RIA, 31(3): 25-38 *ISSN 0325 - 8718*
INTA, Argentina

LA AMEBIASIS DEBILITATIVA DE LOS ORTÓPTEROS Y SU POTENCIAL PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE ACRIDIOS (ORTHOPTERA: ACRIDOIDEA) EN LA ARGENTINA.

LANGE, CARLOS E.[1]

RESUMEN

Malameba locustae, el agente etiológico de la amebiasis debilitativa de los ortópteros, es causante de patologías en los tubos de Malpighi y alteraciones en la función excretora que llevan a disminuciones de vigor, longevidad y fecundidad del hospedador afectado. La presente revisión evalúa el potencial de *M. locustae* para el control microbiano de acridios en nuestro país en base a la información disponible a nivel mundial y a los resultados hasta ahora obtenidos a partir de estudios experimentales sobre acridios argentinos. La facilidad de transmisión por vía oral, la alta infectibidad para varias especies argentinas consideradas perjudiciales (*Baeacris punctulatus, Dichroplus elongatus, Dichroplus pratensis, Dichroplus schulzi, Ronderosia bergi, Schistocerca cancellata*) y la rara presencia en comunidades naturales de acridios de nuestro país, sugieren que *M. locustae* podría ser un patógeno adecuado para control mediante la colonización (introducción-establecimiento).

[1] Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), UNLP – CONICET, Calle 2 Nro. 584, La Plata (1900).
Investigador de la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la provincia de Buenos Aires.

Palabras clave: *Malameba locustae, ameba, tucura, langosta, control biológico, control microbiano, colonización, introducción-establecimiento, aumento inoculativo.*

SUMMARY

DEBILITATIVE AMOEBIASIS OF ORTHOPTERANS AND ITS POTENTIAL FOR THE BIOLOGICAL CONTROL OF ACRIDIANS (ORTHOPTERA: ACRIDOIDEA) IN ARGENTINA.

Malameba locustae, the etiological agent of the debilitative amoebiasis of the orthopterans, causes pathologies in the Malpighian tubules and alterations in the excretory function that lead to decreases in vigor, longevity and fecundity of the affected host. The present review evaluates the potential of *M. locustae* for the microbial control of acridians in Argentina based on the available information from other regions of the world, and from the results obtained up to now in experimental work conducted on argentine acridians. The easiness of oral transmision, the high infectivity to several argentine acridian species of economic importance (*Baeacris punctulatus, Dichroplus elongatus, Dichroplus pratensis, Dichroplus schulzi, Ronderosia bergi, Schistocerca cancellata*), and the rare occurrence in natural communities of acridians in Argentina suggest that *M. locustae* could be of value for the control approach of colonization (introduction-establishment).

Key words: *Malameba locustae, amoeba, grasshopper, locust, biological control, microbial control, colonization, introduction-establishment, inoculative augmentation.*

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los rizópodos (Protozoa: Rhizopoda) asociados a insectos ocurren como comensales del tracto digestivo (Tanada y Kaya, 1992). No obstante, se han descripto al menos seis especies de amebas patógenas de hexápodos: *Malamoeba scolyti* Purrini en taladros de la madera (Coleoptera: Scolytidae), *Malamoeba indica* Narasimhamurti y Nazeer Ahamed en acridios (Orthoptera: Acrididae), *Malpighiella refringens*

Minchin en pulgas (Syphonaptera: Ceratophyllidae), *Malpighamoeba mellificae* Prell en abejas (Hymenoptera: Apidae), *Vahlkampfia* sp. en lepismas (Microcoryphia: Machilidae) y *Malameba locustae* King y Taylor en acridios (Orthoptera: Acridoidea) (Narasimhamurti y Nazeer Ahamed, 1980; Lange, 1996 a; Larsson *et al.*, 1992). Esta última es responsable de la enfermedad conocida como amebiasis debilitativa de los ortópteros. *M. locustae* ha sido recientemente aislada de tucuras naturalmente infectadas de nuestro país (Lange, 1996 b), lo cual permitió iniciar algunos estudios experimentales (Lange y Wittenstein, 1998) aún en curso, tendientes a explorar las posibilidades de utilización de esta ameba como agente de biocontrol de acridios perjudiciales. La presente contribución analiza tal posibilidad a la luz del conocimiento actualmente disponible acerca de *M. locustae* y de los resultados preliminares hasta ahora obtenidos.

