

## UNA TECNICA DE LABORATORIO, PARA OBTENER HUEVOS DE

*Bruchus pisorum* L.<sup>1</sup>

### A technique to obtain eggs of *Bruchus pisorum* L., under laboratory conditions

Hernán Norambuena M.<sup>2</sup> y Mario Mera K.<sup>2</sup>

#### SUMMARY

A method to obtain eggs of *Bruchus pisorum* L. on Cobrette peas was developed in the laboratory. Insects and plants were maintained under the following conditions: light intensity: 19.000 lux, at the top of the plants; photoperiod: 16 hr light — 8 hr darkness, before the appearance of the first pods, and 14 hr light — 10 hr darkness, thereafter; temperatures: 16 to 26° C during the day and 14 to 22° C during the night; relative humidity: 40 to 75%.

It was concluded that, under these environmental conditions, it is possible to obtain eggs of *B. pisorum*, as well as their development and metamorphosis.

#### INTRODUCCION

El bruco de la arveja, *Bruchus pisorum* L. es el insecto que ataca con mayor severidad al cultivo de la arveja en Chile. La ausencia en el país de enemigos naturales efectivos del insecto, determina en gran medida la ocurrencia de elevados niveles de infestación del grano, los cuales difícilmente pueden ser reducidos, en forma práctica y económica, mediante el empleo de métodos químicos o culturales de control (Norambuena y Palma, 1984).

Esta situación limita seriamente las posibilidades de exportar arvejas secas con menos de un 1,5% de infestación, límite máximo permitido de acuerdo a las normas de los Estados Unidos (USDA, 1982), y sugiere la conveniencia de intentar la introducción de enemigos naturales de *B. pisorum*, particularmente antagonistas de huevos, por cuanto, de acuerdo a la literatura, éstos serían los más efectivos.

En consecuencia, el objetivo de este trabajo ha sido desarrollar una técnica que permita producir huevos

de *B. pisorum* y su posterior desarrollo en condiciones de laboratorio, para su utilización en programas de control biológico.

#### MATERIALES Y METODOS

Se sembró arveja variedad Cobrette, previamente desinfectada con Benomyl, en suelo tipo trumao, contenido en macetas de Aislapol, de un volumen de 9.000 cm<sup>3</sup>. De acuerdo al análisis químico, el suelo recibió una fertilización equivalente a 50 u. de N, 150 u. de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 150 u. de K<sub>2</sub>O, por hectárea, y 40 ml de la solución de micronutrientes propuesta por Schenkel y Baherle (1971), suministrada en dos parcialidades antes de la floración del cultivo. Tanto los macronutrientes como los micronutrientes fueron aplicados en la forma señalada por los investigadores citados anteriormente.

Las plantas se mantuvieron en invernadero, hasta aproximadamente 20 días antes del inicio de su floración, a temperaturas que fluctuaron entre -1° C y 26° C, evitando la proliferación de hongos, con Triadimefon concentrado al 0,025% en agua. Posteriormente, se ubicaron en cuatro jaulas de madera, tul y acrílico (90 x 80 x 45 cm), en una sala de ambiente semi-controlado, cuyas condiciones ambientales fueron:

<sup>1</sup> Recepción de originales: 3 de junio de 1985

<sup>2</sup> Estación Experimental Carillanca (INIA), Casilla 58-D, Temuco, Chile.

- 19.000 Lux de intensidad luminosa, a nivel del ápice de las plantas, proporcionados por ampollitas de mercurio HPL—N de 125 W., con un fotoperíodo de 16 hr día y 8 hr noche, hasta la aparición de la primera legumbre, para luego reducir a 14 hr día y 10 hr noche, con el objeto de evitar un crecimiento y maduración demasiado rápido de las legumbres;
- temperatura del día entre 16° C y 26° C, con una concentración entre 20° C y 22° C, en un 64°/o del tiempo;
- temperatura de la noche entre 14° C y 22° C, con una concentración entre 18° C y 20° C, en un 61°/o del tiempo;
- humedad relativa, similar tanto en el día como en la noche, entre 40°/o y 75°/o, con una mayor concentración entre 50 y 60°/o.

Estas condiciones se aproximan a las utilizadas por Reath y Wittwer (1952); Lambert y Linck (1958); Karr, Linck y Swanson (1959); Ormrod y otros (1970); Nonnecke, Odéipe y Ormrod (1971) y Pesho y Van Houten (1982), en experimentos destinados a estudiar el comportamiento de la arveja, o bien, del *B. pisorum*, bajo condiciones controladas.

El material insectil utilizado consistió en adultos de *B. pisorum*, provenientes de semilla de arveja infestada, cosechada en la temporada previa y almacenada a temperaturas que variaron entre 6 y 18° C. Antes de su liberación sobre las plantas, lo cual ocurrió al inicio de la floración de éstas, se mantuvo a los insectos durante 20 días bajo las mismas condiciones ambientales que las plantas, en cajas de acrílico (19 x 9 x 8 cms), con su parte superior cubierta con tul, donde se les suministró agua y una solución de sucrosa al 5°/o, en forma permanente, y una cantidad de 0,182 mg de polen de arveja por caja. Posteriormente a la liberación de los insectos, se continuó aportándoles agua y sucrosa.

