

Susceptibilidad de larvas de *Crociosema aporema* (Walsingham, 1914) y *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818, a tres aislados de nematodos entomopatógenos

María de L. Gianfelici¹, María A. Bertolotti¹ y Susana R. Cagnolo¹

¹Cátedra de Parasitología, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba.

Fecha de recepción del manuscrito: 17/12/2013

Fecha de aceptación del manuscrito: 12/05/2014

Fecha de publicación: 10/09/2014

Resumen—Se estudió por primera vez el comportamiento en laboratorio de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (aislados N4 y N82) y *Steinernema rarum* (Doucet, 1986) (aislado OLI) en larvas de dos lepidópteros de importancia agrícola, *Crociosema aporema* (Walsingham, 1914) y *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818. Se evaluaron dos dosis: 50 y 500 juveniles infectivos por larva. Se consideraron 15 individuos por aislado y por dosis. En ambas especies de insectos el parasitismo fue superior al 75% bajo todos los tratamientos. Los nematodos completaron su ciclo vital con producción de juveniles infectivos en los dos hospedadores, aunque se observaron diferencias en la duración del ciclo parasitario y en la cantidad de progenie producida. El ciclo fue más corto en *C. aporema* y la producción de progenie fue mayor a partir de *A. gemmatalis*. Se demuestra la alta susceptibilidad de las larvas de estos lepidópteros a los nematodos estudiados. Los resultados obtenidos aportan información original a tener en cuenta para la utilización de estos nematodos como alternativa al empleo de pesticidas.

Palabras clave—*Heterorhabditis bacteriophora* (aislado N4), *Heterorhabditis bacteriophora* (aislado N82), *Steinernema rarum* (OLI), susceptibilidad, lepidópteros.

Abstract—Behaviour of *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (isolates N4 and N82) and *Steinernema rarum* (Doucet, 1986) (OLI isolate) against larvae of two lepidoptera of agricultural importance, *Crociosema aporema* (Walsingham, 1914) and *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818, was studied in lab for the first time. Two doses were evaluated: 50 and 500 infective juveniles per insect. Fifteen individuals per isolate and per dose were considered. In both species of insects the parasitism was higher than 75% in all treatments. In both insects the nematodes completed their life cycle with production of infective juveniles, but differences in both the length of the parasitic cycle and the number of infective juveniles emerged were observed. The cycle was shorter in *C. aporema* and the production was greater in *A. gemmatalis*. The high susceptibility of these larvae to the nematodes is showed. These results provide original information to consider for the employing of these nematodes as alternative to the pesticides.

Keywords—*Heterorhabditis bacteriophora* (strain N4), *Heterorhabditis bacteriophora* (strain N82), *Steinernema rarum* (OLI), susceptibility, lepidoptera.

INTRODUCCIÓN

Los lepidópteros *Crociosema aporema* (Walsingham, 1914), el barrenador del brote, y *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818, la oruga de las leguminosas, son plagas de importancia económica en Argentina, ya que causan serios daños en el cultivo de soja (Aragón, 2002).

El control de estos insectos se hace tradicionalmente, con insecticidas químicos (Gamundi y Perotti, 2008). Sin embargo, el efecto negativo de éstos sobre el ambiente, ha impulsado la implementación de métodos alternativos de control, entre ellos, los que utilizan enemigos naturales con efectos semejantes a los pesticidas (Adams

y Nguyen, 2002). Entre los agentes de control biológico empleados contra *A. gemmatalis*, se mencionan virus y bacterias (Moscardi, 1999; Aragón y Vázquez, 2000; Aragón y Flores, 2006).

Los nematodos entomopatógenos pertenecientes a las Familias Steinernematidae y Heterorhabditidae son antagonistas naturales de insectos. La acción conjunta de estos nematodos y sus bacterias simbioses causan indefectiblemente la muerte del hospedador en pocas horas. Por esta razón, son considerados excelentes insecticidas biológicos.

Ensayos realizados con representantes de este grupo han mostrado su eficacia contra especies de importancia para la agricultura. Entre estas últimas, pueden mencionarse representantes de los Órdenes Coleoptera (Quintero Marin, 2003; Sánchez y Rodríguez, 2007; Pilz et al., 2009; Toepfer et al., 2010), Homoptera (Castellanos López, 2000), Hemiptera (Leite et al., 2005), Lepidoptera (García et al., 2008; Maldonado

Dirección de contacto:

María Alejandra Bertolotti, Avenida Vélez Sársfield 299, X5000 CGA.
Tel: 4332100 interno 214/ Fax. 4332098, mbertolo@efn.uncor.edu.

Moraga, 2009) y Diptera (Toledo et al., 2006), principalmente.

