptor, los aleloquímicos se subdividen en alomonas, kairomonas, sinomonas y apneumonas. Los últimos son compuestos químicos de origen abiótico que inducen una respuesta benéfica en el receptor, pero no hay registros de que induzcan respuestas en nematodos. Sin embargo, las respuestas de estos organismos a otros tipos de aleloquímicos están bien documentadas y se discuten a continuación.

#### *Alomonas*

La alomonas son aquellos compuestos producidos por un individuo que inducen una respuesta negativa en el organismo receptor, por lo que en el caso de los insectos, podrían protegerlos de sus enemigos naturales, al actuar como repelentes.

Grewal *et al.* (1993b) investigaron la respuesta conductual a las heces de hospedantes naturales y de hospedantes de laboratorio de 4 especies de nematodos entomopatógenos. Encontraron que los JI de *Heterorhabditis bacteriophora* y *S. glaseri* respondieron positivamente a las heces de los hospedantes naturales y experimentales; mientras que *S. scapterisci* no respondió significativamente a las de ninguno. *S. carpocapsae* respondió solamente a las heces de la cucaracha alemana *Blattella germanica* (Blatteria: Blattellidae), un hospedante experimental, pero su respuesta fue alejarse del estímulo. El principal compuesto nitrogenado en las heces de la cucaracha es el amoniaco, por lo que los autores sugieren que el amoniaco podría repeler a los nematodos y evitar así que penetraran al insecto a través del ano. Pye y Burman (1981) estudiaron la respuesta de JI de *S. carpocapsae* a distintos iones y encontraron que amonio a una concentración 7.5 mM los repelía, mientras  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  y  $\text{Cl}^-$  los atraían. Posteriormente, Bilgrami *et al.* (2001) encontraron también que el amoniaco presente en las heces de los insectos repelía a los JI de *S. glaseri*, mientras que la úrea, el ácido úrico, la alantoína y la arginina los atraían.

En el caso de *H. bacteriophora*, la respuesta al hidróxido de amonio contenido en cuadrantes de placas de agar dependió de la concentración, 16 y 160 microgramos de nitrógeno fueron atrayentes, mientras que concentraciones de 1600 y 8000 microgramos fueron repelentes. (Shapiro *et al.*, 2000).

De los resultados anteriores se concluye que la respuesta de atracción o repulsión de los nematodos entomopatógenos al amoniaco depende de la concentración del mismo y de la especie del nematodo. Además, las excretas de los insectos pueden actuar como atrayentes o como repelentes, dependiendo de los compuestos

químicos presentes en ellas y del nematodo.

#### *Kairomonas*

Las kairomonas son aleloquímicos que inducen una respuesta favorable en el receptor (Huettel, 1986). Las señales emitidas por el insecto que les permiten a los nematodos entomopatógenos localizarlo entrarían en este grupo de compuestos químicos.

Como se mencionó antes, en las excretas de los insectos existen compuestos atrayentes para los nematodos, particularmente la urea (Bilgrami *et al.*, 2001). Grewal *et al.* (1993b) al estudiar la respuesta conductual a las heces de hospedantes naturales y de laboratorio de cuatro especies de nematodos entomopatógenos, concluyeron que el patrón conductual desarrollado por los nematodos ante las heces, concordaba con su comportamiento de búsqueda para localizar a sus hospedantes. Para los nematodos que tienen una estrategia activa de búsqueda y cuyos hospedantes son insectos poco móviles, las señales químicas fueron más importantes que para los nematodos cuya estrategia es permanecer cerca de la superficie del suelo, esperando a que se acerquen sus hospedantes.

