

Susceptibilidad de la langosta *Schistocerca cancellata* (Orthoptera: Acrididae) a *Nosema locustae* (Protozoa: Microspora), en laboratorio

C. E. LANGE, E. WITTENSTEIN & N. E. SANCHEZ

Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), UNLP/CONICET
Calle 2 nro. 584, 1900 La Plata, Argentina. E-mail: cepave@museo.fcnym.unlp.edu.ar / lange@mail.retina.ar

LANGE, C. E., E. WITTENSTEIN & N. E. SANCHEZ. 1998. Susceptibilidad de la langosta *Schistocerca cancellata* (Orthoptera: Acrididae) a *Nosema locustae* (Protozoa: Microspora), en laboratorio. Rev. Fac. Agron., La Plata 103 (2): 185-189.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la susceptibilidad de *Schistocerca cancellata* (Serville) al patógeno *Nosema locustae* Canning, a fin de evaluar posibles alternativas de su control biológico. Ninfas de tercer estadio de la fase gregaria de *S. cancellata* de bioterio fueron individualmente inoculadas "per os" con 10^5 y 10^6 esporos/ninfa de *N. locustae*, un agente microbiano para el control de acridios. El 90,2 % de las ninfas inoculadas ($n = 112$) desarrolló infección, no existiendo diferencias significativas en el porcentaje de ninfas infectadas entre ambas dosis ensayadas. La mortalidad de las ninfas no fue independiente de la dosis del patógeno, tanto a los 20 como a los 30 días postinoculación. Ambas dosis produjeron porcentajes de mortalidad significativamente más altos que el control. A su vez, la mortalidad acumulada al finalizar la experiencia fue significativamente más alta con la dosis mayor (86%) que con la dosis menor (50%). Ninguna de las langostas infectadas llegó al estado adulto. De ser corroborados estos resultados en condiciones naturales, *N. locustae* podría ser de utilidad para el control biológico de *S. cancellata*.

Palabras clave: *Nosema locustae*, *Schistocerca cancellata*, control biológico, langosta, microsporidio.

LANGE, C. E., E. WITTENSTEIN & N. E. SANCHEZ. 1998. Susceptibility of the locust *Schistocerca cancellata* (Orthoptera: Acrididae) to *Nosema locustae* (Protozoa: Microspora) in the laboratory. Rev. Fac. Agron., La Plata 103 (2): 185-189.

The objective of this study was to determine the susceptibility of *Schistocerca cancellata* (Serville) to the pathogen *Nosema locustae* Canning, with the purpose of evaluating alternative control strategies of this pest. Third-instar nymphs of the gregarious phase of cultured *S. cancellata* were individually, "per os" challenged with 10^5 and 10^6 spores/nymph of *N. locustae*, a microbial agent for grasshopper control. Infection development occurred in 90.2 % of the nymphs inoculated ($n = 112$) and there was no difference in the percentage of infection between doses. There was a direct effect of dosage of *N. locustae* on mortality of *S. cancellata*, at 20 and 30 days postinoculation. Both doses had significantly higher percentages of mortality than that of the control. The higher dose caused distinctly greater mortality than the lower, with cumulative mortality at the end of the experiment being of 86% and 50%, respectively. None of the infected locusts reached adulthood. If these results are corroborated under natural conditions, *N. locustae* could be of value for the biological control of *S. cancellata*.

Key words: *Nosema locustae*, *Schistocerca cancellata*, biological control, locust, microsporidium.

INTRODUCCIÓN

El microsporidio *Nosema locustae* Canning es un patógeno de ortópteros utilizado para el control microbiano de acridios (Henry & Oma, 1981). La susceptibilidad de varias de las especies argentinas de acridios más perjudiciales, pertenecientes a las subfamilias Melanoplinae y Gomphocerinae (tucuras), respecto de *N. locustae* ya ha sido comprobada, tanto en estudios a campo (Lange & de Wysiecki, 1996) como en experiencias de laboratorio (Lange, 1997). Restaba entonces obtener ese tipo de información para este acridio, plaga históricamente más importante de la Argentina (Gastón, 1969), la langosta *Schistocerca cancellata* (Serville), perteneciente a la subfamilia Cyrtacanthacridinae. Desde mediados del presente siglo, *S. cancellata* es mantenida bajo control mediante la aplicación de insecticidas químicos sobre las ninfas en áreas de procreación de las provincias de Catamarca y La Rioja (Hunter & Cosenzo, 1990). Aunque no se trata de aplicaciones masivas (grandes volúmenes en extensas superficies) sino localizadas allí donde se concentran los grupos de ninfas (bandas), el hecho de que sean repetitivas puede tener efectos nocivos para el ambiente y sus comunidades, viéndose justificada entonces la búsqueda de métodos alternativos de control. En una contribución previa (Lange & Wittenstein, 1998) se constató experimentalmente la potencialidad de otros dos patógenos de acridios, el rizópodo *Malameba locustae* (King & Taylor) y el virus entomopox de *Melanoplus sanguinipes* (Fabricius) (MsEPV), como eventuales agentes microbianos de control de *S. cancellata*. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la susceptibilidad de *S. cancellata* al patógeno *N. locustae*, a fin de evaluar posibles alternativas de control biológico de esta plaga.

