

Libros de **Cátedra**

Patología de insectos

Metodologías y técnicas de laboratorio.
Un aporte al trabajo experimental

Claudia C. López Lastra y Juan José García
(coordinadores)

n
naturales

FACULTAD DE
CIENCIAS NATURALES Y MUSEO


EduLP
EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

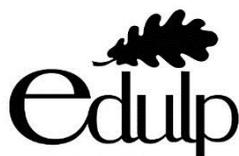
PATOLOGÍA DE INSECTOS
METODOLOGÍAS Y TÉCNICAS DE LABORATORIO.
UN APORTE AL TRABAJO EXPERIMENTAL

Claudia C. López Lastra
Juan José García
(coordinadores)

Facultad de Ciencias Naturales y Museo



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA


EDITORIAL DE LA UNLP

Índice

Prefacio de los autores	9
Prefacio invitado Dr. Daniel R. Sosa Gómez	10

Capítulo 1

Historia y alcances de la Patología de Insectos.....	12
<i>Claudia C. López Lastra y Juan José García</i>	

Origen de los estudios en la temática y antecedentes en la historia de esta disciplina, así como los trabajos de los investigadores referentes y pioneros en los distintos grupos de microorganismos patógenos.

Capítulo 2

Patógenos de insectos	17
<i>Claudia C. López Lastra y Juan José García</i>	

Grupos de patógenos, signos y síntomas, definiciones de enfermedad, tipos de diagnosis, vías de entrada al hospedador y transmisiones a otros insectos sanos.

Capítulo 3

Virus Entomopatógenos	23
<i>Evangelina Muttis y María Victoria Micieli</i>	

Modos de transmisión y bioensayos. Métodos de infección de insectos sanos con virus a través de bioensayos experimentales. Identificación y de preservación del material.

Capítulo 4

Bacterias entomopatógenas.....	33
--------------------------------	----

Claudia C. López Lastra, Alejandra C. Gutierrez y Juan José García

Principales grupos de bacterias asociadas a insectos, tanto simbiotes como patógenas. Diversidad de hábitats, rango hospedador, métodos de prospección y de aislamiento. ID morfológica y fisiológica. Métodos de preservación utilizados.

Capítulo 5

Protozoos entomófilos.....	42
----------------------------	----

Juan José García

Identificación de los grupos taxonómicos, ciclos de vida y métodos de prospección, identificación y preservación del material.

Capítulo 6

Hongos patógenos de insectos	54
------------------------------------	----

Claudia C. López Lastra, Alejandra C. Gutierrez, Andrea V. Toledo y Romina G. Manfrino,

Identificación de hongos entomopatógenos, metodologías de transmisión, ciclos de vida y vías de infección. Se describen en detalle los métodos de prospección, aislamiento, identificación y preservación.

Capítulo 7

Preservación de entomopatógenos y normativas y funciones de las colecciones de cultivos microbianos	62
---	----

Alejandra C. Gutierrez, Marcela L. Hipperdinger y Claudia C. López Lastra

Métodos de preservación para los distintos grupos de patógenos tratados en el libro. Protocolos específicos para fijación y tinciones.

Capítulo 8

Bioensayos con entomopatógenos y uso de protocolos.....	71
---	----

Andrea V. Toledo, Claudia C. López Lastra, Alejandra C. Gutierrez, Evangelina Muttis y Juan José García

Protocolos y metodologías utilizadas para infectar insectos sanos con los patógenos. Realización de bioensayos y para que se utilizan. Métodos y programas a usar para obtener la dosis letal 50 y 90, y el tiempo letal 50 y 90, así como el tiempo medio de

supervivencia Cuales son los factores que influyen y que hay que tener en cuenta al realizar un bioensayo.

Capítulo 9

Métodos de biología molecular utilizados para la identificación y caracterización de patógenos de insectos 84

Alejandra C. Gutierrez, Romina G. Manfrin y Celeste P. D'Alessandro

Metodologías básicas de ID mediante técnicas de biología molecular para hongos, bacterias y virus patógenos de insectos. Protocolos.

Anexos..... 96

Glosario 108

Los autores 112

CAPÍTULO 3

Virus Entomopatógenos

Evangelina Muttis y María Victoria Micieli

Los virus entomopatógenos. Principales Familias: *Baculoviridae*, *Iridoviridae*, *Reoviridae* y *Poxviridae*. Identificación de la infección viral. Técnicas de purificación.