En Argentina los estudios en este campo se orientan a la detección de nuevas poblaciones de nematodos entomopatógenos y a la evaluación de sus potencialidades como agente de control de plagas. En este sentido, los resultados han sido satisfactorios, aunque se han observado diferencias según las especies y aislados (de Doucet y Giayetto, 1994; de Doucet et al., 1999; Giayetto y Cichón, 2006; Doucet et al., 2008; Picca y Cagnolo, 2008). Muestreos llevados a cabo en la ciudad de Córdoba, permitieron detectar dos nuevas poblaciones de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (Cagnolo y Carranza, 2007). Hasta el momento, se desconoce el comportamiento de estos aislados frente a insectos de interés agronómico. En el caso de *C. aporema*, ningún ensayo se ha realizado hasta el presente. Con respecto a *A. gemmatalis*, se ha comprobado la susceptibilidad de las larvas a *Steinernema rarum* (Doucet, 1986) (aislado NOE), *S. feltiae* (Filipjev, 1934) (aislado LCHOR), *H. bacteriophora* (aislados RIV y RN) (de Doucet y Giayetto, 1994; de Doucet et al., 1999), de las pupas a *H. bacteriophora* (aislado RIV) (de Doucet y Giayetto, 1994) y de los adultos a *S. rarum* (OLI) (Cagnolo et al., 2011).

Dadas la falta de información existente para *C. aporema* y la importancia económica que reviste junto con *A. gemmatalis* para la soja, los objetivos de este trabajo fueron: evaluar la susceptibilidad en laboratorio de *C. aporema* y *A. gemmatalis* a *H. bacteriophora* (aislados N4 y N82) y *S. rarum* (OLI), de Córdoba, Argentina; comparar el parasitismo entre hospedadores, y estimar la producción de juveniles infectivos (JIs) a partir de cada lepidóptero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Nematodos

Los tres aislados de nematodos utilizados se detectaron en suelos de la provincia de Córdoba: *H. bacteriophora* (aislado N4) y *H. bacteriophora* (aislado N82) en el Departamento Capital, y *S. rarum* (OLI), en la localidad de Oliva, Departamento Tercero Arriba. Los JIs fueron multiplicados en laboratorio sobre larvas de *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) según técnicas convencionales (Kaya y Stock, 1997). Los cultivos de *S. rarum* (OLI) y de *H. bacteriophora* (aislado N4) se mantuvieron entre 20 y 21°C, mientras que los de *H. bacteriophora* (aislado N82), entre 8 y 11°C, ya que a dichas temperaturas, se ha observado una mayor supervivencia de estos aislados (datos no publicados).

Insectos

Las larvas de *A. gemmatalis* y *C. aporema* fueron provistas por el Laboratorio de Investigación, Desarrollo

y Experimentación Regional (L.I.D.E.R., Sinsacate, Córdoba). Se utilizaron larvas de los estadios sexto y quinto, de *A. gemmatalis* y *C. aporema*, respectivamente. La cría de estos lepidópteros se realizó sobre una dieta en base a miel, vitaminas, azúcar y agua destilada, a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, 60% de humedad relativa y un fotoperiodo de 16 hs (Crespo et al., 1996).

Contacto insecto - nematodo

Se utilizaron dos dosis: 50 y 500 JIs/hospedador. Las infecciones se llevaron a cabo en placas multiwell (x 24 celdas, Falcon N° 3047) (Glazer y Lewis, 2000). Los inóculos con las dosis establecidas se pasaron a través de embudos de papel de filtro de 2,3 cm de diámetro, luego se agregaron 0,2 g de una mezcla de suelo con arena esterilizada en autoclave a 180°C durante 90 min. Por último, se colocó una larva de lepidóptero en cada celda. Las placas se incubaron a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (Koppenhöfer y Kaya, 1999). Se consideraron 15 larvas de cada insecto por aislado de nematodo y por dosis. Se realizó una dosis control para cada especie de hospedador. Las experiencias se repitieron tres veces.

Mortalidad de los hospedadores, desarrollo de los nematodos y producción de JIs

Se registró la mortalidad de los insectos cada 24 hs, durante 10 días seguidos. Los insectos muertos se mantuvieron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y se dividieron en dos grupos: uno de ellos, destinado a las disecciones para observar el desarrollo de los nematodos y el otro, para la recolección de los JIs luego de la emergencia espontánea al término del ciclo parasitario.

Las disecciones comenzaron a partir de las 48 hs siguientes a la muerte de los hospedadores, considerando en total, entre 6 y 9 insectos por día. La identificación de individuos pertenecientes a primera y segunda generación se realizó en base a características morfológicas y/o biológicas propias de estas dos especies: forma de la vulva y de la cola en hembras hermafroditas y en hembras anfimícticas, forma de las espículas en los machos, presencia o ausencia de machos.

