

Normalización de las variables ecofisiológicas durante el desarrollo de *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)

T. STADLER

Estableciendo las principales variables ecofisiológicas a través de: un nuevo alimento artificial y condiciones de temperatura, humedad relativa, densidad poblacional así como manejo de los cultivos, es posible normalizar la cría de *S. oryzae*. Se obtienen de esta manera, poblaciones con un bajo coeficiente de variación en el tamaño individual, fecundidad y mortalidad de larvas e imagos. La homogeneidad en las características de las poblaciones criadas a través de esta metodología, permite por un lado, la confrontación de distintas cepas. Por otro, normalizar las experiencias toxicológicas o los ensayos sobre variedades de cereal resistentes a esta plaga.

SADLER, T., 1988: Normalización de las variables ecofisiológicas durante el desarrollo de *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Bol. San. Veg. Plagas* 14 (4):

Palabras clave: *Sitophilus oryzae*, variables ecofisiológicas.

INTRODUCCION

La búsqueda de caminos para revertir o paliar el fenómeno de resistencia a insecticidas y sus desastrosas consecuencias, es tema de investigación desde hace ya varias décadas. Para lograr aciertos en este campo, es indispensable en primer lugar, conocer los mecanismos que conducen a la formación de la resistencia y los procesos enzimáticos relacionados con la degradación de xenobióticos dentro del organismo del insecto. Es útil además, definir el papel que desempeñan los factores ecofisiológicos en este sentido, ya que afectan directamente a la *magnitud* y la *velocidad* en la evolución del fenómeno de resistencia y combinados de diferente manera, pueden *provocar*, *promover* o *retardar* el desarrollo de la resistencia.

Los estudios sobre el desarrollo de resistencia, susceptibilidad a pesticidas o la búsqueda de variedades vegetales resistentes a una plaga, comienzan en general con bioensayos a nivel de laboratorio. La posibilidad de reprodu-

cir un ensayo a través de reiteradas repeticiones aumenta su nivel de verosimilitud, y esto finalmente, es un índice del grado de normalización del mismo. Los métodos y normas para la evaluación de insecticidas, y detección y medición de resistencia (CHAMP, 1968, FAO, 1974, RAJAK *et al.*, 1973, FAO, 1975), consideran casi exclusivamente los aspectos operativos del ensayo, brindando escasa información sobre el material biológico a utilizar, condiciones de cría, alimento, etc.

Sitophilus oryzae es la más importante plaga del grano almacenado a nivel mundial (CHAMP & DYTE, 1976) y además, un interesante modelo experimental para investigaciones toxicológicas. Su biología ha sido estudiada virtualmente desde todos sus aspectos, su cría en laboratorio es poco engorrosa y la sucesión de generaciones es relativamente rápida. Sin embargo, el principal inconveniente de utilizar a esta especie en bioensayos —con miras a elucidar cuestiones ecológicas, fisiológicas o toxicológicas—, es la ampliamente citada “variabilidad” en los resultados de los mis-

mos, cuando se utilizan cepas diferentes, distintas generaciones de una misma cepa o sustratos diferentes. Los antecedentes sobre "variabilidad" en *Sitophilus oryzae* son abundantes en la literatura, en especial, con referencia a su tamaño corporal y peso, tolerancia a xenobióticos, su respuesta frente a distintos alimentos (PHADKE & BATHIA, 1974), (SHARMA, 1985), su ciclo de vida y potencial reproductivo (STOMI, 1960; KIRITANI, 1965; EVANS, 1982; THAUNG & COLLINS, 1986).

Son objetivo del presente trabajo, el análisis y normalización de aquellos factores de cuya interacción depende principalmente el fenómeno de *variabilidad* dentro de la población de *Sitophilus oryzae*. Se busca definir un método de cría en laboratorio, fijando todas las posibles variables en función de obtener poblaciones con un bajo coeficiente de variación en: el tamaño de los individuos, su estado nutricional y todas aquellas características que puedan afectar de una u otra manera los resultados de las experiencias toxicológicas. Las principales variables a analizar son:

- a.-alimento (desde el punto de vista cualitativo y cuantitativo).
- b.-temperatura y humedad durante el desarrollo.
- c.-densidad de población de la generación paterna.
- d.-proporción de sexos en la generación paterna.

Estas variables serán analizadas en función de los indicadores que se utilizan normalmente en experiencias fisiológicas como la mortalidad, fecundidad, tamaño de los individuos y evolución general del cultivo.

MATERIALES Y METODOS

Material biológico

Para los fines comparativos se utilizaron dos cepas de distinto origen y características:

Cepa CIPEIN-S: "Cepa susceptible a malation". Obtenida a partir de una población sin historia previa de control químico, de la Cátedra de Terapéutica Vegetal de la Facultad de Agronomía de la U.N. de La Plata y criada posteriormente sobre trigo durante siete años en el Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN-CITEFA) Buenos Aires, Argentina.

Cepa CIPEIN-RM: "Cepa resistente a malation". La población inicial que dió origen a esta cepa, fue obtenida en 1983 en las instalaciones de la empresa Molinera Leticia (Buenos Aires, Argentina), con un *GR* inicial de 6,7 (PICCOLO de VILLAR, et al., 1985), criada sobre trigo y presionada con malation (in vitro) para mantener su *GR* en 4.0 aproximadamente.

Técnica de incubación

Ambas cepas fueron criadas en recipientes de vidrio de 9,0 cm de diámetro y 12,0 cm. de altura, con una abertura de 4,5 cm. de diámetro en su parte superior, cubierta con una malla de alambre de bronce de 0,8 mm. de luz, para facilitar el intercambio gaseoso. La cría se desarrolló en una estufa de cultivo a $29^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ y $77\% \pm 2\% \text{HR}$, que fue mantenida mediante una solución saturada de ClNa (WINSTON & BATES, 1960).

