

ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

BIODIVERSITY OF ENTOMONEMATODES PARASITIZING SOIL PEST WHITE GRUBS (SCARABAEIDAE) OF BUENOS AIRES, ARGENTINA

BIODIVERSIDAD DE ENTOMONEMÁTODOS PARÁSITOS DE GUSANOS BLANCOS (SCARABAEIDAE) PLAGA DEL SUELO EN BUENOS AIRES, ARGENTINA

Nora B. Camino^{1,3}, María F. Achinelly^{2,3}, José M. Rusconi^{3,5}, Daiana Eliceche^{4,6} & Augusto Salas^{3,6}.

¹Investigador CIC, ²Investigador CONICET, ³Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, CEPAVE, Calle 2 N° 584, La Plata, Argentina (CONICET-UNLP), ⁴Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, ⁵Becario CIC, ⁶Becario CONICET, nemainst@cepave.edu.ar

Suggested citation Nora B. Camino, María F. Achinelly, José M. Rusconi, Daiana Eliceche & Augusto Salas. 2014. Biodiversity of entomonematodes parasitizing soil pest white grubs (Scarabaeidae) of Buenos Aires, Argentina. *Neotropical Helminthology*, vol. 8, n°2, jul-dec, pp. XX-XX.

Abstract

This work was carried out between 2006-2010 in wheat fields of the Pampas, Argentina, in order to determine species of nematode parasites and pathogens of white grubs, soil major pest. Samples were taken with shovel in randomly selected sites. Nymphs of *Diloboderus abderus* and *Cyclocephalla signaticollis* (Scarabaeidae) were collected. Thirteen species of nematodes belonging to 5 families (Mermithidae, Thelastomatidae, Travossonematidae, Diplogasteridae and Rhabditidae) were determined. The richness species values were 1 for *Cyclocephalla signaticollis* and 12 for *Diloboderus abderus*. The thelastomatids and rhabdítids were the largest group of nematodes, with a total of 3 species each. The thelastomatíds were very prevalent with infections exceeded 60%, followed by diplogasterids which reached 36%. The mermítids were less prevalent with values close to 10%. The family Travossonematidae was the one with the lowest abundance (0.32). Knowledge of nematode community will be a great ability to interpret host-parasite relationships and in many cases determine those species pest potential bioreguladoras important agents in agricultural areas of Argentina. This study provides for the first time to the Pampas region of our country a list of white worms parasitic nematodes.

Keywords: Argentina, biodiversity, nematodes, parasites, plagues.

Resumen

Este trabajo fue realizado entre el 2006-2010 en campos de trigo de la región pampeana, Argentina. El objetivo fue determinar especies de nemátodos parásitos patógenos de gusanos blancos, plaga importante del suelo. Las muestras fueron tomadas con pala en sitios seleccionados al azar. Larvas de *Diloboderus abderus* y *Cyclocephalla signaticollis* (Scarabaeidae) fueron recolectadas del suelo a mano con pala. Trece especies de nemátodos pertenecientes a 5 familias (Mermithidae, Thelastomatidae, Travassonematidae, Diplogasteridae y Rhabditidae) fueron determinadas. Los valores de riqueza de especies fueron 1 para *C. signaticollis* y 12 para *D. abderus*. Los thelastomátidos y rhabdítidos fueron el grupo más numeroso, con un total de tres especies cada uno. Los thelastomátidos fueron muy prevalentes con infecciones que superaron el 60%, seguido de los diplogastéridos que alcanzaron el 36%. Los mermítidos fueron los menos prevalentes con valores cercanos a 10%. La familia Travossonematidae fue la que presentó la menor abundancia (0.32). Este trabajo aporta por primera vez para la región pampeana de nuestro país una lista de nemátodos parásitos de gusanos blancos.

Palabras clave: Argentina, biodiversidad, nemátodos, parásitos, plagas.