A fin de obtener los JIs al final del ciclo parasitario y corroborar de este modo la muerte por nematodos, los insectos fueron colocados individualmente en Trampa White, al tercer y sexto día posterior a la muerte, según se tratara de *C. aporema* o de *A. gemmatalis*, respectivamente (Kaya y Stock, 1997).

Las trampas White fueron observadas a diario para determinar el comienzo de la emergencia de los JIs, y al cabo de 10 días, se procedió a su recolección. Para la estimación de JIs de cada aislado producidos por hospedador y por dosis, se utilizó el método de recuento por dilución (Kaya y Stock, 1997). Esto se realizó para un total de 10 trampas White por aislado, por hospedador y por dosis. Se calcularon el valor medio y el desvío estándar para cada caso.

Las larvas de lepidópteros en las que no se observó emergencia de JIs luego de 10 días de permanecer en

Trampa White, se diseccionaron para constatar si la muerte fue debida a nematodos.

Se calcularon y compararon los porcentajes de mortalidad para cada especie de lepidóptero.

Análisis estadísticos

Para establecer diferencias entre los distintos tratamientos, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA). El test de Shapiro-Wilks modificado permitió comprobar que los datos no presentaban una distribución normal. Por ello, previo al análisis, se normalizaron mediante la transformación logaritmo natural. Para comparaciones a posteriori de las medias se utilizó el Test de Fisher ($p \leq 0,05$). La prueba de normalidad, la transformación de los datos y los análisis estadísticos se realizaron con el software InfoStat (Di Rienzo et al., 2011).

RESULTADOS

Mortalidad de los hospedadores

Las larvas de *A. gemmatalis* y *C. aporema* murieron entre uno y seis días posteriores a la puesta en contacto con los nematodos, si bien en ambas especies de lepidópteros, los mayores porcentajes de mortalidad se registraron al segundo día con los tres aislados. Se destaca *S. rarum* (OLI) a la dosis de 500 JIs por hospedador, que al cabo de 48 h provocó una mortalidad del 98% en *A. gemmatalis* (Fig. 1) y del 80% en *C. aporema* (Fig. 2). Los hospedadores parasitados por *S. rarum* (OLI) se tornaron de un color rosado claro mientras que los parasitados por los dos aislados de *H. bacteriophora* adquirieron una coloración rojo-violácea intensa. La mortalidad en las dos especies de insectos fue superior al 75% con los tres aislados y a las dos dosis probadas. Se detectaron diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA, $p \leq 0,05$); con *H. bacteriophora* (N4) a una dosis de 50 JIs por hospedador (que provocó un 76% y 80% de mortalidad en *A. gemmatalis* y *C. aporema*, respectivamente) y con *H. bacteriophora* (N4) y *S. rarum* (OLI), ambos a una dosis de 500 JIs por hospedador (que provocaron un 96% y 98% de mortalidad respectivamente, en *A. gemmatalis*) (Fig. 3).

Desarrollo de los nematodos y producción de JIs a partir de las dos especies de hospedadores

Los insectos muertos por nematodos no presentaron signos de putrefacción y tras las disecciones, sus tejidos mostraron una consistencia gelatinosa. En su interior se observaron nematodos en diferentes estados de desarrollo, pertenecientes a primera y segunda generación, en todos los casos.

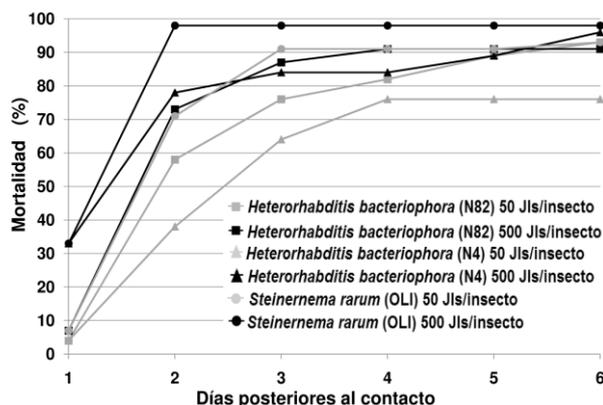


Fig. 1: Mortalidad de *Anticarsia gemmatalis* acumulada en el tiempo por cada tratamiento

