



**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y MORFOMÉTRICA DE  
*Heterorhabditis indica* (CEPA CP13JA) AISLADO EN EL CULTIVO DE CAÑA  
DE AZÚCAR †**

**[MOLECULAR AND MORPHOMETRIC CHARACTERIZATION OF  
*Heterorhabditis indica* (STRAIN CP13JA) ISOLATED IN THE CULTIVATION  
SUGARCANE]**

**Pedro Fabian Grifaldo-Alcantara<sup>1</sup>, Raquel Alatorre-Rosas<sup>2</sup>,  
Hilda Victoria Silva-Rojas<sup>2</sup>, Patricia S. Stock<sup>3</sup>, Francisco Hernandez-Rosas<sup>4</sup>,  
Haidel Vargas-Madriz<sup>1</sup>, Ausencio Azuara-Dominguez<sup>5</sup>  
and Yuridia Durán-Trujillo<sup>6</sup>\***

<sup>1</sup> Centro Universitario de la Costa Sur, Universidad de Guadalajara, Departamento de Producción Agrícola. Av. Independencia Nacional # 151, Autlán de Navarro, Jalisco, C.P. 48900, México. Email. fabian.grifaldo@academicos.udg.mx, haidel\_vargas@hotmail.com

<sup>2</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Km. 36.5 carretera México- Texcoco, Montecillo, Texcoco, Edo de México, México. C.P. 56230. Email. alatoros@colpos.mx, hsilva@colpos.mx

<sup>3</sup> University of Arizona, Department of Entomology / Plant Sciences. Forbes Bldg. Km 410. 1140 E. South Campus Tucson, AZ. USA. Email. spstock@email.arizona.edu

<sup>4</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba, Km 348 carretera Federal Córdoba-Veracruz, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C.P. 94946. México. Email. fhrosas@colpos.mx

<sup>5</sup> Tecnológico Nacional de México/I.T. de Cd. Victoria, Ciudad Victoria, Tamaulipas, CP 87010 México. Email. azuarad@gmail.com

<sup>6</sup> Universidad Autónoma de Guerrero, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales. Periférico Poniente S/N Frente a la Colonia Villa de Guadalupe, Iguala de la independencia, Guerrero, México, CP 40040. Email. duty\_1@hotmail.com

\*Corresponding author

## SUMMARY

**Background.** *Heterorhabditis* and *Steinernema* are two genera of entomopathogen nematodes used as effective biocontrollers in pest insect control. **Target.** To describe the morphometry, morphology and thus the molecular description of a new *Heterorhabditis indica* isolate, for the cultivation of sugarcane and its possible contamination against insect pests in Mexico. **Methodology.** This was obtained from soil samples through the technique of the insect bait (*Galleria mellonella*). Morphometric and morphological studies, in addition to molecular techniques (ITS1+5.8S+ITS2), were performed to correctly identify *H. indica* CP13JA strain. This new strain of *H. indica* for the state of Veracruz was compared to *H. indica* originally described in India. **Results.** The presence of *H. indica* isolated from the sugar cane crop is reported in the state of Veracruz, Mexico. Likewise, the results obtained in this investigation identified as the characteristics of infectious juveniles, as well as amphitric males and females do not present differences in relation to the morphometry, morphometry and morphology of the original description; as well as in the molecular studies of the SU rDNA. **Implications.** Therefore, the presence of *H. indica* strain CP13JA is considered important within the sugarcane crop and for the state of Veracruz where it was isolated, as well as the potential that this isolation may have for the insect pest insects belonging that attack this crop. **Conclusion.** *H. indica* strain CP13JA does not present morphometric and molecular differences with the species recently described in India, in addition the presence of *H. indica* is considered new within the cultivation of sugar cane in Mexico **Keywords:** description; biological control; entomopathogenic nematode; morphology; taxonomy.

† Submitted May 5, 2020 – Accepted May 14, 2020. This work is licensed under a CC-BY 4.0 International License.  
ISSN: 1870-0462.

## RESUMEN

**Antecedentes.** *Heterorhabditis* y *Steinernema* son dos géneros de nematodos entomopatógenos usados como biocontroladores eficaces en el control de insectos plaga. **Objetivo.** Describir la morfometría, morfología y así la descripción molecular de un nuevo aislamiento de *H. indica*, para el cultivo de la caña de azúcar y su posible efectividad contra insectos plaga en México. **Metodología.** Este fue obtenido de muestras de suelo a través de la técnica del insecto cebo (*Galleria mellonella*). Estudios morfométricos y morfológicos, además de técnicas moleculares (ITS1+5.8S+ITS2), fueron realizadas para identificar correctamente a *H. indica* cepa CP13JA. Esta nueva cepa de *H. indica* para el estado de Veracruz fue comparada con *H. indica* descrita originalmente en la India. **Resultados.** Se reporta la presencia de *Heterorhabditis indica* aislado del cultivo de caña de azúcar en el estado de Veracruz, México. Así mismo los resultados obtenidos en esta investigación muestran que tanto las características de los juveniles infectivos, así como los machos y hembras anfimicticas no presentan diferencias con relación a la morfometría y morfología de la descripción original; así como en los estudios moleculares realizados del ITS rDNA. **Implicaciones.** Por lo tanto, se considera importante mencionar la presencia de *H. indica* cepa CP13JA dentro del cultivo de la caña de azúcar y para el estado de Veracruz en donde fue aislado, así como el potencial que puede tener este aislamiento para los insectos plaga que atacan a este cultivo. **Conclusión.** *H. indica* cepa CP13JA no presenta diferencias morfométricas y moleculares con la especie descrita originalmente en la India, además la presencia de *H. indica* se considera nueva dentro del cultivo de caña de azúcar en México. **Palabras clave:** descripción; control biológico; nematodo entomopatógeno; morfología; taxonomía.