En cada recipiente se colocaron 220 hembras y 80 machos (7×10^4 individuos cada 10^6 granos de trigo) ("padres"), de 0-5 días de edad. Después de 5 días de incubación, se retiró el sustrato de los recipientes, colocándolo sobre un tamiz (de 1 mm de luz). Fueron separadas por un lado las partículas finas y por otro, los 300 individuos de la generación paterna, discriminando entre individuos vivos y muertos para los cálculos de mortalidad. El sustrato fue colocado nuevamente en el respectivo recipiente, dejándolo en estufa ($29^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ y $77\% \pm 2\% \text{HR}$) hasta 5 días después de emerger los primeros imagos (F1).

ESQUEMA DE LA TECNICA DE INCUBACION:

sustrato (alimento natural o artificial)	NATURAL: 15 días a -18° C conservar luego +2° C a +5° C
recipientes de cría con 150 g de sustrato	RECIPIENTES DE VIDRIO 9,0 cm. x 12,0 cm
estabilización en estufa durante 72 hs	Natural: a 29° +1° C y 77% +2% HR Artific: con BrNa (Solomon, 1951)
introducción de los padres	220 HEMBRAS 80 MACHOS
estufa de cultivo durante 5 días	a 29° +1° C y 77% + 2% HR
extracción de los padres	SOBRE TAMIZ MALLA # 1 mm Y ELIMINAR POLVILLO
estufa de cultivo durante 35 días	a 29° +1° C y 77% + 2% HR
F1	EDAD ENTRE 0 Y 5 DIAS

ESQUEMA DE LA TECNICA DE INCUBACION:

Alimentación natural

Se utilizaron, por recipiente, 150 g de trigo (*Triticum aestivum*, germoplasma Mexicano, Victoria-INTA), libre de insecticidas, tratado con frío (-18 C) durante 15 días y conservado posteriormente entre +2° C y +5° C. Setenta y dos horas antes de utilizar el trigo para la incubación, se le colocó dentro del recipiente

respectivo, en estufa de cultivo (29° ± 1° C y 77% ± 2% HR) para estabilizar el contenido de agua de los granos en 12,5% aproximadamente.

Alimentación artificial

Según los resultados parciales de los diferentes autores sobre nutrición y metabolismo en *S. oryzae*, se formuló un alimento balanceado que cubre las necesidades en hidratos de carbono, protéicas, vitamínicas y de otros componentes esenciales.

Cuadro 1.—Composición cuali-cuantitativa de la dieta artificial para la cría de *S. oryzae* bajo condiciones controladas.

Composición	Referencia
L - lisina (clorhidrato)	300 mg Baker, 1976
L - arginina	150 mg Baker, 1979
L - histidina	120 mg Baker, 1979
L - isoleucina	200 mg Baker, 1979
L - leucina	400 mg Baker, 1979
L - treonina	150 mg Baker, 1979
L - triptofano	40 mg Baker, 1979
L - valina	180 mg Baker, 1979
L - metionina	200 mg Baker, 1978
Colesterol	100 mg Baker, 1974
Amilopectina	20,0 g Chippendale, 1972
Levadura de cerveza (polvo) ..	7,5 g Baker & Mabie, 1959
Caseína (divitaminizada)	5,0 m Baker & Mabie, 1959
Germen de trigo	2,5 m Baker & Mabie, 1959
Almidón de trigo c.s.p.	100,0 g

Esta mezcla fue fraccionada y comprimida mediante una pastilladora automática en comprimidos de 500 mg (doble ranurado) (Fig. 1), debido a que *S. oryzae* solamente ovipone sobre sustratos compactos (DAVIS & BRY, 1985). Los comprimidos pueden conservarse entre +2° C y +5° C durante más de seis meses ya que no contienen agua. Por este motivo, deben hidratarse (12,5%) antes de ser utilizados. Colocándolos en una estufa a 29° C, en presencia de una solución saturada de BrNa (SOLOMON, 1951) durante 72hs. Los comprimi-

dos pueden ser hidratados sobre una bandeja o directamente dentro de los envases de cría.

Para discriminar en esta experiencia la influencia del tamaño del alimento sobre la fecundidad y el tamaño de los individuos, se realizaron dos ensayos paralelos: uno, con 150 comprimidos enteros (1/1) y otro con 150 comprimidos partidos en cuartos (1/4). Cada ensayo se realizó por triplicado; los individuos de la *FI* fueron contados, sexados y se utilizó el largo del élitro como standard del tamaño individual. Ambas *FI* (*FI*_{1/1}; *FI*_{1/4}) fueron comparadas con la *FI* de un ensayo paralelo (*FI*_T) (padres extraídos de la misma población), realizado sobre 75 g de trigo.

Sobre la medida de los élitros se calculó el coeficiente de variación (CV) (Tabla 2) del tamaño individual entre las *FI* de los tres ensayos (*FI*_{1/1}, *FI*_{1/4} y *FI*_T), comparándolo además a los grupos entre sí, a través de un *test F de diferencias entre varianzas* (Tabla 3). Finalmente se utilizó un *test F de Anova*, y el *método de contrastes según Scheffé*, para considerar las diferencias de tamaño entre los grupos, para los distintos alimentos y según el sexo.