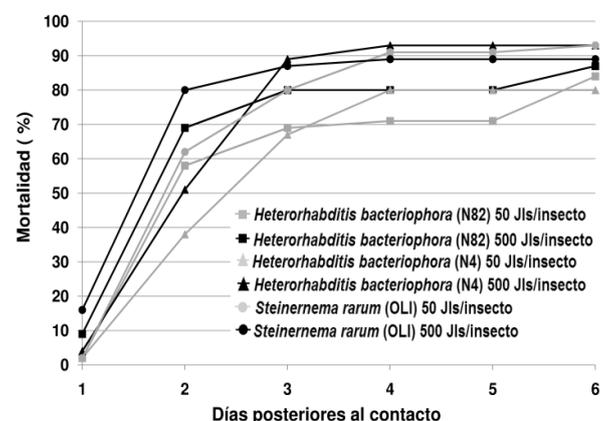


Fig. 2: Mortalidad de *Crocidosema aporema* acumulada en el tiempo por cada tratamiento.

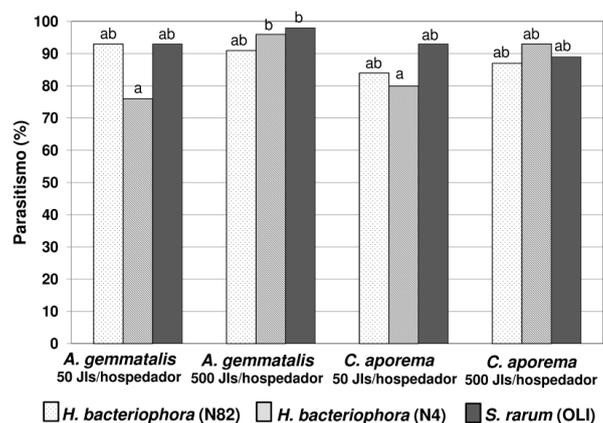


Fig. 3: Mortalidad total de *Anticarsia gemmatalis* y *Crocidosema aporema* por *Heterorhabditis bacteriophora* (aislados N4 y N82) y *Steinernema rarum* (OLI). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

En *A. gemmatalis*, los adultos de la primera generación fueron observados a los 2 y 3 días posteriores a la muerte del insecto, y los de la segunda, entre los 3 y 4 días posteriores. En el día 5, se observó el fenómeno de *endotokia matricida* (huevos eclosionan dentro del útero de la hembra desarrollando formas juveniles que se alimentan de los tejidos maternos) en hembras

hermafroditas para los dos aislados de *Heterorhabditis*, y en hembras anfigmíticas, y algunos JIs libres en el hemocel. En el día 6 se hallaron en el interior del insecto sólo JIs y su emergencia del insecto comenzó al séptimo día. Esto sucedió de modo semejante en los tres aislados.

En *C. aporema*, los adultos de primera generación de *S. rarum* (OLI) fueron observados a los 2 y 3 días siguientes a la muerte del insecto y los de segunda generación, entre los 3 y 4 días. Con los aislados de *H. bacteriophora*, en algunos hospedadores fue posible observar la coexistencia de primera y segunda generación a los 2 días y la ocurrencia de *endotokia matricida* en hembras hermafroditas a partir del tercer día. En los tres aislados se observaron JIs libres en el hemocel al cuarto día, que comenzaron a emerger ese mismo día.

Los valores medios de JIs producidos fueron entre 11000 y 23500, y entre 1700 y 5300, a partir de *A. gemmatalis* y de *C. aporema*, respectivamente, para los tres aislados y a las dos dosis evaluadas. Se detectaron diferencias significativas entre hospedadores y en cada hospedador ($p \leq 0,05$) (Tabla 1).

TABLA 1: PRODUCCIÓN DE JUVENILES INFECTIVOS (JIS) A PARTIR DE CADA HOSPEDADOR. ^x SE CONSIDERARON 10 HOSPEDADORES DE CADA ESPECIE, POR TRATAMIENTO. ^y LAS DOSIS SE EXPRESAN COMO EL NÚMERO DE JUVENILES INFECTIVOS (JIS) POR HOSPEDADOR. ^z LETRAS DISTINTAS INDICAN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS (TEST DE FISHER $p \leq 0,05$).