INTRODUCCIÓN

Las larvas de los gusanos blancos (Scarabaeidae) se alimentan de bulbos, rizomas, tubérculos y raíces de muchas especies de plantas cultivadas, como trigo, maíz, girasol y soja. El tercer estadio larval es el que más consume desde junio-julio (invierno) hasta fines de la primavera en octubre, aproximadamente (Gassen, 2000). El consumo de las raíces no suele ser descubierto en el campo, pero las plantas son fácilmente extraíbles y, cuando escasean las lluvias, el cultivo se ve afectado más que otros porque sus raíces no pueden extraer agua de la profundidad del suelo. La alimentación de estas larvas puede finalizar con el consumo total de las plantas. Se conoce que estas larvas son potencialmente dañinas no solamente al trigo sino también a avena cebada, maíz y sorgo entre otros, ocasionando pérdidas totales cuando se registran altas infestaciones (Curvetto, 2012).

Muchos investigadores han reconocido que los parásitos entomopatógenos de insectos tienen el potencial de regular sus poblaciones y comunidades (Poulin, 1998). Independientemente de sus posibles efectos

negativos, tales parásitos también pueden ser usados como agentes biológicos de diversas maneras (Gardner & Campbell, 1992). Por otra parte, el uso de enemigos naturales es un enfoque prometedor en el control integrado de plagas, donde los patógenos, parasitoides, parásitos y depredadores son utilizados (Hazir *et al.*, 2004). Entre los beneficios podemos mencionar el efecto sinérgico de los nemátodos con otros agentes entomopatógenos que, a su vez, aumenta la eficiencia y economía del procedimiento, las habituales altas tasas de mortalidad de insectos, la capacidad típica de adaptarse a nuevos ambientes, y la factibilidad de llegar a la mercado como bioplaguicida como producto comercial. Los entomonematodos constituyen un grupo extenso de enemigos naturales de insectos (Hazir *et al.*, 2004). Existen aproximadamente 30 familias de nemátodos asociados, entre foréticos, parásitos, parasitoides y patógenos (Poinar, 1079).

El objetivo de este trabajo fue, por lo tanto, por medio de una encuesta de 5 años determinar y caracterizar las poblaciones de nemátodos parásitos patógenos de que afectan a gusanos blancos (Scarabaeidae), plaga del suelo en la región pampeana de Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

El muestreo se llevó a cabo entre los años 2006 a 2010, en diferentes sitios de la región pampeana, provincia de Buenos Aires, Argentina. El área de estudio abarcó varios campos con cultivos de trigo. Un total de 150 muestras de suelo se recogieron de siete localidades: Abasto (34°97'S, 58°09'O), Brandsen (35°10'S, 58°15'O), Gorina (34°53'S, 58°02'O), Lincoln (34°53'S, 61°34'O), La Riestra (35°16'S, 59°46'O), Pergamino (33°57'S, 60°34'O) y Salto (34°20'S, 60°15'O) en sitios seleccionados al azar. Las muestras de suelo fueron obtenidas a mano realizando con pala orificios de 10 cm de diámetro y 10 cm de profundidad. Posteriormente se transportaron al laboratorio refrigerado a 15C°, en bolsas herméticas para el mantenimiento de la humedad. Las larvas de gusano blanco (Coleoptera: Scarabaeidae) presentes en las muestras de suelo fueron separadas e identificadas por la clave Alvarado, 1983. Se utilizaron para la prospección un número máximo de 50 individuos. Los insectos hospedadores se mantuvieron a 5 ° C durante 10 min. y después se diseccionaron en placas de Petri con agua destilada bajo un microscopio estereoscópico. Una incisión transversal se realizó a lo largo del extremo posterior del abdomen y del tracto digestivo para la búsqueda de parásitos. Estos últimos fueron fijados TAF más agua destilada en partes iguales 50% (v / v) durante 48 h y luego en TAF puro (7 mL de formol 40%, 2 mL de trietanolamina y 91 mL de agua destilada) (Poinar, 1979). Los parásitos se colocaron en glicerol para lograr una mayor transparencia (Seinhorst, 1959). La identificación taxonómica se realizó con la clave de Poinar (Poinar, 1975). Se calcularon los siguientes índices parasitarios y ecológicos: la riqueza de especies, S: número de especies, la abundancia media donde A = el número total de individuos de una especie del parásito particular en una muestra de un huésped determinado, dividido por el número total de hospedadores de las especies examinadas (incluyendo tanto los hospederos infectados y los no infectados), la prevalencia, P, donde P = número de hospedadores infectados con parásitos de una