Aceptación del alimento artificial

A través de una sencilla experiencia se determinó el grado de aceptación del alimento artificial por *S. oryzae*, en comparación con el trigo. En una cápsula de Petri de 15 cm. de diámetro se colocaron en posición enfrentada y a 2,5 cm. del borde, 1,0 g. de trigo y dos comprimidos de alimento artificial. En el centro de la caja de petri, entre ambas opciones, se colocaron 10 individuos (no sexados, extraídos al azar). La cápsula se cubrió y se conservó en un ambiente oscuro a $29^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ y $77\% \pm 2\%$ HR, realizándose los respectivos controles cada 12 hs. Esta experiencia se repitió cinco veces con individuos diferentes.

RESULTADOS

Alimentación natural

Se obtuvieron poblaciones de características relativamente constantes y en intervalos regulares de 30 días aproximadamente. El ciclo de vida de las cepas *CIPEIN-S* y *CIPEIN-RM* se desarrolla bajo estas condiciones en 32 ± 2 días y el número de descendientes para la cepa *CIPEIN-S* es de 3300 ($S = 297$) y para la cepa *CIPEIN-RM* es de 2600 ($S = 349$). En ambas cepas el largo de los individuos oscila entre 2,61 mm. y 3,01 ($x = 2,67$; $S = 0,17$) en los machos y entre 2,69 mm. y 3,23 ($x = 2,77$; $S = 0,13$) en las hembras (en las condiciones generales y con el alimento antes especificados).

Alimentación artificial

Los ensayos sobre la aceptación del alimento artificial mostraron que durante las primeras 48 hs. el 100% de los individuos se alimentaron de los comprimidos y posteriormente un 20% mostraron preferencia por el trigo. Sin lugar a dudas resultaría interesante determinar si los individuos que se encuentran sobre el trigo también permanecen sobre él, o si a lo largo de la experiencia algunos visitan el trigo y los comprimidos alternativamente. Queda establecido sin embargo, que *S. oryzae* muestra una clara preferencia por los comprimidos y se alimenta y desarrolla en ellos perfectamente (Fig. 1).

El número de descendientes (*FI*) obtenidos del trigo y de la dieta artificial, de las cepas *CIPEIN-S* y *CIPEIN-RM*, no varía de modo significativo para ambas dietas, y las diferencias halladas son exclusivamente cualitativas, coincidentes con los resultados de BANSODE & BHATIA, 1981. Por este motivo, los cálculos y estadística, se detallan solamente para la cepa *CIPEIN-S*.

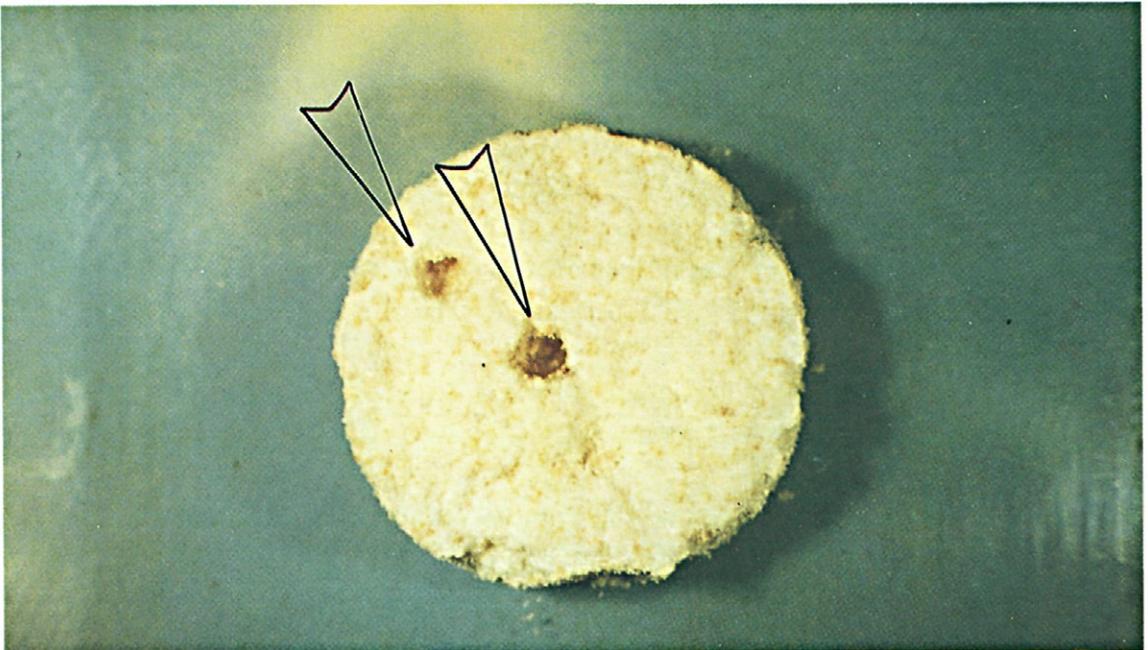


Fig. 1.—*a*. Comprimidos de alimento artificial; *b*. Larvas IV de *S. oryzae* alimentándose dentro de un comprimido.

Cuadro 2.—Media y coeficiente de variación $CV = S(100/\bar{x})$ del tamaño de los individuos de la F1, obtenidos de las diferentes dietas. Los valores medidos corresponden al largo del élitro expresado en mm. Se comparan tres grupos: $F1_{1/1}$ = comprimidos enteros; $F1_{1/4}$ = comprimidos partidos y $F1_T$ = trigo.

Grupo	sexo	media	S	C.V.	N
$F1_{1/1}$	hembras	1.4736	0.0337	3.270	50
$F1_{1/4}$	hembras	1.4528	0.0453	3.918	50
$F1_T$	hembras	1.3824	0.0732	6.374	50
$F1_{1/1}$	machos	1.4096	0.0461	2.286	50
$F1_{1/4}$	machos	1.3680	0.0536	3.118	50
$F1_T$	machos	1.3114	0.0836	5.295	50

Cuadro 3.—Test de diferencia entre las varianzas para el tamaño de los individuos de las F1 con diferente alimentación.

