

## Acción de la humedad relativa y la fluctuación térmica sobre la crisálida no diapausante de la “polilla del racimo”, *Lobesia botrana* Den. y Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae)

L. M. TORRES-VILA, L. OUSTRY, V. SCHMITZ, R. ROEHRICH Y J. STOCKEL

Las crisálidas no diapausantes de *L. botrana* (Den. y Schiff.) expuestas durante su desarrollo a humedad relativa (h.r.) del 0 al 100 %, bajo régimen fluctuante de temperatura (RFT) (16 h. a  $18\pm 1^\circ$  C y 8 h. a  $30\pm 1^\circ$  C,  $T_m = 22^\circ$  C), mostraron una mortalidad progresivamente creciente hacia las h.r. extremas (0 y 100 %), con máximos del 35-40 %. Al contrario, bajo régimen constante de temperatura (RCT) (24 h. a  $22\pm 1^\circ$  C,  $T_m = 22^\circ$  C), la h.r. no tuvo un efecto apreciable sobre la mortalidad pupal, que no superó el 10 %.

Las bajas higrometrías con relación a las altas, provocaron una mayor pérdida de peso en la crisálida hembra, no teniendo efecto sobre la crisálida macho. La fluctuación térmica no tuvo incidencia en la pérdida de peso pupal. En los dos sexos, las crisálidas de menor peso experimentaron una mortalidad significativamente más elevada.

La longevidad pupal de las hembras, aumentó para los valores extremos de h.r. (0 y 100 %) en el RFT, no afectando a las crisálidas macho. Por el contrario, el RFT aceleró el desarrollo pupal con respecto al RCT exclusivamente en los machos, no afectando a las hembras.

El sexo tuvo otros importantes efectos además de los señalados; el peso pupal, imaginal y la mortalidad pupal fue significativamente superior en la hembra. El desarrollo pupal se mostró protándrico, más rápido en el macho. Globalmente la crisálida macho experimentó una mayor pérdida de peso (46 %) que la crisálida hembra (32 %), probablemente debido a la masa ovárica.

En las condiciones del ensayo, ninguna de las variables estudiadas, humedad relativa y fluctuación térmica, actuando sobre la crisálida no diapausante, tuvo efecto significativo sobre la fecundidad, fertilidad o longevidad de la hembra adulta.

L.M. TORRES-VILA, L. OUSTRY, V. SCHMITZ, R. ROEHRICH y J. STOCKEL.  
Laboratoire d'Ecophysiologie des ravageurs de la vigne. Station de Zoologie. I.N.R.A.  
Centre de Recherches de Bordeaux. B.P. 81, F-33883 Villenave d'Ornon Cedex.  
France.

**Palabras clave:** *Lobesia botrana*, crisálida, humedad relativa, temperatura, pérdida de peso, mortalidad, fecundidad, protandria.

## INTRODUCCION

*Lobesia botrana* (Den. y Schiff.) puede ser considerada, en las regiones vitícolas meridionales, como la plaga primaria a controlar. Trabajos en curso intentan evaluar y cuantificar la acción de diversas variables bióticas y abióticas, sobre la dinámica de población de esta polilla. El mejor conocimiento e integración de las mismas, posibilitará el perfeccionamiento de los métodos de lucha integrada desarrollados en la actualidad: el seguimiento por trapeo sexual de la dinámica de población, el empleo de umbrales de daño y la modelización, para racionalizar el uso de productos fitosanitarios y conseguir una previsión cualitativa o/y cuantitativa eficaz, fácilmente utilizable por el viticultor (ROEHRICH y SCHMID, 1979; TOUZEAU, 1981; GABEL, 1981, 1989; GABEL y MOCKO, 1984, 1986; ROEHRICH y STOKEL, 1988; STOCKEL, 1989, 1990; TORRES-VILA *et al.*, 1992).