DESCUBRIMIENTO, DESCRIPCIÓN Y OCURRENCIA NATURAL DE *Malameba locustae.*

El primer registro y la descripción original del agente etiológico de la amebiasis debilitativa de los ortópteros se debe a King y Taylor (1936), que aislaron a la ameba de ejemplares infectados de los acridios neárticos *Melanoplus differentialis* (Thomas), *M. mexicanus* (Saussure) (= *M. sanguinipes* Fabricius) y *M. femur-rubrum* (De Geer), provenientes de colonias de cría. Dichos autores incluyeron a la hasta entonces desconocida especie dentro del género *Malpighamoeba* pero, poco tiempo después, ellos mismos propusieron el nuevo género *Malameba* debido a que el rizópodo de acridios difería considerablemente del de las abejas (Taylor y King, 1937). Desde entonces, el nombre *Malameba locustae* ha sido aceptado por la mayoría de los autores, aunque Brooks (1988), sin brindar fundamentos, sugirió que el estatus taxonómico de la especie debería ser revisado.

No existe concordancia entre la frecuencia con que M. locustae se presenta en colonias de cría de acridios y su presencia en las poblaciones naturales. Mientras es un patógeno común en aquellas a nivel mundial (Davies, 1973; Lipa, 1982; Henry, 1985; Hinks y Erlandson, 1994), requiriendo incluso el uso de antibióticos para evitar o minimizar su presencia (Henry, 1968; Henry & Oma, 1975; Hanrahan, 1981), los hallazgos en

poblaciones naturales son llamativamente escasos. En la naturaleza, se ha registrado en América del Norte, Africa y Australia (Venter, 1966; Henry, 1969; Ernst y Baker, 1982; Henry et al., 1985). La reciente detección en ejemplares juveniles de *Staurorhectus longicornis* Giglio-Tos de Trenque Lauquen, provincia de Buenos Aires, es el único registro conocido para América del Sur (Lange, 1996 b). Se desconocen las razones que explicarían esta discordancia entre la información proveniente del ámbito natural y aquella obtenida en bioterios. Sin embargo, se puede aventurar una hipótesis factible a partir del conocimiento de otros rizópodos. Podría ocurrir que en condiciones naturales *M. locustae* se presente normalmente (o por períodos prolongados) sólo en su forma trófica (trofozoíto), como suele ocurrir con otras amebas cuya capacidad de enquistamiento se halla asociada a condiciones circundantes desfavorables (Shuster, 1990). Dado que la diagnosis de la amebiasis de los ortópteros se basó tradicionalmente en la presencia de quistes (Figs. 1, 9), que por su refringencia y homogeneidad morfológica constituyen el estado más conspicuo del patógeno, ante la ausencia de los mismos, puede ser muy difícil detectar los trofozoítos. Las condiciones a que se somete a los acridios en las colonias de cría son, por más esmero puesto en recrear las condiciones naturales, necesariamente subóptimas respecto de éstas y podrían tender a favorecer el enquistamiento, sumándose a esto las reinfecciones permanentes facilitadas por el espacio limitado de las jaulas y la abundancia de quistes en las heces. De este modo, la frecuencia natural registrada de la amebiasis podría no ser un reflejo de la frecuencia real, es decir, se trataría de una enfermedad subdiagnosticada en las poblaciones naturales de acridios. Hasta el presente no se han desarrollado marcadores moleculares que permitirían la detección precisa de *M. locustae*.

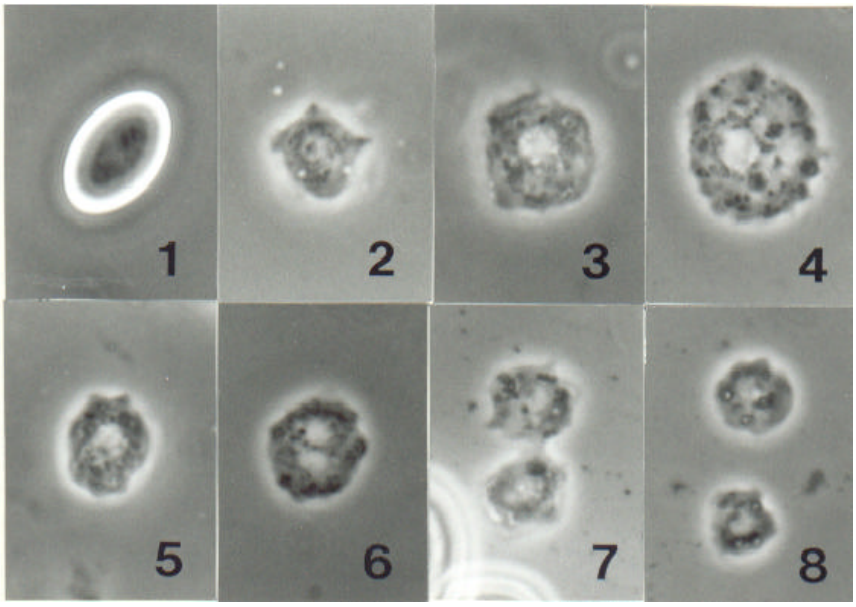
A nivel mundial se conocen casi 50 especies de tucuras y langostas natural o experimentalmente susceptibles a *M. locustae* (Brooks, 1988). A estas deben agregarse ahora las especies argentinas que resultaron susceptibles a partir de inoculaciones experimentales que, siguiendo metodología estandarizada para la realización de bioensayos con protozoos entomopatógenos (Habtewold *et al.,* 1995; Lange y Wittenstein, 1998; Lange *et al.,* 2000), fueron efectuadas mediante quistes derivados del hallazgo en *S. longicornis* de Trenque Lauquen. En las cinco especies hasta el presente analizadas en condiciones de bioterio [*Baeacris punctulatus* (Thunberg), *Dichroplus elongatus* Giglio-Tos, *Dichroplus*