Grupos enfrentados	sexo	F	V1	V2	P
$F1_{1/1}$ vs. $F1_{1/4}$	macho	1.35	49	49	$P < 0.001$
$F1_{1/1}$ vs. $F1_T$	macho	3.28	49	49	$P < 0.001$
$F1_{1/4}$ vs. $F1_T$	macho	2.43	49	49	$P < 0.01$
$F1_{1/1}$ vs. $F1_{1/4}$	hembra	1.81	49	49	$P < 0.05$
$F1_{1/1}$ vs. $F1_T$	hembra	4.73	49	49	$P < 0.001$
$F1_{1/4}$ vs. $F1_T$	hembra	2.61	49	49	$P < 0.01$

Test F de Anova para el tamaño de los individuos de las F1 con diferente alimentación para:

MACHOS ($F1_{1/1}$ + $F1_{1/4}$ + $F1_T$) : $F = 30.414$, $V1=2$, $V2=147$

Método de contrastes según Scheffé: Hay diferencias significativas entre los tres grupos ($P < 0.05$).

HEMBRAS ($F1_{1/1}$ + $F1_{1/4}$ + $F1_T$) : $F = 40.065$, $V1=2$, $V2=147$

Método de contrastes según Scheffé:

1. No hay diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los grupos $F1_{1/1}$ y $F1_{1/4}$.
2. Entre los grupos restantes hay diferencias significativas ($P < 0.05$).

Concluido el período de incubación y después de la aparición del primer imago, se contaron y apartaron los imagos cada 48 hs, hasta extraer la F1 completa de cada cultivo. Como se observa en la Figura 2, el intervalo para el desarrollo de una generación sobre alimento artificial presenta una menor desviación que el obtenido para el trigo.

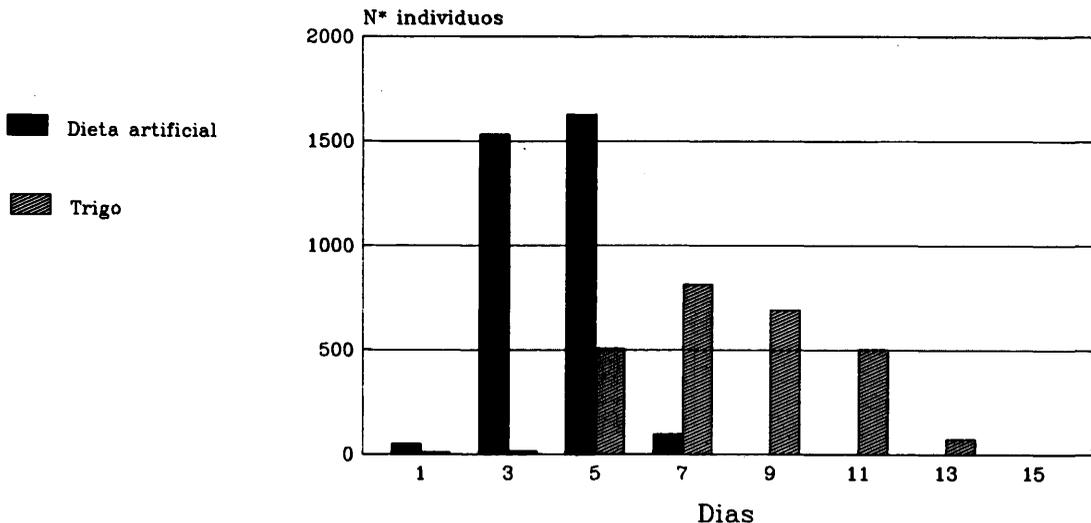


Fig. 2.—Número de individuos de *S. oryzae* (CIPEIN-S) (F1), que emergen en intervalos de 48 hs, en cultivos con trigo y alimento artificial.

El cálculo de mortalidad para la generación paterna en los ensayos *FI111*, *FI114* y *FI1T* (considerando que 300 individuos de 0-5 días de edad, fueron criados durante 5 días sobre los diferentes sustratos a $29^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{ C}$ y $77\% \pm 2\%$ HR) arrojó los siguientes resultados: Para *FI111* y *FI114* la mortalidad es del 5%; para *FI1T* del 15%. Después de 10 días de incubación, la mortalidad fue: para *FI111* y *FI114* del 10% y para *FI1T* del 24%.

DISCUSION

El ciclo de vida de *S. oryzae* es regulado principalmente por la humedad y la temperatura, cuyas influencias se evidencian especialmente durante el desarrollo embrionario y larval. La humedad del alimento y del ambiente, afectan sensiblemente al desarrollo de las larvas, y en menor escala al de huevos y pupas (EASTMAN & SEGROVE, 1947). En las fases que no se alimentan (huevo y pupa), el balance del agua es positivo ya que el metabolismo es principalmente catabólico. En cambio, en la fase que se alimenta y crece rápidamente (larval), predominan los procesos anabólicos y la demanda de agua aumenta (SINGH, 1977). La mortalidad de los embriones de *S. oryzae* es mínima a $+29^{\circ} \text{ C}$ y 90% HR, y los límites dentro de los cuales el embrión logra completar su desarrollo son $+15^{\circ} \text{ C}$ y $+34,5^{\circ} \text{ C}$. La mortalidad embrionaria aumenta drásticamente cerca del límite superior, siendo esta del 20% a $+34,0^{\circ} \text{ C}$ y del 100% a $+34,5^{\circ} \text{ C}$ (BIRCH, 1944). La fase más sensible a cambios de temperatura y humedad en el ciclo de vida de *S. oryzae*, es la larval y su primer estadio muestra los índices de mortalidad más elevados. En condiciones suficientemente favorables para la supervivencia de la L1, la mortalidad de los estadios subsiguientes es prácticamente nula (BIRCH, 1945).