especie particular, sobre el total de hospedadores examinados, expresado en porcentaje; intensidad media, donde I= el número de nemátodos por insecto sobre el número total de hospedadores parasitados; dominancia, D = el número de nematodos por insecto sobre el número total de hospedadores analizados expresado en porcentaje (Bush *et al.*, 1997).

RESULTADOS

Larvas de gusanos blancos pertenecientes a dos especies fueron registradas: *Diloboderus abderus* Sturm, 1826 y *Cyclocephalla signaticollis* Burmeister, 1847 (Coleoptera: Scarabaeidae). Los insectos parasitados fueron hallados en siete localidades: Abasto, Brandsen, Gorina, Lincoln, La Riestra, Pergamino y Salto (tabla 1). Un total de cinco familias de entomonemátodos fueron registradas: Mermithidae, Thelastomatidae, Travassonematidae, Diplogasteridae y Rhabditidae. Sin embargo thelastomatídeos fueron los únicos presentes en *C. signaticollis*. Los valores de riqueza de especies (S) fueron para *C. signaticollis* S = 1, y S = 12 para *D. abderus*. El número total de parásitos registrados para el total de larvas hospedadoras (n=50) fue 40 para *C. signaticollis* y para *D. abderus* varió entre 16 y 10000, dependiendo de la especie de nemátodos (tabla 1). La localidad de Salto exhibió el mayor número de especies (Camino & Reboledo, 1999), pertenecientes a 4 familias: Mermithidae, Travassosinematidae, Diplogasteridae y Rhabditidae, seguido de Lincoln con 3 especies pertenecientes a 3 familias, y el resto de las localidades sólo 1 especie de entomonemátodos (Tabla 1). Nemátodos pertenecientes a las familias Mermithidae y Rhabditidae se hallaron en cavidad hemocélica, mientras que el resto de los representantes (Thelastomatidae, Travassosinematidae y Diplogasteridae) en tracto digestivo.

Cephalobellus cyclocephalae (Thelastomatidae) fue la única especie presente en el gusano blanco *Cyclocephalla signaticollis* (Tabla 2).

Tabla 1. Localidades Pampeanas de Argentina donde fueron hallados los nemátodos y el número total de parásitos registrados por cada especie hospedadora (n= 50) *D. abderus* y *C. signaticollis* durante 2006-2010.

