

Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) – Gobierno de la Provincia de Buenos Aires
Carrera del Investigador Científico y Tecnológico

Informe Científico

PERIODO: 01-01-2013 al 31-12-2014.

LEGAJO Nro.: 286.800

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: LANGE

NOMBRES: Carlos Ernesto

Dirección Particular:

Localidad:

Dirección electrónica: carlosl@cepave.edu.ar

2. TEMA DE INVESTIGACIÓN

“Patógenos de insectos terrestres”.

3. DATOS RELATIVOS AL INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

Ingreso: Categoría: **Adjunto sin Director** Fecha: Agosto 1989.

Categoría: **Independiente** Fecha: Febrero 1994.

Actual: Categoría: **Principal** Fecha: Abril 2012.

4. INSTITUCIÓN DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), CCT La Plata, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Universidad Nacional de La Plata (UNLP).

Facultad: Ciencias Naturales y Museo.

Dirección: Avenida 120 s/n e/61 y 62.

Localidad: La Plata. **CP:** 1900. **Tel:** (0221) 423 2140; www.cepave.edu.ar

Cargo que ocupa: Miembro del Consejo Directivo (CD).

5. DIRECTOR DE TRABAJOS. No corresponde.

6. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERÍODO.

Orientación de los trabajos. Como en anteriores periodos, la línea de trabajos continúa enmarcada dentro de la Patología de Insectos. Se realizaron tareas con entomopatógenos que afectan a especies de insectos plagas del agro (tucuras; Orthoptera, Acridoidea) e insectos benéficos polinizadores (abejorros; Hymenoptera: Apoidea) y hospedadores asociados a los primeros. Se abordaron variados aspectos de los siguientes entomopatógenos: los protistas *Apicystis bombi* (Apicomplexa) y *Crithidia bombi* (Euglenozoa), los microsporidios (Microsporidia) de los géneros *Liebermannia* y *Tubulinosema* y el agente de biocontrol *Paranosema locustae* y aislamientos de los hongos (Fungi) *Metarhizium anisoplae* y *Beauveria bassiana*. Respecto de los hospedadores, se trabajó con diversas especies de tucuras, tanto en aspectos ecológicos y biológicos en ambientes naturales y en bioferios bajo condiciones controladas, como en aspectos filogenéticos y taxonómicos. Se profundizaron las tareas tendientes a conocer la expansión en la distribución de los abejorros exóticos *Bombus ruderatus* y *B. terrestris*.

Técnicas y métodos. Los insectos se capturaron mediante barridos o golpes con redes entomológicas a través de la vegetación (tucuras) o con tubos de acetato durante la pecoreo de polinizadores (abejorros). Las muestras se mantuvieron por tiempos variables en jaulas de diseño específico dentro de bioferios bajo condiciones controladas, congeladas a -32° C o conservadas en ETOH 70%, de acuerdo con el tipo de estudio previsto. El examen de insectos se realizó por homogenización de ejemplares en agua bidestilada o por disección y observación de preparaciones frescas o fijadas y coloreadas bajo microscopía de contraste de fases o campo claro, respectivamente. Una vez detectado un patógeno, se aisló mediante filtraciones y centrifugaciones. Cuando se consideró necesario, se emplearon técnicas de microscopía electrónica de transmisión, “primers” específicos para diagnosis y técnicas de aislamiento, amplificación (PCR) y secuenciación de la unidades pequeña y grande (SSU, LSU) y el espaciador transcripto interno (ITS1, ITS2) del ADN ribosómico. Los bioensayos o inoculaciones experimentales con distintos patógenos o aislamientos se hicieron con dosis determinadas, por ingestión o contacto, utilizando individuos juveniles criados a tal fin como insectos experimentales.

Resultados.

***Apicystis bombi*.** Se confirmó, mediante técnicas moleculares, la identidad específica de esta neogregarina, que ingresó desde Chile asociada a los abejorros invasivos *B. terrestris* y *B. ruderatus*.

***Crithidia bombi*.** Como en el caso anterior, también se confirmó a nivel molecular el estatus específico de este mastigota, al igual que el alcance de la dispersión geográfica del hospedador invasivo con el cual ingresó asociado desde Chile, *B. terrestris*.

***Liebermannia dichropluae*.** Se determinó la prevalencia y distribución geográfica en la región Pampeana de este microsporidio de los tubos de Malpighi de la tucura *Dichroplus elongatus*.

***Liebermannia* sp.** Se avanzó en la caracterización de una probable nueva especie de este género parasitando el tracto digestivo del acridio perjudicial *Dichroplus maculipennis*.

***Tubulinosema pampeana*.** Se caracterizó y describió este nuevo microsporidio que afecta principalmente el cuerpo grasoso del abejorro *B. atratus*.

***Paranosema locustae*.** Del mismo modo que se llevó a cabo para la región Pampeana en forma reciente y a fin de corroborar los patrones registrados en dicho estudio, se determinó la prevalencia, distribución geográfica y espectro hospedador de este agente de biocontrol en comunidades de tucuras del noroeste de Neuquén y Chubut, se estimó la intensidad de las infecciones naturales fuertes en varias especies de tucuras y se estudió su infectividad y efectos sobre la tucura plaga *D. maculipennis*.

***Beauveria bassiana*.** Se estimó la supervivencia y fecundidad de los acridios *D. maculipennis* y *Ronderosia bergi* respecto de este hongo y la compatibilidad del mismo con insecticidas “bioracionales”.

***Metarhizium anisoplae*.** Al igual que el caso anterior, también se verificó la compatibilidad de este hongo entomopatógeno respecto de ciertos insecticidas de nueva generación.

En relación a de las investigaciones sobre hospedadores, se continúan realizando monitoreos de las comunidades de tucuras de la región Pampeana y zonas del Oeste de la Patagonia, se progresó significativamente en la delimitación taxonómica de especies del género *Diponthus* y se estudiaron patrones de diversificación de especies de tucuras altoandinas.