La fecundidad, tampoco escapa al análisis conjunto de dos variables como la temperatura y la humedad, más la edad de las hembras.

A temperatura constante (27° C) y variando el contenido de humedad del alimento, se obtienen diferentes valores de fecundidad por hembra, en un periodo de 90 días: 11% HR = 91,8; 12,5% = 148,7 y 14% = 192,6. Según LONGSTAFF & EVANS, 1983, la fecundidad alcanza su máximo nivel a 24° C , cuando el grano contiene un 14% de humedad, y en estas condiciones, el ciclo de vida completo abarca aproximadamente seis semanas. Con valores altos de fecundidad —similares a los obtenibles a 24° C —, el ciclo se desarrolla en solo cuatro semanas cuando la temperatura de incubación es de $27^{\circ} \text{ C} - 30^{\circ} \text{ C}$ y la humedad del grano se encuentra entre los 12,5% y 14%. Dentro de éste rango, el pico de máxima fecundidad en las hembras, se observa en el intervalo de edad comprendido entre una y cuatro semanas.

La proporción de sexos en una población natural de *S. oryzae* es 1:1, según distintos autores (RICHARDS, 1947; EVANS, 1977 y HOLLOWAY, 1985) y observaciones propias. Los cruzamientos entre individuos de diferentes cepas, arrojan en ciertos casos una F1 con una proporción de sexos desbalanceada a favor de las hembras (SHAZALI, 1982), y este sesgo, puede observarse a lo largo de varias generaciones y cruzamientos recíprocos. A pesar de hallarse establecida genéticamente la proporción de sexos (1:1), la fecundidad alcanza niveles óptimos cuando la proporción de machos y hembras es 2:5. No se trata en este caso de asegurar elevada frecuencia de cópulas, sino de asegurar un mínimo de encuentros entre ambos sexos, con por lo menos una cópula por hembra, reduciendo el número de individuos y evitando la competencia intraespecífica que afecta seriamente la fecundidad y la supervivencia. Sin embargo, la relación 2:5 debe ser considerada en función de un determinado espacio físico o en su defecto, definirse en función de la densidad de población.

La actuación reproductiva de *S. oryzae*, en relación con su densidad poblacional, ha suscitado un número importante de trabajos. Las primeras investigaciones en este campo se de-

ben a MacLAGAN, 1932, que define a la densidad poblacional y al número de huevos puesto por cada hembra, como una relación inversamente proporcional, que puede describirse a través de una función hiperbólica (MacLAGAN & DUNN, 1935). Estudios posteriores muestran que a densidades de población muy bajas, la fecundidad decae, asignándole a ésta relación una función más compleja que una simplemente hiperbólica. El modelo de CUFF & HARDMAN, 1980 muestra la evolución de una población de *S. oryzae*, considerando la interacción de la densidad de población inicial con dos variables: la temperatura y la atmósfera dentro de la cámara de incubación, la composición de esta última, dependiente de la temperatura y la densidad de población iniciales.

La naturaleza de la relación entre la densidad de población y fecundidad de *S. oryzae* es similar a la establecida para *S. granarius* por MacLAGAN, 1932. La descripción apropiada para esta relación, es el modelo de LONGSTAFF, 1981,

$$f = a \cdot (\log_e N)^b \cdot N^{-c}$$

donde N es el número de hembras por número de granos de trigo, f es el número de huevos depositados por hembra y las constantes valen: $a = 6,8211$, $b = 2,3221$ y $c = 0,3993$. Esta función refleja dos procesos opuestos que determinan el nivel de fecundidad. El término $(\log_e N)^b$ representa la realimentación positiva, o efecto social de incremento de la densidad poblacional, mientras que N^{-c} se refiere al fenómeno de sobrepoblación o realimentación negativa. Tratándose de volúmenes grandes de cereal, estos dos efectos se anulan en forma recíproca cuando la densidad poblacional es de un individuo por cada 2000 granos de trigo, situación en la cual la fecundidad alcanza su valor máximo. Con densidades de población mayores que las sugeridas por LONGSTAFF, 1981, disminuye notablemente la supervivencia de las fases inmaduras. Sin embargo, cuando se trata de volúmenes peque-

ños (150g), expuestos durante cortos intervalos a la plaga (5 días), el máximo de fecundidad y supervivencia se alcanza con densidades de población de 7×10^4 individuos cada 10^6 granos de trigo. Estableciendo la densidad de población inicial y la proporción de sexos en un cultivo de *S. oryzae*, puede predecirse con cierta precisión la evolución de dicha población bajo condiciones controladas.

El factor de mayor incidencia sobre la tasa de reproducción, el tamaño individual y estado fisiológico de *S. oryzae* (bajo condiciones ambientales óptimas), es el alimento desde un punto de vista cuali-cuantitativo. De modo que: *la inevitable heterogeneidad en las características del alimento natural, influye negativamente sobre la factibilidad de reproducir un ensayo o una experiencia*. Las primeras observaciones sobre este fenómeno fueron de orden práctico, y a través de ellas se comprobó, que el tamaño del grano de trigo está directamente correlacionado con el nivel de daño causado por *S. oryzae* (DOGGETT, 1957). SHAZALI, 1986, determinó experimentalmente la tasa reproductiva de *S. oryzae* en grano grande y pequeño, correlacionándola con la pérdida de peso del grano utilizado y calculando además la distribución de frecuencias de oviposiciones por grano. En otras experiencias de cría, utilizando dos tamaños de grano más una mezcla de ambos, la diferencia entre el número de oviposiciones en el grano grande y en la mezcla no fue significativa; pero el 76% de las oviposiciones en la mezcla, se localizaron en el grano grande y el 24% en el de tamaño pequeño. La preferencia de *S. oryzae* a oviponer en granos de mayor tamaño, fue inicialmente notada (RICHARDS, 1947, RUSSELL, 1962) y discutida por diferentes autores, sin que hasta el momento se hubiese encontrado una explicación, más allá de lo meramente especulativo.