Generalidades

Los virus entomopatógenos pueden dividirse en dos grupos, los que presentan viriones embebidos en una matriz proteica (cuerpos de inclusión o OB: oclusion bodies) y los que no están embebidos (virus no ocluidos). En este capítulo se verán las familias *Baculoviridae*, *Reoviridae* y *Poxviridae* que pertenecen al primer grupo, y los *Iridoviridae* como representantes de una familia de virus no ocluidos. Los OBs son muy importantes porque conservan la capacidad infecciosa fuera del huésped, son insolubles en agua y resistentes a la putrefacción, desintegración por agentes químicos, congelación, desecación y liofilización.

Familia *Baculoviridae*

A estos virus que son exclusivos de artrópodos se los conoce como Nucleopolyhedrovirus (NPVs), excepto los *Betabaculovirus*, que también se los llama Granulovirus (GVs) debido a las características diferentes de sus OBs (Tabla 1). En la Argentina encontramos representantes del género *Alphabaculovirus*, algunos ejemplos son: SfMNPV en *Spodoptera frugiperda*, Ag-MNPV en *Anticarsia gemmatalis*, *Agraulis vanillae*-NPV y de *Deltabaculovirus* en la especie de mosquito *Ochlerotatus crinifer*, pero aún no ha sido identificado como especie de virus.

Géneros	Hospedadores
<i>Alphabaculovirus</i>	Lepidoptera
<i>Betabaculovirus</i>	Lepidoptera
<i>Deltabaculovirus</i>	Diptera
<i>Gammabaculovirus</i>	Hymenoptera

Ciclo viral

Comienza con la ingestión de los cuerpos de inclusión presentes en el alimento. Una vez ingeridos, los OBs se diluyen en el intestino del insecto debido a la alta alcalinidad de sus jugos intestinales (pH 9.5-11). El ciclo de la infección varía según el insecto hospedador, y los tejidos afectados también pueden variar. En un lepidóptero, una vez liberados los viriones, éstos deben atravesar la matriz peritrófica del intestino, y luego la membrana celular, allí comienza la replicación y la diseminación hacia todos los tejidos del cuerpo y la hemolinfa. Algunas partículas virales salen de la célula para infectar nuevas células y tejidos, y son llamados **virus brotantes** (BVs; budded virus), otras permanecen dentro de las células y son incluidas en estructuras proteicas para formar los OBs ocasionando la hipertrofia del núcleo (Fig. 1). Los signos y síntomas de la infección producida por baculovirus se hacen evidentes en estados avanzados de la enfermedad (Tabla 1). Las larvas infectadas migran hacia las partes altas de la planta, donde mueren. El cadáver, de color castaño oscuro (Fig. 2), queda adherido al vegetal y los tejidos se licuan, se produce la ruptura del tegumento de las larvas y la liberación de masas de cuerpos de inclusión que caen sobre partes inferiores de la planta y serán inoculo para futuras infecciones (Caballero *et al.*, 2001). En los dípteros culicidos el proceso tiende a ser bastante diferente ya que el NPV en las larvas de mosquito es específico para tejidos del intestino medio, principalmente epitelio, y los OBs quedan suspendidos en el agua luego de la muerte de las larvas infectadas.