MATERIALES Y MÉTODOS

La técnica de infección consistió en la inoculación oral mediante el ofrecimiento de

cebos con esporos de *N. locustae* a ninfas de tercer estadio de la fase gregaria de *S. cancellata* (Lange, 1997). Los individuos provinieron de una colonia de cría de dicha especie del CEPAVE (Sánchez *et al.*, 1997). Un total de 140 ninfas de tercer estadio se repartieron en los siguientes tres tratamientos: 1) 56 ninfas recibieron una dosis de 10^5 esporos/individuo, 2) 56 ninfas con una dosis de 10^6 esporos/individuo, y 3) control, con 28 ninfas que ingirieron cebos, pero sin esporos.

Las dosis utilizadas fueron elegidas con el criterio de poder comparar los resultados con la dosis letal cincuenta (DL50) establecida para ninfas de tercer estadio del acridio neártico *Melanoplus sanguinipes*, que es de 10^5 esporos/ninfa luego de 20 días de inoculadas (Henry, 1990). Los esporos empleados fueron aislados, suspendidos en agua destilada y purificados (Lange, 1987) a partir de acridios naturalmente infectados colectados en pastizales naturales y pasturas ubicados a unos 20 kilómetros al Norte de Macachín, La Pampa (Lange & de Wysiecki, 1996). La cuantificación de los esporos se hizo con un hemocitómetro. Una vez que cada ninfa ingirió su cebo, las mismas fueron mantenidas en el bioferio (30 °C, 14 h luz : 10 h oscuridad, aproximadamente 40 % HR) en grupos de 14 individuos en tubos de acetato (Henry, 1985). El número de individuos muertos en cada grupo se controló diariamente durante 30 días luego de la inoculación, y a partir de este momento se sacrificaron los sobrevivientes. La diagnosis de infección en los individuos muertos y en los sacrificados se realizó por observación de esporos y formas de desarrollo del microsporidio en preparaciones frescas (Lange, 1987) a partir de homogenatos con agua destilada de cada langosta, observados bajo microscopía de contraste de fases (X400), de acuerdo a lo descrito por Henry *et al* (1973).

La mortalidad ocurrida a los 20 y 30 días luego de la inoculación fue analizada con el test de chi-cuadrado, y los porcentajes de ninfas infectadas y de mortalidad en los distintos tratamientos se compararon usando el test de igualdad de dos porcentajes (Sokal & Rohlf, 1979).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos permiten afirmar que *S. cancellata* es susceptible a *N. locustae*. Del total de individuos inoculados en los dos tratamientos, un 90,2% contrajo infección, no existiendo diferencias en el porcentaje de ninfas infectadas entre ambas dosis ensayadas (Tabla 1). La falta de infección (inexistencia de signos y síntomas, y agente etiológico no detectado) en algunos individuos que ingirieron esporos (sobrevivientes adultos) puede interpretarse admitiendo la existencia de variación de la susceptibilidad a nivel individual hasta el extremo de resistencia innata.

La mortalidad de las ninfas no fue independiente de la dosis del patógeno, tanto a los 20 días ($\chi^2 = 41,74$; g.l.= 2; $P < 0,0001$) como a los 30 días ($\chi^2 = 51,83$; g.l.= 2; $P < 0,0001$) de inoculadas. Ambas dosis produjeron porcentajes de mortalidad significativamente más altos que el control, a los 20 y 30 días postinoculación, siendo a su vez el porcentaje producido por la dosis mayor (10^6) significativamente más alto que el de la dosis menor (10^5) (Tabla 1). Las ninfas sobrevivien-

tes al final del experimento estaban todas infectadas, mientras que ninguna de las que habían alcanzado el estado adulto presentaba infección. Estas últimas mudaron a imago entre los 18 y 22 días de iniciado el experimento.