Distintos autores han demostrado por diferentes vías, que el tamaño y tipo de alimento son responsables directos del tamaño de los individuos (SURTEES, 1965; LAVADINHO, 1975), y éste a su vez, de la fecundidad de la

población. Las diferencias en la tasa de reproducción de dos poblaciones de una misma cepa de *S. oryzae*, criadas sobre diferentes variedades de trigo, pueden ser en algunos casos más significativas que aquellas que se obtienen sobre alimentos diferentes como el maíz y el trigo (PHADKE & BHATIA, 1974, KHARE & AGRAWAL, 1963). El empleo de distintas variedades de trigo para la cría de *S. oryzae*, no altera solamente la tasa de reproducción de la población, sino que afecta también la tasa de mortalidad (RUSSELL, 1966, KOURA et al., 1971), así como al tamaño y peso de los imkagos (F1) (UNGSUNANTWIWAT & MILLS, 1985). Los factores responsables de estas diferencias son especialmente físicos y químicos, y están en general relacionados con las características del pericarpio del grano. Las conocidas variaciones en los cultivos de diferentes generaciones de una cepa de *S. oryzae*, se deben principalmente a la falta de un alimento "standard", que permita minimizar u homogenizar el efecto de variables tales como: dureza del pericarpio, substancias químicas atractantes y repelentes contenidas en el pericarpio, textura y estructura del pericarpio y tamaño del grano. Estas características están sujetas a variaciones inter o intra-híbrido (RUSSELL, 1966; STEVENS & MILLS, 1973; GOMEZ et al., 1982; GOMEZ et al., 1983; GOMEZ et al., 1983), pero también se modifican con el tiempo, durante el almacenamiento del cereal (PENG et al., 1983).

En el Cuadro 2 puede verse claramente que: el coeficiente de variación (CV) para los grupos de ambos sexos alimentados con la dieta artificial, es menor que el calculado para los grupos alimentados con trigo.

El test de diferencia entre las varianzas (Tabla 3) y el test *F* de anova, destacan la diferencia entre los grupos alimentados con trigo y los que se desarrollaron sobre alimento artificial. Se observan también las diferencias inducidas por el tamaño de comprimido (1/1 y 1/4), que son significativas para los machos, pero no así para las hembras (método de contrastes según Scheffé para $F1_{1/1}$ y $F1_{1/4}$ ($P < 0.05$)).

CONCLUSIONES

Este nuevo sistema normalizado de cría de *S. oryzae*, ofrece la posibilidad de definir o caracterizar a una cepa, fijando todas las variables ecofisiológicas, y de obtener material biológico de características cuali y cuantitativas estables, ya sea entre los individuos de una población como entre diferentes generaciones a través de:

a. Condiciones ambientales definidas: Definiendo humedad, temperatura, densidad de población paterna, proporción de sexos, la práctica de retirar los padres luego de un corto período de oviposición y la eliminación de las partículas finas (frass). Fijando estas variables se mantuvieron estables la producción de calor, el balance de agua y concentración de gases durante la incubación, evitando:

a₁. Los altos índices de mortalidad así como los bajos índices de fertilidad, provocados por situaciones desfavorables que se generan en condiciones no controladas, a partir de la interacción inespecífica de las variables exógenas.

a₂. El desfase en la duración del ciclo de vida entre distintas poblaciones.

a₃. El desarrollo masivo de hongos y la invasión de ácaros en los cultivos.

b. Condiciones nutricionales definidas: El uso de alimento artificial descarta las diferencias cuali-cuantitativas propias e interhíbrido además de la influencia de factores físico-químicos que alteran el grano. Es posible entonces obtener poblaciones más homogéneas en cuanto a:

b₁. Su estado fisiológico general.

b₂. Tasa de reproducción (fecundidad en relación con el tamaño del alimento).

b₃. Tamaño de los individuos (en relación con el tamaño del alimento), que también afecta la densidad de población final (F1) a través de la fecundidad.

c. La alimentación artificial más las condiciones de incubación establecidas, permiten

caracterizar una cepa o comparar dos cepas sobre la base de variables ecofisiológicas definidas. El número de descendientes (F1) obtenidos de las cepas *CIPEIN-S* y *CIPEIN-RM*, criadas con trigo y dieta artificial, no varía de modo significativo, y solamente se modifican los coeficientes de variación (CV) en forma proporcional, en cada una de las cepas.

Por otra parte, el empleo de alimento artificial para la cría de *S. oryzae* en laboratorio presenta también otras ventajas:

1. Para ensayos toxicológicos, pueden obtenerse en forma rápida y en número prácticamente ilimitado, los huevos, larvas de diferentes estadíos y pupas, disgregando los comprimidos bajo un chorro de agua sobre un tamiz (250 μ), método que desplaza la técnica de disección de semillas (SODERSTROM, 1960).
2. Los imagos (F1) de las cepas utilizadas, que emergen del trigo a lo largo de 14 días

aproximadamente, lo hacen del alimento artificial sólo en 8 días (Fig. 2). Esto permite obtener mayor número de individuos del mismo intervalo de edad a partir de cultivos más pequeños.