Dentro de este marco de actuación, en el transcurso de insectaciones artificiales en campo mediante crisálidas, en el verano de 1991 en el viñedo bordelés, se observó una elevada mortalidad de las pupas, que no llegaron a avivar, presumiblemente debido a las rigurosas condiciones higrotérmicas que tuvieron lugar. Se planteó, en consecuencia, la posibilidad de que las bajas higrometrias y las fuertes oscilaciones térmicas registradas durante la experimentación, fuesen la causa de la mortalidad observada, dado que las crisálidas muertas mostraban el adulto perfectamente formado en el interior.

Se conoce que la humedad relativa (h.r.), juega un papel determinante sobre los estados embrionario (GÖTZ, 1941 en: BOVEY, 1966; COSCOLLA y SÁNCHEZ, 1986) e imaginal (MARCHAL, 1912; STELWAAG, 1939 en: Bovey, *op. cit.*) de *L. botrana*. Sin embargo, el efecto sobre los estados larvario y ninfal es prácticamente desconocido.

La larva no parece ser, *a priori*, muy sensible al nivel higrométrico dado su hábitat y etiología. En este estado, existen varios mecanismos de defensa contra las bajas higrometrias: su movilidad posibilita la bús-

queda activa de condiciones microclimáticas favorables de h.r.; está protegida por un glomérulo en 1ª generación, realizando el desarrollo en 2ª y 3ª generaciones en el interior de las bayas, lo que proporciona incluso h.r. próximas a saturación; además, es capaz de compensar la pérdida de agua a través de la cutícula por medio de la alimentación.

Por el contrario, la crisálida posee menores defensas contra la h.r. desfavorable; fundamentalmente el endurecimiento de la cutícula. A este respecto, en algunas especies de insectos y en determinadas condiciones, el capullo sedoso que rodea a la crisálida sirve de protección suplementaria contra la desecación (CHAUVIN, 1956; NOWBAHARI y THIBOUT, 1990). La elección del lugar de ninfosis por la larva, podría ser considerado como un mecanismo indirecto de protección, ya que las crisálidas no diapausantes (1ª y 2ª generaciones), que habrán de soportar el estío, se emplazan con mayor frecuencia, en las partes verdes de la vid (CAUSSE *et al.*, 1984), que por transpiración suministran un microclima más favorable.

Por lo expuesto hasta aquí, no parece probable que la h.r. juegue, en condiciones normales, un papel decisivo sobre la oruga. Queda por precisar, sin embargo, cual es la incidencia de dicha variable climática sobre el estado pupal del insecto.

Este es el objetivo del presente trabajo, en el que se intenta evaluar la acción de la humedad relativa, en concurrencia con la fluctuación térmica, sobre la crisálida, y su posible efecto derivado sobre otras variables bióticas implicadas en la dinámica poblacional.

## MATERIAL Y METODOS

### Insecto

*L. botrana* proviene de una cría en laboratorio sobre medio artificial semisintético (STOCKEL *et al.*, 1989), que se mantiene en la estación de Zoología del INRA de Burdeos, desde hace más de 100 generaciones. Las

condiciones de cría son:  $22 \pm 1^\circ \text{C}$ ,  $60 \pm 10\%$  h.r., fotoperíodo 16:8 (L:O) e intensidad luminosa de 500 lux. La condición de "día largo" adoptada, actuando sobre el estado larvario, inhibe la entrada en diapausa de la crisálida (KOMAROVA, 1949; ROEHRICH, 1969).

### Obtención de las crisálidas

Las crisálidas para los ensayos se obtuvieron a partir de larvas  $L_5$  en "estado azul" y precrisálidas (etapas del desarrollo en las cuales ya está inhibida la alimentación en la oruga), escogidas al azar, que se aislaron del resto de la colonia en cajas de polietileno cerradas por una muselina, a las que se añadían tiras de papel ondulado para favorecer la crisalidación.

Con posterioridad, diariamente se recuperaban las crisálidas neoformadas de edad conocida ( $< 24 \text{ h.}$ ), y acto seguido se pesaban, sin el capullo, con una balanza de precisión. El capullo fue eliminado dado que en un ensayo preliminar, no se encontró efecto protector frente a la pérdida de agua en crisálidas no diapausantes, probablemente debido a su tejido rudimentario y permeable y a la escasa duración del estado (11 - 13 días a  $22^\circ \text{C}$ ). Seguidamente, las crisálidas desnudas se disponían individualmente, en tubos de vidrio de 70 mm.  $\times$  9 mm.  $\emptyset$  que se cerraron con tul (trama de 1 mm.  $\emptyset$ ), sujeto por una goma elástica.