El  $\text{CO}_2$  es otro producto del metabolismo de los insectos que se puede considerar como kairomona. Gaugler *et al.* (1980), demostraron que el  $\text{CO}_2$  inducía una respuesta positiva en los JI de *S. carpocapsae*, que se dirigen hacia el gas en un rango de atracción de 5 cm y forman agregados. Los autores sugieren que el  $\text{CO}_2$  contribuye a la localización del hospedante. El mismo grupo (Gaugler *et al.*, 1991) seleccionó a partir de una cepa de *S. carpocapsae* con una gran capacidad para localizar larvas de *G. mellonella*, una cepa con mayor capacidad que sus congéneres para localizar lar-

vas de escarabajos. Curiosamente, esta cepa tenía también más capacidad que su progenitora para localizar a las larvas de *G. mellonella*. Al absorberse el CO<sub>2</sub> producido por el insecto, se inhibió la respuesta del nematodo al hospedante, por lo que se concluyó que la mayor capacidad para localizar al hospedante de estas cepas se debía a que eran más sensibles al CO<sub>2</sub>.

Por otro lado, la capacidad del hospedante para atraer a los JI se modifica cuando el insecto ha sido infectado previamente por nematodos; por lo que Ramos-Rodríguez *et al.* (2007) estudiaron la dinámica de la emisión de CO<sub>2</sub> en larvas de *G. mellonella* y de *Tenebrio molitor*, después de haber sido expuestas a diferentes especies de *Steinernema*. Los autores encontraron que en las larvas de *G. mellonella* se presentaban dos picos de emisión, uno entre las 20 y 30 h y otro entre las 75 y 115 h. El primer pico correspondió a la infección temprana, cuando los JI se estaban desarrollando a adultos y el insecto probablemente estaba inmuno-comprometido y vivo. El segundo se presentó cuando en el insecto existía una gran cantidad de JI y los nutrientes eran escasos. Sin embargo, en *T. molitor* se observó un solo pico, el cual correspondía al primero de los picos observados en *G. mellonella*. Los autores encontraron diferencias en los niveles de CO<sub>2</sub> producidos por ambos insectos y sugirieron que las diferencias en los niveles de emisión podrían influir en la conducta de los JI durante la infección, y que el CO<sub>2</sub> era un atrayente de amplio espectro; pero que la decisión de infectar al insecto probablemente era mediada por señales más específicas.

Puesto que algunas de las principales vías de entrada al hemocelo están conectadas con el intestino, Grewal *et al.* (1993a) investigaron si el contenido de los intestinos de hospedantes naturales o experimentales inducía una respuesta en JI de

cuatro diferentes especies, y si el reconocimiento por parte del nematodo era importante para el éxito de la infección. Los autores encontraron que la respuesta conductual más consistente era que el nematodo empujara con fuerza la cabeza hacia el contenido intestinal y que este comportamiento generalmente se correlacionaba con un parasitismo exitoso, pero no siempre. Por ejemplo, *S. carpocapsae*, a pesar de que fue el nematodo que causó la mayor mortalidad en *Spodoptera exigua*, no presentó esta conducta, pero es importante recalcar que la vía principal de penetración al hospedante de esta especie son los espiráculos. Los autores concluyeron que hay una respuesta positiva al contenido intestinal del insecto, cuando la vía preferencial de penetración del nematodo es la boca o el ano.

La respuesta hacia las kairomonas de distintos insectos es en cierta medida especie específica, y varía tanto cualitativa como cuantitativamente. Los JI de *S. glaseri* fueron capaces de seleccionar a larvas de *G. mellonella*, entre larvas de *Spodoptera litura*, *Blattella germanica* y *Locusta migratoria* y se desplazaron preferencialmente hacia ellas. La evidencia de que el desplazamiento fue inducido por un compuesto químico, es que al ensayar distintas concentraciones de un extracto de larvas de *G. mellonella* la respuesta fue proporcional a la dosis utilizada (Bilgrami *et al.*, 2000). En el mismo tenor, Koppenhöfer y Fuzy (2008) compararon la atracción ejercida por larvas del tercer instar de cuatro especies de escarabajos (*Popillia japonica*, *Anomala orientalis*, *Cyclocephala borealis* y *Rhizotrogus majalis*) y del último estadio larvario de *G. mellonella* sobre los JI de *S. scarabaei*, *S. glaseri*, *H. zealandica* y *H. bacteriophora*. Encontraron que los JI de *S. glaseri*, que tienen una velocidad de dispersión alta, fueron fuertemente atraídos por todos los insectos. En cambio los de *H. zealandica*, que tienen también una velocidad