## INTRODUCCIÓN

Los nematodos entomopatógenos (NEP) de los géneros *Heterorhabditis* y *Steinernema* son considerados como biocontroladores eficientes para un amplio rango de insectos, tanto para plagas foliares, rizófagas, así como plagas de almacenes (Fimbres y Flores-Lara, 2016). Los juveniles infectivos (JI) de estos dos géneros son quienes están adaptados para sobrevivir por largos periodos en el suelo sin alimentarse y son los únicos capaces de realizar la infección en el hospedero (Wright y Perry, 2002). Estos dos géneros de NEP están asociados en forma mutualista con las bacterias *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*, (aunque la bacteria puede estar en asociación con más de una especie de nematodo entomopatógeno), las cuales, como organismos simbioses, están presentes en el intestino del nematodo y al momento de ser liberadas proliferan en la cavidad del hospedero hasta matarlo por septicemia (Givaudan *et al.*, 1995; Eleftherianos *et al.*, 2006).

Su empleo como biocontroladores en sistemas agrícolas es exitosa para la reducción de plagas del suelo (Doucet y Giayetto, 1994), en donde al ser aplicados dentro de los cultivos agrícolas presentan múltiples ventajas sobre los insecticidas, ya que después de ser libreados los JI, éstos realizan una búsqueda activa tridimensional sobre el insecto hospedero (Campbell y Gaugler, 1993), no son parásitos de animales vertebrados o el humano (Gaugler y Mallory, 1979); su reproducción se realiza en forma masiva y su aplicación se lleva a cabo usando equipo convencional (Grewal *et al.*, 2001a). Por lo tanto, son considerados una estrategia sostenible para el medio ambiente y la reducción de insectos plaga (Hazir *et al.*, 2003), ya sea del área agrícola (Lawrence and Georgis, 2012), pecuaria (Cardoso *et al.*, 2013, Samish *et al.*, 1999) e inclusive

sobre insectos intradomiciliarios (Chaudhary *et al.*, 2017, Peschiutta *et al.*, 2014).

La presencia de los NEP ha mostrado que están ampliamente distribuidos en todo el mundo (Mracek y Jenser, 1988; Kaya *et al.*, 2006), ya sea zonas no perturbadas (Ruíz-Vega *et al.*, 2003) o áreas de producción agrícola (De Ley, 2006). La obtención de estos patógenos presentes en el suelo es a través de la utilización de insectos cebo de la larva *Galleria mellonella* L., técnica más utilizada para su obtención en condiciones de laboratorio (Bedding y Akhurst, 1975). La búsqueda de los mismos otorga un panorama de la diversidad de cada género y los nichos que cada especie presenta (Grewal *et al.*, 1994b). Por ello una vez encontrada una nueva especie o aislamiento su eficacia puede estar estrechamente relacionada con su adaptabilidad al medio y una mayor agresividad patogénica sobre determinado insecto plaga (Epsky y Capinera, 1993; Susurluk y Ehlers, 2008). Por lo tanto, este estudio consistió en la aportación de descripciones morfométricas, morfológicas y moleculares de un nuevo aislamiento de *H. indica*, para el cultivo de la caña de azúcar y su posible efectividad contra insectos plaga en México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Nematodo entomopatógeno

*Heterorhabditis indica* cepa CP13JA fue recuperado de muestras de suelo colectadas en agosto del 2013, en el cultivo de caña de azúcar en la localidad Jareros, municipio Úrsulo Galván (19°14" N, 96°18" W, 20 m.s.n.m.) en Veracruz, México. Utilizando el método del insecto cebo *G. mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) (Sturhan y Mracek, 2000). Los juveniles infectivos fueron colectados de los cadáveres de

*Galleria* usando el método de White (1927). Todos los especímenes para las técnicas morfológicas y moleculares fueron obtenidos a través de disecciones de larvas de *G. mellonella* para la realización de su caracterización. Mientras que otros especímenes se propagaron en larvas de *G. mellonella* para realizar el almacenamiento de la cepa a 25° C en el laboratorio de Patología de Insectos del Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo, Estado de México, México.

### Caracterización Morfológica

**Microscopia de luz.** Todos los especímenes fueron criados en larvas de *G. mellonella* y obtenidos por disección, se mataron por calentamiento (baño María) en 7 mL de agua a 65 °C y se fijaron en trietanolamina-formalina (TAF). Posteriormente los especímenes fueron procesados a través de glicerol anhídrido (Seinhorst, 1959; Cid del Prado-Vera *et al.*, 2010). Los montajes permanentes se realizaron en portaobjetos con anillos de cera. Los especímenes fueron medidos con un microscopio óptico Photomicroscope III (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) y el programa Image Tool (Wilcox *et al.*, 2002).

**Microscopia electrónica de barrido.** Los especímenes fueron mataron por calentamiento y fueron fijados en glutaraldehído 3 % por 6 días a 24 ± 2 °C (Nguyen y Smart, 1995), posteriormente se realizaron lavados cada 24 h con buffer de fosfatos. Los especímenes se deshidrataron en gradientes secuenciales de alcohol etílico (OH) en concentraciones de 5, 10, 20, hasta 96 y 100% durante 20 min. Los ejemplares en alcohol 100% fueron pasados por 3 cambios de 20 min cada uno (Eisenback, 1991). Finalmente, los especímenes deshidratados se secaron en una cámara de punto crítico con CO<sub>2</sub>, se montaron en porta-muestras y recubrieron con oro/paladio 80/20% (5 min), para su examinación en un microscopio JEOL JSM-6390 a 10 KV de voltaje de aceleración.