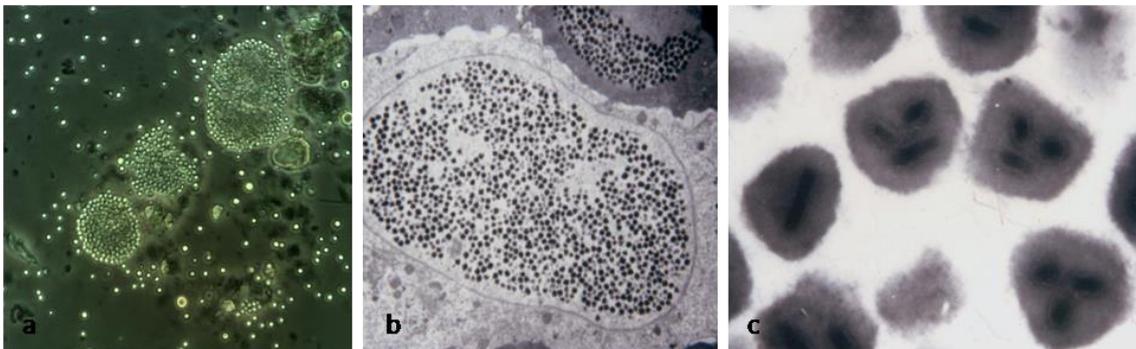


Figura 1. Baculoviridae. Microscopía óptica. Núcleos hipertrofiados en larva de *Agraulis vanillae* (Lepidoptera) infectada (a). Microscopía electrónica de transmisión (MET). Sección ultrafina de una larva infectada de *Ochlerotatus crinifer* (Diptera) se observa un núcleo celular con partículas virales (b). OBs dentro de los cuales se observan los viriones (c).



Figura 2. Larvas de *Rachiplusia nu* infectada con *RanuNPV* (a). Larvas sanas alimentándose de una dieta balanceada para su cría en bioterio (b).

Familia *Iridoviridae*

Los iridovirus afectan tanto a vertebrados como a invertebrados y dentro de éste último grupo, a crustáceos y moluscos. Los invertebrados infectados tienen un signo característico que es la iridiscencia (Fig. 3a), una coloración brillante generalmente turquesa, dada por un efecto óptico que se produce cuando se acumula gran cantidad de partículas virales en el citoplasma celular formando un arreglo paracristalino observable en imágenes de microscopía electrónica (Fig. 3b). Si bien hay numerosos reportes de iridovirus a nivel mundial, en Argentina los únicos hallazgos reportados son de la Región Neotropical, en larvas de tres especies de mosquito *Culex pipiens*, *Cx. dolosus* y *Aedes albifasciatus*. Si bien la infección comienza generalmente en el tejido graso, continúa diseminándose por todo el cuerpo del individuo provocándole la muerte, con un TL50 de 8 días. Algunos individuos no se infectan de forma evidente y transmiten el virus verticalmente (Tabla 1).

Subfamilia <i>Betairidovirinae</i> (exclusiva de artrópodos)	
Géneros*	Hospedadores
<i>Chloriridovirus</i>	Diptera (mosquitos y jejenes)
<i>Iridovirus</i>	Lepidopera Diptera (no mosquitos) Orthoptera

*Con representantes en insectos

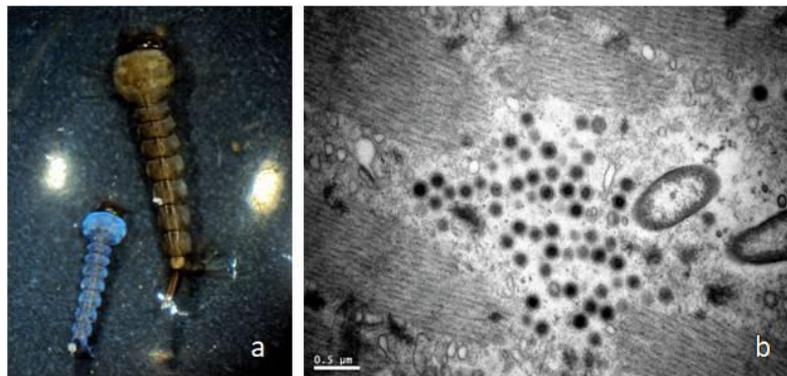


Figura 3. Larvas de *Culex pipiens*, iridisciente (izq.) y con coloración normal (der.) (a). Corte ultrafino de una larva de *Cx. pipiens* infectada en MET, se observan partículas virales icosaedricas (b).

Familia *Reoviridae*

Incluye especies que afectan invertebrados, vertebrados e incluso plantas. El género *Cypovirus* contiene especies aisladas solo de artrópodos, con una gran mayoría de hospedadores lepidópteros y dípteros. Los cuerpos de inclusión formados por poliedrina (Tabla 1), se acumu-

lan en el citoplasma de las células donde se replican. En la mayoría de los casos no produce la muerte, sino una infección crónica, las larvas alcanzan el estado adulto y suelen presentar reducción de la fecundidad y de la supervivencia, pero pueden transmitir el virus verticalmente. El ciclo viral es similar al de los baculovirus, aunque la infección queda restringida a las células de intestino (Tabla 1).