La alimentación y confinamiento de los insectos, por un período de 20 días antes de liberarlos sobre las plantas, tuvo por objetivo sincronizar la maduración sexual de las hembras de *B. pisorum* con la aparición de las legumbres e incrementar la frecuencia de copulación (Pesho y Van Houten, 1982).

De este modo, se establecieron cuatro niveles de infestación o tratamientos, cada uno de los cuales se manejó en una de las cuatro jaulas con plantas, mencionadas anteriormente:

1. 100 insectos no sexados
2. 20 hembras y 10 machos

3. 20 hembras y 10 machos sometidos a — 5° C por 24 hr
4. 100 insectos no sexados sometidos a — 5° C por 24 hr

Se usó insectos sometidos a frío, en dos de los casos, debido a que la temperatura de almacenamiento a que estuvieron sometidos antes del experimento, fue superior a aquella soportada por *B. pisorum* durante el otoño/invierno en condiciones de campo, lo cual podría determinar o influir en diferentes aspectos de su conducta posterior. Se consideró la utilización de la relación hembra: macho = 2:1, en base a los experimentos de Cárcamo (1980); el nivel de infestación de 100 insectos no sexados fue probado, buscando obtener información acerca de su factibilidad, para evitar los problemas de manipulación y tiempo, inherentes al sexaje de los individuos. El sexo de los insectos fue reconocido por la presencia de una pequeña espina, en la parte distal de la tibia del segundo par de patas, en los machos, la cual está ausente en las hembras (Brindley, citado por Larson, Brindley y Hinman, 1938).

Durante el desarrollo del experimento, se registró el número de legumbres, el número y tipo de huevos por legumbre, el número de granos por legumbre, el porcentaje de infestación del grano, y el número y sexo de los individuos que no murieron, y de aquéllos que emergieron del grano. Estas determinaciones fueron realizadas sobre la base de las poblaciones totales de legumbre, granos e insectos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El Cuadro 1 muestra que la técnica utilizada permitió obtener huevos de *B. pisorum* con todos los niveles de infestación, y que la población de huevos estuvo constituida mayoritariamente por huevos simples. Este hecho favorecería el manejo de laboratorio de los parásitos de huevos que pudieran ser introducidos al país, ya que algunos parásitos de brúquidos concentran su acción sobre aquellos huevos que presentan una total exposición frente al parásito, y no sobre aquéllos que se encuentran protegidos por otros huevos (Prevett, citado por Southgate, 1979).

El menor número de huevos totales y la más estrecha relación entre huevos simples y dobles que se produjo en el tratamiento 2, podría deberse, en cierto grado, a su distinta relación de sexos, con predominancia de hembras, comparada con la relación de sexos determinada en los otros tratamientos (Cuadro 2), ya que el porcentaje de mortalidad y, por ende, el número de insectos que efectivamente atacaron las plantas en cada tratamiento, no mostró estar relacionado con el

CUADRO 1. Número y porcentaje de huevos simples, dobles y totales de *B. pisorum*TABLE 1. Number and percentage of single, double and total eggs of *B. pisorum*

| Niveles de infestación        | Número de huevos |        |         | Porcentaje de huevos |        |
|-------------------------------|------------------|--------|---------|----------------------|--------|
|                               | Simple           | Dobles | Totales | Simple               | Dobles |
| 100 insectos                  | 601              | 98     | 797     | 86                   | 14     |
| 20 hembras + 10 machos        | 333              | 177    | 687     | 65                   | 35     |
| 20 hembras + 10 machos + frío | 692              | 83     | 858     | 89                   | 11     |
| 100 insectos + frío           | 749              | 58     | 865     | 93                   | 7      |

CUADRO 2. Mortalidad (°/o) y relación de sexos de *B. pisorum* y porcentaje de infestación del granoTABLE 2. Mortality (°/o) and sexual ratio of *B. pisorum*, and percentage of infested peas

| Niveles de infestación        | Mortalidad <sup>1</sup><br>°/o | Relación <sup>2</sup> |              | Infestación del<br>grano (°/o) |
|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------|--------------|--------------------------------|
|                               |                                | macho:hembra          | macho:hembra |                                |
| 100 insectos                  | 31                             | 1,8:1                 | 1 :1,2       | 85,4                           |
| 20 hembras + 10 machos        | 20                             | 1 :2,8                | 1 :1         | 73,1                           |
| 20 hembras + 10 machos + frío | 33                             | 1 :1                  | 1,1:1        | 84,6                           |
| 100 insectos + frío           | 21                             | 1,5:1                 | 1 :1,1       | 73,8                           |

<sup>1</sup> Determinado en el momento de colocar los insectos sobre las plantas.