7. TRABAJOS DE INVESTIGACION Y DESARROLLO REALIZADOS O PUBLICADOS EN EL PERIODO.

7.1. PUBLICACIONES.

1) MARIOTTINI, Y., M. L. DE WYSIECKI, C. E. LANGE. 2013. Diversidad y distribución de especies de acridios (Orthoptera: Acridoidea) en pastizales del Sur de la región Pampeana. *Revista de Biología Tropical (International Journal of Tropical Biology)*, 61(1): 111-124. Costa Rica. ISSN: 0034-7744.

In Argentina, the grasslands of Pampas region comprise approximately 15% of the country. As in other grasslands of the world, grasshoppers are among the most important native herbivores. Their economic importance has been recognized in Argentina since the mid to late nineteenth century, since outbreaks of different species have become recurrent phenomena. Therefore, the main objective of this work was to study their diversity and distribution in grasslands of the Southern Pampas region (Laprida county, Buenos Aires province), as one of the most affected areas. The study was conducted during five seasons (2005-10). Sampling sites were represented by the most common plant communities in this area, classified in four categories: native grasslands, disturbed grasslands, implanted pastures and halophilous grasslands. The samplings were conducted from mid-spring to early autumn, with five or six samples per season. We estimated the following population descriptors: species richness (S), evenness (E), dominance (J), and diversity index (H'). In order to evaluate the similitude of the grasshopper communities present in the different plant communities, we used qualitative and quantitative coefficients of similitude. A total of 22 species of grasshoppers were collected, of which 21 belong to the family Acrididae. The subfamily Melanoplinae was the most diverse with eight species. The largest species richness was recorded in native grasslands (18). The different communities of grasshoppers had similar indices of evenness and dominance ($p > 0.05$). Considering all plant communities, the average value of Shannon-Wiener index was 1.58 ± 0.075 . There was a positive correlation between evenness index and species richness ($p < 0.05$). The diversity index H' was different between plants communities ($p < 0.05$), and it was higher in the disturbed grassland (1.75 ± 0.096 , $p < 0.05$) than in the halophilous grasslands (1.34 ± 0.12). Native and disturbed grasslands had a higher plant richness than halophilous grasslands and implanted pastures ($p < 0.05$). There was a positive relationship between plant richness and grasshoppers species richness, and diversity of grasshoppers. According to the qualitative indices applied, the similitude between different grasshopper communities was higher than 60%. In general, the species that had a higher frequency of occurrence showed greater abundance and distribution. *Covasacris pallidinota*, *Dichroplus elongatus*, *D. maculipennis*, *Borellia bruneri* and *B. pallida* were the most widely distributed species, most of them (12) showed a restricted distribution and few (five) an intermediate distribution. *Rev. Biol. Trop.* 61 (1): 111-124.

Tipo de participación: Concepción y elaboración final. **Grado:** 33%.

Justificación de la importancia: Conocer la diversidad específica de las comunidades de acridios es de importancia central para maximizar la eficacia de eventuales medidas de control de especies perjudiciales.

2) POCCO, M. E., P. POSADAS, C. E. LANGE, M. M. CIGLIANO. 2013. Patterns of diversification in the high Andean *Ponderacris* grasshoppers (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae). *Systematic Entomology*, 38(2): 365-389. Reino Unido. ISSN: 1365-3113.

The Andes, the world's longest mountain chain, harbours great taxonomic and ecological diversity. Despite their young age, the tropical Andes are highly diverse due to recent geological uplift. Speciation either followed the orogeny closely or occurred after the Andean uplift, as a result of subsequent climatic changes. Different scenarios have been proposed to explain the diversification of high Andean taxa. The Melanoplinae grasshopper *Ponderacris* Rondoros & Cigliano is endemic to the eastern slopes of the Andes of Peru and Bolivia, mostly distributed between 1000 and 4000 m above sea level.

Diversification in several montane habitats of Bolivia and Peru allows tests via cladistic analysis of distinct possible geographic modes of speciation. Eight species are recognized, with three described here as new with revised diagnostic morphological characters provided: *Ponderacris carlcarbonelli* sp.n., *P. chulumaniensis* sp.n. and *P. amboroensis* sp.n. Cladistic analyses of 15 species (8 ingroup and 7 outgroup) and 38 morphological characters, under equal and implied weighting, confirm the monophyly of *Ponderacris*. Characters from the external morphology and colour pattern provided less phylogenetic information than did the male abdominal terminalia and phallic complex. Species distributed in the Peruvian Andes constituted a monophyletic group, whereas those from the Bolivian Andes formed a basal paraphyletic grade. Dispersal–vicariance analysis resulted in one ancestral distribution reconstruction indicating that the most recent common ancestor was distributed in the Lower Montane Yungas of Bolivia. Eleven dispersal and one vicariant events are postulated, with a South-to-North speciation pattern coincident with progressive Andean uplift. Vicariance could relate to fragmentation of montane forest during the dry intervals of the late Cenozoic. From the Bolivian area, ancestral Peruvian *Ponderacris* may have dispersed northward, coinciding with the rise of the Andes. Ten of 11 dispersal events occurred at terminal taxa and are likely to be recent. However, diversification of *Ponderacris* cannot be explained solely by the South-to-North speciation hypothesis, but may also include both vicariance and dispersal across barriers influenced by Pleistocene climatic cycles.

Tipo de participación: Concepción, ejecución y elaboración final. **Grado:** 25%.

Justificación de la importancia: Dilucidar las vías de diversificación y parentesco de grupos clave de tucuras, en este caso un género altoandino de Melanoplinae, la subfamilia que incluye el mayor número de especies perjudiciales para el agro, puede resultar de utilidad para desarrollar estrategias novedosas de control.

3) PELIZZA, S. A., Y. MARIOTTINI, M. RUSSO, M. N. CABELLO, C. E. LANGE. 2013. Survival and fecundity of *Dichroplus maculipennis* and *Ronderosia bergi* (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae) following infection by *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) under laboratory conditions. *Biocontrol Science and Technology* 23(6): 701-710. Reino Unido. ISSN: 1360-0478.