Familia *Poxviridae*

Afectan tanto a vertebrados como invertebrados pero contiene a la subfamilia *Entomopoxvirinae* que es exclusiva de insectos. El ciclo viral es similar al de los otros virus ocluidos. Una vez que ingresan a las células del tubo digestivo, se replican en el citoplasma, próximo a la lámina basal y se dispersan luego hacia el cuerpo graso (principal sitio de replicación) y luego hacia los hemocitos. Los síntomas de infección por EPVs varían entre los hospedadores susceptibles y pueden llevar un tiempo considerable para su manifestación, siendo el *Beta entomopoxvirus* de lepidópteros el que produce mortalidad larvaria en un tiempo más corto, con síntomas a partir de los 10 días post-infección y muerte entre las 3 a 4 semanas. En la Argentina se han hallado en el ortóptero (*Staurorhectus longicornis*).

Subfamilia <i>Entomopoxvirinae</i> (exclusiva de artrópodos)	
Géneros	Hospedadores
<i>Alphaentomopoxvirus</i>	Coleoptera
<i>Betaentomopoxvirus</i>	Lepidptera y Orthóptera
<i>Gammaentomopoxvirus</i>	Diptera

Sintomatología

Se observa el insecto buscando signos y síntomas de la enfermedad, comparando su comportamiento, coloración y textura con un individuo sano.

Para detectar la iridiscencia en la Familia *Iridoviridae*, en especial cuando la infección es incipiente, se coloca el individuo bajo microscopio binocular estereoscópico con un fondo oscuro. Para detectar la presencia de varias familias de virales que afectan el intestino de las larvas de mosquitos, se colocan pequeños grupos de larvas en una cápsula de Petri, se extrae el agua excedente con una pipeta hasta que las larvas queden adheridas en el fondo de la misma. Posteriormente se coloca la cápsula bajo microscopio binocular estereoscópico y se observa por transparencia el intestino de la larva en faz dorsal y ventral invirtiendo la posición de la cápsula.

Se busca detectar la hipertrofia característica de las células del tubo digestivo, dependiendo de la familia viral, ya sea en el núcleo o en el citoplasma.

Tabla 1. Familias de virus y sus características importantes en insectos

	Genoma	Partícula viral	Vías de ingreso	Signos y síntomas
<i>Baculoviridae</i>	dsDNA, 80 a 180 kpb	-Forma de bastón -OBs poliédricos con uno o varios viriones (NPVs) (0.1-2 µm). -OBs ovoesféricos con un solo virión (0.12 × 0.50 µm) (GVs).	-Ingestión	-Cambio de coloración a blanquecino o amarillento, marrón después de muerte -Cambio de hábito -Desintegración de tejidos -Ruptura de la cutícula
<i>Iridoviridae</i>	dsADN, 103-220 kpb	-Viriones con forma icosaédrica (150 y 200 nm)	- Ingestión -Rupturas en cutícula y membrana peritrófica -Vectorizado por nemátodos	-Iridiscencia
<i>Reoviridae</i>	ARN, 1- 4,2 kpb	-Viriones aprox. 60 nm -OBs regulares de forma cuboide (0,1 µm), pocos viriones -OBs irregulares, hasta 3 µm, muchos viriones	-Ingestión (eficiente en presencia de magnesio)	-Blanco opaco en el citoplasma de las células del ciego gástrico y tubo digestivo posterior por acumulación de OBs
<i>Poxviridae</i>	dsADN, 232- 380 kpb)	-Viriones con forma de ladrillo -OBs ovales, 5-20 µm	-Ingestión	-Muy variable entre los hospedadores

Fuente: ICTV Reports (2011 - 2019)

Identificación de la infección viral

Microscopía

Microscopía Óptica

Los cuerpos de inclusión desarrollados por ciertas familias virales, por ejemplo *Baculoviridae*, pueden ser observados con microscopía óptica debido al gran tamaño que presentan dichas estructuras. No pueden ser observadas por este medio las partículas virales aisladas.

- Observación “en fresco” entre porta y cubreobjetos. Se monta hemolinfa o pequeños fragmentos de tejido sospechado de estar afectado sobre una gota de buffer fosfato (PBS). Se observa al microscopio con contraste de fases a 400X.
- Fijación de insectos infectados para estudios histopatológicos bajo el microscopio óptico.