### Caracterización molecular

El DNA fue extraído de JI, a través del kit DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN). Se amplificó el ITS1+5.8S+ITS2 del rDNA mediante los iniciadores: TW81 5'-GTTTCCGTAGGTGAACCTGC-3' (Joyce *et al.*, 1994) y AB28 5'-ATATGCTTAAGTTCAGCGGGT-3' (Howlett *et al.*, 1992). El producto de PCR fue purificado y secuenciado en ambas direcciones en un Genetic Analyzer 3730x1 (Applied Biosystems, USA). Las secuencias de ITS se ensamblaron y editaron con el programa bioinformático BioEdit v7.2.5 (Hall, 1999) para crear secuencias consenso. Las secuencias se

compararon en el GenBank (NCBI) con la opción BlastNucleotide (BLASTN) (Zhang *et al.*, 2000), se alinearon y se compararon con especies de comparación usando el programa Muscle (Edgar, 2004) incluido en el programa MEGA6.06 (Kumar *et al.*, 2008).

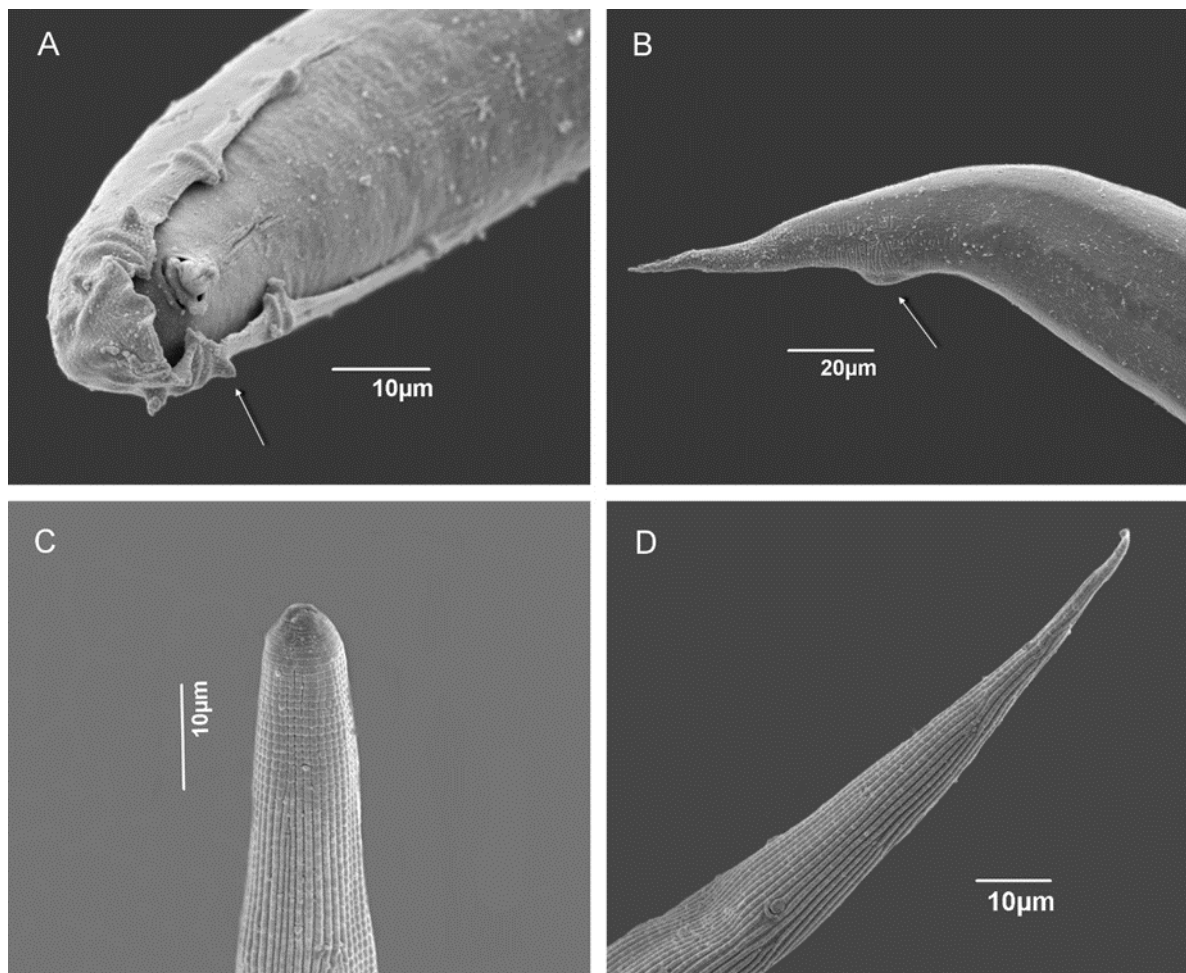
## RESULTADOS

### Descripción morfológica de *Heterorthaditis indica* (Poinar *et al.*, 1992), cepa CP13JA

**Macho amphimictico de segunda generación (n= 30).** Región anterior redondeada, con seis papilas labiales ubicadas alrededor de la boca. Queilorabdions ligeramente visibles en la región del estoma. Esófago tipo rabadiforme alargado, itsmo delgado. Anillo nervioso justo en la parte media del itsmo (Fig. 2 A). Anfidios localizados cerca del nivel de las papilas labiales. Poro excretor cerca de la base del inicio del bulbo esofágico. Presencia de un testículo simple y reflejado; espículas pareadas y separadas, con terminación en punta. Gubernáculo plano, estrecho, aproximadamente a la mitad de la longitud de las espículas. Bursa peloderan, abierta, soportada por siete pares de papilas (Fig. 2 B); tres pares precloacales, un par en la parte adcloacal y tres pares postcloacales (Fig. 1 A).