This study examined the effects of strain *Beauveria bassiana* (LPSC 1067) on nymphal development time, fecundity, and adult survival in *Dichroplus maculipennis* and *Ronderosia bergi* under laboratory conditions. It was observed that infection with 1×10^3 conidia/ml altered nymphal development time, fecundity, and adult survival in both species. Mortality of *D. maculipennis* during third through the last instar (sixth) was significantly higher among treated nymphs (65.83 ± 3.81 %) than in controls (15 ± 1.66 %). Similarly, mortality in *R. bergi* during third through the last instar (fifth) was higher in treated nymphs (71 ± 2.76 %) than in controls (18.57 ± 1.5 %). Regarding nymphal development time, both infected *D. maculipennis* and *R. bergi* remained for more days in each nymphal instars than controls. On the other hand, among survivors of both species, infected adults lived considerably fewer days than control adults. Finally, control grasshoppers of both species were much more successful reproductively than infected grasshoppers.

Tipo de participación: Concepción y elaboración final. **Grado:** 20%.

Justificación de la importancia: Dentro de los hongos, particularmente los Hypocreales, figuran algunos de los entomopatógenos con características más adecuadas para ser eventualmente desarrollados como agentes de control biológico microbiano de acridios perjudiciales.

4) PLISCHUK, S., C. J. BARDI, C. E. LANGE. 2013. Spore loads of *Paranosema locustae* (Microsporidia) in heavily infected grasshoppers (Orthoptera: Acridoidea) of the Argentine Pampas and Patagonia. *Journal of Invertebrate Pathology*, 114: 89-91. EE.UU. ISSN: 0022-2011.

Paranosema locustae, an entomopathogen of grasshoppers and locusts, remains the only microsporidium registered as a biocontrol agent. After introductions from North America, it became established in grasshopper communities of Argentina. We measured the infection intensity of field

collected, heavily infected male and female adults of individuals belonging to six grasshopper species, five melanoplinae (Melanoplineae) (*Baeacris pseudopunctulatus*, *Dichroplus maculipennis*, *Dichroplus vittatus*, *Neopedies brunneri*, *Scotussa lemniscata*), and one gomphocerine (Gomphocerinae) (*Staurorhectus longicornis*). Average spore load among heavily infected grasshoppers ranged from $8.7 \pm 0.5 \times 10^7$ to $1.1 \pm 0.7 \times 10^9$. Only females of *B. pseudopunctulatus* and *S. longicornis* showed significantly higher spore loads than the males.

Tipo de participación: Concepción, ejecución y elaboración final. **Grado:** 33%.

Justificación de la importancia: La producción y disponibilidad de unidades infectivas transmisibles (los esporos para el caso de los microsporidios) es el factor central para la persistencia de las infecciones en la naturaleza. El trabajo estima dicha producción respecto de *P. locustae* en varias especies de acridios afectadas en nuestro país.

5) PLISCHUK, S., M. E. POCCO, C. E. LANGE. 2013. The tracheal mite *Locustacarus buchneri* in South American bumble bees (Hymenoptera: Apidae). *Parasitology International*, 62(6): 505-507. Japón. ISSN: 1383-5769.

As in other regions of the world, bumble bees (*Bombus* spp.) are important pollinators in the neotropics. Despite its relevance, knowledge on their health is still limited in the region. While external acari are known to occur in these insects, presence of the internal, tracheal mite *Locustacarus buchneri* is here reported for first time. After the examination of 2.508 individuals of eight *Bombus* species from Argentina, two workers of *Bombus bellicosus* and one of *Bombus atratus* were found parasitized by *L. buchneri* in localities within San Luis and Buenos Aires provinces, respectively. The rare occurrence recorded agrees with findings from elsewhere in the world.

Tipo de participación: Concepción, ejecución y elaboración final. **Grado:** 33%.

Justificación de la importancia: Algunas especies de abejorros, insectos benéficos por los servicios de polinización que prestan tanto en ambientes naturales como en agroecosistemas, parecen hallarse en declinación. En tal contexto, es importante determinar los distintos factores que modulan sus poblaciones, en este caso, un parásito.

6) PELIZZA, S. A., S. PLISCHUK, Y. MARIOTTINI, C. J. BARDI, M. E. POCCO, M. L. DE WYSIECKI, M. M. CIGLIANO, C. E. LANGE. 2013. Patología de acridios (tucuras, langostas) y ápidos (abejorros, abejas). En: Berón, C.M., S. Plischuk, V.F. Consolo (Eds.), *I Taller Argentino de Patología de Insectos y sus Aplicaciones en Biocontrol*, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina, 31-39. ISBN: 978-987-544-533-8.

Las investigaciones abarcan la detección, aislamiento, estudio y evaluación de hongos, protistas y microsporidios entomopatógenos asociados a especies de acridios y ápidos, grupos de insectos que incluyen tanto especies perjudiciales como benéficas. Las actividades incluyen también estudios acerca de las especies hospedadoras naturales y potenciales. Entre los resultados más destacados figuran la obtención de numerosos aislamientos fúngicos de acridios (uno de ellos con características deseables como posible agente de biocontrol), la demostración del establecimiento de un microsporidio introducido en al menos 22 especies de acridios, la detección de cinco entomopatógenos de ápidos sin registros previos en el país, y un profundo avance en el conocimiento de aspectos sistemáticos, filogenéticos, biológicos y ecológicos de diferentes especies de acridios, varias de importancia agroeconómica significativa. Se prevé no solo continuar sino profundizar y ampliar las tareas con el fin último de lograr alternativas a los insecticidas convencionales que permitan reducir su uso contra insectos plaga o limitar el efecto de ciertos patógenos sobre insectos benéficos.

Tipo de participación: Concepción, ejecución y elaboración final. **Grado:** 12,5%.

Justificación de la importancia: Se trata de un capítulo que sintetiza y actualiza las tareas de investigación de nuestro grupo de trabajo.