schulzi Bruner, *Ronderosia bergi* (Stal), *Schistocerca cancellata* (Serville)] ocurrió prácticamente un 100 % de desarrollo de infección (Lange y Wittenstein, 1998; Lange, observaciones no publicadas). Así, la información compilada por Brooks (1988) y los resultados hasta ahora obtenidos con nuestras especies sugieren entonces que *M. locustae* sería infectivo para la mayoría de los acridoideos.

CICLO DE VIDA

La amplia disponibilidad de acridios experimentalmente infectados permitió realizar detalladas observaciones a nivel de microscopía óptica relativas al ciclo de desarrollo de *M. locustae*.

Los resultados de dichas observaciones en las cinco especies de acridios argentinos infectados fueron coincidentes con aquellos aportados por otros autores que trabajaron con hospedadores distintos de otras regiones (Hanrahan, 1975; Harry y Finlayson, 1976; Zizka, 1987; Braun *et al.,* 1988). A diferencia de lo que ocurre con la mayoría de los entomopatógenos protozoarianos pertenecientes a otros phyla, como los microsporidios (Microspora) o las neogregarinas (Apicomplexa), donde los ciclos suelen ser de gran complejidad (Becnel & Andreadis, 1999; Boucias y Pendland, 1998), el ciclo de *M. locustae* es simple y consiste en la alternancia de las formas trófica y quística (Figs. 1 – 8). Los quistes (Figs. 1, 9), que son uninucleados y constituyen el único estado de la ameba capaz de sobrevivir fuera del hospedador, son los propágulos responsables de la transmisión por vía oral a acridios susceptibles al ser liberados al ambiente externo con las deyecciones de un insecto enfermo. Los trofozoítos (Figs. 2 - 8), que pueden poseer uno o dos núcleos y son incapaces de existencia fuera del hospedador, constituyen la fase proliferativa dentro del acridio. El principal asiento de la infección es el lumen de los tubos de Malpighi (Figs. 10, 11) y, en menor medida, el epitelio del intestino medio. Este es el lugar donde, luego de la ingestión de quistes, comienza el proceso infeccioso, aunque no hay acuerdo en la manera en que la forma trófica se despoja de la envoltura quística. Prinsloo (1960) sugirió que el trofozoíto emerge de la envoltura a través de una rotura en la pared lateral. Hanrahan (1979), en cambio, luego de un estudio ultraestructural, sostiene que la pared del quiste es digerida en el intestino. Las observaciones en acridios



Figuras 1 – 8: Estados en el ciclo de desarrollo de *Malameba locustae en Dichroplus schulzi.* Preparación fresca con solución salina de Poinar y Thomas (1984). X 3650. **1,** Quiste. **2 – 5,** Trofozoítos uninucleados. **6,** Trofozoíto binucleado. **7 y 8,** Fisión binaria.

argentinos no fueron conclusivas pero mostraron que la propuesta de Prinsloo (1960) podría ser factible, pues resultó frecuente observar quistes vacíos con roturas laterales de ubicación más o menos constante (Figs. 12). Braun *et al.* (1988) demostraron que los trofozoítos no se reproducen en el intestino y que invaden los tubos de Malpighi viajando a través del lumen del tracto digestivo y no a través del hemocel luego de penetrar en las células epiteliales del intestino, como había sido postulado con anterioridad por otros autores (Evans y Elías, 1970). Una vez que alcanzaron la luz de los tubos, los trofozoítos inician la secuencia replicativa por fisión binaria de formas binucleadas (Figs. 6 - 8). Braun *et al.* (1988) constataron el establecimiento de la ameba en los tubos de Malpighi luego de sólo cinco días de inoculada en *M. sanguinipes*. Ese tiempo fue de ocho días en el acridio argentino *D. schulzi* y los primeros quistes comenzaron