**Hembra amphimictica de segunda generación (n= 30).** Hembras en forma de C cuando mueren por calor, región anterior ligeramente redondeada con una continuidad en el cuerpo. Región oral con papilas labiales evidentes, anfidios localizados cerca de la zona oral. Esófago alargado, con un itsmo evidente y angosto el cual ésta rodeando en su parte media por el anillo nervioso, bulbo esofágico redondeado, evidente (Fig. 2 D). Poro excretor usualmente posterior al bulbo basal. Vulva estrecha, ubicada al 50% con respecto a la longitud total del cuerpo (Fig. 2 F). Presentan ovarios reflejados, anfídelficos. El labio posterior de la región anal sobresaliente (Fig. 1 B), cola con terminación cónica en punta.

**Juvenil Infeccioso (n= 30).** Cuerpo alargado y delgado, tercer juvenil cubierto con la cutícula del J2 (Fig. 2 G, I). Región anterior redondeada (Fig. 1 C). Boca y ano cerrados, no funcionales. Los labios de los juveniles infecciosos presentan un tipo diente en la parte basal de la región anterior. Mediante microscopia de luz se observa una porción hialina evidente, conformada por la cutícula del J2. Cutícula ornamentada con estrías longitudinales desde la primera porción del cuerpo hasta el término de la cola. Hemizonidio evidente y situado anterior al poro excretor. Cola alargada con terminación ligeramente en punta (Fig. 1 D y 2 H).



**Figura 1.** *Heterorhabditis indica* (CP13JA); A, bursa de machos mostrando la disposición de los radios caudales. B, hinchamiento anal en la región posterior de hembras de segunda generación. C, región anterior y D, región posterior de la cola con terminación en punta.

### Resumen taxonómico

**Etimología.** *Heterorhabditis indica* aislamiento CP13JA, es nombrado por el Colegio de Postgraduados (CP), institución en la que se realizó la investigación, el año en que se encontró (2013), y la localidad en que fue colectada la especie (Jareros).

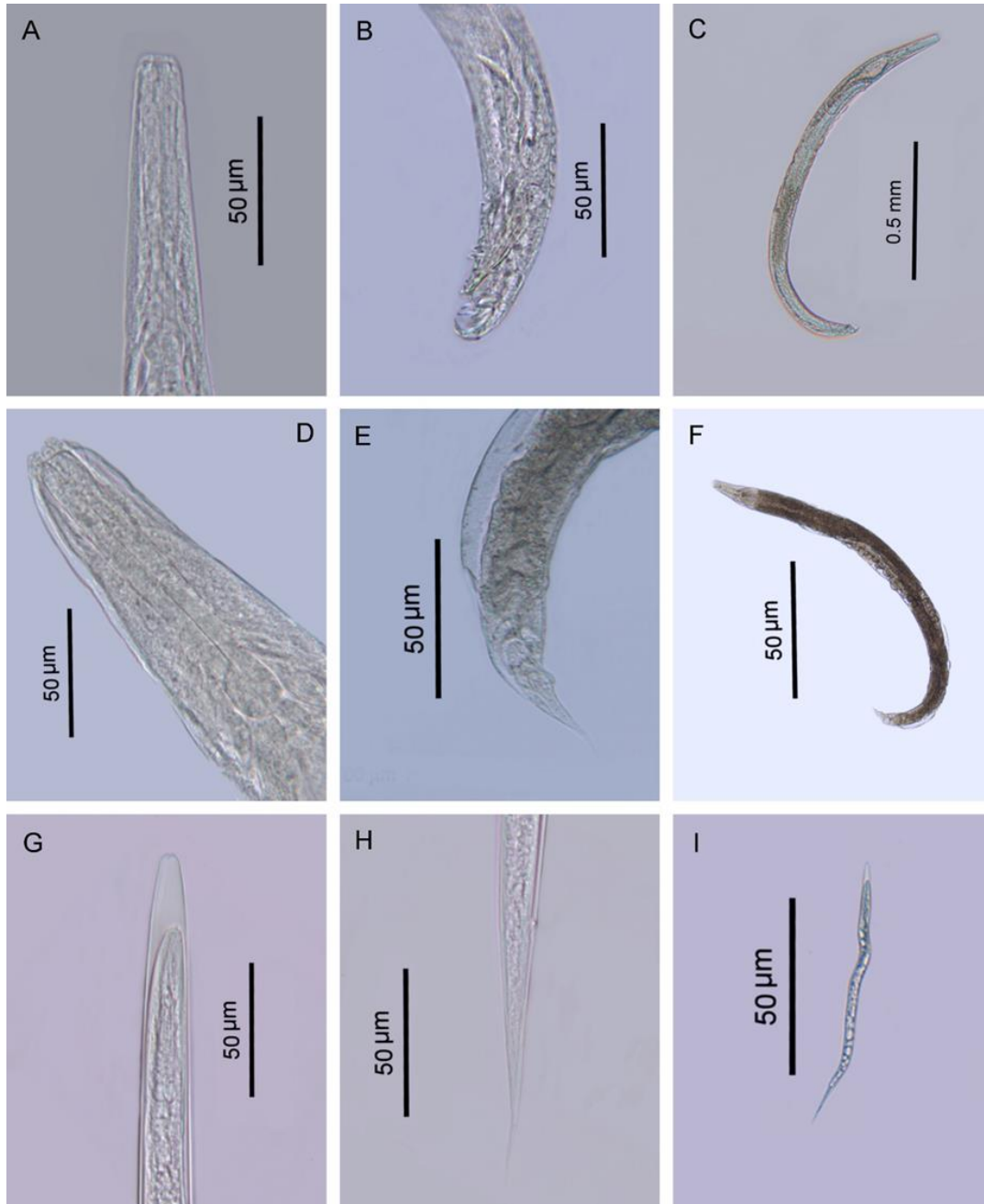
**Especímenes tipo.** Holotipo macho de 2ª generación (9954), alotipo de 2ª generación (9958) y paratipos de juveniles infectivos (9964); fueron depositados en CNHE (Colección Nacional de Helminths, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México). Los especímenes paratipo de cada uno de los estadios fueron depositados en la colección nematodos del Colegio de Postgraduados México (CPNC), con números de acceso A-094 – A-096.

