

identificación de nematodos
entomopatogénicos en las familias
steinernmatidae y *heterorhabditidae*

K.B. Nguyen and G.C. Smart, Jr.



identificación de nematodos
entomopatógenicos en las familias
stemermatidae y *heterorhabditidae*

Impresión: Ingráfica Cía. Ltda. / 2882554 / Cuenca
Diseño y diagramación: www.SurrealEstudio.com

Todos los Derechos Reservados

La información contenida en esta publicación puede ser utilizada
siempre que se cite la fuente:

La publicación de esta clave fue realizada en el marco de ejecución del Proyecto "Identificación, evaluación y multiplicación de nematodos entomopatogénicos para controlar insectos rizófagos en banano y hortalizas en las provincias de Azuay, Cañar y El Oro", realizado por el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP- Granja Experimental Bullcay, localizada en Cuenca-Ecuador.

Este documento fue traducido por Catalina Bravo Z. Ing. Agrónoma, Investigadora Asistente del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP y revisado por el Ing. Walter Larriva Coronel, Investigador principal del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP. Todo el material (textos y fotografías) fue tomado del Journal of Nematology 28 (3):286-300.1996.The Society of Nematologists 1996.

Cuenca, septiembre del 2004

Agradecimiento

Queremos presentar nuestro agradecimiento al Programa de Modernización de los Servicios Agropecuarios PROMSA, por el financiamiento de la presente publicación.

Un especial reconocimiento y gratitud al Dr. Khuong Nguyen, investigador del Departamento de Entomología y Nematología de la Universidad de la Florida, por autorizarnos la traducción del presente trabajo así como por todos los conocimientos transmitidos.





identificación de nematodos entomopatógenicos en las familias *steinernmatidae* y *heterorhabditidae*

(Nematoda: Rhabditida)¹

K.B. Nguyen and G.C. Smart, Jr.²

Resumen: Esta publicación contiene claves taxonómicas para la identificación de especies de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*. Son presentadas medidas morfométricas de ciertos estadios de la vida en tablas de datos, de tal forma que los datos morfométricos de especies identificadas usando las claves, pueden ser chequeadas en las tablas. Adicionalmente son presentadas fotografías tomadas en el scanning electrón microscopio y diagnósticos de las familias y los géneros de Steinernematidae y Heterorhabditidae.

Palabras clave: Nematodos entomopatógenicos, *Heterorhabditis*, Heterorhabditidae, identificación, nematodo, *Neosteinerema*, SEM, *Steinernema*, Steinernematidae, taxonomía.

La Familia Steinernematidae contiene dos géneros, *Steinernema* Travassos, 1927 (31) y *Neosteinerema* Nguyen & Smart, 1994 (15). La familia Heterorhabditidae contiene un género, *Heterorhabditis* Poinar, 1976 (18). Recientemente, 18 especies de *Steinernema*, 1 especie de *Neosteinerema*, y 7 especies de *Heterorhabditis* han sido descritas y aceptadas como válidas. Aunque algunos autores (13,22) han elaborado claves taxonómicas basados tanto en machos como en infectivos juveniles, la identificación de especies frecuentemente es probada usando solamente infectivos juveniles.

Identificaciones basadas solamente en infectivos juveniles, podrían no ser precisas porque hay pocas características morfológicas, diferenciando entre especies y rangos morfométricos disimulados de varias especies.

Las características de machos y hembras, deben ser usados para precisar identificaciones de la mayoría de especies. Recientemente, Nguyen y Smart (16) reportan que los datos morfométricos de las especies *Steinernema* y *Heterorhabditis*, varían dependiendo del tiempo de madurez, (tiempo después de la primera aparición de los infectivos juveniles) y de como los nematodos son criados in vitro o in vivo.

Estas diferencias complican la identificación en algunos casos. Además estructuras observadas con el scanning electrón microscope (SEM) y la descripción de especies adicionales ha necesitado modificaciones de la familia y diagnósticos genéricos.

El propósito de esta publicación es proveer diagnósticos recientes de familias, géneros y claves taxonómicas para facilitar la identificación de especies. Nosotros hemos incluido SEM microfotografías de hembras, machos e infectivos juveniles de *Steinernema* spp., *Neosteinerema*, y *Heterorhabditis* spp. para proveer ilustraciones detalladas de caracteres diagnosticados. SEM microfotografías de *Steinerne-*

Recibido para publicación 14 de noviembre de 1995.

¹ Revista serie No.R-04821. Estación Experimental de Agricultura de la Florida

² Departamento de Entomología y Nematología, Instituto de ciencias de alimentos y agricultura, Universidad de Florida, Gainesville FL320F1-0620. Email: kbn@gnv.ifas.ufl.edu

ma spp. y *Neosteinerinema longicurvicauda* son de publicaciones previas, y las referencias están citadas en las leyendas de las figuras. SEM microfotografías de *Heterorhabditis* spp. son originales; estas fueron obtenidas con el método de Nguyen y Smart (17). Especímenes de *Heterorhabditis bacteriophora* y *H. megidis* fueron obtenidas de H.K. Kaya y son mantenidas en nuestro laboratorio en larvas de la pupa de la cera, *Galleria mellonella*.

Familia Steinernematidae

Figs. 1-4

Diagnóstico: (Antes de Nguyen y Smart 1994 [15]): Alloionematoidea, Rhabditida. Parásitos obligados de insectos. Los infectivos juveniles llevan la bacteria simbiótica en la cámara bacteriana del intestino. Tanto hembras como machos son necesarios para la reproducción.

Hembras (Fig. 1): El largo del cuerpo variable. Cutícula lisa o anulada. Campos laterales ausentes. Poro excretor visible. Cabeza redondeada o trunca, raramente compensada. Presentes seis labios, parcialmente o completamente fusionados. Cada labio con una papila labial (Fig. 1A), algunas veces estructuras adicionales similares a las papilas, presentes cerca de la papila labial. Cuatro papilas cefálicas. Presentes pequeñas amphidias. Estoma hundido; cheilorabdions pronunciados, formando un anillo semejante a dos grandes puntos esclerotizados vistos lateralmente. Otras partes del estoma formando un embudo asimétrico con el extremo anterior grueso. Esófago rhabditoide con metacorpus ligeramente abultado, isthmus estrecho rodeado por el anillo de nervios, y un bulbo basal grande con una válvula reducida. La válvula esófago intestinal usualmente pronunciada. Sistema reproductivo didelfico, amfidelfico, reflejado. Vulva en la mitad del cuerpo, algunas veces en una protuberancia (Fig. 1B), con (Fig. 1C) o sin (Fig. 1B) epigtygma.

Hembras ovíparas o ovovivíparas con los juveniles desarrollándose hasta el estado infectivo (II) antes de emerger del cuerpo de la hembra. Cola más larga o más corta que el ancho del cuerpo a nivel del ano, con o sin phasmidias prominentes (Figs. 1D, 4B).

Machos (Fig. 2): Más pequeños que las hembras. Extremo anterior usualmente con seis papilas labiales, cuatro papilas cefálicas grandes, y usualmente con un disco perioral (Fig. 2A). Esófago similar al de la hembra. Un solo testis reflejado; espículas pareadas; gubernaculum largo, a veces tan largo como la espícula (Fig. 2B, C); carente de bursa. Cola con la punta redondeada, digitada o mucronada. Una individual y 10 a 14 pares de papilas genitales presentes con 7 a 10 pares prelocales (Fig. 2D - F).

Infectivos Juveniles (II) (= tercer estado de infectivo juvenil) (Fig. 3): Estoma Hundido. Cuerpo delgado, con o sin una envoltura (cutícula de segundo estado juvenil). Cutícula anulada. Campos laterales presentes con 4 a 9 hendiduras y 3 a 8 aristas lisas (parejas) (Fig. 3B - D). Esófago e intestino aparecen reducidos. Poro excretor claro. Cola conoide o filiforme (Figs. 3D, 4F). Phasmidias localizadas por la mitad de la cola, prominentes, inconspicuas o no observadas.

Genero Tipo: *Steinerinema* Travassos, 1927
 Sinónimo: *Neoplectana* Steiner, 1929
 Otro género: *Neosteinerinema* Nguyen & Smart, 1994.