### Humedad relativa y temperatura del ensayo

Se prepararon dos series de 6 cajas de polietileno transparente, con cierre hermético, de 3 l. de capacidad, con h.r. interiores respectivas de 0-5 %,  $20 \pm 5\%$ ,  $40 \pm 5\%$ ,  $60 \pm 10\%$ ,  $80 \pm 10\%$  y 95-100 %. Las h.r. extremas (0 y 100 %), de difícil ocurrencia en la naturaleza durante períodos de tiempo duraderos, se incluyeron por considerarse de interés desde un punto de vista fundamental. En particular, las h.r. más elevadas

(80 y 100%), de difícil concordancia en condiciones naturales con las temperaturas estivales, se incluyeron por su interés comparativo con estudios similares efectuados sobre crisálidas diapausantes (TORRES-VILA, no publicado).

Las h.r. interiores a cada caja, se consiguieron mediante la adición de 1/2 l. de mezcla de agua permutada y glicerol, salvo para la caja con 100 % de h.r. que sólo contenía agua permutada, y para la de 0 % a la que se añadió gel de sílice (500 g.) en lugar de glicerol puro, por la mejor absorción de la humedad del primero. Las mezclas agua permutada-glicerol se talonaron con ayuda de una sonda termohigrométrica Vasalia<sup>R</sup>, para conseguir las h.r. reseñadas, a la temperatura del ensayo.

Después de un sexage previo se dispusieron 60 crisálidas (30 machos y 30 hembras) por tratamiento, en el interior de cada caja, sobre una rejilla que impedía el contacto con la mezcla agua-glicerol o el gel de sílice. Para facilitar el intercambio de humedad entre las crisálidas y el ambiente interior de las cajas, los tubos se dispusieron inclinados, de manera que las crisálidas se situasen al lado de la boca, siendo retenidas por el tul. Completando el dispositivo, las cajas de experimentación se sellaron con Parafilm<sup>R</sup>, para conseguir una estanqueidad total.

Con esta metodología, la totalidad del desarrollo de las crisálidas, tiene lugar bajo las condiciones prefijadas para cada tratamiento.

En lo que a la temperatura se refiere, ésta es a menudo aplicada como constante por razones prácticas, en las experiencias en laboratorio. Sin embargo, en condiciones naturales, la temperatura varía según una ley sinusoidal. Con el fin de poner en evidencia posibles diferencias entre ambos regímenes térmicos, en el estado pupal, se plantearon dos experiencias paralelas, a temperatura constante y fluctuante, con igual temperatura media, simulando en laboratorio las condiciones térmicas del verano bordelés:

*Régimen constante de temperatura (RCT).* Una batería de seis cajas, con las h.r. interiores ya señaladas, se dispuso en sala climatizada a  $t = 22 \pm 1^\circ \text{C}$ ,  $60 \pm 10\%$  h.r. (ambiente), fotoperíodo 16:8 (L:O) e intensidad luminosa de 1000 lux.

*Régimen fluctuante de temperatura (RFT).* Una segunda batería análoga, se dispuso bajo las mismas condiciones descritas para la serie con RCT, salvo que la temperatura se hizo fluctuar, 16 horas a  $18 \pm 1^\circ \text{C}$  y 8 horas a  $30 \pm 1^\circ \text{C}$ . De esta forma, como ya se ha indicado, se consigue la misma temperatura media  $T = 22 \pm 1^\circ \text{C}$ . Las 8 horas a  $30^\circ \text{C}$  se hicieron coincidir con las 8 horas centrales de la fotofase, simulando las de mayor insolación y temperatura en condiciones naturales. La fluctuación térmica buscada, se consiguió cambiando físicamente la batería de cajas, desde una sala climatizada a  $18 \pm 1^\circ \text{C}$  a una estufa Secasi<sup>®</sup> a  $30 \pm 1^\circ \text{C}$ , alternativamente dos veces al día, y sin interrupción hasta la emergencia de la totalidad de los adultos supervivientes. Se comprobó, con ayuda de la sonda, que el cambio de temperatura no ocurría con excesiva brusquedad, entre 1 1/2 y 2 1/2 h. según la h.r. de cada caja de experimentación.