7) MAHARRAMOV, J., I. MEUSS, K. MAEBE, M. ARBETMAN, C. MORALES, P. GRAYSTOCK, W. O. H. HUGHES, S. PLISCHUK, C. E. LANGE, D. C. DE GRAAF, N. ZAPATA, J. J. PEREZ DE LA ROSA, T. E. MURRAY, M. BROWN, G. SMAGGHE. 2013. Genetic variability of the neogregarine *Apicystis bombi*, an etiological agent of an emergent bumblebee disease. *PLOS ONE*, 8(12): 1-8; e81475. EE.UU. ISSN: 1932-6203.

The worldwide spread of diseases is considered a major threat to biodiversity and a possible driver of the decline of pollinator populations, particularly when novel species or strains of parasites emerge. Previous studies have suggested that populations of introduced European honeybee (*Apis mellifera*) and bumblebee species (*Bombus terrestris* and *Bombus ruderatus*) in Argentina share the neogregarine parasite *Apicystis bombi* with the native bumblebee (*Bombus dahlbomii*). In this study we investigated whether *A. bombi* is acting as an emergent parasite in the non-native populations. Specifically, we asked whether *A. bombi*, recently identified in Argentina, was introduced by European, non-native bees. Using ITS1 and ITS2 to assess the parasite's intraspecific genetic variation in bees from Argentina and Europe, we found a largely unstructured parasite population, with only 15% of the genetic variation being explained by geographic location. The most abundant haplotype in Argentina (found in all 9 specimens of non-native species) was identical to the most abundant haplotype in Europe (found in 6 out of 8 specimens). Similarly, there was no evidence of structuring by host species, with this factor explaining only 17% of the genetic variation. Interestingly, parasites in native *Bombus ephippiatus* from Mexico were genetically distant from the Argentine and European samples, suggesting that sufficient variability does exist in the ITS region to identify continent-level genetic structure in the parasite. Thus, the data suggest that *A. bombi* from Argentina and Europe share a common, relatively recent origin. Although our data did not provide information on the direction of transfer, the absence of genetic structure across space and host species suggests that *A. bombi* may be acting as an emergent infectious disease across bee taxa and continents.

Tipo de participación: Concepción, ejecución y elaboración final. **Grado:** 6,7%.

Justificación de la importancia: Dos son los aspectos más importantes de este trabajo. Por un lado, confirma mediante técnicas moleculares la identidad específica de *A. bombi*, previamente diagnosticada por sus caracteres morfológicos. Por otro, tipifica a dicha neogregarina como un entomopatógeno emergente de abejas y abejorros en nuestro país.

8) POCCO, M. E., M. C. SCATTOLINI, C. E. LANGE, M. M. CIGLIANO. 2014. Taxonomic delimitation in color polymorphic species of the South American genus *Diponthus* Stål (Acridoidea: Romaleidae: Romaleini). *Insect Systematics and Evolution*, 45: 303-350. Reino Unido. ISSN: 1399-560X.

The South American genus *Diponthus* Stål comprises species with cryptic and probably aposematic colorations. It belongs to a group of grasshoppers, tribe Romaleini, where color polymorphism is common. Morphometric techniques were used to clarify the taxonomic limits and status of six nominal species of *Diponthus*: *D. permistus* (Serville), *D. argentinus* Pictet & Saussure, *D. pycnostictus* Pictet & Saussure, *D. communis* Bruner, *D. pictus* (Bolivar) and *D. schulzi* Bruner. Results of cluster (CA) and principal component (PCA) analyses showed that *D. pycnostictus* can be defined by a unique combination of characters, while the remaining nominal species represent different color morphs of a single taxon, here recognized as *D. argentinus*. We also used statistical analyses to examine whether the discontinuities in body coloration of the polymorphic *D. argentinus* could be explained by geographic variation. The distribution patterns of body coloration of *D. argentinus* do not appear to be restricted to any particular biogeographic region and no character correlation resulted with latitude. Furthermore, the results show that color morphs display high levels of overlap across the geographic range, as well as intra-population variation. We conclude that in *D. argentinus* body coloration varies considerably across the geographic distribution range but without any noticeable color gradient correlated with the latitude. According to the phylogenetic species concept (PSC) we consider *D. pycnostictus* Pictet & Saussure and

D. argentinus Pictet & Saussure as valid species. The following synonymies are proposed under *D. argentinus*: *D. communis* Bruner n. syn., *D. schulzi* Bruner n. syn., *D. pictus* (Bolivar) n. syn., and *D. permistus* (Serville) n. syn. We declare *D. permistus* (Serville) a *nomen oblitum*.

Tipo de participación: Concepción, ejecución y elaboración final. **Grado:** 25%.

Justificación de la importancia: El polimorfismo o variabilidad intraespecífica en la apariencia es una característica bien desarrollada en muchas especies de acridios que suele dificultar o impedir una clara identificación de especies, aspecto básico, inicial o central en cualquier intento de manejo o control de acridios perjudiciales.

9) SCHMID-HEMPEL, R., M. ECKHART, D. GOULSON, D. HEINZMANN, C. E. LANGE, S. PLISCHUK, L. RUZ ESCUDERO, R. SALATHÉ, J. J. SCRIVEN, P. SCHMID-HEMPEL. 2014. The invasion of southern South America by imported bumblebees and associated parasites. *Journal of Animal Ecology*, 83(4): 823-837. Reino Unido. ISSN: 1365-2656.

The palaeartic *Bombus ruderatus* (in 1982/83) and *Bombus terrestris* (1998) have both been introduced into South America (Chile) for pollination purposes. We here report on the results of sampling campaigns in 2004, and 2010-2012 showing that both species have established and massively expanded their range. *B. terrestris*, in particular, has spread by some 200 km/year and had reached the Atlantic coast in Argentina by the end of 2011. Both species, and especially *B. terrestris*, are infected by various protozoan parasites that seem to spread along with the imported hosts and spill over to native species. Genetic analyses by polymorphic microsatellite loci suggest that the host population of *B. terrestris* is genetically diverse, as expected from a large invading founder population, and structured through isolation by distance. Genetically, the populations of the trypanosomatid parasite, *Crithidia bombi*, sampled early are less diverse and distinct from the ones sampled later. Current *C. bombi* populations are highly heterozygous, and also structured through isolation by distance correlating with the genetic distances of *B. terrestris*, suggesting the latter's expansion to be a main structuring factor for the parasite. Remarkably, wherever *B. terrestris* spreads, the native *B. dahlbomii* disappears although the reasons remain unclear. Our ecological and genetic data suggest a major invasion event that is currently unfolding in southern South America with disastrous consequences for the native bumblebee species.