Steinerinema Travassos

Figs. 1-3

Diagnóstico: Hembra con phasmidias no observables, Cola (T) más corta que el ancho del cuerpo a nivel del ano (ABW) ($T/ABW=0.52-0.81$) (Fig. 1D); ovípara, pero algunos huevos frecuentemente retenidos en el cuerpo. Macho más pequeño que la hembra, la parte posterior usualmente con uno individual y once pares de papilas genitales; phasmidias no observadas, la parte terminal de la cola redondeada. (Fig. 2D - F) o con mucron. Infectivo juvenil con phasmidias pequeñas o inconspicuas, cola conoide y mucho más pequeña que el esófago (a lo sumo el 65% del largo del esófago), relación $c \geq 10$.

Especies Tipo: *Steinernema kraussei* (Steiner, 1923) Travassos, 1927. (*Steinernema kraussei* fue considerada la especie tipo de el género hasta 1990 cuando Poinar (22) designa *Steinernema glaseri* como especie tipo y considera *S. kraussei* como especie en estudio. En 1994 Mracek (9) redescubrió a *S. kraussei* de Checoslovaquia y reestableció este como la especie tipo. Recientemente, Reid (26), usando análisis de ADN de diferentes especies y aislamientos de *Steinernema*, construyó el árbol filogenético que indicó que *S. kraussei* y *S. glaseri* eran diferentes especies).

Neosteinernema Nguyen and Smart

Fig. 4

Diagnóstico: Hembras con phasmidias prominentes, en una protuberancia, localizadas en la mitad posterior de la cola; cola más larga que el ancho del cuerpo a nivel del ano ($T/ABW=1,10 - 1,68$) (Fig. 4B); ovovivíparos, juveniles agrupados y llegando a ser infectivos juveniles antes de salir del cuerpo de la hembra. Macho más pequeño que la hembra, la parte posterior con una ventral y 13 a 14 pares de

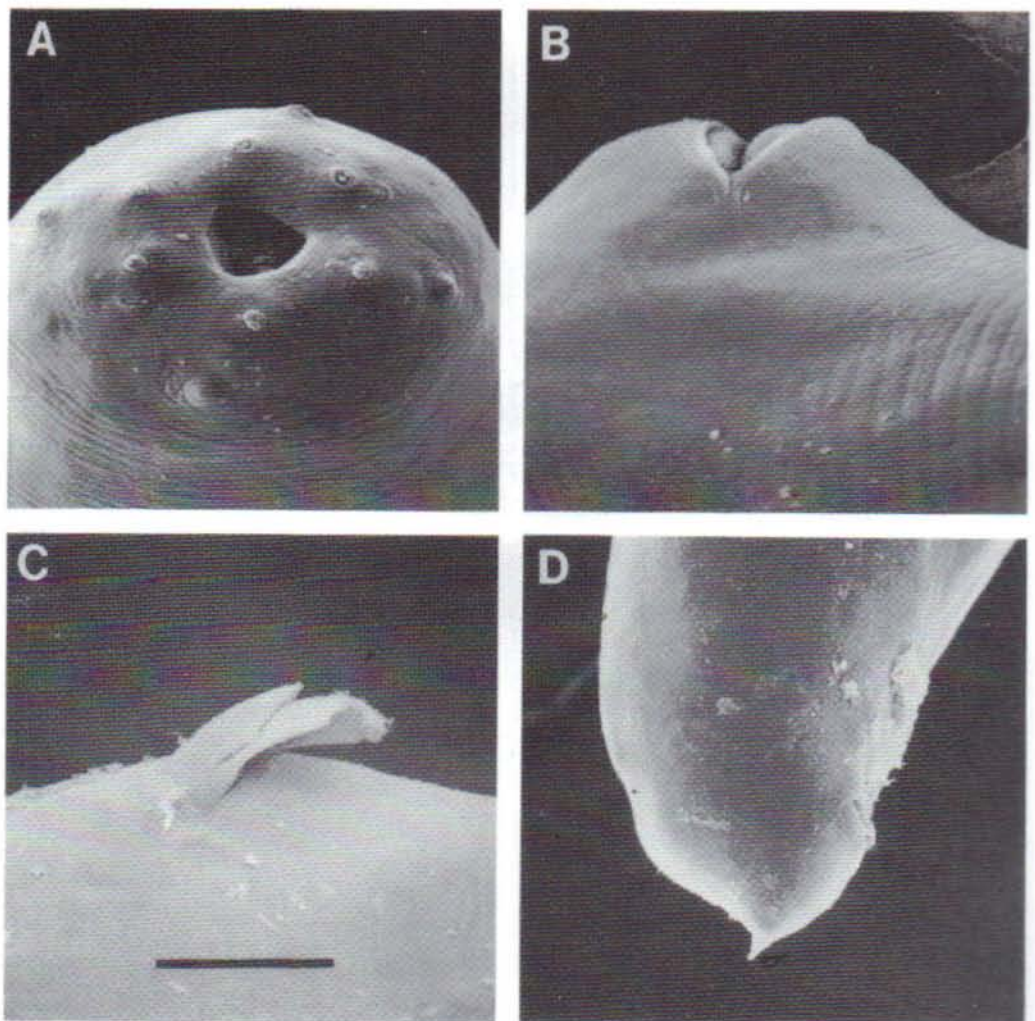


Fig. 1 *Steinernema* hembra de primera generación vista en el microscopio electrónico. A) Vista de la cara de *Steinernema glaseri* mostrando papila cefálica, papila labial, amphidias y estoma B) Vulva en una protuberancia de *Steinernema glaseri* C) Vulva de *S. scapterisci* con epigygma de doble aleta D) Cola de *S. Scapterisci* (después de Nguyen y Smart [12, 17]). Todas las magnificaciones basadas en la escala barra en C: A = 13.6 μ m, B= 8.6 μ m, C= 15 μ m, D= 38 μ m.

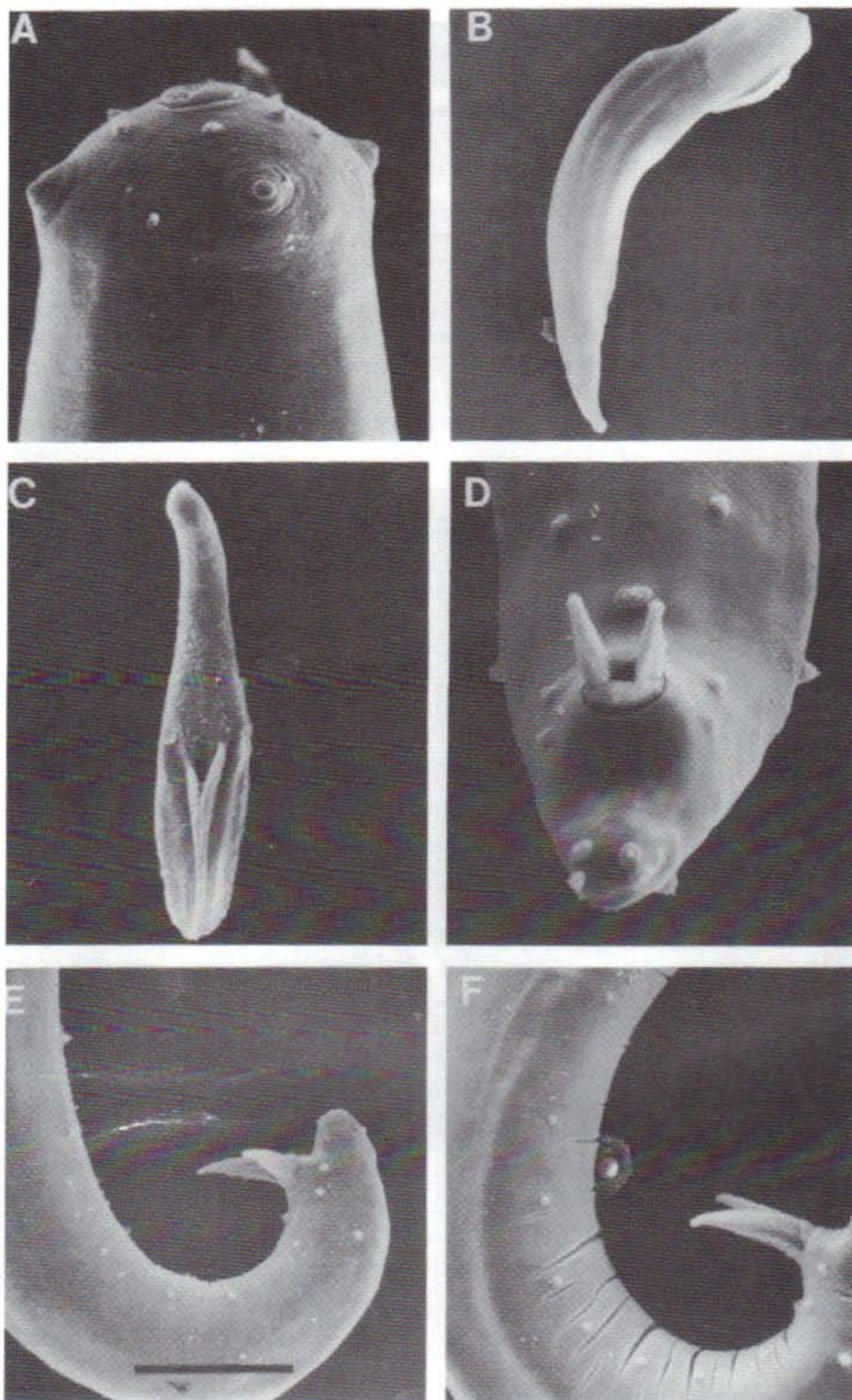


Fig. 2. *Steinernema* macho de primera generación, vista al microscopio electrónico. A) región anterior de *S. Glaseri* con una gran papila cefálica y más pequeña papila labial. B) Espícula de *S. anomali*, vista lateral. C) Gubernaculo de *S. glaseri*, vista ventral. D) Región caudal de *S. anomali* mostrando la punta de la espícula y gubernaculo y la papila genital posterior. E,F) Región posterior de *S.anomali* mostrando 7 (E) a 10 (F) de los pares de papilas genitales preanales, la única papila ventral preanal, y espículas extendidas. (después de Nguyen y Smart [14,16]). Todas las magnificaciones basadas en la escala barra en E: A= 10 μ m, B= 23.1 μ m, C= 17.6 μ m, D= 20 μ m, E= 60 μ m, F= 50 μ m





papilas genitales, 8 de los pares preanales; phasmidias prominentes, punta de la cola digitada (Fig. 4 D); espícula en forma de pie con una giba (Joroba) en la parte dorsal (Fig. 4C). Gubernaculum casi tan largo como la espícula. Infeccivos juveniles con la cabeza ligeramente abultada (Fig. 4E); phasmidia grande, cola elongada o filiforme, tan larga como el esófago, usualmente curvada en el extremo final (Fig. 4F), relación c alrededor de 5.5.

Especie tipo única: *Neosteinerema longicurvicauda* Nguyen & Smart, 1994.

IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIES DE STEINERNEMA

Cuando es posible, los especímenes utilizados para identificar especies de *Steinernema* deben ser criados en vivo (*Galleria mellonella* u otro hospedero apropiado), y los adultos de primera generación deben ser disectados de los cadáveres. Los infectivos juveniles colectados una semana antes de su pri-

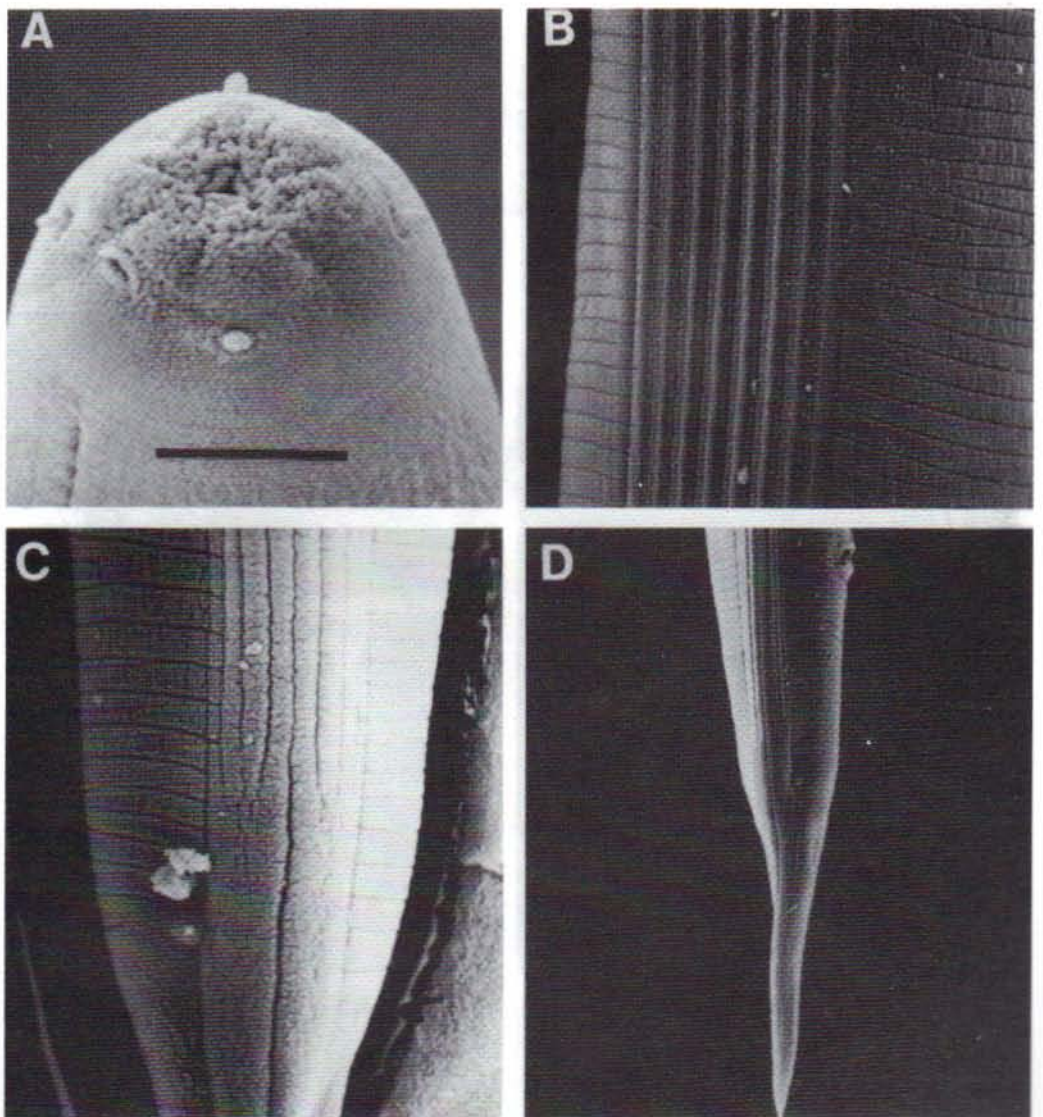


Fig.3 Infeccivo Juvenil de *Steinernema glaseri* vista al microscopio electrónico. A) región anterior con cuatro papilas cefálicas, una de dos anfíbias, estoma, y el inicio del campo lateral. B) campo lateral con 8 canales. C) Campo lateral a nivel de la pasmidia mostrando ocho canales llegando a ser dos grandes, bandas llanas. D) cola mostrando el ano y phasmidia cerca de la mitad de la cola. (después de Nguyen y Smart [17]). Todas las magnificaciones basadas en la escala barra en A: A= 6 μm , B= 12 μm , C= 7.5 μm , D= 25 μm .

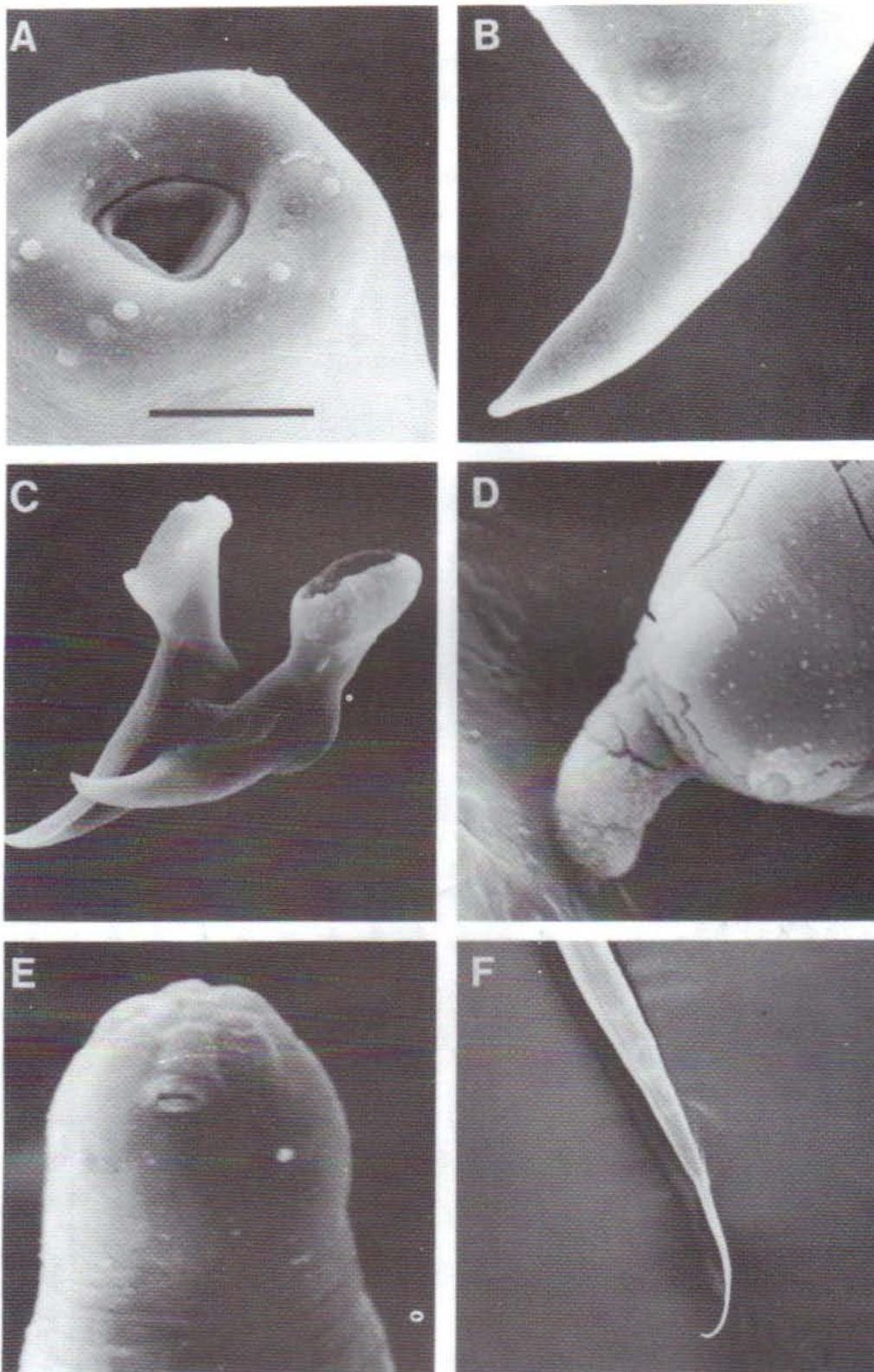


Fig. 4. *Heterorhabditis* spp. vista al microscopio electrónico A,B,C,D,E,I) *H. bacteriophora* A) Vista de la cara de una hembra hermafrodita. B) Región vulval de una hembra hermafrodita, mostrando anillos elípticos alrededor de la vulva. D) Región posterior del macho, mostrando la bursa y papila genital E) Vista lateral de la espícula. I) IJ (sin envoltura) región anterior con un prominente diente dorsal y una amphidia. C,F,G,H) *H. megidis*. C) Vista de la cara de una hembra anfimictica F)

Tabla 1. Morfométricos (en μm) del tercer estado de infectivos juveniles de especies de *Steinernema* y *Neosteinernema* (en orden descendiente del largo de cuerpo)

SPb	Caracteres Morfométricos ^a (Rango)										
	L	W	EP	NR	ES	T	a	b	c	D%	E%
CUBc	1,283 (1,149-1,508)	37 (33-46)	106 (101-114)	116 (106-130)	148 (135-159)	Steinernema 67 (61-77)	36	8.6	19.2	70	160
PUEc	,171 (1,057-1,238)	51 (47-54)	95 (90-102)	117 (111-121)	143 (138-147)	94 (88-107)	23	8.2	12.4 (11.6-13.6)	66 (662-74)	101 (88-108)
GLAd	1,130 (864-1,448)	43 (31-50)	102 (87-110)	120 (112-126)	162 (158-168)	78 (62-87)	29	7.3	14.7 (13.6-15.7)	65 (58-71)	131 (122-138)
LONc	1,063	40	81	107	145	95	27	7.3	11.2	56	85
ANOd	1,034 (724-1,408)	46 (28-77)	83 (76-86)	109 (100-120)	138 (123-160)	75 (64-84)	26	7.6	13.8 (9.4-16.9)	55 (52-59)	119 (106-130)
KRAc	951 (797-1,102)	33 (30-36)	63 (56-66)	105 (99-111)	134 (119-145)	79 (63-86)	29	7.1	12.1	47	80
NEOc	885 (741-988)	34 (28-42)	18 (14-22)	107 (100-119)	144 (130-159)	80 (64-97)	26	6.1	11.2	12	23
FELd	849 (736-950)	26 (22-29)	62 (53-67)	99 (88-112)	136 (115-150)	81 (70-92)	31	6.0	10.4 (9.1-14.2)	45 (10-15)	78 (18-30)
BICc	769 (648-873)	29 (25-33)	61 (53-65)	92 (88-100)	124 (113-135)	72 (63-78)	27	6.2	10.7 (9.7-12)	50 (40-60)	84 (80-100)
AFFc	693 (608-880)	30 (28-34)	62 (51-69)	95 (88-104)	126 (115-134)	66 (64-74)	23	5.5	10.5 (9.5-11.5)	49 (43-53)	94 (74-108)
INTd	671 (608-800)	29 (25-32)	65 (59-69)	93 (85-99)	123 (110-133)	66 (53-74)	23	5.3	10.0 (9.3-10.8)	51 (48-58)	96 (89-108)
RIOc	622 (561-701)	28 (26-30)	56 (51-64)	87 (84-89)	114 (109-116)	54 (46-59)	23	5.4	11.6 (10.1-12.4)	49 (45-55)	105 (93-111)
KUSc	589 (524-662)	26 (22-31)	46 (42-50)	76 (70-84)	111 (106-120)	50 (44-59)	22.5	5.3	11.7 (9.9-12.9)	41 (38-44)	92 (84-95)
SCAc	572 (517-609)	24 (18-30)	39 (36-48)	97 (83-106)	127 (113-134)	54 (48-60)	24	4.5	10.7 (9.2-11.7)	31 (27-40)	73 (60-80)
CARd	558 (438-650)	25 (20-30)	38 (30-60)	85 (76-99)	120 (103-190)	53 (46-61)	21	4.0	10.0 (9.1-11.2)	26 (23-28)	60 (54-66)
RARd	511 (443-573)	23 (18-26)	38 (32-40)	70 (60-88)	102 (89-120)	51 (44-56)	23	4.7	9.8 (8.7-11.0)	35 (30-39)	72 (63-80)
RITc	510 (470-590)	21.5 (19-24)	43 (40-46)	73 (68-85)	91.5 (85-95)	49 (44-54)	24.1	5.5	10.6 (9.2-13.1)	46 (44-50)	88 (79-97)
LONGc	926 (789-1,084)	24 (20-31)	68 (61-76)	107 (92-125)	164 (144-188)	Neosteinernema 167 (141-190)	39	5.6	5.5 (4.7-6.5)	41 (38-46)	41 (37-48)

a) l= largo; W= ancho (parte más ancha); EP= distancia desde el extremo anterior hasta el poro excretor; NR= distancia desde el extremo anterior hasta el anillo de nervios; ES= largo del esófago; T= largo de la cola; a= L/W; b= L/ES; c= L/T; D%= EP/ES x 100; E%= EP/T x 100

b) SP= especies; AFF= affinis; ANO= anomalus; BIC= bicornutum; CAR= cariocapsae; CUB= cubana; FEL= felix; GLA= glaseri; INT= intermedia; KRA= krausei; KUS= kushitai; LONC= longicaudum; NEO= neocurtis; PUE= puertoricensis; RAR= rara; RIO= nobravis; RIT= ritteri; SCA= scapientis.

c) Después del autor original citado en la tabla 2.

d) Después de Poinar (22).

— Datos no disponibles.

Tabla 2. Morfométricos(en μm) de la primera generación de machos usados para la identificación de especies de *Steinernema* y *Neosteinernema* (en orden descendente del largo de la espícula)

Especies	Espícula	Gubernaculum	W	D% ^a	Criterios ^a (Rango)			MUC	N	Referencia
					SW	GS	SW			
<i>intermedia</i>	91 (84-100)	64 (56-75)	168 (113-207)	67 (58-76)	1.24 (1.03-1.39)	0.69 (0.62-0.77)	a	10	(13)	
<i>anomali</i>	84 (81-91)	55 (49-60)	188 (184-219)	93 (88-102)	2.10	0.65 (0.60-0.66)	a	10	(5)	
<i>scaptisici</i>	83 (72-92)	65 (59-75)	156 (97-213)	38 (32-44)	2.52 (2.04-2.80)	0.78 (0.69-0.84)	P	10	(11)	
<i>puertoricensis</i>	78 (71-88)	40 (36-45)	101 (67-148)	77	1.52	0.51	a	10	(27)	
<i>glaseri</i>	77 (64-90)	55 (44-59)	72 (54-92)	70 (60-78)	2.05 (1.64-2.43)	0.71 (0.64-0.85)	a	10	(13)	
<i>longicaudum</i>	77	48	155	62	1.60	0.62	a	10	(28)	
<i>affinis</i>	70 (67-86)	46 (37-56)	118 (95-164)	61 (60-66)	1.17	0.66	P	10	(21)	
<i>feltiae</i>	70 (65-77)	41 (34-47)	75 (60-90)	60 (51-64)	1.13 (0.99-1.30)	0.59 (0.52-0.61)	P	25	(19)	
<i>ritteri</i>	69 (58-75)	44 (33-50)	130 (110-176)	47 (44-50)	1.56 (1.44-1.57)	0.64 (0.57-0.67)	a	30	(3)	
<i>riobravisi</i>	67 (62.5-75)	51 (47.5-56.2)	133 (116-159)	71 (60-80)	1.14	0.76	a	10	(1)	
<i>carpocapsueb</i>	66 (58-77)	47 (39-55)	101 (77-130)	41 (27-55)	1.72 (1.40-2.00)	0.71 (0.59-0.88)	P	60	(12)	
<i>bicornutum</i>	65 (53-70)	48 (38-50)	109 (80-127)	52 (50-60)	2.22 (2.18-2.26)	0.72	a	20	(30)	
<i>kushidai</i>	63 (48-72)	44 (39-60)	97 (75-156)	51 (42-59)	1.50	0.70	a	20	(8)	
<i>cubana</i>	58 (50-67)	39 (37-42)	97 (77-117)	70	1.41	0.67	a	20	(10)	
<i>neocurtillis</i>	58 (52-64)	52 (44-59)	111 (77-144)	19 (13-26)	1.43 (1.18-1.64)	0.89 (0.82-0.93)	P	10	(13)	
<i>kraussei</i>	49 (42-53)	33 (29-37)	128 (110-144)	53	1.10	0.67	P	?	(9)	
<i>rata</i>	47 (42-52)	34 (23-38)	123 (100-142)	50 (44-51)	— (0.91-1.05)	0.94 (0.55-0.73)	P	20	(2)	
<i>longicirivcauda</i>	61 (52-67)	59 (52-66)	97 (67-140)	44 (30-54)	1.03 (0.80-1.50)	0.97 (0.84-1.08)	a	25	(15)	

^aGubern= gubernaculum; W= ancho del cuerpo (la parte más ancha); D%= distancia desde el extremo anterior hasta el poro excretor; dividido para largo del esfago x 100; SW= largo de la espícula dividido para el ancho del cuerpo a nivel del ano; GS= largo del gubernaculum dividido para el largo de la espícula; MUC= mucron; a= ausente; p= presente; ND= número de especímenes medidos.
^bMedidas de 10 machos cada uno de seis *strains*: Agnotos, All, Breton, DD-136; Italian, y Mexican.
 — Datos no disponibles

mera emergencia de los cadáveres, usualmente reúnen los criterios de las descripciones originales pero el largo del cuerpo de estos, colectados después de este período tiende a ser significativamente más corto (16). Todos los datos deben ser obtenidos de especímenes o vivos o fijados.

Especies de *Steinernema* pueden ser identificados con la siguiente clave, pero la identificación debe ser verificada comparando sus medidas morfométricas con los datos originales registrados en las tablas 1 y 2, y con descripciones originales de ser posible.

Relaciones y abreviaturas usadas en la siguiente clave son: D% = EP/ES x 100 (EP = distancia desde la parte final anterior hasta el poro excretor; ES = largo del esófago); E% = EP/T x 100 (EP = distancia desde la parte final anterior hasta el poro excretor; T = largo de la cola); IJ = infectivo juvenil; SW = largo de la espícula dividido para el ancho del cuerpo a nivel del ano.

CLAVE PARA ESPECIES DEL GENERO STEINERNEMA

1. Infectivo juvenil con una estructura similar a un doble cuerno en la región labial *S. bicornutum* Tallosi et al. 1995 (30) 2
 IJ sin una estructura similar a un doble cuerno en la región labial 3
2. Largo del cuerpo del infectivo juvenil (IJ) >800 µm 3
 Largo del cuerpo del (IJ) <800 µm 10
3. Promedio del largo del IJ mayor que 1,000 µm (1,034 - 1,171); cola del macho sin mucron 4
 Promedio del largo del IJ menor que 1,000 µm (849 - 951); cola del macho con o sin mucron 8
4. Cola del IJ menor que 85 µm (67 -78); E% > 106 (119 - 160); hembra sin epigtygma 5
 Promedio del largo de la cola del IJ mayor que 90 µm (95 - 95); E% < 105 (85 -101); hembra con o sin epigtygma de doble aleta 7
5. Relación SW alrededor de 1.4, espícula alrededor de 58 µm (50-67), E% alrededor de 160 *S. cubana* Mracek et al., 1994 (10) 6
 Relación SW alrededor de 2.0, largo de la espícula > 72 µm (77 -84); E% menor a 140
6. En el IJ, distancia desde el extremo anterior al poro excretor 76 - 86 µm; en el macho, D% alrededor de 93 (88 - 102), largo de la espícula 84 µm con la punta abultada *S. anomali* (Kosodoi, 1984) Poinar y Kosodoi, 1988(5,25).
 En el IJ, distancia desde el extremo anterior al poro excretor 87 - 110 µm; en el macho, D% alrededor de 70 (60 - 78); largo de la espícula 77 µm, punta de la espícula con una gran abertura semejante a una ranura. *S. glasevi* (Steiner, 1929) Wouts et al. 1982 (33)
7. Promedio de E% 101 (88 - 108); en el macho D% alrededor de 77 *S. puertoricensis* Roman & Figueroa, 1994 (27)
 Promedio de E% 85 (rango desconocido); en el macho D% alrededor de 62 *S. longicaudatum* Shen & Wang, 1991 (28)
8. En el IJ, distancia desde el extremo anterior al poro excretor extremadamente corto, 18 µm (14 -22), E% = 23; en el macho, promedio de D% 19 (13 -25) *S. neocurtillis* Nguyen & Smart, 1992 (13) 9
 En el IJ, distancia desde el extremo anterior al poro excretor 53-67 µm, E% alrededor de 80; en el macho, D% > 50
9. Promedio del largo del cuerpo del IJ 951 µm (797 - 1,102); largo de la espícula alrededor de 49 µm (42 -53) *S. kraussei* (Steiner, 1923) Travasos, 1927 (9,31)
 Promedio del largo del cuerpo del IJ 849 µm (736 - 950); largo de la espícula alrededor de 70 µm (65-77) *S. feltiae* (=bionis) Filipjev, 1934) Poinar, 1990 (22)



10. Promedio del largo del IJ > 600 μm (622 – 693)..... 11
 Promedio del largo del IJ < 600 μm (510 – 589)..... 13
11. Estructura como una espina dentro de la punta de la cola del IJ; mucron presente *S. affinis* (Bovien, 1937) Poinar, 1990 (21). Sin la estructura como espina dentro de la punta de la cola del IJ; mucron ausente I 12
12. Largo de la espícula alrededor de 93 μm (80 – 106); E% alrededor de 94 (74 – 108)..... *S. intermedia* (Poinar, 1985) Poinar, 1990 (20,22)
 Largo de la espícula alrededor de 67 μm (63 – 75); E % alrededor de 105 (93 – 111)..... *S. riobravis* Cabanillas et al., 1994 (1)
13. Promedio del largo del cuerpo del IJ alrededor 510 μm 14
 Promedio del largo del cuerpo del IJ > 540 μm 15
14. Primera generación de machos sin mucron; largo de la espícula 69 μm (58 – 75); SW= 1.56 (1.44 – 1.57); en IJ, promedio de E% 88..... *S. ritteri* Doucet & Doucet, 1990 (3).
 Primera generación de machos con mucron; largo de la espícula 47 μm (42– 52), SW= 0.94 (0.91 – 1.05); en IJ, promedio de E% 72..... *S. rara* (Doucet, 1986) Poinar, 1990 (2,22).
15. Primera generación de machos sin mucron; en IJ, promedio de E% 92..... *S. kushidai* Mamiya, 1988 (8).
 Primera generación de machos con mucron; en IJ, E% menos que 92..... 16
16. En IJ, promedio de E% 73; en los machos promedio de la relación SW 2.52 (2.04-2.80), largo de la espícula 83 μm (72-92); hembras con un epitygma largo de doble aleta *S. scapterisci* Nguyen & Smart, 1990 (11)
 En IJ, promedio de E% 60; en los machos; promedio de la relación SW 1.72 (1.40-2.00), largo de la espícula 66 μm (58-77); epitygma de doble aleta rara vez presente..... *S. carpocapsae* (Weiser; 1955) Poinar, 1990 (22).



Nota: *Steinernema caudatum* fue descrita por Xu y Wang, 1991 en China. No hemos podido obtener una traducción de la publicación y no hemos podido incluir las especies en esta clave.

Basado en los datos de la tabla 1 y 2, *Steinernema puertoricensis* y *S. longicaudum* están cercanamente relacionadas. Estudios de cruzamiento-hibridación necesitan ser ejecutados para clarificar la situación.

Familia Heterorhabditidae

Fig. 5

Diagnóstico (enmendado): Rhabditoidea, Rhabditida. Parásitos obligados de insectos. Infectivos juveniles llevando una bacteria simbiótica. Presenta tanto hembras hermafroditas como amphimicticas.

Hembras hermafroditas: (Fig. 5 A,B): Después de entrar en el insecto hospedero, los infectivos juveniles se desarrollan en hembras hermafroditas. Cabeza trunca, ligeramente redondeada, seis labios cónicos bien desarrollados (Fig. 5 A), cada uno separados con una papila terminal; una o dos pequeñas estructuras levantadas, algunas veces visibles en la base de cada labio; pequeña abertura amphidial. Estoma ancho pero superficial; presenta cheilorhabdions, formando un anillo, visto lateralmente se asemeja a dos puntos retráctiles. Otras partes del estoma fisionados para formar una porción posterior hundida. La porción posterior del estoma cubierta por el esófago. El esófago sin el metacarpus; isthmus delgado, bulbo basal abultado; válvula en el bulbo basal reducido. Anillo de nervios en la mitad del isthmus. Poro excretor usualmente posterior al final del esófago. Bulbo medio, como una abertura, rodeado por anillos elípticos (Fig. 5B); ovotestis amphidelfico, reflejado. Ovíparos, después llegando a ser ovovivíparos. Cola puntiaguda, mas larga que el ancho del cuerpo al nivel del ano, usualmente presente un abultamiento postanal.

Hembra amphimictica (Fig. 5C): Similar pero usualmente mas pequeña que las hembra hermafrodita; papila labial prominentes. Sistema reproductivo amphidelfico, vulva no funcional para deposición de huevos, pero funcional para aparearse.

Macho (Fig. 5D-F): Un testis reflejado espículas pareadas, separadas, ligeramente curva ventralmente (Fig. 5E). Cabeza de la espícula corta, compensado desde la lámina por una constricción. Gubernaculum (Fig. 5F) usualmente alrededor de la mitad del largo de la espícula. La bursa (Fig. 5 D) con 9 pares de papilas genitales.

Infectivo juvenil (Fig.5G-I): Tercer estado de infectivo juvenil IJ, usualmente con envoltura (cutícula del segundo estado juvenil). Envoltura con un patrón anterior (Fig. 5 G) y canales longitudinales (Fig. 5H); cutícula del IJ estriada con una suave banda marginada por dos aristas en campos laterales. Cabeza con dientes dorsales prominentes (Fig. 5 I). Boca y ano serrado. El estoma aparece como una cámara serrada con paredes laterales. Esófago e intestino reducido. Poro excretor posterior al anillo de nervios. Células de las bacterias simbióticas presentes en el intestino. Cola punteada.

Género tipo y único: *Heterorhabditis*
Poinar, 1976
Heterorhabditis Poinar

Especies tipo: *Heterorhabditis bacteriophora*
Poinar, 1976

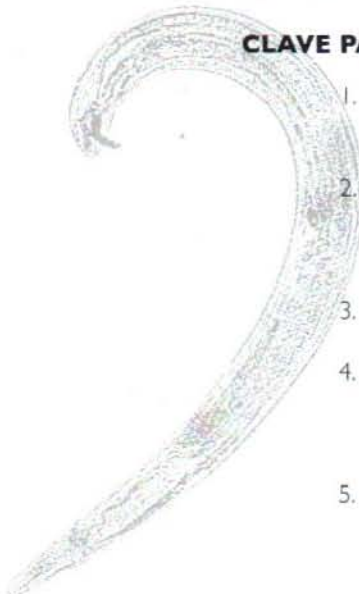
Diagnóstico: En cuanto a familia.

IDENTIFICACION DE ESPECIES DE HETERORHABDITIS

Actualmente el género contiene siete especies. Las especies son identificadas basándose principalmente en las medidas morphometricas del infectivo juvenil IJ, pero la siguiente clave usa una combinación de las características tanto del infectivo juvenil como del macho. Después de que una especie es identificada usando la clave, la identificación debería verificarse comparando las medidas morphometricas con los datos de las descripciones originales alistados en la tabla 3 y 4, o de descripciones originales de ser posible.

Las relaciones y abreviaturas utilizadas en la siguiente clave son: E% = $EP/T \times 100$ (EP = distancia desde el extremo anterior hasta el poro excretor; T = largo de la cola); GS% = largo del gubernaculum dividido para el largo de la espícula $\times 100$; IJ = infectivo juvenil.

CLAVE PARA ESPECIES DEL GÉNERO HETERORHABDITIS



1. Promedio del largo del cuerpo del IJ $> 700 \mu\text{m}$ (736-800) 2
megidis Poinar et al., 1987 (23)
2. Promedio del largo del cuerpo del IJ $< 700 \mu\text{m}$ (528-685)
Cola del IJ corta, promedio $76 \mu\text{m}$ (68-80), E % alrededor de 147 6
brevicaudis Lui, 1994 (6).
Cola del IJ mas larga, promedio $80 \mu\text{m}$ (84-119), E % = 127 o menos 3
3. Promedio del largo del cuerpo del IJ $> 600 \mu\text{m}$ 4
4. Promedio del largo del cuerpo del IJ $< 600 \mu\text{m}$ 6
5. En el IJ, E% $> 120 \mu\text{m}$, c > 7 ; lámina de la espícula con dilatación ventral 5
argentinensis Stock, 1993 (29)
En el IJ, E% $< 120 \mu\text{m}$, c < 7 ; lámina de la espícula sin dilatación ventral 5
6. Promedio del largo del cuerpo del IJ $654 \mu\text{m}$, E% alrededor de 96, c alrededor 6.1; promedio del ancho del cuerpo del macho $51 \mu\text{m}$, promedio del largo de la espícula $45 \mu\text{m}$ 7
marelatus Liu & Berry, 1996 (7).
Promedio del largo del cuerpo del IJ $685 \mu\text{m}$, E% alrededor de 108, c alrededor de 6.6; promedio del ancho del cuerpo del ma-

- macho 41 μm , promedio el largo de la espícula 51 μm
zealandica (Wouts, 1979) Poinar, 1990 (22,32)
6. Promedio del largo del cuerpo del IJ 528 μm , E% alrededor de 94.....
indicus Poinar et al., 1992 (24)
- Promedio del largo del cuerpo del IJ 570 μm , E% > 100.....7
7. E% del IJ alrededor de 127; promedio de la espícula 47 μm ; lámina con dilatación ventral
hawaiiensis Gardner et al. 1994 (4)
- E% del IJ alrededor de 112, promedio de la espícula 40 μm , lámina sin expansión ventral
bacteriophora Poinar, 1976 (18).

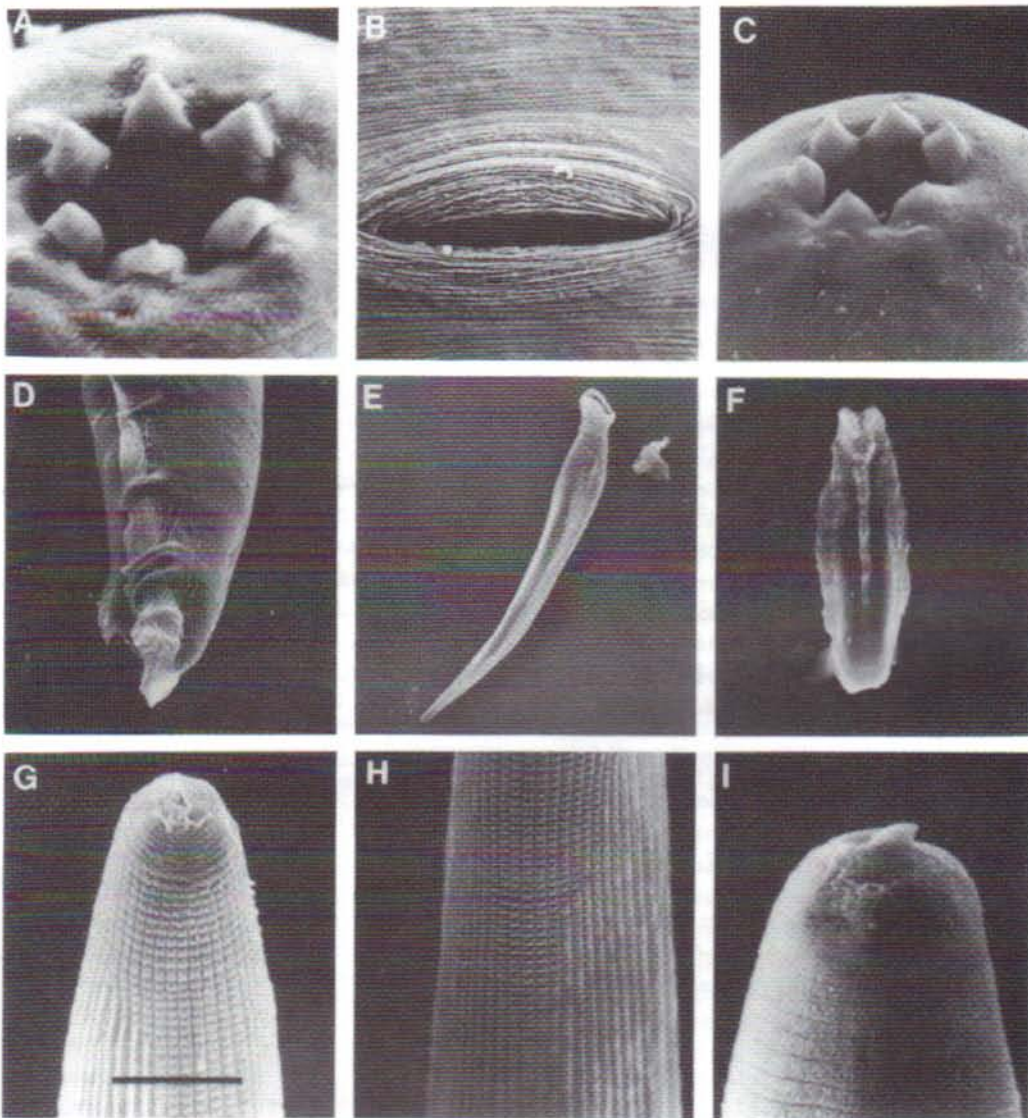


Fig.5 Infeccioso Juvenil de *Steinernema glaseri* vista al microscopio electrónico. A) región anterior con cuatro papilas cefálicas, una de dos anfibias, estoma, y el inicio del campo lateral. B) campo lateral con 8 canales. C) Campo lateral a nivel de la pasmidia mostrando ocho canales llegando a ser dos grandes, bandas llanas. D) cola mostrando el ano y phasmidia cerca de la mitad de la cola. (después de Nguyen y Smart [17]). Todas las magnificaciones basadas en la escala barra en A: A= 6 μm , B= 12 μm , C= 7.5 μm , D= 25 μm .



Tabla 3 Morfométricos(en μm) del tercer estadio de infectivos juveniles de especies de *Heterorhabditis* (en orden descendente del largo del cuerpo del infectivo juvenil)

SPb	Caracteres Morfométricos _ (Rango)										
	L	W	EP	NR	ES	T	a	b	c	D%	E%
MEG ^c	768 (736-800)	29 (27-32)	131 (123-142)	109 (104-115)	155 (147-160)	119 (112-128)	26 (23-28)	5.0 (4.6-5.9)	6.5 (6.1-6.9)	85 (81-91)	110 (103-120)
ZAF ^c	685 (570-740)	27 (22-30)	112 (94-123)	100 (90-107)	140 (135-147)	102 (87-119)	25 (24-26)	4.9 (4.2-5.0)	6.6 (6.2-6.7)	80 (70-84)	108 (103-109)
ARG ^d	657 (610-710)	31 (24-38)	107 (68-122)	95 (82-116)	132 (101-150)	84 (70-105)	21	5	7.8	81	127
MAR ^d	654 (588-700)	28 (24-32)	102 (81-113)	99 (83-113)	133 (121-139)	107 (99-117)	24 (21-29)	4.9 (4.7-5.4)	6.1 (5.5-6.6)	77 (60-86)	96 (89-110)
BAC ^c	588 (512-671)	23 (18-31)	103 (87-110)	85 (72-93)	125 (100-139)	98 (83-112)	25 (17-30)	4.5 (4.0-5.1)	6.2 (5.5-7.0)	84 (76-92)	112 (103-130)
HAW ^d	575 (506-631)	25 (21-28)	114 (95-132)	92 (79-103)	133 (115-181)	90 (82-108)	23	4.3	6.4	86	127
BRE ^d	572 (528-632)	22 (20-24)	111 (104-116)	101 (96-104)	124 (120-136)	76 (68-80)	26	4.6	7.6 (6.6-8.6)	90	147
IND ^d	528 (479-573)	20 (19-22)	98 (88-107)	82 (72-85)	117 (109-123)	101 (93-109)	26 (25-27)	4.5 (4.3-4.8)	5.3 (4.5-5.6)	84 (79-90)	94 (83-103)

aL= largo; W= ancho (parte más ancha); EP= distancia desde el extremo anterior hasta el poro excretor; NR= distancia desde el extremo anterior hasta el anillo de nervios; ES= largo del esófago; T= largo de la cola; a= LW;

b= LfES; c= Lt; D% = EP/ES x 100; E% = EP/T x 100

b Sp= especies; ARG= *argentinensis*; BAC= *bacteriophora*; BRE= *brevicaudis*; HAW= *hawwaisensis*; IND= *indicus*; MAR= *marelatius*; MEG= *megidis*; ZEA= *zealandica*.

c Después de Poinar (22)

d Después del autor original.

— Datos no disponibles.

Tabla 4 Morfométricos(en μm) de machos usados para la identificación de especies de *Heterorhabditis*

ESPECIES	Concepto ^a (Rango)						REFERENCIA
	ESPICULA	GUBERN	W	D%	GS%	N	
<i>argentinensis</i>	46 (42-49)	23 (20-26)	56 (42-70)	138	50	25	(29)
<i>bacteriophora</i>	40 (36-44)	20 (18-25)	43 (38-46)	117	50	15	(18)
<i>bevicaudis</i>	47 (44-48)	22 (20-24)	43 (40-48)	88	47	20	(6)
<i>hawaiiensis</i>	47 (40-51)	22 (18-26)	63 (49-84)	110	47	20	(4)
<i>indicus</i>	43 (35-48)	21 (18-23)	42 (35-46)	122	49	12	(24)
<i>megidis</i>	49 (46-54)	21 (17-24)	47 (44-50)	122	43	15	(23)
<i>marelatus</i>	45 (42-50)	19 (18-22)	51 (48-56)	113	41	?	(7)
<i>zealandica</i>	51 (48-55)	22 (19-25)	41 (36-45)	118	43	15	(32)

^aGubern= gubernaculum; W= parte más ancha del cuerpo; D%= distancia desde el extremo anterior hasta el poro excretor; dividido para el largo del esófago x 100; GS%= largo del gubernaculum dividido para el largo de la espícula x 100; (calculado de medidas del autor originales); N= número de especímenes medidos.