de dispersión alta, se desplazaron muy lentamente hacia todos los insectos; mientras que los JI de *S. scarabaei* cuya velocidad de dispersión es baja, se dispersaron muy poco, aunque su respuesta relativa fue muy grande. Para los JI de *H. bacteriophora*, que también se dispersan muy poco, el insecto más atractivo fue *G. mellonella*, pero su respuesta a las larvas de escarabajos fue muy pobre. La conclusión de los autores fue que si bien los JI se dispersan en cierta medida como respuesta a la presencia de hospedantes, la susceptibilidad del insecto hacia la especie no depende de esta respuesta.

Los JI de algunas especies de nematodos entomopatógenos son capaces de saltar, este comportamiento puede estar relacionado con la localización de hospedantes en respuesta a kairomonas. Los JI de *S. carpocapsae*, respondieron a los volátiles producidos por larvas de *G. mellonella* o adultos de *Acheta domesticus*, saltando hacia ellos. Estos volátiles fueron las señales que indujeron el salto de los individuos, pero el movimiento del aire influyó en la dirección del salto. El salto de los JI en dirección al insecto como respuesta a la cercanía del hospedante, podría ser una respuesta adaptativa como parte de una estrategia de ataque (Campbell y Kaya, 1999).

Se ha intentado determinar la naturaleza química de las kairomonas de los insectos que inducen respuestas en los nematodos entomopatógenos, pero todavía no se han determinado sus estructuras. En este tenor se encontró que el plasma de la hemolinfa de *Pieris rapae crucivora*, *Agrotis segetum* y *Spodoptera litura* atraía a los JI de *S. carpocapsae*, y que el plasma más atractivo fue el del insecto más susceptible (*P. rapae crucivora*). El o los atrayentes fueron compuestos termolábiles con un peso molecular menor a 14 kDa (Khlibsuwan *et al.*, 1992). En el caso de *H. bacteriophora* un

compuesto aniónico presente en la hemolinfa de *Manduca sexta* y en el sobrenadante de cultivos de células del insecto, indujo la regurgitación de los JI y la consecuente liberación de su bacteria simbionte (*P. luminescens*). El peso molecular del compuesto fue inferior a 10 kDa, además no fue termolábil, ni susceptible a la degradación por proteasas, lo que sugiere que no es de naturaleza proteica. Un compuesto con las mismas características se encontró en la hemolinfa de otros artrópodos (Ciche y Ensign, 2003).

Por todo lo anterior, es claro que existe una comunicación química entre los estadios JI de los nematodos entomopatógenos y sus hospedantes, que las respuestas son variadas y que intervienen compuestos químicos de amplio espectro, como el CO<sub>2</sub> y otros que son más específicos. Es importante identificar a las kairomonas involucradas y estudiar más a fondo las respuestas que inducen en los nematodos entomopatógenos, a fin de comprender mejor la interacción nematodo-hospedante y tener elementos que pudieran coadyuvar a mejorar el desempeño de los nematodos en el campo.

#### *Sinomonas*

Las sinomonas son compuestos químicos que inducen una respuesta que es favorable, tanto para el emisor, como para el receptor (Huettel, 1986). Un ejemplo, son las señales-SOS (señales de socorro) emitidas por las plantas ante el ataque de insectos. Gracias a ellas, los nematodos entomopatógenos son atraídos hacia las raíces, en donde pueden encontrar a sus hospedantes. Las plantas se benefician, porque los nematodos provocan la muerte de los insectos que las atacan. Esta maravillosa interacción ecológica se conoce como el efecto guardaespaldas (Elliot *et al.*, 2000). Van Tol *et al.* (2001) encontraron

que las raíces de la conífera *Thuja occidentales* infestadas con larvas de *Otiorynchus sulcatus* atraían más a los nematodos, que las larvas del mismo escarabajo o que las raíces sanas. El grupo de Zuckerman estudió en los años ochentas la quimiotaxis y los mecanismos de reconocimiento hospedante-presencia en nematodos, encontrando evidencias de que el mecanismo de búsqueda involucra lectinas que interactúan con carbohidratos específicos, los cuales tapizan los anfidios y revestimientos cuticulares de los nematodos (Zuckerman y Jansson, 1984).