Tipo de participación: Concepción, ejecución y elaboración final. **Grado:** 10%.

Justificación de la importancia: Este estudio documenta la manera en que dos especies de abejorros exóticos se han dispersado a partir de su invasión desde Chile, los patógenos que portan y como es la estructura genética poblacional de los hospedadores y uno de dichos patógenos. Los datos muestran una rapidísima dispersión de uno de los abejorros, probablemente facilitada por patógenos asociados. La escala geográfica de la invasión podría abarcar gran parte del Sur de Sudamérica.

10) MARIOTTINI, Y., C E. LANGE. 2014. Infectivity, viability, and effects of *Paranosema locustae* (Microsporidia) on juveniles of *Dichroplus maculipennis* (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae) under laboratory conditions. *Biocontrol Science and Technology*, 24(6): 715-722. Reino Unido. ISSN: 1360-0478.

Infectivity and effects on host of a long-term stored aqueous suspension of *Paranosema locustae* on juveniles of *Dichroplus maculipennis*, a pest grasshopper in parts of the Pampas and Patagonia, were evaluated. Infections developed in 90–97.8% of treated individuals. Mortality increased with time, reaching highest values at 30–40 days post-inoculation (79.5–100%). Infected nymphs showed significantly slower development.

Tipo de participación: Concepción, ejecución y elaboración final. **Grado:** 50%.

Justificación de la importancia: *Dichroplus maculipennis* es una de las especies de acridios más perjudiciales del país, requiriendo gran cantidad de insecticidas en los intentos de control, con los costos económicos y ambientales asociados. Hay evidencias de que *P. locustae* podría ser de valor para su control biológico. El estudio explora su potencial bajo condiciones experimentales de laboratorio.

11) PELIZZA, S. A., A. C. SCORSETTI, M. N. FOGEL, S. G. PACHECO MARINO, M. N. CABELLO, C. E. LANGE. 2014. Compatibility between entomopathogenic fungi and biorational insecticides against *Ronderosia bergi* (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae). *BioControl*, 60: 81-91, Francia, ISSN: 1386-6141.

Our aim was to evaluate the efficacy of combinations between two biorational insecticides (luphenuron, methoxyfenozide), a new synthetic chemical pesticide (rynaxypyr), and three entomopathogenic fungi strains (*Beauveria bassiana* LPSc1067, LPSc1082), and *Metarhizium anisopliae* (LPSc907) in the biocontrol of the pest grasshopper *Ronderosia bergi* (Stal) under laboratory conditions. The insecticides were tested at three concentrations: the average concentration recommended for application in the field (100 %) and 50 % and finally 25 % of that level. The fungal strains used were adjusted to 1×10^8 , 1×10^6 , and 1×10^4 conidia/ml. The combinations of those insecticides with *B. bassiana* (LPSc 1067, LPSc 1082) and *M. anisopliae* (LPSc907) caused higher mortality to *R. bergi* nymphs than any of the individual agents used alone. The three insecticides tested did not affect the isolates of the two species of entomopathogenic fungi employed. In conclusion, the use of these biorational insecticides in an IPM program aimed at control of the grasshopper *R. bergi* could be of value.

Tipo de participación: Marco teórico-práctico y elaboración final. **Grado:** 17%.

Justificación de la importancia: En concordancia con una de las tendencias mundiales actuales, se comprobó que, al menos en el laboratorio, es posible mejorar la eficacia en el control de tucuras plaga mediante la compatibilidad entre algunos agentes microbianos e insecticidas bioracionales.

12) CIGLIANO, M. M., M. POCCO & C. E. LANGE. 2014. Acridoideos (Orthoptera) de importancia agro-económica en la República Argentina. En: Claps, L.E., G. Debandi & S. Roig-Junent (Eds.), *Biodiversidad de artrópodos argentinos*, Vol. 3. Sociedad Entomológica Argentina. 1-36.

La superfamilia Acridoidea comprende los insectos comúnmente denominados en nuestro país como langostas y tucuras y cuenta con el mayor número de especies del orden Orthoptera. El estado de conocimiento de los acridoideos neotropicales, particularmente las especies que habitan la República Argentina, ha crecido en forma considerable en las últimas décadas. Dada la importancia económica que continúan mostrando varias especies de acridios, incluso incrementada en años recientes, resulta oportuno actualizar el conocimiento hasta ahora disponible acerca de las especies más perjudiciales para el agro en la Argentina. El presente capítulo sintetiza la información disponible acerca de la distribución, biología y datos sobre importancia económica y el estatus como plaga de dichas especies en las distintas regiones del país. También se incluye una diagnosis y breve descripción de las mismas así como claves ilustradas con la finalidad de facilitar su identificación y posible manejo.

Tipo de participación: Participación en todos los aspectos. **Grado:** 33 %.

Justificación de la importancia: Sintetiza, actualiza y analiza el conocimiento disponible sobre los acridoideos de nuestro país. En años recientes, varias especies de tucuras han recrudecido como plagas del agro en distintas regiones del país.