Esta nueva metodología para la cría de *S. oryzae*, pretende ser un aporte a la unificación de criterios para sentar las bases para la normalización del material biológico destinado a experiencias toxicológicas.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar ni más sincero agradecimiento al Dr. E.N. Zerba y a la Dra. M.I. Piccolo de Villar del Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN), por haber cedido el material, objeto del presente trabajo.

ABSTRACT

SADLER, T., 1988: Normalización de las variables ecofisiológicas durante el desarrollo de *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Bol. San. Veg. Plagas* 14 (4): 541-552.

A rearing method for *S. oryzae*, establishing the principal ecophysiological-variables is described. This method is based on a new artificial breeding media and defined experimental conditions: appropriate temperature, moisture content, population density and a special handling of the culture. The populations reared under these conditions, show a low variation coefficient of weevil size, fecundity and mortality of larvae and imagos. The uniform characteristics of populations obtained, allows to compare between different strains. Also, with this method, it is possible to standardize the detection and measurement of resistance of *S. oryzae* to pesticides, and to screen grain varieties resistant to *S. oryzae*, with comfortable results.

Key words: *Sitophilus oryzae*, ecophysiological-variables.

REFERENCIAS

- BAKER, J.E., 1974: Differential sterol utilization by larvae of *Sitophilus oryzae* and *S. granarius*. *Ann. entom. Soc. Am.* 67: 591-594.
- BAKER, J.E., 1976: Total dietary amino acid and lysine requirements for larvae of *Sitophilus oryzae*. *J. Georgia Ent. Soc.* 11 (2): 173-176.
- BAKER, J.E., 1978: Sulfur amino-acid requirements of larvae of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Comp. Biochem. Phys. B* 60 (4): 355-360.
- BAKER, J.E., 1979: Requirements for the essential dietary aminoacids of larvae of the rice weevil. *Environ. Entomol.* 8 (3): 451-453.
- BAKER, J.E. & MABIE, J.M., 1959: Growth responses of larvae of the rice weevil, maize weevil and granary weevil on a meridic diet. *J. econ. Entomol.* 66: 723-726.
- BANSODE, P.C. & BHATIA, S.K., 1981: Note on reduced reproductive ability in a malathion resistant strain of *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Prot. Ecol.* 3: 63-64.
- BIRCH, L.C., 1944: The effect of the temperature and dryness on the survival of the eggs of *Calandra oryzae* (L.) (small strain) and *Rizopertha dominica* Fab. (Coleoptera). *Aust. J. exp. Biol. Med. Sci. Adel.* 22: 265-269.
- BIRCH, L.C., 1945: The mortality of the immature stages of C.