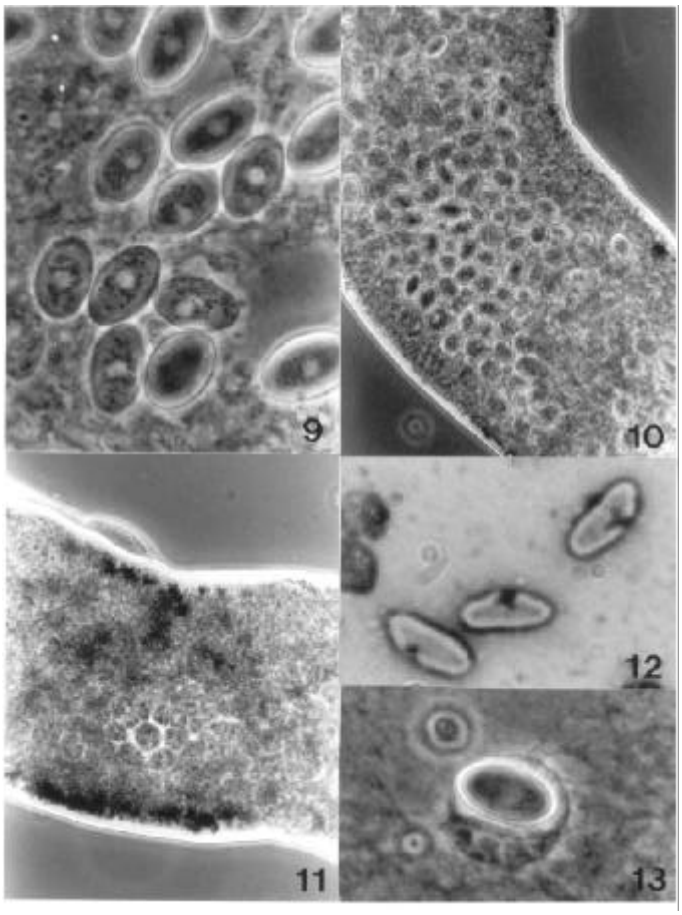


Figura 9: Quistes uninucleados y con endoplasma granular de *Malameba locustae.* Preparación fresca con solución salina de Poinar y Thomas (1984). X 3650.
Figura 10: Parte de un tubo de Malpighi de *Dichroplus schulzi* con quistes de *Malameba locustae* en su lumen. Preparación fresca. X 1500.
Figura 11: Parte de un tubo de Malpighi de *Dichroplus schulzi* con trofozoítos de *Malameba locustae* en su lumen. Preparación fresca. X1500.
Figura 12: Quistes vacíos de *Malameba locustae* con roturas laterales de la pared. Preparación Giemsa según Wang *et al.* (1991). X3650.
Figura 13: Quiste de *Malameba locustae* fagocitado por un hemocito de *Ronderosia bergi.* X3650.

a observarse en las deyecciones de ejemplares de *B. punctulatus* 14 días después de que estos sean inoculados (Lange, resultados no publicados).

PATOLOGÍAS Y EFECTOS SOBRE EL HOSPEDADOR

Como ocurre con la mayoría de los protozoos patógenos de insectos (Lange, 1996 a), *M. locustae* no muestra alta virulencia, ni desencadena una muerte rápida del hospedador. Por el contrario, produce una enfermedad de tendencia crónica, caracterizada por debilitación general y disminución del vigor del acridio. Los hospedadores con infecciones suaves o tempranas no suelen mostrar signos o síntomas externos de la amebiasis. A medida que el proceso avanza y sobre todo en infecciones fuertes, se han reportado manchas melánicas ventrales y laterales en el tórax y abdómen, letargia o hiperactividad, pérdida de apetito, imposibilidad de permanecer parados, muerte prematura y temblores espasmódicos de las patas saltatorias (King y Taylor, 1936; Henry, 1968; Harry y Finlayson, 1975; Hinks y Ewen, 1986).