### Comentarios taxonómicos

Los caracteres morfológicos y morfométricos (tabla 1) de *H. indica* cepa CP13JA son similares a la especie original descrita en la india (Poinar *et al.*, 1992) excepto por las siguientes: las hembras de segunda generación de *H. indica* (CP13JA) son ligeramente más largas  $1850\mu\text{m} \pm 30$  (1522-2125) que la especie original  $1600\mu\text{m} \pm 0.1$  (1200-1800), así como en el ancho de su cuerpo  $117\mu\text{m} \pm 2.8$  (91-145) y  $95\mu\text{m} \pm 15$  (76-113). Los machos amphimicticos de la cepa CP13JA son más largos  $765\mu\text{m} \pm 12$  (614-944) con relación a  $724\mu\text{m} \pm 64$  (573-788). Para la cepa *H. indica* (CP13JA) el largo de los juveniles infectivos es más pequeño  $508\mu\text{m} \pm 4.3$  (451-545) que *H. indica*  $528\mu\text{m} \pm 26$  (279-573), así como el largo del esófago  $97\mu\text{m} \pm 1.4$  (82-108) que la descrita por Poinar *et al.* (1992)  $117\mu\text{m} \pm 3$  (109-123). Las

papilas caudales en los machos son proyectadas manteniendo un patrón similar a la especie original (Fig. 1 A), las hembras amphimicticas presentan un hinchamiento en el labio posterior anal (Fig. 2 E y

Fig. 1 B), y los juveniles infectivos con una evidente muda de la segunda cutícula (Fig. 2 G, I) en la parte anterior lo cual concuerda con los juveniles infectivos de *H. indica* (Poinar *et al.*, 1992).



**Figura 2.** *Heterorhabditis indica* (CP13JA). Microscopia de luz. A, B y C, machos de segunda generación: A, región anterior, B, región posterior, C, cuerpo completo de macho de segunda generación; D, E y F, hembras de segunda generación: D, región anterior, E, región posterior, F, cuerpo completo de hembra de segunda generación; G, H, e I, juveniles infectivos; G, región posterior, H, región anterior, I, cuerpo completo de juveniles infectivos y D, juveniles infectivos: C, región anterior y, D, región posterior con terminación de la cola en punta.

### Caracterización molecular

La cepa *H. indica* (CP13JA) localizada en Veracruz muestra una relación inmediata a poblaciones de *H. indica* descritas por otros autores y en diferentes regiones del mundo. Las regiones comparativas de la región ITS1+5.8S+ITS2 (MF197881) y 28S (MF197882) fueron depositadas en el GenBank.

### DISCUSIÓN

A través de los estudios morfológicos y morfométricos (Tabla 1) *H. indica* cepa CP13JA obtenida en el estado de Veracruz, México, se identifica como la especie *H. indica* descrita

anteriormente por Poinar *et al.* (1992). El análisis molecular de la región ITS1+5.8S+ITS2 mostró un parentesco inmediato con otras especies de *H. indica* encontradas en la plataforma del NCBI del GenBank. Se encontraron ligeras variaciones con la especie original de *H. indica* descrita por Poinar, como el largo de los JI donde la cepa CP13JA mide 451-545 (508 $\mu\text{m}\pm 4.3$ ) y *H. indica* 279-573 (528 $\mu\text{m}\pm 26$ ). El largo del cuerpo de los machos de la cepa CP13JA 614-944 (765 $\mu\text{m}\pm 12.4$ ) y el de *H. indica* 573-788 (724 $\mu\text{m}\pm 64$ ); el ancho del cuerpo en la región media de las hembras de segunda generación para la cepa CP13JA es 91-145 (117 $\mu\text{m}\pm 2.8$ ) y el de *H. indica* 76-113 (95 $\mu\text{m}\pm 15$ ). Aunque *H. indica* presenta una distribución mundial, su descripción en algunas

**Tabla 1. Comparación morfométrica de machos y hembras de segunda generación, y juveniles infectivos del aislamiento *Heterorhabditis indica* (CP13JA) y *H. indica* (Poinar *et al.* 1992).**