Rasman *et al.* (2005) encontraron que las raíces de variedades europeas de maíz, al ser devoradas por las larvas de *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, emiten sesquiterpeno (E)- $\beta$ -cariofileno y que este compuesto atrae a *H. megidis*. Inclusive, el teocintle (ancestro silvestre del maíz) también emite esta señal, pero la mayoría de las variedades de maíz norteamericanas no producen este compuesto (Rasmann *et al.*, 2005). En un estudio posterior, se demostró que la modificación del patrón de los compuestos volátiles emitidos por las raíces de las plantas en respuesta al ataque de insectos herbívoros, es un fenómeno común. Sin embargo, la magnitud de la respuesta de atracción de los nematodos a las raíces de diversas plantas que fueron dañadas por el mismo insecto fue distinta. También, la respuesta fue distinta cuando plantas de la misma especie fueron atacadas por diferentes insectos (Rasmann y Turlings, 2008).

Los JI de *H. bacteriophora* son atraídos intensamente por 1-hexanol, 1-heptanol, 1-octanol y 1-nonanol, pero la respuesta a alcoholes de cadena corta es muy baja; por lo que los alcoholes de cadena larga podrían ser señales para atraer a los nematodos entomopatógenos a las raíces de plantas dañadas por insectos. Curiosamente, el nematodo bacteriófago de vida

libre *C. elegans*, muestra una quimiotaxis opuesta, ya que este organismo es atraído por los alcoholes de cadena corta, que son producto del metabolismo bacteriano, y repelido por los de cadena larga. Puesto que los análisis filogenéticos sugieren que *Heterorhabditis* evolucionó a partir de nematodos bacteriófagos de vida libre, es factible que junto con el cambio en el modo de vida, hubo un cambio adaptativo en el comportamiento quimiotáctico (O'Holloran y Burnell, 2003).

Señales químicas de alimentación producidas por su bacteria simbionte inducen la recuperación de las formas JI de *H. bacteriophora*. *in vitro*, en medios líquidos, las señales son producidas por la bacteria en la fase logarítmica tardía, cuando se alcanzan densidades celulares altas (Strauch y Ehlers, 1998), por lo que podrían ser una respuesta de *quorum sensing*. Este término se refiere a los mecanismos de comunicación célula-célula en las poblaciones bacterianas, que dan como resultado la coordinación de la expresión genética y dependen generalmente de una concentración celular alta. Dicha comunicación es mediada por moléculas de bajo peso molecular que son excretadas y detectadas por las bacterias. Este mecanismo permite a las bacterias dar una respuesta colectiva para tener acceso a ciertos nutrientes o a nichos específicos, para defenderse de otros organismos o para iniciar el proceso de esporulación, en todos los casos el resultado final es la sobrevivencia de parte de la población (Williams *et al.*, 2007).

Las señales de alimentación excretadas por la bacteria simbionte, podrían considerarse como sinomonas, porque el nematodo receptor se beneficia al percibir la señal de que hay nutrientes para continuar su desarrollo y reproducirse, y la bacteria emisora se ve favorecida, ya que al incre-



mentarse la población de nematodos, tiene más vehículos disponibles para asociarse y así poder acceder al insecto, que es su fuente natural de nutrientes.

### CONCLUSIONES

Las respuestas de los nematodos entomopatógenos a distintos semioquímicos, así como la naturaleza de estos compuestos, están relacionadas con el hábitat del nematodo, su comportamiento de búsqueda para localizar al hospedante, las vías de penetración al mismo, e inclusive con el hábitat y comportamiento de sus hospedantes naturales; sin dejar de lado la interacción hospedante-planta-nematodo-bacteria. Es más, los semioquímicos probablemente están involucrados también en el mecanismo de patogenicidad, a través de la liberación de la bacteria simbiote. Por esta razón, en la utilización de los nematodos en programas de manejo integrado de plagas es necesaria una comprensión holística de la ecología del complejo nematodo-bacteria-hospedante-planta para adecuar las técnicas de control biológico a los distintos ecosistemas.