Internamente, con la gradual invasión del lúmen de los tubos de Malpighi por parte de los trofozoítos y quistes, se empiezan a manifestar los cambios patológicos típicos. Los tubos dejan así de mostrar su condición normal como hilos delgados, oscuros y móviles para presentar distintos niveles de distensión que llevan a hipertrofias, desmelanización (normalmente de marrón oscuro a blanco lechoso) e inmovilidad (bloqueo de movimientos contorsivos y peristálticos) (Figs. 14) (Martoja, 1969; Harry y Finlayson, 1975; Papillion y Cassier, 1978). En infecciones muy fuertes o terminales, la presión ejercida por las inmensas acumulaciones de quistes produce roturas en las paredes de los tubos. Inmediatamente comienzan a actuar los mecanismos de inmunidad celular del hospedador y los quistes liberados al hemocel a partir de tales roturas son fagocitados (Fig. 13) o encapsulados (Fig. 14) por los hemocitos de la hemolinfa circundante (Hanrahan, 1980).

En infecciones severas, la función excretoria de los tubos de Malpighi, ejercida a través de la secresión de gránulos de ácido úrico (Chapman, 1982; Bradley, 1985) se ve seriamente afectada, y resulta en la acumulación de deshechos nitrogenados, los cuales son tóxicos para el insecto afectado (Henry, 1968, 1969). Proux (1991) reportó que el desarrollo de

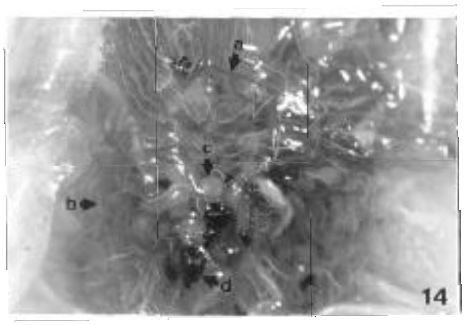


Figura 14. Histopatología causada por *Malameba locustae* en los tubos de Malpighi de *Dichroplus schulzi.* X 80.
a, tubo levemente hipertrofiado;
b, tubo con infección avanzada;
c, tubo fuertemente hipertrofiado;
d, cápsulas melanizadas.

la ameba daña la membrana serosa de los tubos, inhibiendo su respuesta a la hormona diurética. El potencial biótico del acridio infectado se ve disminuído no sólo por la reducción de longevidad de los adultos, sino también por una alteración en los lípidos de los huevos que resulta en una viabilidad disminuída de los mismos (Jackson *et al.,* 1968).

POSIBILIDADES DE USO COMO AGENTE DE BIOCONTROL

Varios autores mencionaron en forma relativamente reciente la posibilidad de utilizar a *M. locustae* como agente de biocontrol de acridios (Brooks, 1988; Odindo, 1991; Raina, 1992; Lomer *et al.,* 1999). No obstante, tales expresiones no fueron acompañadas de intentos o estudios al respecto. Las experiencias de bioterio que se están realizando con especies argentinas de acridios a partir del aislamiento en *S. longicornis* sugieren que *M. locustae* podría ser de utilidad en nuestro país para el control biológico a largo plazo (a través de los años) de especies perjudiciales para el agro. Tal posibilidad encuentra sustento en los resultados hasta ahora obtenidos relacionados con la transmisión y la presencia en comunidades naturales.

La facilidad con que puede transmitirse a M. locustae es una de sus características más favorables desde un punto de vista aplicado. Ha resultado sencillo inducir infecciones en bioterios mediante la simple técnica de administración de quistes en la dieta de las cinco especies argentinas

estudiadas. Incluso, con cantidades relativamente pequeñas de quistes ($5,3 \times 10^8$ / kg. de cebo de salvado de trigo / 0,5 ha) fue posible desencadenar infecciones en poblaciones naturales de otra especie plaga de nuestro país, Dichroplus pratensis (Stal) (Lange, 1998). Una alta eficiencia en la transmisión es uno de los principales factores a considerar cuando se evalúa el potencial de un entomopatógeno como agente de control (Harper, 1987).

Los monitoreos en busca de entomopatógenos protozoarianos asociados a acridios hasta ahora realizados en la Argentina (Lange, 1998, 2002) parecen indicar que *M. locustae* no es un patógeno frecuente, incluso aunque su presencia real resulte subdiagnosticada, como se hipotetizó precedentemente. Tal escasez natural, la eficiente transmisión horizontal y la infectividad para nuestras especies, sugieren que *M. locustae* es un patógeno apto para intentar el enfoque de control microbiano de "colonización o introducción-establecimiento", en el cual el microorganismo es introducido en una población de la plaga donde previamente no existía con el objetivo de que se mantenga y disperse (Roberts *et al.*, 1991). Podría argumentarse que un intento de este tipo tendría pocas posibilidades de éxito pues la presencia así inducida tendería a diluirse con el paso del tiempo, ya que la escasez natural sugiere que hay factores que estarían impidiendo una amplia ocurrencia del patógeno en poblaciones naturales. No obstante, este inconveniente, de presentarse, podría corregirse realizando reintroducciones puntuales con cierta periodicidad ("colonización estacional o aumento inoculativo"), como ha sido propuesto por Roberts *et al* (1991) para el uso de otros entomo-patógenos.