Segunda generación	<i>Heterorhabditis indica</i> (CP13JA)			<i>Heterorhabditis indica</i> (Poinar Jr. 1992)		
	Machos	Hembras	Juveniles infectivos	Machos	Hembras	Juveniles infectivos
<b>Carácter</b>						
<b>N</b>	30	30	30	12	12	25
<b>TBL</b>	765 $\pm$ 12 (614-944)	1850 $\pm$ 30 (1522-2125)	508 $\pm$ 4.3 (451-545)	724 $\pm$ 64 (573-788)	1600 $\pm$ 0.1 (1200-1800)	528 $\pm$ 26 (279-573)
<b>MBW</b>	42 $\pm$ 0.8 (29-49)	117 $\pm$ 2.8 (91-145)	21 $\pm$ 0.3 (17-24)	42 $\pm$ 7 (35-46)	95 $\pm$ 15 (76-113)	20 $\pm$ 6 (19-22)
<b>EP</b>	108 $\pm$ 1.2 (95-119)	130 $\pm$ 1.5 (102-148)	96 $\pm$ 1.7 (71-111)	123 $\pm$ 7 (109-138)	127 $\pm$ 4 (118-138)	98 $\pm$ 7 (88-107)
<b>NR</b>	75 $\pm$ 0.9 (65-82)	90 $\pm$ 1.2 (74-102)	77 $\pm$ 1.3 (62-93)	75 $\pm$ 4 (72-85)	94 $\pm$ 4 (88-96)	82 $\pm$ 4 (72-85)
<b>ES</b>	101 $\pm$ 1.2 (87-113)	127 $\pm$ 1.4 (102-140)	97 $\pm$ 1.4 (82-108)	101 $\pm$ 4 (93-109)	131 $\pm$ 4 (120-139)	117 $\pm$ 3 (109-123)
<b>TL</b>	25 $\pm$ 0.7 (20-34)	76 $\pm$ 1.5 (60-88)	89 $\pm$ 1.7 (72-101)	28 $\pm$ 2 (24-32)	76 $\pm$ 9 (66-88)	101 $\pm$ 6 (93-109)
<b>ABW</b>	20 $\pm$ 0.3 (15-23)	27 $\pm$ 0.5 (22-32)	21 $\pm$ 0.3 (19-26)	23 $\pm$ 8 (19-24)	26 $\pm$ 11 (22-32)	9.1 $\pm$ 4 (8-10)
<b>SpL</b>	40.8 $\pm$ 1 (31-48)			43 $\pm$ 3 (35-48)		
<b>GuL</b>	19 $\pm$ 0.4 (15-24)			21 $\pm$ 3 (18-23)		
<b>a=TBL/MBW</b>	18	16	24	17	17	26
<b>b=TBL/ES</b>	8	14	5	7	12	4
<b>c = TBL/TL</b>	31	24	6	26	21	5
<b>D%= EP/ESx100</b>	107	102	99	122	97	84
<b>E%= EP/TLx100</b>	435	172	108	439	16	97
<b>SW=</b>	206			187		
<b>SpL/ABWx100</b>						
<b>GS= GuL/SpLx100</b>	48			49		

**Indicando:** N= número de especímenes medidos. TBL= ancho total del cuerpo, MBW= anchura media del cuerpo, EP= distancia de la región al poro excretor, NR= distancia de la región anterior al anillo nervioso, ES= largo total del esófago, TL= largo de la cola, ABW= anchura media del ano, SpL= largo de las espículas, GuL= largo del gubernáculo.

investigaciones presenta variaciones morfológicas al ser comparadas con la descripción de la especie original (Abdel-Razek *et al.*, 2018) aunque la comparación molecular presente una estrecha cercanía (Nikdel *et al.*, 2012).

La distribución de esta especie se ha mencionado a través del trópico y subtropico en países como Kenia, Cuba, Indonesia, Australia, Jamaica, USA (Hominick *et al.*, 1996; Meza-García *et al.*, 2014; Stack *et al.*, 1999). Para México se ha reportado su presencia en Tamaulipas en el cultivo de sorgo (*Sorghum* spp. Poales; Poaceae) (Nguyen *et al.*, 2044), en Sinaloa dentro del cultivo de maíz (*Zea mays* L., Poales; Poaceae) evaluándose contra la plaga *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae), y Tabasco extraído en una zona tropical (Cortez *et al.*, 2003) y evaluando su patogenicidad contra larvas de gallina ciega *Phyllophaga* sp. (Coleoptera: Mololontidae) (Sánchez-Saavedra *et al.*, 2012). *H. indica* CP13JA se considera un aislamiento nuevo para el estado de Veracruz y el cultivo de caña de azúcar, en donde éste cultivo se consideraría su nicho térmico, el cual podría brindarle a esta cepa una tolerancia a temperaturas altas y no afectarle así en su efectividad para parasitar a su hospedero (Grewal *et al.*, 1994). Por ello se llevó a cabo la evaluación de *H. indica* CP13JA junto con otra especie nativa de *Steinernema* sp. para medir su infectividad contra la plaga del salivazo en condiciones de campo. Evaluando que ambos nematodos poseen la capacidad de atravesar la saliva que protege a las ninfas, matarlas y producir nueva progenie de los cadáveres, logrando mortalidades en las ninfas de un 73% y 62% respectivamente (Grifaldo-Alcantara *et al.*, 2019).

### CONCLUSIÓN

*H. indica* cepa CP13JA no presenta diferencias morfológicas y moleculares con la especie descrita originalmente en la India. Teniendo en cuenta que el descubrimiento de nuevas cepas en otros países pueden presentar variaciones morfológicas. La presencia de *H. indica* se considera nueva dentro del cultivo de caña de azúcar en México, y podría sugerir que al poseer caracteres fenotípicos le han permitido su prevalencia en zonas con climas cálido-tropical. Su nicho ecológico o térmico, que es el cultivo de la caña de azúcar, le favorecería mucho mejor que posiblemente una especie introducida a presentar una mejor adaptación a altas temperaturas, tolerancia a la desecación y habilidad para la dispersión en busca de su hospedero para poderlo parasitar, matar y generar una nueva progenie

### Agradecimientos

**Financiamiento.** No se recibió financiamiento para la realización del trabajo.

**Conflicto de intereses:** Todos los autores declaran que no hay conflicto de intereses relacionados con esta publicación.

**Cumplimiento de estándares de ética.** Por su naturaleza, el presente trabajo no requirió aprobación por comité de bioética.

**Disponibilidad de datos:** El autor de correspondencia podrá proporcionar la información o datos necesarios, con previa solicitud.

### REFERENCIAS

- Abdel-Razek, A.S., Hussein, M. and Shehata, I., 2018. Isolation and identification of indigenous entomopathogenic nematode (EPN) isolate from Egyptian fauna. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 51, pp.3-4, 197-206. <https://doi.org/10.1080/03235408.2018.1445080>.
- Bedding, R.A. and Akhurst, R.J., 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21, pp.109-110. <https://doi.org/10.1163/187529275X00419>.
- Cardoso, R., Monteiro C. M. O., Prata, M. C. A. and Batista, E. S. P., 2013. Effect of the entomopathogenic nematode *Steinernema Glaseri* (Rhabditida: Steinernematidae) isolate Santa Rosa on the biological parameters of engorged nymphs of *Amblyomma Cajennense* (Acari: Ixodidae). *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, 80, pp. 237-241. <https://doi.org/10.1590/S1808-16572013000200015>.
- Campbell, J.F. and Gaugler, R., 1993. Nictation Behaviour and its ecological implications in the host search strategies of the host search strategies of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). *Behaviour*, 126, pp. 155-169.
- Chaudhary M. Z., Majeed M., Tayyib M., Javed N., Farzand A., Moosa A., Shehzad M. and Mushtaq F., 2017. Antagonistic potential of *Steinernema kraussei* and *Heterorhabditis bacteriophora* against dengue fever mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5, pp.865-9.