- oryzae* (small strain) and *R. dominica* in wheat of different moisture contents. *Aust. J. exp. Biol. Med. Sci.* **23** (2): 141-145.
- CHAMP, B.R., 1968: A test method for detecting insecticide resistance in *Sitophilus oryzae* (L) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stor. Prod. Res.* **4**: 175-178.
- CHAMP, B.R. & DYTE, N., 1976: Pesticide susceptibility of stored grain pests. FAO Plant Prot. Ser. N.º5: 58-297.
- CHIPPENDALE, G.M., 1972: Dietary carbohydrates - Role in survival of the adult rice weevil *Sitophilus oryzae*. *J. Ins. Phys.* **18** (5): 949-957.
- CUFF, W.R. & HARDMAN, N., 1980: A development of the Leslie matrix formulation for restructuring and extending an ecosystem model: The infestation of stored wheat by *Sitophilus oryzae*. *Ecological Modelling* **9**: 281-305.
- DAVIS, R. & BRY, R.E., 1985: *Sitophilus granarius*, *S. oryzae* and *S. zeamais*. In *Handbook of Insect Rearing*. vol. I-II: 287-289 ed. Singh, P & Moore, R.F. Elsevier Sc. Publ. Inc. Co. NY.
- DOGGETT, H., 1957: The breeding of sorghum in East Africa. I. Weevil resistance in sorghum grain. *Emp. J. exp. Agric.* **25**: 1-9.
- EASTHAMN, L.E.S. & SEGROVE, F., 1947: The influence of temperature and humidity on instar length in *Calandra granaria* Linn. *J. Exp. Biol.* **24**: 79-94.
- EVANS, D.E., 1977: The capacity for increase at a low temperature of several Australian populations of *Sitophilus oryzae* (L). *Aust. J. Ecol.* **2**: 55-67.
- EVANS, D.E., 1982: The influence of temperature and grain moisture content on the intrinsic rate of increase of *Sitophilus oryzae* (L) (Coleoptera: Curculionidae). *J. stor. Prod. Res.* **18**: 55-66.
- FAO, 1974: Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. FAO Method N.º 15. *Plant Prot. Bull. FAO*, **23** (1): 12-25.
- GOMEZ, L.A., RODRIGUEZ, J.G., PONELEIT, C.G., BLAKE, D.F., 1982: Preference and utilization of maize endosperm variants by the rice weevil. *J. Econ. Entom.* **75** (2): 363-367.
- GOMEZ, L.A., RODRIGUEZ, J.G., PONELEIT, C.G., BLAKE, D.F., 1983: Relationship between some characteristics of the corn kernel pericarp and resistance to the rice weevil (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entom.* **76** (4): 797-800.
- GOMEZ, L.A., RODRIGUEZ, J.G., PONELEIT, C.G., BLAKE, D.F., 1983: Chemosensory responses of the rice weevil (Coleoptera: Curculionidae) to a susceptible and a resistant corn genotype. *J. Econ. Entom.* **76** (5): 1044-1048.
- HOLLOWAY, G.Y., 1985: An analysis of inherited factors affecting the sex ratio in the rice weevil *Sitophilus oryzae* L. *Heredity* **55**: 145-150.
- KHARE, B.P. & AGRAWAL, N.S., 1963: Effect of temperature, relative humidity, food material and density of insect population on the oviposition of *Sitophilus oryzae* (Linn.) and *Rhyzopertha dominica* Fab. *Bull. Grain Technol.* **1**: 48-60.
- KIRITANI, K., 1965: Biological studies on the *Sitophilus* complex (Coleoptera: Curculionidae) in Japan. *J. Stor. Prod. Res.* **1**: 169-176.
- KOURA, A., RISK, S., EL HALFAWY, M., ALY, F.D., 1971: Type of food as a factor influencing the longevity of some stored products insects. *Agr. Res. Rev.* **49**: 30-33.
- LAVADINHO, A.M.P., 1975: Toxicological studies on adult *Sitophilus granarius* (L), influence of individual body weight on the susceptibility to DDT and malathion. *J. Stor. Prod. Res.* **12**: 215-224.
- LONGSTAFF, B.C., 1981: Density-Dependent fecundity in *Sitophilus oryzae* (L) (Coleoptera: Curculionidae). *J. stor. Prod. Res.* **17**: 73-76.
- LONGSTAFF, B.C. & EVANS, N., 1983: The demography of the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L) (Coleoptera: Curculionidae) submodels of age-specific survivorship and fecundity. *Bull. Ent. Res.* **73**: 333-344.
- MacLAGAN, D.S., 1932: The effect of population density upon rate of reproduction with special reference to insects. *Proc. R. Soc. London, Ser. B*, **111**: 437-454.
- MacLAGAN, D.S. & DUNN, E., 1935: The experimental analysis of the growth of an insect population. *Proc. R. Soc. Edinburgh*, **55**: 126-138.
- PENG, W.K., HSU, S.J., HO, K.K., 1983: Studies on the varietal resistance of rice weevil *Sitophilus oryzae* (L). *Phytopathologist & Entomologist NTU* (19): 27-38.
- PHADKE, K.G. & BHATIA, S.K., 1974: Population growth of *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhyzopertha dominica* (F) in wheat varieties. *Ind. J. Entomol.* **36**: 251-260.
- PICOLLO de VILLAR, M.I., SECCACINI, E., ZERBA, E.N., 1985: Resistencia a malation en insectos plaga del grano almacenado de la Republica Argentina. IDIA N.º 441-444: 59-63.
- RAJAK, R.L., 1973: Bioassay technique for resistance to malathion of stored product insects. *Internat. Pest. Cont.* **15** (6): 11-16.
- RICHARDS, O.W., 1947: Observations on grain-weevils *Calandra* (Coleoptera: Curculionidae) I. General biology and oviposition. *Poroc. Zool. Soc. London* **117**: 1-43.
- RUSSELL, M.P., 1962: Effects of sorghum varieties on the lesser rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). Oviposition, immature mortality and size of adults. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **55**: 1335-1336.
- RUSSELL, M.P., 1966: Effects of four sorghum varieties on the longevity of the lesser rice weevil *Sitophilus oryzae* (L). *J. Stor. Prod. Res.* **2**: 75-79.
- SATOMI, H., 1960: Differences in some physiological and ecological characters between two allied species of the rice weevils *C. oryzae* and *C. sasakii* collected from different districts of the world. *Jap. J. Ecol.* **10** (6): 218-226.
- SCHEFFE, H., 1959: *The analysis of Variance*. Publ. J. Wiley N.Y. 477 pp.
- SHARMA, V.K., 1985: Optimal ovipositional period in relation to number of eggs laid by *Sitophilus oryzae* (L) in different wheat varieties. *J. Ent. Res.* **9** (2): 160-164.
- SHAZALI, M.E.H., 1982: The biology and population ecology of four insect pests of stored sorghum with particular references to competition and succession. Ph.D. Thesis, Univ. of Reading, Sudan.
- SHAZALI, M.E.H., 1986: Effect of sorghum grain size on developmental ecology of *Sitophilus oryzae*. *Z. Angew. Zool* **73** (3): 293-300.
- SINGH, N.B. & SINHA, R.N., 1977: Carbohydrate, lipid and protein in the developmental stages of *Sitophilus oryzae* and *S. granarius* (Coleoptera: Curculionidae). *Ann. Ent. Soc. Amer.* **70** (1): 107-111.
- SOLOMON, M.E., 1952: Control of humidity with potassium hydroxide, sulfuric acid, of other solutions. *Bull. ent. Res.* **42**: 543-554.
- STEVENS, R.A. & MILLS, R.B., 1973: Comparison of techniques for screening sorghum grain varieties for resistance to rice weevil. *J. Econom. Entomol.* **66** (5): 1222-1223.

- SURTEES, G., 1965: Effect of grain size on development of the weevil *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) *Proc. Roy. ent. Soc. London A* **40**: 38-40.
- THAUNG, M. & COLLINS, P.J., 1986: Joint effects of temperature and insecticides on mortality and fecundity of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) in wheat and maize. *J. econ. Entomol.* **79** (4): 909-914.
- UNGSUNATWIWAT, A. & MILLS, R.B., 1985: Influence of rearing medium on size and weight of adults of four *Sitophilus* populations and on weight of host kernels (Coleoptera: Curculionidae). *J. stor. Prod. Res.* **21** (2): 89-93.
- WINSTON, P.W. & BATES, D.H., 1960: Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology* **41**: 232-237.