Hasta el presente, los niveles de producción *in vivo* de quistes han sido cuantificados para dos de las especies analizadas. La producción máxima lograda en *D. schulzi* fue $1,9 \times 10^7$ quistes por individuo y la producción promedio fue de $5,1 \times 10^6$ (n = 50). Para *S. cancellata*, la máxima fue $1,5 \times 10^7$ y el promedio $5,4 \times 10^6$ (n = 50). Estos niveles bajos de producción podrían limitar un eventual uso de *M. locustae* dado que resultaría difícil producir cantidades suficientes de quistes como para hacer introducciones de significancia, máxime si es necesario realizarlas con cierta periodicidad. No obstante, se estima que los niveles hasta ahora obtenidos deben considerarse como preliminares pues todavía existe un considerable márgen como para mejorar la productividad de quistes *in vivo,* estudiando otras especies hospedadoras y perfeccionando los protocolos de inoculación y de recuperación de quistes. Justamente, una de

las ventajas del enfoque de colonización respecto del criterio inundativo ("insecticida microbiano" de Roberts *et al.,* 1991) utilizado con bacterias y hongos entomopatógenos, es la menor cantidad de propágulos necesarios para las aplicaciones. Quizás incluso podría intentarse el desarrrollo de medios para el cultivo de *M. locustae,* como se ha logrado para algunas amebas parásitas de vertebrados (Clark, 1995; Diamond *et al.,* 1995).

AGRADECIMIENTOS

A la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la provincia de Buenos Aires, al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) (PIP 4015/96) y al Centro Argentino – Brasileño de Biotecnología (CABBIO) por el apoyo económico brindado.

BIBLIOGRAFÍA

BECNEL, J.J. Y T.G. ANDREADIS (1999). Microsporidia in insects. En: Wittner, M. (ed.), *The Microsporidia and microsporidiosis*, Am. Soc. Microbiol., Washington D.C. pp. 447-501.

BOUCIAS, D.J. Y J.C. PENDLAND (1998). *Principles of Insect Pathology.* Kluwer Academic Press, Boston. 568 pp.

BRADLEY, T.J. (1985). The Excretory System: structure and physiology. En: Kerkut, G.A. y L.I. Gilbert (eds.), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology, Vol. 4. Regulation: Digestion, Nutrition, Excretion*, Pergamon Press, Oxford. pp.421-465.

BRAUN, L., A.B. EWEN Y C. GILLOTT (1988). The life cycle and ultrastructure of *Malameba locustae* (King y Taylor) (Amoebidae) in the migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes* (F.). *Can. Ent.*, 120: 759-772.

BROOKS, W.M. (1988). Entomogenous Protozoa. En: Ignoffo, C.M. (ed.), *Handbook of Natural Pesticides, Vol. 5, Microbial Insecticides*, CRC Press, Boca Raton. Pp. 1-149.

CHAPMAN, R.F. (1982). *The Insects. Structure and function.* Harvard University Press, Cambridge. 919 pp.

CLARK, C.G. (1995). Axenic cultivation of *Entamoeba dispar, E. insolita* and *E. ranarum. J. Euk. Microbiol., 42: 590-593.*