En términos estrictos de mortalidad, *N. locustae* parece considerablemente menos virulento para *S. cancellata* que para el melanoplino neártico *M. sanguinipes*. Esto surge de la comparación de mortalidades a los 20 días para la dosis 10^5 , que es del 50 % para *M. sanguinipes* (Henry, 1990) y del 16,1 % para *S. cancellata*, y coincide con los resultados de Henry (1969a), Henry *et al* (1973) y Ewen (1983) en América del Norte, donde se observó que los Melanoplinae suelen mostrar una susceptibilidad a *N. locustae* relativamente más elevada que aquellas especies de otras subfamilias. De todos modos, sería apresurado concluir, sobre la base de este solo aspecto, que *N. locustae* es poco efectivo para el control biológico de *S. cancellata*. Por un lado, la mortalidad podría ser aumentada en forma sencilla incrementando el número de esporos administrados, ya que la dosis 10^6 causó un

Tabla 1. Mortalidad e infectividad asociada a dos dosis diferentes (10^5 y 10^6) de *Nosema locustae* sobre *Schistocerca cancellata*.

*Mortality and infectivity associated with two different dosages (10^5 and 10^6) of *Nosema locustae* on *Schistocerca cancellata*.*

Dosis	Nº ninfas (esporos/ninfa)	% ninfas muertas luego de inoculadas	% ninfas infectadas	
			20 días	30 días
10^5	56	16 a	50 a	92,86 a
10^6	56	61 b	86 b	87,59 a
0 (control)	28	0 c	3 c	0,00

Dentro de cada columna, los valores seguidos por la misma letra no difieren entre sí según el test de comparación de dos porcentajes ($P > 0,001$).

For each column, values followed by the same letter are not significantly different ($P > 0.001$) according to the test of equality of two percentages.

61% de mortalidad después de 20 días. Por otro, hay otras características importantes de este patógeno que deberían ser tenidas en cuenta para evaluar su potencialidad de control de *S. cancellata*. Tres de los efectos más conspicuos que ocasiona *N. locustae* en un hospedador son : 1) disminución del consumo de alimento (Johnson & Pavlikova, 1986), 2) letargia (Bomar *et al.*, 1993), y 3) retraso del crecimiento (Henry, 1969b). Al permanecer la mayoría de los acridios infectados en estado ninfal sin alimentarse, con una marcada letargia y con el tejido adiposo conteniendo esporos, constituyen reservorios de unidades de transmisión (esporos) y por otro lado, al reducirse notablemente el consumo, no causaría daño. Además, es importante destacar que muchos acridios tienen hábitos caníbales y necrófagos (O'Neill *et al.*, 1993, 1994) consumiendo inmediatamente los ejemplares débiles y recientemente muertos, lo cual facilita la transmisión horizontal y dispersión del patógeno.

Quizá otro aspecto interesante para destacar, es el efecto que *N. locustae* tendría sobre la ecología poblacional de la langosta. Estudios previos de laboratorio sobre los parámetros del ciclo de vida de *S. cancellata* (Sánchez *et al.*, 1997), demostraron que esta especie tiene un alto potencial para el incremento, lo que explicaría porqué se convierte en plaga cuando las condiciones del ambiente le son favorables. Debido a los altos porcentajes de infección observados en este estudio, y a que los individuos infectados no alcanzarían el estado adulto, se puede inferir que importantes parámetros demográficos, como el valor reproductivo y la tasa de reemplazo de la población se verían sustancialmente disminuidos (Rabinovich, 1980) lo que aseguraría una población menos abundante en la siguiente generación. Futuros estudios son necesarios a fin de evaluar todos estos aspectos a campo, para poder así determinar la utilidad práctica de *N. locustae* para el control de *S. cancellata*, en la Argentina.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado en parte con subsidios provenientes del Consejo Nacional de investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y del Centro Argentino Brasileño de Biotecnología (CABIO), instituciones a las que se agradece el apoyo brindado.