7.2. PUBLICACIONES EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION.

7.3. PUBLICACIONES ENVIADAS Y AUN NO ACEPTADAS PARA SU PUBLICACION.

13) PLISCHUK, S., N. SANSCRAINTE, A. ESTEP, J. J. BECNEL, C. E. LANGE. 2014. *Tubulinosema pampeana* sp. n. (Microsporidia, Tubulinosematidae), a pathogen of the South American bumble bee *Bombus atratus*. *Journal of Invertebrate Pathology*,

An undescribed microsporidium was detected and isolated from the South American bumble bee *Bombus atratus* collected in the Pampas region of Argentina. Infection intensity in workers averaged 8.2×10^7 spores/bee, more than a hundred times greater than intensities reported for *Nosema bombi* in other bumble

bee species. The main site of infection was adipose tissue where hypertrophy of adipocytes resulted in cyst-like body formation. Mature spores were ovoid and monomorphic. They measured $4.00 \mu\text{m} \times 2.37 \mu\text{m}$ (fresh) or $3.98 \mu\text{m} \times 1.88 \mu\text{m}$ (fixed). All stages were diplokariotic and developed in direct contact with host cytoplasm. Polar filament was arranged in 16 coils in one or, posteriorly, two layers. Coiling angle was variable, between perpendicular and almost parallel to major spore axis. Late meronts and sporogonial stages were surrounded by vesicles of 59 nm. Based on both new and already designed primers, a 1,827 bp (SSUrRNA, ITS, LSUrRNA) sequence was obtained. Data analyses suggest that this microsporidium would be a new species of the genus *Tubulinosema*. The name *Tubulinosema pampeana* sp. n. is proposed.

Tipo de participación: Participación en todos los aspectos. **Grado:** 20%.

Justificación de la importancia: Dadas las declinaciones poblaciones de abejorros registradas en distintas regiones, que podrían disminuir los niveles de polinización, es fundamental conocer los agentes etiológicos involucrados en las enfermedades que los afectan.

14) MARIOTTINI, Y., M. E. POCCO, M. L. DE WYSIECKI, C. E. LANGE. 2015. Sex ratios in juveniles and adults of *Dichroplus maculipennis* and *Borellia bruneri* (Orthoptera: Acrididae). *Revista Brasileira de Entomogía*, Brasil.

Dichroplus maculipennis (Blanchard) and *Borellia bruneri* (Rehn) are two of 18 grasshopper species of actual or potential economic relevance as pests in Argentina. The objective of this study was to estimate the sex ratios for adults and older nymphs of *D. maculipennis* and *B. bruneri* in the field, and analyze possible temporal variations. The study was conducted during seven successive seasons (2005-06 to 2011-12) in representative plant communities of the southern Pampas region. A total of 4536 individuals of *D. maculipennis*, and 6738 of *B. bruneri* were collected. The sex ratio registered in older nymphs for *D. maculipennis* and *B. bruneri* did not deviate from a 1:1 ratio ($p > 0.05$), suggesting that these species, as other grasshoppers, have such a primary sex ratio. However, a significant biased in sex composition in adults of both species was observed ($p < 0.05$). The sex ratio in adults of *D. maculipennis* was significantly different in five of the 18 sampling dates carried out. In three sampling dates it was biased toward males, while in the other two it was biased toward females. Taking into account the sex ratio by sampling season, significant differences were recorded in two of the seven seasons. In 2007-08 the sex ratio was biased toward males (1F: 2.26M), while in 2008-09 it was biased toward females (1.35F: 1M). The sex ratio in adults of *B. bruneri* was always biased toward males ($p < 0.05$). The results obtained in this study indicate that various factors like differential survival, dispersion, predation, among others, could have modified the primary sex ratio in these species.

Tipo de participación: Concepción y elaboración. **Grado:** 25%.

Justificación de la importancia: Conocer la proporción de sexos de especies perjudiciales de tucuras puede resultar de utilidad para optimizar programas de control.

15) POCCO, M. E., C. MINUTOLO, P. A. DINGHI, C. E. LANGE, V. A. CONFALONIERI, M. M. CIGLIANO. 2014. Species delimitation in the Andean grasshopper genus *Orotettix* Ronderos & Carbonell (Orthoptera: Melanoplinae): an integrative approach combining morphological, molecular, and biogeographic data. *Zoological Journal of the Linnean Society*,

The reciprocal illumination nature of integrative taxonomy through hypothesis testing, corroboration, and revision is a powerful tool for species delimitation since more than one source has to support the hypothesis of a new species. We applied an integrative taxonomy approach combining molecular and morphological data sets with distributional patterns to examine the level of differentiation between and within the grasshopper *Orotettix* species. *Orotettix* was described based on five valid species distributed in the Andes of Perú and Bolivia. In our study, initially a molecular-based hypothesis was postulated and tested against morphological data and geographic patterns of distribution. Results from molecular and morphological analyses showed agreement among the species delimitation in *Orotettix*

which revealed to be consistent with the geographic distribution. The analyses allowed us to delimit five new species for the genus (*O. lunatus n.sp.*, *O. astreptos n.sp.*, *O. colcaensis n.sp.*, *O. paucartambensis n.sp.*, *O. dichrous n.sp.*). Besides, we provide critical knowledge on the phylogenetic relationships and distribution of the genus and conduct a revision of *Orotettix*.

Tipo de participación: Concepción, obtención de muestras y elaboración. **Grado:** 17%.

Justificación de la importancia: El estudio resalta la importancia de realizar enfoques integrales al realizar revisiones de grupos y descripciones de taxa.

16) PELIZZA, S. A., M. L. RUSSO, M. F. VIANNA, A. C. SCORSETTI, S. PACHECO MARINO, C. E. LANGE. 2014. Use of entomopathogenic fungi combined with biorational insecticides to control *Dichroplus maculipennis* (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae) under semi-field conditions. *Biocontrol Science and Technology*,

As elsewhere worldwide, grasshoppers are among the economically consequential invertebrate herbivores throughout Argentina's Pampas and Patagonia. Chemical insecticides remain the sole option for grasshopper control here, despite being of significant environmental concern. Our aim was to evaluate the efficacy of combinations between two biorational insecticides (luphenuron, methoxyfenozide), a new synthetic chemical pesticide (rynaxypyr), and three entomopathogenic fungi strains (*Beauveria bassiana* LPSc 1067, LPSc1082), and *Metarhizium anisopliae* (LPSc 907) in the biocontrol of the pest grasshopper *Dichroplus maculipennis* (Blanchard) under field conditions. The insecticides were tested at three concentrations: the average concentration recommended for application in the field (100%) and 50% and finally 25% of that level. The fungal strains used were adjusted to 1×10^8 , 1×10^6 , and 1×10^4 conidia/ml. The combinations of those insecticides with *B. bassiana* (LPSc 1067, LPSc 1082) and *M. anisopliae* (LPSc 907) caused higher mortality to *D. maculipennis* nymphs than any of the individual agents used alone. The three insecticides tested did not affect negatively the isolates of the two species of entomopathogenic fungi employed. In conclusion, the use of these chemical insecticides in an IPM program aimed at control of the grasshopper *R. bergi* could be of value.