- Cid Del Prado-Vera, I., Ferris, H. and Nadler, S.A., 2010. Soil inhabiting nematodes of the genera *Trischistoma*, *Tripylina* and *Tripyla* from Mexico and the USA with descriptions of new species. *Journal of Nematode Morphology and Systematics*, 13, pp.29-49.
- Cortez-Madrigal, H., Morales-Salvador, P. y B. Adams., 2003. Primer registro en México del *Heterorhabditis indicus* Poinar pp: 68–70. In: Vázquez-García, M., Pérez Domínguez, J. F., Ibarra-Cortés, K. H., Balpuesta-León, C. L., Vázquez-Reyes, J. R., Cervantes-Ríos, J. y N. Ibarra-Frías. (Eds.). *Memorias del XXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico, Texcoco, México.*
- De Ley, P., 2006. A quick tour of nematode diversity and the backbone phylogeny. *WormBook.org* ed. The *C. elegans* Research Community. USA.
- Doucet, M.M. and Giayetto, A., 1994. Gama de huéspedes y especificidad en *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Heterorhabditidae: Nematoda). *Nematology Mediterranea*, 22, pp. 171-178.
- Edgar, R.C. 2004. Muscle: multiple sequence alignment with high accuracy and high. *Nucleic Acids Research*, 32, pp. 1792-1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>.
- Eisenback, J.D., 1991. Preparation of nematodes for scanning electron microscopy. Part. 2 of: Methods for collection and preparation of nematodes. In: Nickle, W.R. (eds.). *Manual of Agricultura Nematology*. Marcel Dekker. Nueva York. pp. 87-96.
- Eleftherianos, I., Boundy, S., Joyce, S.A., Aslam, S., Marshall, J.W., Cox, R.J., Simpson, T. J., Epsky, N.D. and Capinera, J.L., 1993. Efficacy of the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* against a subterranean termite, *reticulitermes tibialis* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Economic Entomology*, 81, pp. 1313-1317. <https://doi.org/10.1093/jee/81.5.1313>.
- Fimbres, C.G. y Flores-Lara, Y., 2016. Potencialidad y retos del uso de nematodos entomopatógenos para el control biológico de plagas. *Control biológico mediante una asociación simbiótica NEP-bacteria. INVURNUS*, 11, pp.27-36.
- Gaugler, R. and Mallory, G.B., 1979. Non susceptibility of rats to the entomopathogenous nematode. *Neoplectana carpocapsae*. *Environmental Entomology*, 8, pp. 658-660. <https://doi.org/10.1093/ee/8.4.658>.
- Givaudan, A., Baghdiguian, S., Lanois, A., and Boemare, N., 1995. Swarming and swimming changes concomitant with phase variation in *Xenorhabdus nematophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, pp.1408-1413.
- Grewal, P.S., De Nardo, E.A.B., and Aguilera, M.M., 2001a. Entomopathogenic nematodes: potential for exploration and use in South America. *Nematropical Entomology*, 30(2), pp. 191-205. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2001000200001>.
- Grewal, P.S., Selvan, S. and Gaugler, R., 1994b. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment, and reproduction. *Journal of Thermal Biology*, 19, pp. 245-253.
- Grifaldo-Alcántara, P. F., Alatorre-Rosas, R., Villanueva-Jiménez, J. A., Hernández-Rosas, F., Stock, S. P. y Ramírez-Valverde, G., 2019. Evaluación de dos cepas de nematodos entomopatógenos (Steinernematidae, Heterorhabditidae) para el control del salivazo (Hemiptera: Cercopidae) en caña de azúcar. *Nematopica*, 49, pp. 83-90.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids. Symposium Series*, 41, pp. 95-98.
- Hazir, S., Kaya, H.K., Stock, S.P., and Keskin, N., 2003. Entomopathogenic Nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for Biological Control of Soil Pests. *Turkish Journal of Biology*, 27, pp. 181-202.
- Hominick, W.M., Reid, A.P., Bohan, D.A. and Briscoe, B.R., 1996. Entomopathogenic nematodes: biodiversity, geographical distribution and the convention on biological diversity. *Biocontrol Science Technology*, 6, pp. 317-331. <https://doi.org/10.1080/09583159631307>.
- Howlett, B.J., Brownlee, A.G., Guest, D.I., Adcock, G.J. and Mc Fadden, G. I., 1992. The 5S ribosomal RNA gene is linked to large and small subunit ribosomal RNA genes in the oomycetes, *Phytophthora vignae*, *P. cinnamomi*, *P. megaspera* f. sp. *glycinae* and *Saprolegnia ferax*. *Current Genetics*, 22, pp. 455-461.
- Joyce, S.A., Reid, A., Driver, F. and Curran, J., 1994. Application of polymerase chain reaction (PCR) methods to the identification of