El enfoque holístico podría coadyuvar a disminuir el costo derivado del uso de nematodos entomopatógenos en el control biológico de plagas y por tanto a hacer factible económicamente su utilización en cultivos de bajo valor agregado, tales como frijol, maíz, calabaza, chile, yuca y papa. Estos cultivos son la fuente principal de alimentos de la población rural en diversos países de las Américas. Cabe enfatizar que los agricultores en las comunidades rurales y en las comunidades indígenas, siembran juntos diversos cultivos y mantienen una biodiversidad, por lo que es de esperarse que en estos sistemas agrícolas los resultados sean muy diferentes a los obtenidos hasta la fecha con un enfoque de monocultivo y uniformidad genética.

Además, desde el punto de vista de la producción masiva de nematodos entomopatógenos, tanto en sistemas *in vivo* como *in vitro*, las señales químicas entre hospedante-nematodo-bacteria, nematodo-bacteria, y nematodo-nematodo, podrían ser relevantes tanto para la reproducción, como para la diferenciación de los distintos estadios y la virulencia de los JI. Sin embargo, aún falta mucho por conocer sobre los mecanismos que regulan la emisión de las señales y las respuestas del receptor, sobre las interacciones entre nematodo-bacteria-hospedante-hábitat, y sobre la naturaleza de los semioquímicos. Aun menos se sabe sobre las feromonas sexuales y el comportamiento sexual de los nematodos. Sin duda, el análisis integral a través de la genómica, proteómica y metabolómica ayudará a entender los eventos desde el punto de vista de las múltiples interacciones que los caracterizan, y redundarán en un mejor aprovechamiento del sistema. Finalmente es fundamental la caracterización química de los diferentes semioquímicos que se han descubierto y de los que se vayan descubriendo.

### AGRADECIMIENTOS

M. de la Torre agradece la valiosa discusión, comentarios y sugerencias de Raquel Alatorre, Nahum Marbán y Evelia Acedo. Y. Reyes-Vidal es becaria del CONACYT y agradece la ayuda de Ali Asaff.

### LITERATURA CITADA

- Bilgrami, A. L., E. Kondo, and T. Yoshiga. 2000. Experimental models for testing attraction and preferential behavior of *Steinernema glaseri* to several insects. *Japanese Journal of Nematology* 30:35-45.
- Bilgrami, A. L., E. Kondo, and T. Yoshiga. 2001. Absolute and relative preferential attraction of *Steinernema glaseri* to excretory substances of insects. *International Journal of Nematology* 11:27-34.