Tipo de participación: Participación en la elaboración del manuscrito. **Grado:** 10%.

Justificación de la importancia: En forma similar a la contribución nro. 11, el manuscrito trata sobre el eventual sinergismo entre agentes de biocontrol e insecticidas de síntesis aunque bajo condiciones seminaturales.

7.4. PUBLICACIONES TERMINADAS Y AUN NO ACEPTADAS.

7.5. COMUNICACIONES.

I) PELIZZA, S. A., A. C. SCORSETTI, M. L. RUSSO, M. N. CABELLO, C. E. LANGE. Efecto biocida controlador del hongo *Aspergillus flavus* sobre distintas especies de acridios plagas de Argentina. **XIII Congreso Argentino de Microbiología**, Buenos Aires, septiembre 2013.

II) MAHARRAMOV, J., I. MEUSS, K. MAEBE, M. ARBETMAN, C. MORALES, N. ZAPATA, P. GRAYSTOCK, W. O. HUGHES, S. PLISCHUK, C. E. LANGE, T. E. MURRAY, D. C. DE GRAAF, J. J. PEREZ DE LA ROSA, M. BROWN, G. SMAGGHE. *Apicystis bombi*, a protozoan parasite of bumblebees, acts as an emergent infectious disease. **46th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology and Conference on Invertebrate Pathology and Microbial Control**, Pittsburgh, USA, agosto 2013.

III) MEUSS, I., J. MAHARRAMOV, K. MAEBE, M. ARBETMAN, C. MORALES, N. ZAPATA, P. GRAYSTOCK, W. O. HUGHES, S. PLISCHUK, C. E. LANGE, T. E. MURRAY, D. C. DE GRAAF, J. J. PEREZ DE LA ROSA, M. BROWN, G. SMAGGHE. Host-parasite interactions: Risks associated with invasive parasites of bumblebees and molecular haplotyping of *Apicystis bombi* from

Europe and Argentina. **2nd International Conference on Pollinator Biology**, Pennsylvania State University, State College, USA. Agosto 2013.

IV) LANGE, C. E. Microsporidia as grasshopper control agents in Argentina. **The 11th International Congress of Orthopterology**, Yunnan University, Kunming, China, agosto 2013.

V) CIGLIANO, M. M., M. E. POCCO, C. E. LANGE. Diversification patterns in Melanoplinae (Orthoptera: Acrididae) grasshoppers from the Andes highlands. **The 11th International Congress of Orthopterology**, Yunnan University, Kunming, China, agosto 2013.

VI) ARBETMAN, M. P., I. MEUSS, J. MAHARRAMOV, K. MAEBE, P. GRAYSTOCK, W. O. HUGHES, S. PLISCHUK, C. E. LANGE, D. C. DE GRAAF, N. ZAPATA, J. J. PEREZ DE LA ROSA, T. MURRAY, M. J. F. BROWN, C. L. MORALES. Dilucidando los orígenes de *Apicystis bombi*, un parásito patógeno compartido entre abejorros y abejas de Europa y Argentina. **XI Congreso Latinoamericano de Apicultura**, Puerto Iguazú, Misiones, septiembre 2014.

7.6. INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS.

7.7. PATENTES.

8. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGIAS.

9. SERVICIOS TECNOLOGICOS.

Asesoramiento al Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA) en relación a la posible importación por parte de Perú, Colombia y Ecuador del abejorro *Bombus atratus* origen Argentina como polinizador en cultivos hortícolas. Septiembre 2014.

Asesoramiento a la Sección Cuarentena del Insectario de Investigaciones en Lucha Biológica, Instituto de Microbiología y Zoología Aplicada (IMYZA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Castelar y al Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA) respecto de la identificación y nivel de pureza de concentrados del agente microbiano de biocontrol *Paranosema locustae*. Noviembre, 2014.

Asesoramiento al Ministerio de Desarrollo Territorial (MDT) de Neuquén y a las Sociedades Rurales de Loncopué y Junín de los Andes sobre control biológico microbiano de tucuras perjudiciales. Diciembre, 2014.

10. PUBLICACIONES EN DOCENCIA Y DIVULGACION.

11. DIRECCION DE BECARIOS.

Dra. Yanina MARIOTTINI. 2005/2013. Beca Interna de Postgrado tipo I, tipo II y Postdoctoral del CONICET titulada "Biología y ecología de acridios (Orthoptera: Acridoidea) del Sur de la Región Pampeana". Dirección de su plan como **Investigadora Asistente del CONICET** (ingreso aprobado por Resolución del Directorio Nro. 3917 del 16-11-2012 y efectivizado el 01-07-2013) titulado "Estudios biológicos y ecológicos de *Dichroplus maculipennis* (Orthoptera: Acrididae), acridio plaga del agro en las regiones Pampeana y Patagónica".

Dr. Santiago PLISCHUK. 2006/2013. Becas Internas de Postgrado tipo I y II y Postdoctoral del CONICET y Beca de Estudios de la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de Buenos Aires (2006-07) y tituladas "Protistas (Protista) entomopatógenos asociados a himenópteros (Hexapoda: Hymenoptera) de importancia económica para el agro". Dirección de su plan **como Investigador**

Asistente del CONICET (ingreso aprobado por Resolución del Directorio Nro. 3917 del 16-11-2012 y efectivizado el 01-07-2013) titulado “Protistas (Protista) entomopatógenos asociados a himenópteros (Hexapoda: Hymenoptera) de importancia económica para el agro”. Dirección de su beca del Programa de Estadías breves en el extranjero para becarios postdoctorales del CONICET (Mayo/Agosto 2013, University of Florida y Agricultural Research Service, Gainesville, EE.UU.)