Microscopía electrónica

Es un método directo de confirmación de la infección, ya que se puede ver el tamaño y forma de partículas pequeñas que no pueden ser observadas con microscopía óptica. Además se analiza la zona de replicación dentro de la célula y los tejidos afectados. El primer paso para realizar estudios ultraestructurales bajo el microscopio electrónico de transmisión es la fijación de las muestras. El protocolo para inclusión en resina es muy laborioso y puede ser realizado por los servicios de microscopía electrónica, como por ejemplo el de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP).

Protocolo de fijación: se sumerge el insecto vivo o recién disecado en glutaraldehído 2,5%. Luego de 20 minutos en el fijador, los individuos se cortan en piezas menores para asegurar la infiltración del mismo en los tejidos, y se transfirieren las piezas a glutaraldehído fresco. Las muestras así tratadas pueden conservarse en heladera (4 °C) por un tiempo no muy prolongado o transferirse a una solución de Buffer cacodilato 0,2 M (pH 7,3) durante 3 horas, luego de lo cual se post-fijan en tetróxido de osmio al 1% durante 2 horas, se deshidratan usando concentraciones crecientes de etanol hasta llegar a acetona y finalmente se colocan en resina Epon-Araldita. Se realizan secciones ultrafinas (60 nm), teñidas con acetato de uranilo al 2% y citrato de plomo, para su observación con un Microscopio Electrónico de Transmisión.

Identificación molecular

La identificación molecular a nivel Familia se basa en la detección de segmentos específicos y conservados de ADN mediante la técnica de PCR (protocolo en Capítulo 9). Para los virus de la Familia *Baculoviridae* se intenta amplificar el gen *lef8* correspondiente a un factor de expresión tardía que se asocia a la enzima ARN polimerasa. Para la Familia *Iridoviridae* se utiliza el gen MCP que codifica la proteína mayor de la cápside. La amplificación de los genes *lef8* y *mcp* debe originar un fragmento de ADN de 450 pb y 320 pb, respectivamente.

Técnicas de purificación

Purificar significa separar las partículas virales o cuerpos de inclusión del resto de los tejidos del insecto de manera que quede puro o semi puro. La técnica utilizada variará según el tamaño de la partícula a purificar. Una técnica muy usada en general son los gradientes de sacarosa, en la cual se forma una columna de distintas densidades donde las partículas quedan suspendidas según su tamaño. Además, cuanto menor es el tamaño de la misma, se requerirá un centrifugado a mayor velocidad. Existen distintos protocolos que permiten la extracción de los cuerpos de inclusión OBs de los baculovirus con mayor o menor grado de pureza a partir de los restos del hospedador y a partir de un cultivo celular. En muchos casos no es conveniente puri-

ficar los OBs en forma exhaustiva pues se pierden gran cantidad de estos, en cambio es indispensable cuando se necesite usar como inóculo o bien para la extracción de ADN.

Semipurificación (*Baculoviridae*)

Protocolo

Materiales: Agua bidestilada- Homogeneizador de vidrio-Tela de Muselina

Método:

1. Añadir 1 ml de agua bidestilada al cadáver del insecto
2. Homogenizar vigorosamente la muestra mediante el uso del homogeneizador
3. Filtrar la muestra a través de tela de muselina y descartar los residuos no filtrados
4. Centrifugar a 800 G durante 5 minutos
5. Transferir el sobrenadante a un nuevo tubo y eliminar el precipitado

Purificación de virus a partir de insectos infectados

Purificación de OBs- *Baculoviridae*

Para realizar una purificación de los OBs de los baculovirus, los restos de tejidos del insecto hospedador serán tratados con un detergente aniónico: SDS (sodio dodecil sulfato = dodecil sulfato de sodio) para facilitar la lisis tisular y la disgregación de las células favoreciendo la liberación de los OBs desde del interior de las mismas. Los restos celulares son inducidos a la sedimentación mediante el uso de centrifugación a alta velocidad. Luego los OBs serán suspendidos en un pequeño volumen de agua destilada y se filtran mediante un gradiente de sacarosa que permite separar las partículas contaminantes más pequeñas. Se realizarán varios lavados con agua destilada para eliminar todo el resto de sacarosa.