BIBLIOGRAFIA

- Bomar, C. R., J. A. Lockwood, M. A. Pomerinke & J. D. French.** 1993. Multiyear evaluation of the effects of *Nosema locustae* (Microsporida: Nosematidae) on rangeland grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) population density and natural biological controls. *Environmental Entomology*, 22(2): 489-497.
- Ewen, A. B.** 1983. Extension of the geographic range of *Nosema locustae* (Microsporidia) in grasshoppers (Orthoptera: Acrididae). *Canadian Entomologist* 115: 1049-1050.
- Gastón, J.** 1969. Síntesis histórica de las invasiones de langosta en la Argentina. Secretaría Estado Agricultura y Ganadería, Publicación Miscelánea 433: 1-30.
- Henry, J. E.** 1969a. Extension of the host range of *Nosema locustae* in Orthoptera. *Annals Entomological Society of America* 62: 452-453.
- Henry, J. E.** 1969b. Protozoan and viral pathogens of grasshoppers. PhD thesis, Montana State University, Bozeman. 152 pp.
- Henry, J. E.** 1985. *Melanoplus* spp. En: Handbook of insect rearing, vol.1. Singh, P y RF Moore, Eds. Elsevier, Amsterdam, pp. 451-464.
- Henry, J. E.** 1990. Control of insects by Protozoa. En: New directions in biological control: alternatives for suppressing agricultural pests and diseases. Baker, RP y PE Dunn, Eds. A.R. Liss, Nueva York, pp. 161-176.
- Henry, J. E. & E. A. Oma.** 1981. Pest control by *Nosema locustae*, a pathogen of grasshoppers and crickets. En: Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Burges, HD, Ed. Academic Press, New York. pp. 573-586.
- Henry, J. E., K. Tiaht & E. A. Oma.** 1973. Importance of timing, spore concentration, and levels of spore carrier in applications of *Nosema locustae* (Microsporida: Nosematidae) for control of grasshoppers. *Journal of Invertebrate Pathology* 21: 263-272.
- Hunter, D. M. & E. L. Cosenzo.** 1990. The origin of plagues and recent outbreaks of the South American locust, *Schistocerca cancellata*

- (Orthoptera: Acrididae) in Argentina. Bulletin of Entomological Research 80: 295-300.
- Johnson, D. L. & E Pavlikova.** 1986. Reduction of consumption by grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) infected with *Nosema locustae* Canning (Microsporida: Nosematidae). Journal of Invertebrate Pathology 48: 232-238.
- Lange, C. E.** 1987. Encapsulación hemocitaria en *Gryllodes aplatatae* (Orthoptera: Gryllidae) infectado con *Microsporidium* sp. (Protozoa: Microspora). Neotrópica 33: 65-72.
- Lange, C. E.** 1997. Viabilidad del acridicida *Nosema locustae* (Protozoa: Microspora) luego de almacenamiento prolongado. Revista Sociedad Entomológica Argentina 56: 63-65.
- Lange, C. E. & M. L. De Wysiecki.** 1996. The fate of *Nosema locustae* (Microsporida: Nosematidae) in Argentine grasshoppers (Orthoptera: Acrididae). Biological Control 7: 24-29.
- Lange, C. E. & E. Wittenstein.** 1998. Susceptibilidad de la langosta *Schistocerca cancellata* (Orthoptera: Acrididae) a diferentes entomopatógenos. Revista Sociedad Entomológica Argentina 57: 19-22.
- O'Neill, K. M., S. Woods, D. A. Streett & R. P. O'Neill.** 1993. Aggressive interactions and feeding success of scavenging grasshoppers (Orthoptera: Acrididae). Environmental Entomology 22: 751-758.
- O'Neill, K. M., D. A. Streett & R. P. O'Neill.** 1994. Scavenging behavior of grasshoppers (Orthoptera: Acrididae): feeding and thermal responses to newly available resources. Environmental Entomology 23: 1260-1268.
- Rabinovich, J. E.** 1980. Introducción a la Ecología de poblaciones animales. C.E.C.S.A., Mexico. 313 pp.
- Sánchez, N. E., E. Wittenstein, M. L. De Wysiecki & C. E. Lange.** 1997. Life history parameters of the gregarious phase of the Southamerican locust *Schistocerca cancellata* (Serville) (Orthoptera: Acrididae), under laboratory conditions. Journal of Orthoptera Research 6: 121-124.
- Sokal, R. R. & F. J. Rohlf.** 1979. Biometría. H Blume, Madrid. 832 pp.