DAVIES, K.A. (1973). Observations on *Malameba locustae* from *Chortoicetes*

terminifera cultures in Australia. *J. Invertebr. Pathol.*, 22: 475.
DIAMOND, L.S., C.G. CLARK Y C.C. CUNNICK (1995). YI-S, a casein-free medium for axenic cultivation of *Entamoeba histolytica*, related *Entamoeba, Giardia intestinalis* and *Trichomonas vaginalis*. *J. Euk. Microbiol.*, 42: 277-278.
ERNST, H.P. Y G.L. BAKER (1982). *Malameba locustae* (K. y T.) (Protozoa: Amoebidae) in field populations of Orthoptera in Australia. *J. Aust. Ent. Soc.*, 21: 295-296.
EVANS, W.A. Y R.G. ELÍAS (1970). The life cycle of *Malamoeba locustae* (K. y T.) in *Locusta migratoria migratorioides* (R. y F.). *Acta Protozool.*, 7: 229-241.
KING, R.L. Y A.B. TAYLOR (1936). *Malpighamoeba locustae* n. sp. (Amoebidae), a protozoan parasitic in the Malpighian tubes of grasshoppers. *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 55: 6-10.
HABTEWOLD, T., J. LANDIN, U. WENNERGEN Y K.O. BERGMAN (1995). Life table of the tef grasshopper, *Aiolopus longicornis*, under laboratory conditions and demographic effects of the pathogen *Nosema locustae. Biol. Control*, 5: 497-502.
HANRAHAN, S.A. (1975). Ultrastructure of *Malameba locustae* (K. y T.), a protozoan parasite of locusts. *Acrida*, 4: 235-249.
HANRAHAN, S.A. (1979). Hatching of cysts of the amoeba, *Malameba locustae* (K. y T.), a locust pathogen. *Proc. Elect. Microsc. Soc. South Afr.*, 9: 105-106.
HANRAHAN, S.A. (1980). Locust haemocyte reaction to a parasitic infection. *Proc. Elect. Microsc. Soc. South Afr.*, 10: 107-108.
HANRAHAN, S.A. (1981). The effect on locust tissues of sulphonamides used to eliminate *Malameba locustae* (K. y T.) infection. *Acrida*, 10: 5-13.
HARPER, J.D. (1987). Applied Epizootiology: Microbial Control of Insects. En: J.R. Fuxa y Y Tanada (eds.), *Epizootiology of Insect Diseases*. Wiley, Nueva York. pp 473-496.
HARRY, O.G. Y L.H. FINLAYSON (1975). Histopathology of secondary infections of *Malpighamoeba locustae* (Amoebidae) in the Desert locust, *Schistocerca gregaria*. *J. Invertebr. Pathol.*, 25: 25-33.
HARRY, O.G. Y L.H. FINLAYSON (1976). The life-cycle and mode of feeding of the locust amoeba *Malpighamoeba locustae*. *Parasitology*, 72: 127-135.
HENRY, J.E. (1968). *Malameba locustae* and its antibiotic control in grasshopper cultures. *J. Invertebr. Pathol.*, 11: 224-233.
HENRY, J.E. (1969). *Protozoan and viral pathogens of grasshoppers*. Tesis doctoral, Montana State University, Bozeman, EE.UU. 152 pp.
HENRY, J.E. (1985). *Melanoplus* spp. En: P. Singh y R.F. Moore (eds.), *Handbook of insect rearing, Vol. 1.* Elsevier Science Publishers, Amsterdam. pp. 451-464.
HENRY, J.E. Y E.A. OMA (1975). Sulphonamide antibiotic control of *Malameba locustae* (K. y T.) and its effects on grasshoppers. *Acrida*, 4: 217-226.
HENRY, J.E., M.C. WILSON, E.A. OMA Y J.L. FOWLER (1985). Pathogenic micro-

organisms isolated from West African grasshoppers. *Trop. Pest Manag.,* 31: 192-195.

HINKS, C.F. Y M.A. ERLANDSON (1994). Rearing grasshoppers and locusts: review, rationale and update. *J. Orthop. Res.,* 3: 1-10.

HINKS, C.F. Y A.B. EWEN (1986). Pathological effects of the parasite *Malameba locustae* in males of the grasshopper *Melanoplus sanguinipes* and its interaction with the insecticide cypermethrin. *Entomol. Exp. Appl.,* 42: 39-44.

JACKSON, L.L., G.L. BAKER Y J.E. HENRY (1968). Effect of *Malamoeba locustae* infection on egg lipids of the grasshopper *Melanoplus bivittatus. J. Insect Physiol.,* 14: 1773-1778.

LANGE, C.E. (1996 a). Protistas patógenos de insectos terrestres. En: Lecuona, R. (ed.), *Microorganismos Patógenos Empleados en el Control Microbiano de Insectos Plaga,* M. Mas, Buenos Aires. pp. 87-104.

LANGE, C.E. (1996 b). Primer registro de *Malameba locustae* King y Taylor en acridios sudamericanos (Orthoptera: Acrididae). *Neotrópica,* 42: 117-118.

LANGE, C.E. (1998). Patógenos asociados a tucuras (Orthoptera: Acridoidea) en las provincias de Buenos Aires y La Pampa. *Monografía Nro. 16, CIC de Bs. As.,* 16pp.

LANGE, C.E. (2002). El desarrollo de *Nosema locustae* Canning (Microspora) para el control biológico de tucuras y las consecuencias de su utilización en la Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Arg..*, en prensa.

LANGE, C.E. Y E. WITTENSTEIN (1998). Susceptibilidad de la langosta *Schistocerca cancellata* (Acrididae) a diferentes entomopatógenos. *Rev. Soc. Entomol. Arg.,* 57: 19-22.