Protocolo

Materiales: SDS 0.1% (p/v) en agua destilada - Homogeneizador de vidrio - Sacarosa 40% (p/v) en agua destilada

Método:

1. Homogeneizar una muestra de larvas en 1 ml de SDS en un homogeneizador de vidrio
2. Centrifugar a 1600 G durante 5 minutos, separar el sobrenadante
3. Suspender el precipitado del paso 1 en 500 µl de SDS
4. Centrifugar a 1600 G durante 5 minutos y separar el sobrenadante
5. Mezclar los sobrenadantes obtenidos en pasos 2 y 4
6. Centrifugar a 5000 G durante 5 minutos
7. Eliminar sobrenadante, volver a suspender el precipitado del paso 4 y juntar

8. Agregar 500 µl de sacarosa por encima de la suspensión del virus del paso anterior
9. Centrifugar a 23000 G (ultracentrífuga) durante 30 minutos
10. Eliminar el sobrenadante y volver a suspender el precipitado en 1000 µl de SDS
11. Centrifugar a 4000 G durante 5 minutos y descartar el sobrenadante (conservar el precipitado).
12. Volver a suspender el precipitado en 500 µl de agua destilada

Semi-purificación y Purificación de Iridovirus (partículas virales de aproximadamente 180 nm)

Protocolo

Materiales: agua destilada, sacarosa 15% (p/v), sacarosa 60% (p/v)

Método:

1. Los individuos infectados se homogenizan en agua destilada con homogeneizador de vidrio
2. La suspensión se filtra con una jeringa con un algodón en su interior para separar los restos de cutícula
3. El filtrado se centrifuga a 1000 G por 15 minutos para descartar restos celulares grandes
4. El sobrenadante se centrifuga a 11000 G por 30 minutos. El precipitado se re suspende en 500 µl de agua destilada
5. La suspensión viral se siembra en un gradiente de sacarosa 15-60% p/v y se centrifuga a 9000 G por 20 minutos
6. Luego de la centrifugación se observa una banda opaca (Fig. 4a), la misma se separa cuidadosamente con micropipeta y se re suspende en 1 ml de agua destilada
7. Se vuelve a centrifugar a 150000 G (ultracentrífuga) por 30 minutos para eliminar la dilución de sacarosa
8. Se elimina el sobrenadante y se re suspende el precipitado en agua destilada.

La semi-purificación se realiza en los cuatro primeros pasos, se debe continuar si se requiere el virus purificado.

Para formar el gradiente de sacarosa entre 15 y 60% se coloca en cada tubo de centrifuga aproximadamente 900 µl de la solución de sacarosa más diluida y por debajo, con mucho cuidado para que no se mezclen las fases, se coloca la misma cantidad de la solución más concentrada. Los tubos se colocan en una gradilla en posición horizontal (Fig. 4b) durante dos horas para que se forme el gradiente, luego se los coloca en posición vertical lentamente.

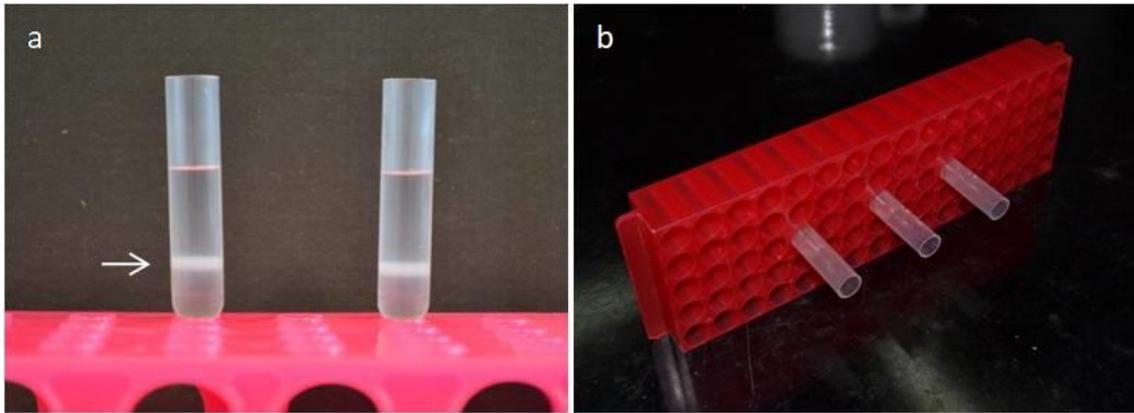


Figura 4. Purificación de iridovirus en gradiente de sacarosa. Se observa la banda viral (flecha blanca) (a). Formación del gradiente (b).