Hospedador ^x	Nematodo	Dosis ^y	Media ± DS ^z
<i>A. gemmatalis</i>	HB(N4)	50	11421,20 ± 7945,77 ^{cde}
		500	17355,30 ± 15632,83 ^e
<i>A. gemmatalis</i>	HB(N82)	50	23481,54 ± 19212,18 ^f
		500	16977,60 ± 11356,68 ^{de}
<i>A. gemmatalis</i>	SR(OLI)	50	15599,60 ± 16015,09 ^{cde}
		500	16374,00 ± 14743,67 ^{de}
<i>C. aporema</i>	HB(N4)	50	3456,00 ± 3925,91 ^{bc}
		500	5267,09 ± 4568,17 ^{bcd}
<i>C. aporema</i>	HB(N82)	50	1737,40 ± 2109,67 ^a
		500	5066,80 ± 5897,88 ^{ab}
<i>C. aporema</i>	SR(OLI)	50	3935,80 ± 3154,07 ^{bcd}
		500	3872,70 ± 2853,12 ^{bcd}

HB: *Heterorhabditis bacteriophora*, SR: *Steinernema rarum*

DISCUSIÓN

Las larvas de *A. gemmatalis* y *C. aporema*, fueron susceptibles a los dos aislados de *H. bacteriophora* y a *S. rarum* (OLI) en condiciones de laboratorio. La muerte de los insectos se observó a partir de las 24 hs siguientes al inicio del contacto con los nematodos, tal como se conoce que ocurre en larvas de *G. mellonella* y otros lepidópteros.

Bajo los distintos tratamientos se registraron niveles de parasitismo siempre superiores al 75% y con valores próximos al 100%. Las diferencias observadas, podrían estar reflejando variaciones en características propias de los JIs: habilidad para detectar la presencia del insecto y movilizarse por el sustrato hasta alcanzarlo, capacidad

para penetrar, número de células bacterianas que transportan, tiempo de liberación del simbionte y su patogenicidad. También podrían atribuirse a características de los hospedadores como la respuesta de su sistema inmune (Koppenhöfer y Fuzy, 2003).

En relación al parasitismo de *A. gemmatalis* por *S. rarum* (OLI), en este trabajo los porcentajes superaron el 92% con las dos dosis. En ensayos anteriores para evaluar la susceptibilidad de los adultos a este mismo nematodo, se obtuvieron porcentajes de 80% y 33,3%, con las dosis 500 JIs por hospedador y 50 JIs por hospedador, respectivamente (Cagnolo *et al.*, 2011). Estos resultados y los del presente trabajo, señalan que los dos estados, inmaduros y adultos, son susceptibles, aunque la marcada diferencia en la mortalidad de los adultos a las dosis indicadas, podría sugerir una mayor resistencia de este estado al nematodo. Los estados larvales, en general, a diferencia de los adultos, tienen la boca, el ano y los espiráculos expuestos, características que facilitarían el ingreso de los nematodos (Sepúlveda-Cano *et al.*, 2008). Además, los factores inmunológicos juegan un importante papel en la susceptibilidad, y en los estadios inmaduros, estos factores (entre los que se destacan, la encapsulación de larvas infectantes y las respuestas humorales contra las bacterias simbiotes que portan los nematodos) se encuentran menos desarrollados que en los adultos (Quintero Marin, 2003).

En relación a la mortalidad de los hospedadores causada por los distintos aislados de nematodos, los porcentajes más bajos en ambas especies se obtuvieron con *H. bacteriophora* (N4) a la dosis de 50 JIs por hospedador. Esto posiblemente podría estar relacionado con las características biológicas particulares del aislado (Koppenhöfer y Fuzy, 2003).

Estudios llevados a cabo con otros aislados de nematodos entomopatógenos han señalado que la infectividad es mayor en la Familia Heterorhabditidae y lo atribuyen a la presencia de una estructura cefálica a modo de púa en los JIs (Abdel-Razek & Abd-Elgawad, 2007). Esta estructura les representaría una ventaja sobre los nematodos de la Familia Steinernematidae, que carecen de ella, brindándoles una vía adicional de entrada al insecto, ya que además de penetrar a través de las aberturas naturales, también pueden hacerlo perforando la cutícula (Chacón Chausá, 2011). Dado que en este estudio se obtuvieron elevados porcentajes de parasitismo con los tres nematodos, es evidente que la penetración sólo por los orificios naturales para *S. rarum* (OLI), sería igualmente eficaz y no representaría un factor limitante.

La mayoría de las larvas de *A. gemmatalis* y de *C. aporema* murieron al segundo día luego del contacto insecto-nematodo, aunque también se registraron muertes en el primer día y desde el tercero hasta el sexto posteriores a la infección. Los elevados porcentajes de mortalidad a las 48 h con *S. rarum* (OLI) a la dosis mayor podrían estar relacionados con la alta virulencia demostrada por este aislado (Cagnolo *et al.*, 2004).

En las dos especies de lepidópteros, los tres aislados completaron su ciclo de vida con el desarrollo de

individuos adultos correspondientes a las dos generaciones y produjeron nuevos JIs, tal como se conoce que sucede en larvas de *G. mellonella* (Kaya, 1993; Adams y Nguyen, 2002; Bertolotti, 2002). Cabe destacar que el ciclo de vida de los 3 nematodos tuvo menor duración en *C. aporema* que en *A. gemmatalis*, completándose en 4 y 7 días, respectivamente.

Se observaron diferencias significativas entre las especies de insectos en el número de JIs producidos a partir de cada una y bajo los distintos tratamientos. La producción de JIs a partir de *A. gemmatalis* fue siempre mayor que la que se obtuvo a partir de *C. aporema*.

Debe mencionarse que no todos los individuos de *C. aporema* parasitados produjeron JIs. Las disecciones en esos hospedadores mostraron nematodos adultos y JIs muertos y estos últimos, con escaso material de reserva acumulado en su cuerpo. Esto podría estar relacionado con el número de nematodos que habrían ingresado en el hemocele y con el tamaño del insecto. Se ha demostrado que cuando un elevado número de parásitos penetra en un hospedador, se produce una competencia muy fuerte por el alimento, que provoca que éste se agote antes de que los parásitos completen su ciclo de desarrollo y mueran prematuramente (Woodring y Kaya, 1988). La competencia por el recurso en un insecto de pequeño tamaño como lo es la larva del último estadio de *C. aporema* (inferior a 1 cm), generaría un ambiente no adecuado para el desarrollo normal de los nematodos y podría influir sobre el potencial reproductivo de éstos. Por el contrario, en la larva de *A. gemmatalis*, al ser más grande (de 2 a 2,5 cm), la competencia entre individuos no sería tan marcada, lo que aseguraría un mayor acceso al recurso disponible, permitiendo el desarrollo completo de los parásitos.

A partir de observaciones realizadas sobre diferentes especies de insectos, se infiere que existen hospedadores más favorables que otros. Al igual que *C. aporema*, otros insectos plagas como *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895 (Thysanoptera), *Aphis* sp., *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) y *Eriosoma lanigerum* (Hausmann, 1802) (Homoptera), resultan ser menos adecuados para el desarrollo de estos nematodos (Giayetto y Cichón, 2006).

Tal como ha sido señalado en otros estudios, el tamaño del hospedador junto a un conjunto de variables (susceptibilidad, especie de nematodo, número de JIs que ingresan) determinarían el número de JIs producidos al final del ciclo parasitario (McNaughton y Wolf, 1984; Unlu y Ozer, 2003; Argotti et al., 2010).

A pesar de las diferencias observadas en cuanto al número de JIs producidos por cada hospedador, es evidente que tanto *A. gemmatalis* como *C. aporema* brindan las condiciones mínimas necesarias para que los nematodos puedan continuar su desarrollo hasta completar su ciclo vital. Esto, desde una perspectiva práctica referida al posible empleo de estos patógenos, es un aspecto particularmente ventajoso, ya que al ser liberados al ambiente, podrían lograr una rápida colonización del mismo y persistir de manera prolongada en el tiempo, sin la necesidad de nuevas aplicaciones.

Si bien en este trabajo se observaron elevados porcentajes de parasitismo a las dos dosis evaluadas, debe señalarse que los ensayos de laboratorio permiten mantener controlados los factores que pueden incidir sobre la infectividad de los nematodos. Por ello, deberían hacerse experiencias a campo a fin de probar su actividad bajo estas condiciones. Teniendo en cuenta que en la naturaleza existen barreras ecológicas entre los organismos que no pueden ser fácilmente franqueadas y variables ambientales que limitan la supervivencia e infectividad de los nematodos, deberían emplearse inóculos más altos que aseguren resultados satisfactorios.

CONCLUSIONES

A partir de este trabajo, se demuestra por primera vez el parasitismo de las larvas de *A. gemmatalis* y *C. aporema* por *H. bacteriophora* (N4), *H. bacteriophora* (N82) y *S. rarum* (OLI). Se comprobó que los aislados de nematodos estudiados pueden completar su ciclo de vida en las dos especies de lepidópteros, si bien el ciclo parasitario fue más corto en *C. aporema* que en *A. gemmatalis*.

En las dos especies de insectos ocurre producción de nuevos JIs al término del ciclo parasitario de los tres aislados de nematodos estudiados, por lo que se presentan como hospedadores adecuados para la reproducción de estos entomopatógenos. La producción de prole por hospedador fue mayor a partir de larvas de *A. gemmatalis*.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con fondos provenientes de la Secretaría de Ciencia y Tecnología. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. Proyecto: 05/I676.

REFERENCIAS

- [1] Abdel-Razek A. S. y Abd-Elgawad M. M., (2007), "Investigations on the efficacy of entomopathogenic nematodes against *Spodoptera littoralis* (Biosd.) and *Galleria mellonella* (L.)", *Phytopathology Plant Protection*, 40(6):414-422.
- [2] Adams B. J. y Nguyen K. B., (2002), "Taxonomy and systematic", en: *Entomopathogenic nematology*, pp. 1-33, CABI Publishing, Wallingford, UK.
- [3] Aragón J. R., (2002), *Guía de reconocimiento y plagas tempranas relacionadas a la siembra directa*, AgroEdiciones, Estación Experimental Agropecuaria INTA, Marcos Juárez.
- [4] Aragón J. R. y Flores F., (2006), "Control integrado de plagas en soja en el sudeste de Córdoba", <http://www.inta.gov.ar/mjuarez/info/documentos/entomologia/plsoja06.htm> (09/12/13).
- [5] Aragón J. R. y Vázquez J., (2000), "Novedades en el control de plagas de la soja", <http://www.e-campo.com/media/news/n/agrcultivossoja17.htm> (09/12/13).
- [6] Argotti, E. E. V., Gallegos P., Alcazar J. y Kaya H., (2010), "Caracterización ecológica de nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis* aislados de *Tecia solanivora*", *Boletín Técnico* 9, Serie Zoológica 6:173-184.
- [7] Bertolotti, M. A., (2002), "Caracterización de nematodos entomopatógenos (Steinernematidae Chitwood & Chitwood, 1937 y Heterorhabditidae Poinar, 1976) de Córdoba, Argentina". Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Córdoba. Argentina.
- [8] Cagnolo S. R. y Carranza F., (2007), "Occurrence of entomopathogenic nematodes in private properties in Córdoba

- city, Argentina”, XXXIX Reunión Anual de la Organización de Nematólogos de los Trópicos Americanos (ONTA), p. 47.
- [9] Cagnolo S. R., Donari Y. M. y Di Rienzo J. A., (2004), “Existence of infective juveniles in the offspring of first- and second- generation adults of *Steinernema rarum* (OLI strain): evaluation of their virulence”, *Journal of Invertebrate Pathology*, 85:33-39.
- [10] Cagnolo S. R., Peschiutta M. L. y Bertolotti M. A., (2011), “Susceptibility of adults of *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) to the entomopathogenic nematode *Steinernema rarum* (Doucet, 1986) Mamiya, 1988 (Rhabditida: Steinernematidae) under laboratory conditions”, *Nematology*, 13(3):373-376.
- [11] Castellanos López L. L., (2000), “Efectividad de los nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis bacteriophora* (HC1) y *Steinernema* sp. (Sc1) en el control de insectos del orden Homoptera (pulgones, coccidos y moscas blancas), en condiciones de laboratorio”, *Centro Agrícola*, 27(1):25-30.
- [12] Chacón Chausá A. M., (2011), “Evaluación de la efectividad de nematodos entomopatógenos para el control biológico del gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax* Hustache), (Coleoptera: Curculionidae), San Gabriel, Provincia del Charchi”. Tesis de grado. Universidad Técnica de Babahoyo. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de Ingeniería Agronómica. El Ángel - Charchi. Ecuador.
- [13] Crespo D. C., Lecuona R. E., Díaz B. M. y Stock S. P., (1996), “Cría de insectos en laboratorio”, en *Microorganismos Patógenos Empleados en el Control Microbiano de Insectos Plaga*, pp. 183-188, Talleres Gráficos Mariano Mas, Buenos Aires, Argentina.
- [14] Di Rienzo J. A., Casanoves F., Balzarini M. G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C. W., (2011), *InfoStat versión 2011*. Argentina, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba.
- [15] Doucet, M. E., Bertolotti, M. A., Cagnolo S. R. y Lax P., (2008), “Nematodos entomofílicos de la provincia de Córdoba, Argentina”, *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*, LXII: 263-297.
- [16] de Doucet, M. M. y Giayetto A. L., (1994), “Gama de hospedadores y especificidad en *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1975 (Heterorhabditidae: Nematoda), *Nematologica mediterránea*, 22(2):171-178.
- [17] de Doucet M. M., Bertolotti, M. A., Giayetto A. L. y Miranda, M. B., (1999), “Host Range, Specificity, and Virulence of *Steinernema feltiae*, *Steinernema rarum*, and *Heterorhabditis bacteriophora* (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from Argentina”, *Journal of Invertebrate Pathology*, 73(3):237-242.
- [18] Gamundi J. C. y Perotti, E., (2008), “Evaluación de diferentes insecticidas en el control de *Anticarsia gemmatalis* Hübner en cultivos de soja”, *Para Mejorar la Producción*, 39:108-110.
- [19] García L. C., Raetano C. G. y Leite, L. G., (2008), “Application technology for the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis indica* and *Steinernema* sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) to control *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn”, *Neotropical Entomology*, 37(3):305-311.
- [20] Giayetto, A. y Cichón L. I., (2006), “Distribución, gama de huéspedes y especificidad de cinco poblaciones de *Heterorhabditis bacteriophora* (Nematoda: Heterorhabditidae) del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, Argentina”, *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 35(2):163-183.
- [21] Glazer I. y Lewis, E. E., (2000), “Bioassays for entomopathogenic nematodes”, en: *Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes*, pp. 229-247, CABI Publishing, Wallingford, UK.
- [22] Kaya H., (1993), “Contemporary issues in biological control with entomopathogenic nematodes”, *Extension Bulletin*, 375:13.
- [23] Kaya H. K. y Stock, S. P., (1997), “Techniques in insect nematology”, en: *Manual of techniques in insect pathology*, pp. 281-324, Academic Press, London, UK.
- [24] Koppenhöfer, A. y Kaya, H. K., (1999), “Ecological Characterization of *Steinernema rarum*”, *Journal of Invertebrate Pathology*, 73:120-128.
- [25] Koppenhöfer, A. y Fuzy, E., (2003), “*Steinernema scarabaei* for the control of whit grubs”, *Biological Control*, 28(1):47-59.
- [26] Leite L. G., Machado L. A., Goulart R. M., Tavares F. M. y Filho A. B., (2005), “Screening of Entomopathogenic Nematodes (Nemata: Rhabditida) and the Efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the Sugarcane Root Spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae)”, *Neotropical Entomology*, 34(5):785-790.
- [27] Maldonado Moraga A. D., (2009), “Selección de aislamientos nativos de nematodos entomopatógenos para el control de *Dalaca pallens* (Lepidoptera: Hepialidae)”. Tesis Doctoral. Universidad de Concepción. Facultad de Agronomía. Chillan, Chile.
- [28] McNaughton S. J. y Wolf L., (1984), *Ecología General*, Ediciones Omega, S.A., Barcelona, España.
- [29] Moscardi, F., (1999), “Assessment of the application of Baculoviruses for control of Lepidoptera”, *Annual Review of Entomology*, 44:257-289.
- [30] Picca, S. y Cagnolo, S. R., (2008), “Evaluación de *Steinernema rarum* (Doucet, 1986) Mamiya 1988 como bioinsecticida de diez especies de invertebrados que habitan jardines domiciliarios de Córdoba, Argentina”, *VII Congreso Argentino de Entomología*, p. 371.
- [31] Pilz C., Keller S., Kuhlmann U. y Toepfer, S., (2009), “Comparative efficacy assessment of fungi, nematodes and insecticides to control western corn rootworm larvae in maize”, *BioControl*, 54(5):671-684.
- [32] Quintero Marin, M. P., (2003), “Comparación en laboratorio de la patogenicidad de tres especies nativas de nematodos entomopatógenos (Rhabditida) sobre larvas de tercer instar de *Phyllophaga menetriesi* (Blanchard) (Coleoptera: Scarabaeidae)”. Tesis de grado. Universidad del Valle. Facultad de Ciencias. Santiago de Cali, Colombia.
- [33] Sánchez, L. y Rodríguez M. G., (2007), “Potencialidades de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar Cepa HC1 para el manejo de *Hypothenemus hampei* Ferr. I. Parasitismo y capacidad de búsqueda”, *Revista de Protección Vegetal*, 22(2):80-84.
- [34] Sepúlveda-Cano P. A., López-Nuñez J. C. y Soto-Giraldo A., (2008), “Efecto de dos nematodos entomopatógenos sobre *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae)”, *Revista Colombiana de Entomología*, 34(1):62-67.
- [35] Toepfer S., Kurtz B. y Kuhlmann U., (2010), “Influence of soil on the efficacy of entomopathogenic nematodes in reducing *Diabrotica virgifera virgifera* in maize”, *Journal of Pest Science*, 83(3):257-264.
- [36] Toledo J., Rojas R. y Ibarra J. E., (2006), “Efficiency of *Heterorhabditis bacteriophora* (Nematoda: Heterorhabditidae) on *Anastrepha serpentina* (Diptera: Tephritidae) larvae under laboratory conditions”, *Florida Entomologist*, 89(4):524-526.
- [37] Unlu, I. O. y Ozer N., (2003), “Evaluation of the reproductive potential and competition between two entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae*, (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora*, Poinar 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae)”, *Turkish Journal of Biology*, 27(3):149-155.
- [38] Woodring J. L. y Kaya H. K., (1988), *Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A handbook of Biology and Techniques*, Southern Cooperative Series Bulletin 33. Arkansas Agricultural Experiment Station, Fayetteville, AR.