- Bone, L. W., and H. H. Shorey. 1978. Nematode sex pheromones. *Journal of Chemical Ecology* 4:595-612.
- Campbell, J. F., and H. K. Kaya. 1999. How and why a parasitic nematode jumps. *Nature* 397:485-486.
- Cliche, T. A., and J. C. Ensign. 2003. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, Which end of a nematode is out? *Applied and Environmental Microbiology* 69:1890-1897.
- Ebssa, L., I. Dix, and C. T. Griffin. 2008. Females presence is required for male sexual maturity in the nematode *Steinernema longicaudum*. *Current Biology* 18:997-998.
- Elliot, S. M., M. W. Sabelis, A. Janssen, P. S. van der Geest Leo, E. A. M. Beerling, and J. Fransen. 2000. Can plants use entomopathogens as bodyguards? *Ecology Letters* 3:228-235.
- Gage, M. J. G. 1995. Continuous variation in reproductive strategy as an adaptive response to population density in the moth *Plodia interpunctella*. *Proceedings of the Royal Society B* 261 (1360):25-30.
- Gaugler, R., L. Lebeck, B. Nakagaki, and G. M. Boush. 1980. Orientation of the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae* to carbon dioxide. *Environmental Entomology* 9:649-652.
- Gaugler, R., and J. F. Campbell. 1991. Selection for enhanced host-finding of scarab larvae (Coleoptera: Scarabaeidae) in an entomopathogenic nematode. *Environmental Entomology* 20:700-706.
- Grewal, P. S., R. Gaugler, and E. E. Lewis. 1993a. Host recognition behavior of entomopathogenic nematodes: during contact with gut contents. *Journal of Parasitology* 79:495-503.
- Grewal, P. S., R. Gaugler, and S. Selvan. 1993b. Host recognition by entomopathogenic nematodes: Behavioral response to contact with host feces. *Journal of Chemical Ecology* 19:1219-1231.
- Huettel, R. N. 1986. Chemical communicators in nematodes. *Journal of Nematology* 18:3-8.
- Kaya, H., and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology* 38:181-206.
- Khlibsuwan, K., N. Ishibashi, and E. Kondo. 1992. Response of *Steinernema carpocapsae* infective juveniles to the plasma of three insect species. *Journal of Nematology* 24:156-159.
- Koppenhöfer, A. M., and E. M. Fuzy. 2008. Attraction of four entomopathogenic nematodes to four white grub species. *Journal of Invertebrate Pathology* 99:227-234.
- Law, J. H., and F. E. Reigner. 1971. Pheromones. *Annual Review of Biochemistry* 40:533-548.
- Lewis, E. E., B. Barbarosa, and R. Gaugler. 2002. Mating and sexual communication by *Steinernema carpocapsae* (Nemata: Steinernematidae). *Journal of Nematology* 34:328-331.
- Lewis, E. E., J. Campbell, C. Griffin, H. K. Kaya, and A. Peters. 2006. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. *Biological Control* 38:66-79.
- Neves, J. M., N. Simões, and M. Mota. 1998. Evidence for a sex pheromone in *Steinernema carpocapsae*. *Nematologica* 44:95-98.
- O'Halloran, D. M., and A. M. Burnell. 2003. An investigation of chemotaxis in the insect parasitic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *Parasitology* 127:375-385.
- Pye, A. E., and M. Burman. 1981. *Neoplectana carpocapsae*: nematodes accumulation on chemical and bacterial gradients. *Experimental Parasitology* 51:13-20.
- Ramos-Rodriguez, O., J. F. Campbell, E. E. Lewis, D. I. Shapiro-Ilan, and S. B. Ramaswamy. 2007. Dynamics of carbon dioxide release from insects infected with entomopathogenic nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology* 94:64-69.
- Rasmann, S., and T. C. J. Turlings. 2008. First insights into specificity of belowground tritrophic interactions. *Oikos* 117:362-369.
- Rasmann, S., T. G. Köllner, J. Degenhardt, I. Hiltbold, S. Toepfer, U. Kuhlmann, J. Gershenson, and T. C. J. Turlings. 2005. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature* 434:732-737.
- San-Blas, E., S. R. Gowen, and B. Pembroke. 2008. *Steinernema feltiae*: Ammonia triggers the emergence of their infective juveniles. *Experimental Parasitology* 119:180-185.
- Shapiro, D. I., E. E. Lewis, S. Paramasivam, and C. W. McCoy. 2000. Nitrogen partitioning in *Heterorhabditis bacteriophora*-infected host and the effects of nitrogen on attraction/repulsion. *Journal of Invertebrate Pathology* 76:43-48.
- Strauch, O., and R. U. Ehlers. 1998. Food signal production of *Photorhabdus luminescens* inducing the recovery of entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* spp. in liquid culture. *Applied Microbiology and Biotechnology* 50:369-374.
- van Tol, R. W. H. M., A. T. C. van der Sommen, M. I. C. Boff, J. van Bezooijen, M. W. Sabelis, and P. H. Smits. 2001. Plants protect their roots by alerting the enemies of grubs. *Ecology Letters* 4:292-294.
- Williams, P., K. Winzer, W. C. Chan, and M. Cámara. 2007. Look who's talking: communication and quorum sensing in the bacterial world. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 362:1119-1134.

Zuckerman, B. M., and H. Janson. 1984. Nematode chemotaxis and possible mechanisms of host/

prey recognition. Annual Review of Phytopathology 22:95-113.

---

*Received:*

6/V/2009

*Accepted for publication:*

3/IX/2009

*Recibido:*

*Aceptado para publicacion:*