- entomopathogenic nematodes. In: Burnell, A.M., Ehlers, R.U., and Masson, J.P. (eds.). *Biotechnology: Genetics of entomopathogenic nematodes bacterium complexes*. Proceedings of symposium and workshop, St Patrick's College, Maynooth, County Kildare, Ireland. Luxembourg, European Commission, DGXII. pp. 178-187.
- Kaya, H.K., Agulliera, M.M., Alumai, A., Choo, H.Y., De la Torre, M., Andras, F., Sudershan, G., Hazir, S., Lakatos, T., Pye, A., Wilson, M., Yamanaka, S., Yang, Huaiwan, Y., and Ehlers, R. U., 2006. Status of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries or regions of the world. *Biological Control*, 38, pp. 134-155. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.11.004>.
- Kumar, S., Masatoshi, N., Dudley, J. and Tamura, K., 2008. MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in Bioinformatics*, 9, pp.299-306. <https://doi.org/10.1093/bib/bbn017>.
- Lawrence, A. L. and Georgis, R., 2012. Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. *Journal of Nematology*, 44, pp. 218-225.
- Meza-García, J. L., Elías-Santos, M., Cortez-Mondaca, E., Guerrero-Olazarán, M., Viader-Salvadó, J. M., Luna-Olvera, H. A., Maldonado-Blanco, M. G., Quintero-Zapata, I. and Pereyra-Alfárez, B., 2014. Evaluation of *Heterorhabditis indica* (Rhabditida: Heterorhabditidae) Nematode Strain from Sinaloa, Mexico, Against *Bemisia tabaci* Immatures Under Laboratory Conditions. *Southwestern Entomologist*, 39, pp.727-738. <https://doi.org/10.3958/059.039.0404>.
- Mracek, Z. and Jenser, G., 1988. First report of entomogenous nematodes of the families Steinernematidae and Heterorhabditis from Hungary. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 23, pp. 153-156.
- Nguyen, K.B., and Smart, Jr.G.C., 1995. Scanning electron microscope studies of *Steinernema glaseri* (Nematoda: Steinernematidae). *Nematologica*, 41, pp. 183-190. <https://doi.org/10.1163/003925995X00152>.
- Nguyen, K. B., Shapiro-Ilan, D. I., Stuart, R. J., McCoy, C. W., James, R. R. and Byron J. A., 2004. *Heterorhabditis mexicana* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Tamaulipas, Mexico, and morphological studies of the bursa of *Heterorhabditis* spp. *Nematology*, 6, pp. 231-244. <https://doi.org/10.1163/1568541041218031>
- Nikdel, M., Niknam, G. and Eliasy, G., 2012. Morphological and molecular characterization of a new isolate of *Heterorhabditis bacteriophora* poinar, 1976 from east Azarbaijan, Iran. *Nematologia Mediterranea*, 40, pp.135-141.
- Poinar, Jr., George, O., Karunakar, G.K. and Hastings, D., 1992. *Heterorhabditis indica* n. sp. (Rhabditida: Nematoda) from India: Separation of *Heterorhabditis* spp. by infective juveniles. *Fundam. Applicate Nematology*, 15, 467-472.
- Ruíz-Vega, J., Aquino-Bolaños, T., Kaya, H.K. y Stock, P.S., 2003. Colecta y evaluación de nematodos entomopatógenos para el control de gallinas ciegas *Phyllophaga vetula* (Horn) en Oaxaca, México. *Folia Entomológica Mexicana*, 42, pp.169-175.
- Sánchez-Saavedra, M. G., Cortes-Madrigal, H. y Cristobal-Acevedo, D., 2012. Infectividad de *Heterorhabditis indica* (Rhabditida: Heterorhabditidae) en adultos y larvas de gallina ciega (Coleoptera: Melolonthidae). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 18, pp. 383-394. <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2012.08.040>.
- Samish, M., Alekseev, E. A., and Glazer., 1999. Efficacy of entomopathogenic nematodes strains against engorged *Boophilus annulatus* females (Acari: Ixodidae) under simulated field conditions. *Journal of Medical Entomology*, 36, Pp, 727-732. <https://doi.org/10.1093/jmedent/36.6.727>.
- Sánchez-Saavedra, M.G., Cortez-Madrigal, H. y Cristóbal-Acevedo, D., 2012. Infectividad de *Heterorhabditis indica* (Rhabditida: Heterorhabditidae) en adultos y larvas de gallina ciega (Coleoptera: Melolonthidae). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 18, pp.383-394. <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2012.08.040>.
- Seinhorst, J.W., 1959. A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. *Nematologica*, 4, pp. 67-69. <https://doi.org/10.1163/187529259X00381>.
- Stack, C.M., Easwaramoorthy, S.G., Metha, U.K., Downes, M.J., Griffin, C.T. and Burnell, A.M., 1999. Molecular characterization of

- Heterorhabditis indica* isolates from India, Kenya, Indonesia and Cuba. *Nematology*, 2, pp. 477-487.  
<https://doi.org/10.1163/156854100509321>.
- Sturhan, D. and Mracek, Z., 2000. Comparison of the *Galleria* baiting technique and a direct extraction method for recovering *Steinernema* (Nematoda: Rhabditida) infective-stage juveniles from soil. *Folia Parasitologica*, 47, pp. 315-318.
- Susurluk, A.I. and Ehlers, R.U., 2008. Comparison of some characterizations of recovery from soil and newly fermented Entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditidae; Heterorhabditidae). *Journal of Environmental Biology*, 2, pp.65-71.
- White, G.F., 1927. A method for obtaining infective nematode from cultures. *Science*, 66, pp.302-303.
- Wilcox, D., Dove, B., McDavid, D. and Greer, D., 2002. Image tool. Version 3.0. San Antonio: Health Science Center/ University of Texas.
- Wright, D.J. and Perry, R.N., 2002. Physiology and biochemistry. In: Gugler, R., (ed.). *Entomopathogenic nematology*. CAB Int. Wallingford. pp. 145–168.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L. and Miller, W., 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *Journal Computational Biology*, 7, pp.203-14.  
<https://doi.org/10.1089/10665270050081478>