<sup>2</sup> Determinado sobre la población de adultos que infestó las plantas.

<sup>3</sup> Determinado sobre la población de adultos generada en el experimento.

número de huevos. Cabe recordar que estas proporciones entre sexos fueron determinadas a partir de los insectos que efectivamente actuaron sobre las plantas, y que los insectos que murieron antes de la aparición de las legumbres no fueron considerados.

La relación macho: hembra de la población de *B. pisorum* generada en el experimento varió entre 1:1 y 1:1,2, en tanto que el porcentaje de infestación del grano varió entre 73°/o y 85°/o (Cuadro 2). Todo esto indica que la técnica usada, no sólo permitió la obtención de huevos, sino también su posterior desarrollo y transformación. Dichos resultados sugieren que esta técnica, también podría ser útil para trabajos de laboratorio, en los cuales se desee manejar antagonistas que actúen sobre otros estados de desarrollo de *B. pisorum*.

Bajo las condiciones ambientales utilizadas, el número promedio de legumbres por planta fue de 1,08 y el número promedio de granos por legumbre alcanzó a 3,6, lo cual indica que hubo limitaciones ambientales, principalmente para la producción de legumbres. Ello

se debería a que la arveja responde mejor a temperaturas más bajas durante el día y la noche (Karr y otros, 1959; Stanfield, Ormrod y Fletcher, 1966; Nonnecke y otros, 1971) que las utilizadas en este experimento, las cuales tuvieron como primer objetivo, interrumpir la hibernación de los insectos y crearles condiciones adecuadas para la ovipostura; esto ocurriría con temperaturas sobre 21° C y 27° C, respectivamente (Larson y otros, 1938). Ello sugiere que, al repetir estos experimentos, debería considerarse la utilización de un régimen térmico tendiente, no sólo a estimular al insecto, sino a permitir una mayor producción de legumbres por planta y, como consecuencia, un incremento de los sitios de oviposición y, probablemente, una mayor producción de huevos.

Finalmente, cabe señalar que aun cuando existen amplias posibilidades de perfeccionar la técnica presentada, los resultados obtenidos permiten sostener que ésta puede ser utilizada en las etapas iniciales de proyectos de introducción de antagonistas de *B. pisorum*, o servir de base para diferentes investigaciones que requieran de un manejo de laboratorio del insecto.

## LITERATURA CITADA

- CARCAMO, V. 1980. Efecto de la época de siembra y daño causado por el bruco de la arveja (*Bruchus pisorum* L.) en la VIII Región. Observaciones Biológicas. Chillán, Chile, U. de Concepción, Escuela de Agronomía. 31 p. (tesis mimeografiada).
- KARR, E.J.; LINCK, A.J.; and SWANSON, C.A. 1959. The effect of short periods of high temperature during day and night periods on pea yields. *Amer. J. Bot.* 46 (2): 91–93.
- LAMBERT, R.G. and LINCK, A.J. 1958. Effect of high temperature on yield of peas. *Plant Physiology* 33: 347–350.
- LARSON, A.O.; BRINDLEY, T.A.; and HINMAN, F.G. 1938. Biology of the pea weevil in the pacific northwest with suggestions for its control on seed peas. USDA, Washington, D. C., Technical Bulletin Nº 599. 48 p.
- NONNECKE, I.L.; ODEDIPE, N.O.; and ORMROD, D.P. 1971. Temperature and humidity effects on the growth and yield of pea cultivars. *Can. J. Plant. Sci.* 51: 479–484.
- NORAMBUENA, H. y PALMA, J. 1984. El bruco de la arveja: daños, poblaciones y control. *IPA Carillanca (Chile)* 3 (4): 25–28.
- ORMROD, D.P.; MAURER, A.R.; MITCHELL, G.; and EATON, G.W. 1970. Shoot apex development in *Pisum sativum* L. as affected by temperature. *Can. J. Plant Sci.* 50: 201–202.
- PESHO, G.R. and VAN HOUTEN, R.J. 1982. Pollen and sexual maturation of the Pea Weevil (Coleoptera: Bruchidae) *Ann. Entomol. Soc. Am.* 75: 439–443.
- REATH, A.N. and WITTWER, S.H. 1952. The effects of temperature and photoperiod on the development of pea varieties. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 60: 301–310.
- SCHENKEL, G. y BACHERLE, P. 1971. Exploración de deficiencias nutritivas con suelos en macetas. II. Método usado. *Agricultura Técnica (Chile)* 31 (1): 9–24.
- SOUTHGATE, B.J. 1979. Biology of the Bruchidae. *Ann. Rev. Entomol.* 24: 449–473.
- STANFIELD, B.; ORMROD, D.P.; and FLETCHER, H.F. 1966. Response of peas to environment. II. Effects of temperature in controlled–environment cabinets. *Can. J. Plant. Sci.* 46: 195–203.
- USDA—United States Department of Agriculture. 1982. Code of Federal regulations. USA. National Archives and Records, Service Office of the Federal Register 7: 383–391.