Dr. Christian Jorge BARDI. 2014/actual. Dirección de su Beca Postdoctoral CONICET titulada “Epizootiología, transmisión y efectos de tres entomopatógenos sobre *Dichroplus elongatus* (Orthoptera: Acrididae), acridio plaga del agro en Argentina”.

Dra. Martina Eugenia POCCO. 2009/actual. Codirección de sus Becas de Postgrado Internas tipo I y II y postdoctoral del CONICET tituladas “Romaleini (Orthoptera: Acridoidea) neotropicales: biodiversidad, filogenia y biogeografía” (Resol. N° 3105 del 30-12-08).

Lic. Celeste SCATTOLINI. 2014-18. Codirección de su Beca Interna Doctoral CONICET titulada “Los ortópteros (Orthoptera) como indicadores ambientales en el noreste de la región Pampeana”.

12. DIRECCION DE TESIS.

Dr. Christian Jorge BARDI. 2008/2013. Dirección de su Tesis doctoral (**finalizada y aprobada el 29-04-2013**) titulada “Biología y biocontrol de *Dichroplus elongatus* Giglio-Tos (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae), acridio plaga del agro en Argentina”, Facultad de Ciencias Naturales de la UNLP (Expte. 09426/08).

Dra. Martina Eugenia POCCO. 2009/2014. Codirección de su Tesis doctoral (**finalizada y aprobada el 13-03-2014**) titulada “Romaleini (Orthoptera, Acridoidea, Romaleidae) neotropicales: biodiversidad, filogenia y biogeografía.” Inscripción en la Carrera del Doctorado, título de Tesis y Proyecto de Investigación en la Facultad de Ciencias Naturales de la UNLP (Resol. Nro. 106/2009).

Lic. Celeste SCATTOLINI. 2014-actual. Codirección de su tesis doctoral en la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, titulada “Diversificación ecológica y evolutiva en la tribu Dichroplini (Acrididae: Melanoplinae) y su correspondencia con patrones de distribución”.

13. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS.

The 11th International Congress of Orthopterology, Yunnan University, Kunming, China, agosto 2013.

14. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO Y VIAJES DE ESTUDIO.

15. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO.

Como Director o Titular Responsable:

Acta Acuerdo entre el Ministerio de Desarrollo Territorial (MDT) de Neuquén, la Honorable Legislatura de la provincia del Neuquén (HLN) y el Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE, CONICET-UNLP), “Proyecto de control biológico de tucura en la provincia de Neuquén”. 2014-2016.

Fondo para la Investigación Científica y Tecnológica (FONCYT), Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), PICT 2012 (0199), “Epizootiología de entomopatógenos alóctonos y autóctonos” (efectivizado a partir de noviembre 2013).

Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la provincia de Buenos Aires, Subsidio para Asistencia a Reuniones Científicas, “11th International Congress of Orthopterology”, Yunnan, University, Kunming, China. 2013.

Movimiento Argentino para lo Producción Orgánica (MAPO), “Producción y utilización experimental del agente de control biológico de tucuras *Paranosema locustae*”. 2011-2013.

Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la provincia de Buenos Aires, subsidios institucionales para erogaciones corrientes: “Protistas patógenos de insectos terrestres”. 2013, 2014.

16. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO.

17. DISTINCIONES O PREMIOS EN EL PERIODO.

Electo como *Presidente* (2012-2014) de la “Microsporidia Division, **Society for Invertebrate Pathology (SIP)**”.

18. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA.

Miembro del Consejo Directivo (CD) del Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE, CCT La Plata CONICET – UNLP).

“**Association for Applied Acridology International (AAAI)**”, Miembro del “Board of Directors”.

”**Society for Invertebrate Pathology (SIP)**, Chair (2012-2014), Microsporidia Division”.

19. TAREAS DOCENTES EN EL PERIODO.

20. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN TITULOS ANTERIORES.

Evaluador de manuscritos remitidos al “*Journal of Invertebrate Pathology (JIP)*”, “*Biocontrol Science and Technology*”, “*Comparative Parasitology*” y “*BioControl*”.

21. TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO.

El título es “**Patógenos de insectos terrestres**”, y las tareas a realizar siguen enmarcadas dentro de las disciplinas “Patología de Insectos”, “Control Biológico Microbiano”, “Acridiología” y “Protistología”. Dentro de este contexto y dadas las propias características de este tipo de estudios, las actividades específicas previstas representan en su mayoría la continuidad de realizaciones en marcha, a saber:

- Detección, aislamiento y estudio de entomopatógenos aún no conocidos o no descriptos asociados a especies de insectos de importancia económica, con énfasis en ortopteroides, himenópteros y blatarios.

- Estudios de variada índole (caracterizaciones, descripciones, epizootiológicos, transmisión, patologías, interacciones patógeno/hospedador, producción, moleculares, filogenéticos, etc.) sobre

distintos entomopatógenos: *Paranosema locustae*, *Liebermannia dichroplusae*, *Liebermannia patagonica*, *Liebermannia covasacrae*, *Liebermannia spp.*, *Johenrea locustae*, *Entomophaga calopteni*, *Entomophaga spp.*, *Encephalitozoon romaleae*, *Tubulosema pampeana*, *Malameba locustae*, *Malpighamoeba mellifica*, *Nephridiophaga periplaneta*, *Nephridiophaga apis*, *Nosema apis*, *Nosema ceranae*, *Gregarina ronderosi*, *Gregarina sp.*, *Apicystis bombi*, *Crithidia bombi*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisoplae*, *Cordyceps locustiphila*.

- Continuar con los estudios biológicos, ecológicos y sistemáticos, tanto “a campo” como en bioterios bajo condiciones controladas, de especies de tucuras y langostas (Orthoptera: Acridoidea) acerca de las cuales el conocimiento es fraccionario, son de importancia como plagas del agro o son hospedadores reales o potenciales de los entomopatógenos bajo estudio.

- Continuar monitoreando el alcance de la distribución geográfica del abejorro invasor *Bombus terrestris* y el estado sanitario, en lo que a enfermedades de naturaleza protista se refiere, de especies nativas de abejorros.