LANGE, C.E., N.E. SÁNCHEZ Y E. WITTENSTEIN (2000). Effect of the pathogen *Nosema locustae* (Protozoa: Microspora) on mortality and development of nymphs of the South American locust, *Schistocerca cancellata* (Orthoptera: Acrididae). *J. Orthoptera Res.,* 9: 77-80.

LARSSON, R., C. BACH DE ROCA Y M. GAJU-RICART (1992). Fine structure of an amoeba of the genus *Vahlkampfia,* a parasite of the gut epithelium of the Bristletail *Promesomachilis hispanica* (Microcoryphia: Machilidae). *J. Invertebr. Pathol.,* 59: 81-89.

LOMER, C.J., R.P. BATEMAN, D. DENT, H. DE GROOTE, O.K. DOURO-KPINDOU, C. KOOYMAN, J. LANGEWALD, Z. OUAMBAMA, R. PEVELING Y M. THOMAS (1999). Development of strategies for the incorporation of biological pesticides into integrated management of locusts and grasshoppers. *Agric. Forest Entomol.,* 1: 71-88.

LIPA, J.J. (1982). An amoeba (Malamoeba locustae K. y T.) and an eugregarine (Gregarina garnhami Canning) parasitizing the Desert locust (Schistocerca gregaria L.) in the Poznan zoological garden. *Wiad. Parazytol.,* 3-4: 489-495.

MARTOJA, M.R. (1969). Données histopathologiques sur une amibiase d'Acridiens. *C. R. Acad. Sc. Paris,* 268: 2442-2445.
NARASIMHAMURTI, C.C. Y S. NAZEER AHAMED (1980). *Malamoeba indica* n. sp. from the Malpighian tubules of *Poicilocera picta. Proc. Indian Acad. Sci. (Anim. Sci.),* 89: 141-145.
ODINDO, M.O. (1991). Potential of microorganisms for locust and grasshopper control. *Insect Sci. Appl.,* 12: 717-722.
PAPILLION, M. Y P. CASSIER (1978). Perturbations morphologiques et physiologiques dues a la présence du protozoaire parasite *Malameba locustae* (K. y T.) chez *Schistocerca gregaria* (F.). *Acrida,* 7: 101-114.
POINAR, G.O. Y G.M. THOMAS (1984). *Laboratory guide to insect pathogens and parasites.* Plenum Press, Nueva York.
PRINSLOO, H.E. (1960). Parasitic microorganisms of the Brown locust, *Locustana pardalina* (Walk.). *S. Afr. J. Agric. Sci.,* 3: 551-560.
PROUX, J. (1991). Lack of responsiveness of Malpighian tubules to the AVP-like insect diuretic hormone on migratory locusts infected with the protozoan *Malameba locustae. J. Invertebr. Pathol.,* 58: 353-361.
RAINA, S.K. (1992). Development of a biocontrol strategy for the management of the desert locust, *Schistocerca gregaria.* En: Lomer, C.J. y C. Prior (eds.), *Biological Control of Locusts and Grasshoppers,* CABI, Wallingford. pp. 54-56.
ROBERTS, D.W., J.R. FUXA, R. GAUGLER, R. GOETTEL, R. JAQUES Y J. MADDOX (1991). Use of pathogens in insect control. En: Pimentel, D. (ed.), *CRC Handbook of Pest Management in Agriculture,* Vol. 2, CRC Press, Boca Raton. Pp. 243-278.
SHUSTER, F.L. (1990). Phylum Rhizopoda. En: Margulis L., J.O. Corliss, M. Melkonian y D.J. Chapman (eds.), *Handbook of Protoctista,* Jones y Bartlett, Boston. pp. 3-18.
TANADA, Y. Y H.K. KAYA (1992). *Insect Pathology.* Academic Press, San Diego. 870pp.
TAYLOR, A.B. Y R.L. KING (1937). Further studies on the parasitic amoebae found in grasshoppers. *Trans. Am. Microsc. Soc.,* 56: 172-176.
VENTER, I. G. (1966). Egg development in the brown locust, *Locustana pardalina* (Walker), with special reference to the effect of infestation by *Malameba locustae. S. Afr. J. Agricul. Sci.,* 9: 429-433.
WANG, L.Y., D.A. STREETT Y J.E. HENRY (1991). *Nosema montanae* n. sp. (Microsporida: Nosematidae), a parasite from the grasshopper *Melanoplus packardii* (Orthoptera: Acrididae). *J. Invertebr. Pathol.,* 58: 211-218.
ZIZKA, Z. (1987). Ultrastructure of trophozoite and cysts of the amoeba *Malamoeba locustae* K. y T. parasitizing the locust *Locusta migratoria* (R. y F). *Acta Protozool.,* 26: 285-290.