Bibliografía consultada / recomendada

- Adam, J. R. & Bonami, J. R. (1991). Atlas of Invertebrate Viruses, CRC Press, Boston.
- Caballero, P., Williams, T. & López Ferber M. (2001). Los Baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de Plagas. Editorial Phytoma y Universidad Pública de Navarra, España 528 pp.
- Derksen, A. C. G., & Granados, R. R. (1988). Alteration of a lepidopteran peritrophic membrane by baculovirus and enhancement of viral infection. *Virology* 167: 242-250.
- Chinchar, V. G., Hick, P., Ince, I. A., Jancovich, J. K., Marschang, R., Qin, Q., Subramaniam, K., Waltzek, T. B., Whittington, R., Williams, T., Zhang, Q., & ICTV Report Consortium. (2017). ICTV Virus Taxonomy Profile: Iridoviridae, *Journal of General Virology*, 98, 890–891.
- Detvisitsakun, C., Cain, E. L. & Passarelli, A. L. (2007). The *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus fibroblast growth factor accelerates host mortality. *Virology*, 365, 70-78.
- Engelhard, E. K., Kam-morgan, L. N. W., Washburn, J. O., Volkman, L. E. (1994). The insect tracheal system: A conduit for the systemic spread of *Autographa californica* M nuclear polyhedrosis virus. *Proceedings of the Natural Academy of Sciences USA*. 91: 3224-3227.
- Federici, B. A. (1997). Baculovirus pathogenesis. En: Miller, L.K. (Ed.), *The Baculoviruses*. Plenum Press, New York, pp. 141-166.
- Granados, R. R. & Williams, K. A. (1986). *In vivo* replication of Baculoviruses, En: R. R. Granados & Federici B. A. (ed.), *The biology of baculoviruses* Vol. 1, C.R.C. Press, Boca Raton Florida, pp.89-108.
- Harrison, R. L., Herniou, E. A., Jehle, J. A., Theilmann, D. A., Burand, J. P., Becnel, J. J., Krell, P. J., van Oers, M., Mowery, J. D., Bauchan, G. R. & ICTV Report Consortium. (2019). ICTV Virus Taxonomy Profile: Baculoviridae, *Journal of General Virology*, 99: 1185–1186.
- Harrison, R. L., Hoover, K. (2012). Chapter 4: Baculoviruses and other occluded insect viruses. In: Vega, F. E. & Kaya, H. K, editors. *Insect Pathology*. 2nd edition. London, England: Academic Press. p. 73-131.

ICTV Virus Taxonomy Profile: Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses (2011): Poxviridae

ICTV Virus Taxonomy Profile: Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses (2011): Reoviridae

Knipe, D. M., Fields, B. N., Howley, P. M. & Griffin, D. E. (2001). *Fields Virology*. Lippincott Williams & Wilkins Publishers. 3280 pp.

Martínez, A., Murillo, R., Ruiz de Escudero, I., Villaplana, L. (2001). Técnicas básicas para la caracterización de baculovirus. EN: “Los Baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas”. Caballero, P., López Ferber, M. & Williams, T. Eds. Editorial Phytoma y Universidad Pública de Navarra, España. Capítulo 14: 479-516.

Muttis, E. (2017). Virus patógenos de Culícidos: diversidad, patología, transmisión y espectro hospedador. (tesis doctoral) Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, La Plata, Argentina.

Patología de insectos : metodologías y técnicas de laboratorio : un aporte al trabajo experimental / Claudia Cristina López Lastra ... [et al.] ; coordinación general de Claudia Cristina López Lastra ; Juan José García ; prefacio de Daniel R. Sosa Gómez. - 1a ed. - La Plata : Universidad Nacional de La Plata ; La Plata : EDULP, 2021.
Libro digital, PDF - (Libros de Cátedra)

Archivo Digital: descarga
ISBN 978-950-34-2022-5

1. Patologías. 2. Insectos. I. López Lastra, Claudia Cristina, coord. II. García, Juan José, coord. III. Sosa Gómez, Daniel R., pref.
CDD 595.70723

Diseño de tapa: Dirección de Comunicación Visual de la UNLP

Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata
48 N.º 551-599 / La Plata B1900AMX / Buenos Aires, Argentina
+54 221 644 7150
edulp.editorial@gmail.com
www.editorial.unlp.edu.ar

Edulp integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN)

Primera edición, 2021
ISBN 978-950-34-2022-5
© 2021 - Edulp

n
naturales


Edulp
EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA