

Tratamiento físico de dos variedades de trigo utilizadas como sustrato para la cría de *Sitotroga cerealella* Olivier (Lepidoptera: Gelechiidae). I. Efecto sobre sus atributos biológicos¹

Otondo Maldonado, A.¹; Carrizo, P.I.²; Viscarret, M.M.³

¹Tesista Magister UNSAM, ²Zoología Agrícola, FAUBA; ³ILB, INTA Castellar
e-mail: alvaro_otondo@yahoo.com

Resumen

Los huevos de *Sitotroga cerealella* son utilizados como insumo para la cría de numerosos enemigos naturales. En este estudio se evaluó la influencia del tratamiento físico de variedades de trigo sobre los atributos biológicos de *S. cerealella*. Dos variedades de trigo ("pan" y "candeal") y una mezcla de ambas en una proporción 1:1, previamente humedecido, fueron sometidos a 100°C durante 0, 1, 2, 4 y 6 horas, (n=5) e infestados posteriormente con huevos de *S. cerealella*. Se determinaron: el porcentaje de infestación (granos con larvas/granos totales), la proporción sexual (hembras/(hembras+machos)) y la fecundidad (huevos/hembra) para cada tratamiento. Se analizaron los resultados mediante ANOVA de 2 vías (variedad y tiempo) y comparación de medias utilizando INFOTEST. La variedad y el tiempo de estufa influyeron significativamente en las variables evaluadas. La infestación más alta se obtuvo en la variedad "candeal", a partir de las 2 horas de estufa. La variedad no tuvo influencia significativa en la tasa sexual de los adultos emergidos, aunque la tendencia indica una mayor proporción de hembras obtenidas para las 2 horas de estufa. La fecundidad de las hembras fue significativamente mayor para la variedad "candeal" y la "mezcla" respecto de la variedad "pan", y también para las 2 horas de tratamiento térmico. Se concluye que la mejor combinación de variables, se obtiene empleando la variedad "candeal", sometida a 2 horas de estufa a 100°C.

Palabras clave: Cría, *Sitotroga cerealella*, atributos biológicos

Abstract

Sitotroga cerealella eggs are used as input for the breeding of numerous natural enemies. In this study the influence of the physical treatment of wheat varieties on the biological attributes of *S. cerealella* was evaluated. Two varieties of wheat ("pan" and "candeal") and a mixture thereof in a ratio 1: 1, moistened, were subjected at 100°C for 0, 1, 2, 4 and 6 hours (n = 5) and then infested with eggs of *S. cerealella*. Were determined: the percent of infestation (larvae grains/total grains), the sex ratio (female/(females+males)) and fecundity (eggs/female) for each treatment. The results were analyzed by 2-way ANOVA (range and time) and comparison of means using INFOTEST. The variety and stove time significantly influenced the assessed variables. The highest infestation was obtained in the range "candeal", from from 2 hours stove. The variety had no significant influence on the sex ratio of emerged adults, although the trend indicates a greater proportion of females obtained for 2 hours stove. The fecundity of females was significantly higher for the variety "candeal" and "mixed" variety regarding the "pan" and also for the 2 hours of heat treatment. We conclude that the best combination of variables, is obtained using the variety "candeal", subject to 2 hours of 100°C stove.

Keywords: Breeding, *Sitotroga cerealella*, Biological Attributes

1. Proyecto UBACyT (2011-2014) - FAUBA.

Introducción

Cuando con el objetivo de controlar una plaga se utilizan poblaciones de enemigos naturales para reducir su población a densidades menores a las existentes, el método se conoce como control biológico (Van Driesche *et al.*, 2007). Este control es ventajoso ya que funciona de forma sostenible sin ocasionar deterioro ambiental. Algunas estrategias de control biológico requieren grandes cantidades de agentes de control lo cual depende de la efectividad y calidad de las crías (Nordlund, 1998) por lo que es necesario estandarizar los protocolos destinados a la mantención de estos en forma artificial, es decir en condiciones estándares de laboratorio. Esto también hace posible obtener altos números de individuos para su estudio, respecto de la relación de la plaga con el enemigo natural (Zúñiga y Gerding, 2002).

Según van Lenteren (2003) el aumento en el uso del control biológico dio paso a la producción, introducción periódica y comercialización de enemigos naturales. Por este motivo, fue necesario aplicar estrictos controles de calidad (monitoreo de parámetros como la temperatura, humedad y nutrición, entre otros) en la producción de insectos para evitar la obtención de enemigos naturales de baja calidad lo cual resulta en fallos en el control biológico de la plaga. Los esfuerzos en la optimización de la cría de *S. cerealella* se dirigen al control de las condiciones en las que se desarrollan las polillas así como a la calidad del grano de trigo que se utiliza como sustrato para su desarrollo.

La producción de *Sitotroga* es fundamental para la reproducción masiva de biocontroladores, ya que este es el huésped con la cual se produce masivamente el biocontrolador, para después liberado en el campo (Gómez *et al.*, 2006). Anteriormente se utilizaban sistemas de cría basados en la utilización de huevos de otros insectos. Sin embargo la mantención de estos pies de cría para la obtención de huevos resultaba muy costosa, demandaba mucho tiempo y requería de

material vegetal fresco o elaboración de costosas dietas artificiales (Hassan, 1994).

Los esfuerzos en la optimización de la cría de *S. cerealella* se dirigen al control de las condiciones en las que se desarrollan las polillas así como a la calidad del grano de trigo que se utilice como sustrato para su desarrollo. Van Lenteren (2003) señala que las características biológicas y tecnológicas asociadas a la cría de especies del género *Trichogramma* dependen del estadio fisiológico y la nutrición de las polillas de *S. cerealella* (el hospedante alternativo) utilizadas para la obtención de los huevos para la cría.

De acuerdo a lo anteriormente mencionado, es de fundamental importancia llevar a cabo estudios sobre los parámetros que determinan la calidad de las crías masivas de insectos hospederos de enemigos naturales. El objetivo de esta investigación fue determinar la influencia del tratamiento físico, exposición al calor húmedo en dosis crecientes, a dos variedades de trigo y una mezcla de ambas, sobre los atributos biológicos de la polilla de los cereales, *Sitotroga cerealella* bajo condiciones de laboratorio.

Materiales y métodos

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Zoología, Cátedra de Zoología Agrícola, Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (FAUBA) entre los meses de mayo a agosto del año 2011.

Los huevos de *S. cerealella* fueron provistos de la cría establecida por Botto (1991) a partir de ejemplares de la provincia de Buenos Aires (Argentina) que ha sido renovada por medio de individuos obtenidos localmente (Castelar, BsAs), cría que es mantenida en el Insectario de Investigaciones para Lucha Biológica (IMYZA-CNIA-INTA Castelar).

Los ensayos fueron realizados, en laboratorio, bajo las siguientes condiciones: T (media $\pm$ ee) de $25,57\pm 4,26^{\circ}\text{C}$, H.R. (media $\pm$ ee) de $50,95\pm 9,35\%$

y fotoperiodo de 12 horas. Las T desarrolladas dentro y fuera de la cámara (unidad) de cría en las dos variedades y la mezcla de trigo se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Temperatura desarrollada dentro y fuera de los recipientes o módulos de cría y en la cámara de cría durante el ciclo de desarrollo de *Sitotroga cerealella* (°C).

	T. actual (media±e.e)	T. máx	T. mín
Módulos de cría	25,57±4,26	35,70	15,10
Cámara de cría	21,97±3,12	29,80	14,40

Como sustrato para la cría de *S. cerealella* se evaluaron las variedades de trigo pan, candeal y la mezcla de ambas en una proporción de 50% cada una. Utilizando una balanza, se pesaron 0,5 kg de trigo por tratamiento para cada variedad y la mezcla, colocándolas en recipientes (budineras) de aluminio sobre paños de tela (30x35cm) previamente humedecidos.

Seguidamente se realizó un tratamiento de humedad, por el cual cada tratamiento fue humedecido añadiendo 90 ml de agua sin tratar por cada 0,5 kg de trigo y estos recipientes se dejaron en reposo por 24 horas.

Al cabo de las 24 horas del tratamiento de humedad, se realizó un tratamiento con calor, por lo que se tomaron los recipientes (budineras) con trigo de cada variedad y la mezcla, sobre bandejas metálicas de 41 cm x 31 cm de área x 4 cm de alto fueron sometidas a estufa precalentada a 100°C., por 1, 2, 4 y 6 horas; luego el trigo se dejó enfriar a temperatura ambiente por 48 horas.

En el cuadro 2, a continuación, se detalla la denominación de los tratamientos, los cuales fueron (5x3) 15 en total (los testigos y las cinco réplicas por tratamiento de horas de estufa).

Cuadro 2. Denominación de los tratamientos

Horas de estufa	Pan	Mezcla	Candeal
0 (testigo)	0P	0M	0C
1	1P	1M	1C
2	2P	2M	2C
4	4P	4M	4C
6	6P	6M	6C

Transcurrido el tiempo de reposo y enfriamiento, a temperatura ambiente, se colocaron los 0,5 kg de trigo por cada réplica en recipientes armados *ad hoc*. Se realizaron 5 réplicas para cada variedad de trigo y la mezcla de ambas. Estas consistieron en recipientes transparentes de 4 l. de volumen, de 15 cm de diámetro en la base y 20 cm de alto. A cada recipiente se le colocó una tapa con una abertura en la parte central sellada con una malla plástica.

Una vez el trigo en cada unidad experimental, fue infestado con huevos de la polilla, tomando una mezcla de huevos procedentes de la cría de *S. cerealella* del Insectario de Investigaciones para Lucha Biológica. Cada unidad se infestó utilizando una relación de 1 cm³ de huevos/0,5 kg de trigo tratado (figura 2).



Figura 1. Variedad Pan de trigo infestada con huevos de *Sitotroga cerealella*

Luego de la emergencia de los adultos provenientes de la infestación, estos fueron trasladados a recipientes vacíos (cámaras de ovipostura) similares a los de la cría experimental pero de dimensiones reducidas: de 12 cm de base por 8 cm de alto.

a. Porcentaje de infestación de *Sitotroga cerealella* para cada tratamiento (variedad trigo / horas estufa)

Transcurridas 96 horas de la siembra, se tomaron muestras de 60 granos por réplica, para la determinación del porcentaje de infestación de cada tratamiento.

Los granos se colocaron en una solución 50:50 de alcohol - agua por 24 horas para facilitar el recuento.

Los granos fueron disectados y se registró la cantidad de granos con presencia de larvas, para obtener el porcentaje de infestación como:

$$\% \text{ de infestación} = \left(\frac{\text{Nº de granos con larvas}}{60 \text{ granos de muestra}} \right) \times 100$$

La variable fue analizada mediante ANOVA de dos vías (ejes de análisis: variedad y tiempo) y comparación de las medias mediante un test de Tukey ($\alpha=0,05$). Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico InfoStat (2011).

b. Porcentaje de emergencia de adultos de *Sitotroga cerealella* y proporción sexual de la F1 para cada tratamiento (variedad trigo/horas estufa)

Para registrar esta variable se tomaron 60 granos de trigo de cada réplica por tratamiento, hacia el final del ciclo (mayor presencia de pupas). Para cada muestra se registró el número de adultos emergidos. De esta manera el porcentaje de emergencia se estimó como:

$$\% \text{ de emergencia} = \left(\frac{\text{Nº de individuos emergidos}}{\text{Nº de granos infestados}} \right) \times 100$$

El sexo de los adultos encontrados por cada réplica fue registrado y se determinó la proporción de hembras como:

$$\text{Proporción de hembras} = \frac{\text{Nº de hembras}}{\text{Nº de hembras} + \text{Nº de machos}} \times 100$$

Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías (variedad y tratamiento de estufa) y prueba de Tukey. Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico InfoStat (2011).

c. Fecundidad sobre una muestra de adultos obtenidos a partir de cada tratamiento (variedad trigo/horas estufa)

Una muestra de aproximadamente 150 - 200 adultos de la F1 por réplica por tratamiento se colocó en envases plásticos (cámaras de ovipostura). Al cabo de una semana en cámara, se separaron los huevos obtenidos en cada réplica y se midió el volumen de cada muestra, con una microgeringa graduada (figura 4). A partir de estos valores se estimó la fecundidad media como:

$$\text{Fecundidad media} = \frac{\text{Volumen (cm3) de huevos}}{\text{Nº de hembras}}$$

Que luego fue expresada como fecundidad diaria para 100 hembras y analizada mediante ANOVA de dos vías (variedad x tratamiento de estufa) y prueba de Tukey. Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico InfoStat (2011).



Figura 2. Medición del volumen de huevos obtenidos por réplica y por tratamiento.

Resultados y discusión

Porcentaje de infestación de *Sitotroga cerealella* para cada tratamiento

Tanto la variedad como el tiempo de estufa influyeron significativamente en las variables medidas. La infestación más alta se obtuvo en la variedad “candeal”, a partir de las 2 horas de estufa (figura 3 y 4), sin obtener mejoras por el incremento del tiempo de tratamiento.

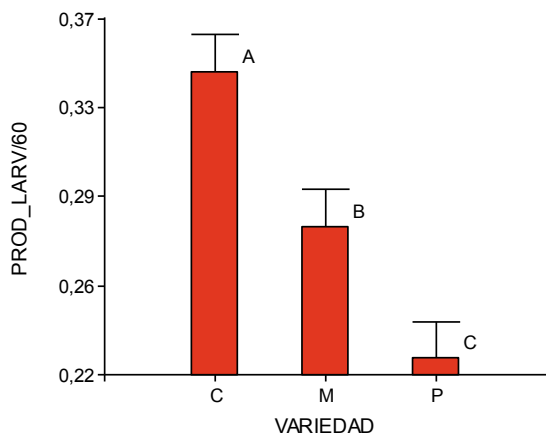


Figura 3. Infestación de Granos de la Muestra (%), según variedad

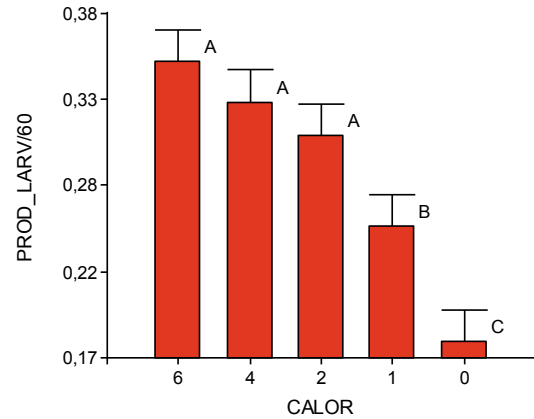


Figura 4. Infestación de granos de la muestra (%), según horas estufa

Porcentaje de emergencia de adultos de *Sitotroga cerealella* y proporción sexual de la F1 para cada tratamiento

La variedad no tuvo influencia significativa en la tasa sexual de los adultos emergidos (figura 5), aunque la tendencia indica una mayor proporción de hembras obtenidas para las 2 horas de estufa (figura 6).

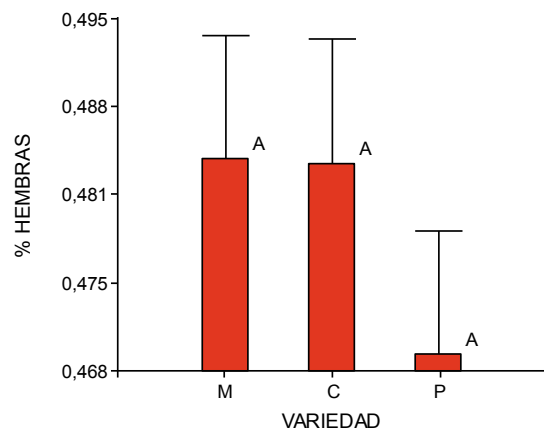


Figura 5. Tasa sexual de adultos emergidos (%), según variedad

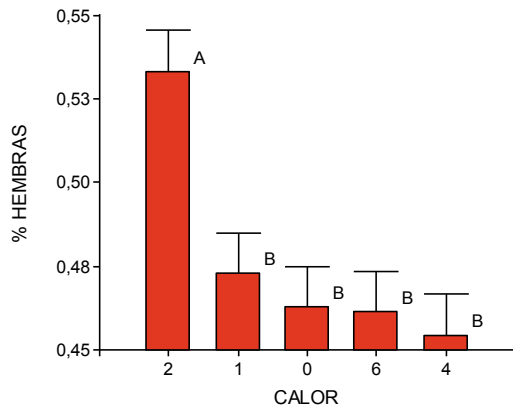


Figura 6. Tasa sexual de adultos emergidos (%), según horas estufa

Fecundidad sobre una muestra de adultos obtenidos a partir de cada tratamiento

La fecundidad de las hembras obtenidas fue significativamente mayor para la variedad “candeal” y la “mezcla” respecto de la variedad “pan” (figura 7), y también para las dos horas de tratamiento térmico (figura 8).

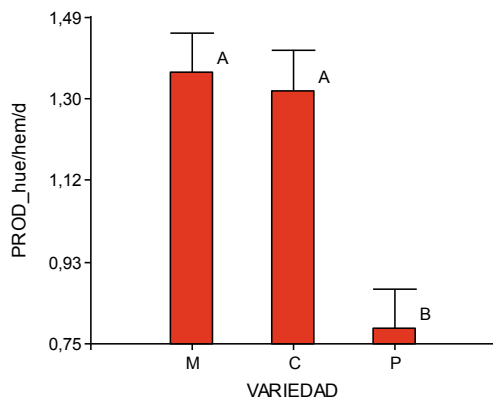


Figura 7. Fecundidad por hembra (n° huevos/hembra/semana)

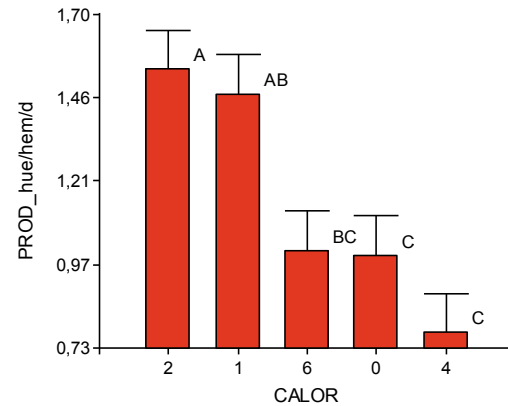


Figura 8. Fecundidad por hembra (n° huevos/hembra/día)

Discusión

Porcentaje de infestación de *Sitotroga cerealella* para cada tratamiento

Quintana (1997) encontró que el porcentaje de infestación de granos de trigo (sin mencionar la variedad) por larvas de *S. cerealella* es de 79,5%. No obstante, Pérez y Pacheco (2002) obtuvieron dentro de sus parámetros de producción (sustrato: trigo, 26-30°C, 70-80% HR) que el porcentaje de infestación puede ser de 97,6%. Méndez (2010) obtuvo diferencias significativas entre tres variedades de trigo (pan, candeal y klein). La variedad de trigo pan presentó la supervivencia (porcentaje de emergencia) de individuos más alta ($89,09 \pm 3,13$), en relación con las variedades candeal ($72,25 \pm 4,80$) y klein ($56,60 \pm 3,73$).

En el presente trabajo, el mayor porcentaje de infestación se obtuvo para las variedad candeal, tratadas con 2, 4 y 6 horas estufa ($23,4 \pm 2,4\%$), ($20,4 \pm 3,2\%$) y ($28,4 \pm 3,6\%$), respectivamente. El mayor tiempo de exposición a temperatura, probablemente es la cualidad que facilitó la penetración del grano por parte de la larva. Pérez y Pacheco (2002) señalan que la dureza del grano puede influir en la cantidad y tamaño de los adultos que emerjan. El trigo pan, y los tratamientos de temperatura de 0 y 1 horas estufa presentaron los valor más bajos de infestación.

Porcentaje de emergencia de adultos de *Sitotroga cerealella* y proporción sexual de la F1 para cada tratamiento

Méndez (2010) obtuvo el valor más alto de emergencia de polillas, en trigo pan, asimismo los valores más altos en cuanto al contenido de proteínas y carbohidratos, y el segundo en cuanto al nivel de lípidos. En el caso del trigo candeal, también obtuvo adecuadas características nutricionales para ayudar a la larva a completar su desarrollo.

En el presente trabajo, en el caso del trigo pan tratado a 2 horas de estufa, se obtuvo el mayor porcentaje de emergencia de adultos en comparación con las otras variedades, lo cual se pudo deber a que su contenido nutritivo favoreció la metamorfosis de la polilla según las conclusiones acerca de la importancia del contenido lipídico y proteico citadas por Chippendale (1973).

En cuanto a la proporción sexual de los adultos, Chippendale (1973) en un estudio acerca de las reservas metabólicas de larvas y pupas de *S. cerealella* menciona que el almacenaje de lípidos es muy importante en las polillas ya que en la etapa adulta no se alimentan. Además los lípidos son utilizados en la diferenciación de adultos, en procesos de reproducción y vuelo. En los resultados aquí obtenidos, la variedad no tuvo influencia en la proporción de hembras, aunque existe una tendencia a una mayor proporción de hembras con el tratamiento de 2 horas estufa.

Fecundidad sobre una muestra de adultos obtenidos a partir de cada tratamiento

En su trabajo Méndez (2010) obtuvo promedios para la cantidad de huevos por hembra en tres posturas, de $4,88 \pm 0,14$ para trigo pan; $11,75 \pm 0,89$ para trigo candeal y $8,13 \pm 0,10$ para trigo klein.

En este estudio, se obtuvo un promedio de huevos/hembra/día de $1,32 \pm 0,21$ para trigo candeal; $0,78 \pm 0,06$ para trigo pan; y $1,37 \pm 0,15$ para la mezcla de ambos.

En general, para los tres tipos de trigo los valores de fecundidad son inferiores a los reportados en la literatura. Hansen *et al.*, 2004, obtuvo la mayor fecundidad de la polilla (124 huevos por hembra) a 20°C y 80% HR.

Además, se observaron diferencias significativas para la fecundidad entre tratamientos (horas estufa) obteniendo para el tratamiento térmico de 2 horas un valor de $1,54 \pm 0,29$ huevos/hembra/día, superior respecto de los otros tratamientos.

Conclusiones

Se concluye que la mejor combinación de variables para el grano previamente humedecido se obtiene empleando la variedad “candeal”, sometida a 2 horas de estufa a 100°C.

Referencias citadas

- Chippendale, M. 1973. Metabolic reserves of larvae and pupae of the Angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella*. Insect Biochem, 3: 1-10.
- Hassan, S. 1994. Production of the Angoumois grain moth *Sitotroga cerealella* (Oliv.) as an alternative host for egg parasites.
- Mendes, L. 2010. Evaluación de tres variedades de trigo como sustrato para la cría de *Sitotroga cerealella* Olivier (Lepidoptera: Gelechiidae) y de los huevos obtenidos sobre las principales variables biológicas de *Trichogramma nerudai* Pintureau & Gerding (Hymenoptera: Trichogrammatidae) bajo condiciones de laboratorio.
- Nordlund, D. 1998. Capacity and Quality: keys to success in the mass rearing of biological control agents. Natural enemies of insects. 20 (4): 169-180.
- Pérez, O.; Pacheco, S. 2002. Determinación del ciclo biológico de *Sitotroga cerealella* Olivier hospedero facticio de *Trichogramma pretiosum* Riley, en la cría comercial del Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos de la UNAN-León. Tesis para optar al grado de Ingeniero Agrónomo con Orientación en Fitotecnía. Managua, Nicaragua. 48p.
- Quintana, R. 1997. Estudio de tres sistemas de producción de *Sitotroga cerealella* Olivier para obtener una producción óptima de *Trichogramma pretiosum* en laboratorio UNAN- León. Universidad Autónoma de Nicaragua UNAN- LEÓN. Departamento de control de plagas. León Nicaragua.
- Van Driesche, R.G.; Hoodle, M.S.; Center T.D. 2007. Control de Plagas y Malezas por Enemigos Naturales. Traducido por: Enrique Ruiz Cancino, Juanita Blanca Coronada, con ayuda de Juan Manuel Álvarez. Departamento de Agricultura, Estados Unidos. 751p.
- Van Lenteren J.C. 2003. Quality Control and Production of Biological Control Agents: theory and Testing Procedures. Editado por J.C. van Lenteren. Cambridge, Estados Unidos. 327p.
- Zúñiga, K.; Gerding, P. 2002. Efecto de la temperatura en la longevidad, reproducción y desarrollo de *Trichogramma nerudai* y *Trichogramma dendrolini* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Agricultura Técnica (Chile). 62 (3): 463- 468.