Para identificar especies de *Steinernema* y *Heterorhabditis* lo siguiente debe ser considerado:

- i) Las medidas morfométricas del IJ son insuficientes para la identificación de especies, y las características de hembra y macho tienen que considerarse.
- ii) IJ producidos en medios artificiales (crianza en laboratorio o productos comerciales) son más cortos (raramente más largos) que aquellos producidos in vivo (16), y usualmente no reúne el criterio de la descripción original.
Machos y hembras colectados 4 o 5 días después de la muerte del hospedero, e IJ colectados una semana después de la primera aparición en los cadáveres, usualmente reúne descripciones de las especies originales.
- iii) Medidas de por lo menos 10 individuos deberían obtenerse antes de tratar de identificar las especies.
- iv) Características morfológicas y morfométricas de diferentes estados del nematodo identificado deberían ser verificadas con la descripción original (datos morfométricos están alistados en las tablas 1- 4) para confirmar la identificación.

LITERATURA CITADA

1. Cabanillas, H.E., G.O. Poinar, Jr. and J.R. Raulston. 1994. *Steinernema riobravisi* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae) from Texas. *Fundamental and Applied Nematology* 17:123-131.
2. Doucet, M.M.A. 1986. A new species of *Neoplectana* Steiner, 1929 (Nematoda: Steinernematidae) from Cordoba, Argentina. *Reveu de Nématologie* 9:317-323.
3. Doucet, M.M.A., and M.E. Doucet. 1990. *Steinernema ritteri* n. sp. (Nematodo: Steinernematidae) with a key to the species of the genus. *Nematologica* 36:257-265.
4. Gardner, S.L., S.P. Stock, and H.K. Kaya. 1994. A new species of *Heterorhabditis* from the Hawaiian islands. *Journal of Parasitology* 80: 100-106.
5. Kosodoi, E.M. 1984. A new entomopathogenic nematode *Neoplectana anomali* sp. n. (Rhabditida: Steinernematidae) and observations on its biology. *Zoological Journal* 63:1605-1609.
6. Liu, J. 1994. A new species of the genus *Heterorhabditis* from China (Rabbitida : Heterorhabditidae) *Acta Zootaxonómica Sinica* 19:268-272.
7. Liu, J., and R.E. Berry. 1996. *Heterorhabditis mavelatus* n. Sp. (Rhabditida: Hetrorhabditidae) from Oregon. *Journal of invertebrate Pathology* 67:48-54.
8. Mamiya, Y. 1988. *Steinernema kushidai* n. Sp. (Nematoda: Steinernematidae) associated with scarabaeid beetle larvae from Shizuoca, Japan. *Applied Entomology and Zoology* 23:313-320.
9. Mracek, Z. 1994. *Steinernema kraussei* (Steiner, 1923) (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae): Redescription of its topotype from Westphalia. *Folia Parasitologica* 41:59-64.
10. Mracek, Z., E.A. Hernandez, and N. E. Boemare. 1994. *Steinernema cubana* sp. n. (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae) and the preliminary characterization of its associated bacterium. *Juornal of Invertebrate Phathology* 64: 123-129.
11. Nguyen, K.B., and G.C. Smart, Jr. 1990. *Steinernema scapterisci* n. sp. (Steinernematidae: Nematoda). *Journal of Nematology* 22: 187-199.
12. Nguyen, K.B., and G.C. Smart, Jr. 1992. Addendum to the morphology of *Steinernema scapterisci*. *Journal of Nematology* 24:478-481.
13. Nguyen, K.B., and G.C. Smart, Jr. 1992. *Steinernema neocurtillis* n. sp. (Rhabditida: Stinerematidae) and a key to species of the genus *Steinernema* and a key to species of the *Steinernema*. *Journal of Nematology* 24:463-477.
14. Nguyen, K.B., and G.C. Smart, Jr. 1993. Scanning electron microscope studies of *Steinernema anomaly* Kozodoi, 1984. *Journal of Nematology* 25: 486-492. *
15. Nguyen, K.B., and G.C. Smart, Jr. 1994. *Neosteinernema longicurvicauda* n. gen., n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a parasite of the termite *Reticulitermes flavipes* (Koller). *Journal of Nematology* 26: 162-174.
16. Nguyen, K.B., and G.C. Smart, Jr. 1995. Morphometrics of infective juveniles of *Steinernema* spp. And *Heterorhabditis bacteriophora* (Nemata: Rhabditida). *Journal of nematology* 27:206-212.
17. Nguyen, K.B., and G.C. Smart, Jr. 1995. Scanning electron microscope studies of *Steinernema glaseri* (Nematoda : Steinernematidae). *Nematologica* 41:183-190.
18. Poinar, G.O., Jr. 1976. Description and biology of a new insect parasitic rhabditiod, *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen. n. sp. (Rhabditida; Heterorhabditidae n. fam.) *Nematologica* 21:463-470.
19. Poinar, G.O., Jr. 1979. *Nematodes for biological control of insects*. Boca Raton, FL: CRC Press.
20. Poinar, G.O., Jr. 1985. *Neoplectana intermedia* n. sp. (Steinernematidae: Nematodo) from South Carolina. *Reveu de Nématologie* 8:321-327.
21. Poinar, G.O., Jr. 1988. Redescription of *Neoplectana affinis* Boviën (Rhabditida: Steinernematidae). *Reveu de Nématologie* 11:143-147.

22. Poinar, G.O., Jr. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. Pp. 23-60 in R. Gaugler and H.K.Kaya, eds. Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton, FL: CRC Press.
23. Poinar, G.O., Jr., T. Jackson, and M. Klein. 1987. *Heterorhabditis megidis* sp. n. (Heterorhabditidae: Rhabditida) parasitic in the Japanese beetle, *Popillia japonica* (Scarabaeidae: Coleoptera), in Ohio. Proceedings of the Helmonthological Society of Washington 54:53-59.
24. Poinar, G.O., G.K. Karunakar, and H. David. 1992. *Heterorhabditis indicus* n. sp. (Rhabditida: Nematoda) from India: Separation of Heterorhabditis spp. by infective juveniles. Fundamental and Applied Nemetology 15:467-472.
25. Poinar, G.O., Jr., and E.M. Kozodoi. 1988. *Neoplectana glaseri* and *N. anomali*: Sibling species or parallelism? Reveu de Nématologie 11:13-19.
26. Reid, A.P. 1994. Molecular taxonomy of *Steinernema*. Pp. 49-58 in A. M. Burnell, R.U. Ehlers, and J.P. Masson, eds. Genetics of entomopathogenic nematode-bacterium complex. COST 812. ECSC-EC EAEC, Brussels.
27. Roman, J., and W. Figueroa. 1994. *Steinernema puertoricensis* n. sp. (Rhabditida, Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Puerto Rico. Journal of Agricultura, University of Puerto Rico. Journal of Agricultura, University of Puerto Rico 78:167-175.
28. Shen, C.P., and G.H. Wang. 1991. Description and study of an entomopathogenic nematode: *Steinernema longicaudum* sp. nov. Proceedings of the First National Academy Symposium. Young and middle Aged Science and Technology Works, Plant Protection, Beijing, China. China. Chinese Science and Technology Press: 220-231.
29. Stock, S.P. 1993. A new species of the genus *Heterorhabditis* Poinar, 1975 (Nematoda: Heterorhabditidae) parasitizing *Graphognathus* sp. larvae (Coleoptera: Curculionidae) from Argentina. Research and Reviews in Parasitology 53:103-107.
30. Tallosi, B., A. Peters, and R.Ehlers. 1995. *Steinernema bicornutum* sp. n. (Rhabditida: Steinernematidae) from Vojvodina, Yugoslavia. Russian Journal of Nematology 3:71-80
31. Travassos, L. 1927. Sobre o genera *Oxysomatium*. Boletim Biologico 5:20-21.
32. Wouts, W.M. 1979. The biology and life cycle of a New Zealand population of *Heterorhabditis heliothidis* (Heterorhabditidae). Nematologica 25:191-202.
33. Wouts, W.M., Z. Mracek, S. Gerdin, and R.A. Bedding 1982. *Neoplectana* Steiner, 1929 a junior synonym of *Steinernema* Travassos, 1927 (Nematoda: Rhabditida). Systematic Parasitology 4:147-154.