| Parásitos | Especies hospedadoras | Localidad | Número total de parásitos |
|--|-------------------------|------------|---------------------------|
| MERMITHIDAE | | | |
| <i>Amphidomermis</i> sp. | <i>D. abderus</i> | Brandsen | 31 |
| <i>Hexamermis gracilis</i> de Villalobos y Camino, 1998 | <i>D. abderus</i> | Salto | 22 |
| THELASTOMATIDAE | | | |
| <i>Cephalobellus cyclocephalae</i> Camino y Reboredo, 2005 | <i>C. signaticollis</i> | Pergamino | 40 |
| <i>Severianoia brevicauda</i> Camino y Szathmary, 2001 | <i>D. abderus</i> | Abasto | 30 |
| <i>Thelastoma modestus</i> Camino y Reboredo, 1999 | <i>D. abderus</i> | Gorina | 900 |
| <i>Thelastoma rara</i> Camino <i>et al.</i> , 1997 | <i>D. abderus</i> | Lincoln | 10.000 |
| TRAVASSOSINEMATIDAE | | | |
| <i>Mirzatiella americana</i> Camino y de Villalobos, 1996 | <i>D. abderus</i> | Salto | 16 |
| DIPLOGASTERIDAE | | | |
| <i>Diplogaster octodontus</i> Camino y de Villalobos, 1996 | <i>D. abderus</i> | Salto | 32 |
| <i>Noteodiplogaster papillosa</i> de Villalobos <i>et al.</i> , 1998 | <i>D. abderus</i> | Lincoln | 50 |
| <i>Patanodontus acaudatum</i> de Villalobos y Camino, 1997 | <i>D. abderus</i> | Salto | 32 |
| RHABDITIDAE | | | |
| <i>Cruznama campestris</i> Reboredo y Camino, 2000 | <i>D. abderus</i> | Lincoln | 390 |
| <i>Parasitorhabditis platidontus</i> Reboredo y Camino, 2000 | <i>D. abderus</i> | La Riestra | 330 |
| <i>Rhabditis bonaerensis</i> Camino y de Villalobos, 1997 | <i>D. abderus</i> | Salto | 220 |

Doce especies de entomonemátodos, pertenecientes a las cinco familias, se registraron en las larvas de *D. abderus*, con una prevalencia cercana al 10% para la familia Mermithidae, un 70% promedio para la familia Thelastomatidae, 32% en Travassosinematidae, un 31% promedio para Diplogasteridae y un 28% promedio para Rhabditidae (Tabla 2). Los thelastomátidos y rhabdítidos fueron los grupos más numerosos, con un total de tres especies cada familia (tabla 1). La familia Travassosinematidae presentó la menor riqueza de especies con un solo representante *Mirzaiella americana* Camino & de Villalobos, 1996. El número promedio de nemátodos por larva en el hospedador *D.*

abderus varió entre 1.0 y 250 y la abundancia entre 0,32 y 200. Los valores de dominancia obtenidos tuvieron un valor que varió entre 0,18 y 83%.

Altos niveles de parasitismo fueron observados en nemátodos thelastomátidos, superiores al 60%, siendo *Thelastoma rara* Camino, Reboledo y de Villalobos, 1997, la especie más abundante (200) y con mayor intensidad promedio (250). Además resultó ser la especie más dominante (83%). No se encontró ninguna similitud de especies parásitas entre los dos hospedadores.

Tabla 2. Prevalencia (P), número de nemátodos por larva o intensidad (I), abundancia media (A), y dominancia (D) de nemátodos parásitos de gusanos blancos de la región pampeana, Argentina.

| Parásitos | Especies hospedadoras | | | | | | | |
|--------------------------------------|-------------------------|------|-----|-----|-------------------|------|------|-----|
| | Scarabaeidae | | | | | | | |
| | <i>C. signaticollis</i> | | | | <i>D. abderus</i> | | | |
| | P | I | A | D | P | I | A | D |
| MERMITHIDAE | | | | | | | | |
| <i>Amphidomermis sp.</i> | - | - | - | - | 12 | 5,6 | 0,6 | 0,2 |
| <i>Hexamermis gracilis</i> | - | - | - | - | 10 | 5,5 | 0,4 | 0,1 |
| THELASTOMATIDAE | | | | | | | | |
| <i>Cephalobellus cyclocephalae</i> | 12 | 1,21 | 0,8 | 0,3 | - | - | - | - |
| <i>Severianoia brevicauda</i> | - | - | - | - | 60 | 1,0 | 0,6 | 0,2 |
| <i>Thelastoma modestus</i> | - | - | - | - | 65 | 30 | 28,1 | 7,4 |
| <i>Thelastoma rara</i> | - | - | - | - | 80 | 2500 | 200 | 83 |
| TRAVASSOSINEMATIDAE | | | | | | | | |
| <i>Mirzaiella americana</i> | - | - | - | - | 32 | 1,0 | 0,3 | 0,1 |
| DIPLOGASTERIDAE | | | | | | | | |
| <i>Diplogaster octodontus</i> | - | - | - | - | 26 | 2,4 | 0,6 | 0,2 |
| <i>Noteodiplogaster papillosa</i> | - | - | - | - | 36 | 2,7 | 1,0 | 0,4 |
| <i>Patanodontus acaudatum</i> | - | - | - | - | 26 | 2,5 | 2,5 | 0,2 |
| RHABDITIDAE | | | | | | | | |
| <i>Cruznema campestris</i> | - | - | - | - | 26 | 30 | 8 | 3,2 |
| <i>Parasitorhabditis platidontus</i> | - | - | - | - | 30 | 22 | 6,6 | 2,7 |
| <i>Rhabditis bonaerensis</i> | - | - | - | - | 26 | 17 | 4,4 | 1,8 |

DISCUSIÓN

La mayoría de las especies de nemátodos constituyen uno de los factores que pueden regular la dinámica de la población de una plaga (Hazir *et al.*, 2004).

Cinco familias de entomonemátodos parásitos nativos de plagas de gusano blanco (Scarabaeidae) de la región pampeana, fueron registradas en siete localidades en dos especies diferentes de gusanos blancos. Sin embargo la especie *D. abderus* presentó una gran diversidad específica de nemátodos con un número de 12 especies. *Cephalobellus cyclocephalae* (Thelastomatidae) fue la única especie presente en el gusano blanco *C. signaticolis* (Camino & Reboredo, 2005). Las diferencias en la susceptibilidad de estas dos especies diferentes de gusanos blancos se desconocen.

Respecto a *D. abderus*, los nemátodos de la familia Mermithidae alojados en cavidad hemocélica tuvieron un comportamiento parasitoide (Camino & Marino, 2007, de Villalobos & Camino, 1998); en este caso pasaron por un estado de desarrollo como parásitos dentro del hospedador, y como consecuencia de este parasitismo el hospedador murió, sin reproducirse dentro de él y los estados adultos fueron de vida libre. En el caso de los Rhabditidae que también se alojaron en cavidad hemocélica podemos considerarlos parásitos, no patógenos, ya que sólo en casos de grandes infecciones pudo alterar el metabolismo del hospedador ocasionando la muerte (Reboredo & Camino, 2000). Las familias Diplogasteridae y Thelastomatidae se alojaron en intestino y mostraron un comportamiento de parasitismo obligado como el observado en nemátodos oxyúridos (Camino *et al.*, 1997, Camino & Reboredo, 1999, 2005, Camino & Szathmary, 2001).

Los Thelastomátidos constituyeron los nemátodos con mayores niveles de infestación, siendo *T. rara* la especie más dominante (83%) de las 12 observadas (Camino *et al.*, 1997). Esto podría relacionarse con su ciclo de vida, ya que es complejo, siendo los juveniles J3 las formas

infestantes que penetran al hospedador de forma pasiva, es decir por ingestión, pasando en intestino por dos generaciones para al final eliminar los huevos con las heces. Su acción patógena podría deberse al tamaño y número con que estos nemátodos se encuentran en el intestino, provocando una alteración del metabolismo, disminuyendo el crecimiento, haciendo que estos sean más susceptibles a otros agentes patógenos (Camino & Marino, 2007). Condiciones similares podrían esperarse para *Thelastoma modestus* y las especies de rhabdítidos cuyos ciclos de vida además de ser complejos presentaron altas intensidades, interviniendo en el metabolismo de la larva de los insectos y atrasando su desarrollo (Camino & Reboredo, 1999).

El conocimiento de la comunidad de estos enemigos naturales, será una importante herramienta para interpretar las relaciones hospedador-parásito e inclusive ilustrar fenómenos de coevolución y para determinar aquellas especies potenciales agentes bioreguladores contra plagas importantes para zonas agrícolas de la Argentina. Este trabajo aporta por primera vez para la región pampeana de nuestro país una lista de nematodos parásitos de gusanos blancos.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC) y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Conicet), Argentina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bush, AO, Lafferty, KD, Lotz, JM & Shostak, AW. 1997. *Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited*. The Journal of Parasitology, vol. 83, pp. 575–583.
- Camino, NB & Marino, HA. 2007. *Hexameris distinctus n. sp. (Nematoda, Mermithidae) parasitizing Diloboderus abderus Sturm*,

- 1826 (Coleoptera, Scarabaeidae) in Argentina. Bolletino del Museo Civico di Storia Naturale di Venezia, vol. 58, pp. 3-6.
- Camino, NB & Reboredo, GR. 1999. Descripción de *Thelastoma modestus* sp. n. (Oxyurida:Thelastomatidae) parásita de larvas de *Diloboderus abderus* Sturm (Coleoptera:Scarabaeidae) en Argentina. Estudios de Biología, PUCRS, serie Zoología, vol. 12, pp. 13-18.
- Camino, NB & Reboredo, G. 2005. A new Oxyurida (Thelastomatidae) from *Cyclocephala signaticollis* Burmeister (Coleoptera: Scarabaeidae) from Argentina. The Journal of Parasitology, vol. 91, pp. 890-892.
- Camino, NB & Szathmary, L. 2001. Una nueva especie del género *Severanoia* (Schwenk) (Nematoda: Thelastomatidae) parásita de *Diloboderus abderus* (Coleoptera: Scarabaeidae) en Argentina. Boletín chileno de Parasitología, vol. 57, pp. 105-107.
- Camino, NB, Reboredo, GR & de Villalobos, LC. 1997. Descripción y ciclo biológico de *Thelastoma rara* sp. n. (Oxyurida: Thelastomatidae) parásita de larvas de *Diloboderus abderus* Sturm. (Coleoptera: Scarabidae). Revista Brasileira de Biología, vol. 57, pp. 211-215.
- Curvetto, R. 2012. Gusanos blancos. Un acecho bajo tierra. Revista desafío, INTA Río Cuarto vol. 21, pp. 11-14.
- de Villalobos, LC & Camino, NB. 1998. Una nueva especie del género *Hexamermis* Steiner, 1924 (Nematoda:Mermithidae) parásita de larvas de *Diloboderus abderus* Sturm (Coleoptera:Scarabaeidae) en Argentina. Iheringia, serie Zoología, vol. 84, pp. 79-82.
- Gardner, SL & Campbell, ML. 1992. Parasites as probes for biodiversity. The Journal of Parasitology, vol. 78, pp. 596-600.
- Gassen, D. 2000. "As pragas sob plantio direto: Pragas do solo subterráneas. Corós da regio sul do Brasil, *Diloboderus abderus* e *Fillophaga* sp. (Col. Melolonthidae)". En: Siembra directa en el Cono Sur. Procisur. Pág. 103-120.
- Hazir, S, Kaya, H, Stock, SP & Keskin, N. 2004. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. Turkish Journal of Biology, vol. 27, pp. 181-202.
- Poinar, G.O JR. 1975. Entomogenous nematodes: A manual and host list of insect-nematode associations. E.J. Brill, Leiden, 317 pp.
- Poinar, GO Jr. 1979. Nematodes for biological control of insects, CRC Press, Boca Raton.
- Poulin, R. 1998. Evolutionary ecology of parasites. New York, NY, USA, Chapman & Hall, 212 pp.
- Reboredo, GR & Camino, NB. 2000. Two new Rhabditida species (Nematoda: Rhabditidae) parasites of *Cyclocephala signaticollis* (Coleoptera: Scarabaeidae) in Argentina. Journal of Parasitology, vol. 86, pp. 819-821.
- Seinhorst, JW. 1959. A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. Nematologica, vol. 4, pp. 67-69.

Received April 3, 2014.
Accepted June 7, 2014.