Todos los días, en la octava hora de la fotofase, se extrajeron de las cajas los adultos avivados y se pesaron, previo adormecimiento con acetato de etilo. Las hembras elegidas para el ensayo de fecundidad descrito más adelante, se pesaron directamente, sin anestesia, introduciéndolas en una bolsita de tul de  $4 \times 1 \text{ cm.}$ , bajo iluminación intensa para disminuir su actividad y facilitar la pesada. Se elimina así el riesgo de modificación de las capacidades bióticas de la hembra, por el contacto con el éter.

## Fecundidad

En la serie con RFT, con condiciones ambientales más próximas de las naturales, se probaron un número variable de hembras por cada tratamiento (8-11), para determinar la posible influencia de la h.r. actuando en el estado de crisálida, sobre la fecundi-

dad del adulto. Para ello, éstas se introdujeron individualmente en bolsas de papel celofán de 1 l. de capacidad, incluyendo cada una un abrevadero, formado por un cilindro de plástico ( $4,5 \times 1,5 \text{ cms. } \emptyset$ ), un algodón y una mecha para el suministro de agua. Las bolsas se dispusieron sobre una rejilla que reposaba en una bandeja con agua, de forma que la mecha humectase continuamente el algodón. El dispositivo se situó a  $22 \pm 1^\circ \text{C}$ ,  $60 \pm 10\%$  h.r., fotoperíodo 16:8 (L:O) e intensidad luminosa de 1000 lux. En la última hora de la fotofase se utilizó iluminación reducida (25 lux), simulando el crepúsculo. Una hora antes del comienzo del primer crepúsculo de la vida de las hembras, se introdujeron en cada bolsa dos machos vírgenes (3 días de edad) para el acoplamiento. Las bolsas se mantuvieron hasta la muerte de las hembras, reteniéndose la fecundidad (puesta total), la fertilidad (puesta viable) y la longevidad, de las hembras normalmente inseminadas.

Otras indicaciones complementarias, sobre las condiciones del test de fecundidad utilizado con *L. botrana*, pueden encontrarse en TORRES-VILA (1991).

## Pérdida de peso

En las crisálidas que dieron lugar a adultos, se calculó la pérdida de peso, expresada en porcentaje con respecto al peso inicial de la crisálida (edad <24 h.) como:

$$\text{Pérdida Peso (\%)} = 100 [1 - (\text{Peso adulto} / \text{Peso crisálida})]$$

En este índice se incluye, fundamentalmente, la pérdida de agua por transpiración a través de la cutícula de la crisálida durante su desarrollo, pero también el exuvio pupal y las secreciones de meconio del adulto al emerger.

## Análisis de datos

En el análisis estadístico se emplearon los test no paramétricos *G* y de Kruskal-Wallis, así como el paramétrico test *t* (SCHERRER, 1984).

**RESULTADOS Y DISCUSION**

**Mortalidad Pupal**

En la serie con RCT, se observa un ligero aumento de la mortalidad hacia las h.r. extremas, no superándose el 10 % en ningún caso. Por el contrario, en la serie con RFT, el incremento es considerable, y progresivo hacia las h.r. extremas, hasta valores de mortalidad del 35-40 %, a 0 y 100 % de h.r. (Fig. 1). Sin embargo, la causa de la mortalidad fue dife-

rente para las h.r. desecantes (0-20 %) y las h.r. elevadas (80-100 %).

En el primer caso, los imagos se encontraban perfectamente formados en el interior del exuvio, e incluso algunos intentaron emerger sin conseguirlo (Fig. 2). El mismo efecto se observó en las crisálidas del Saturanido *Samia walkeri*, igualmente muy sensibles a los bajos niveles higrométricos (Ludwig, 1948).

En las crisálidas sometidas a elevadas h.r., la metamorfosis se detuvo en una fase mucho

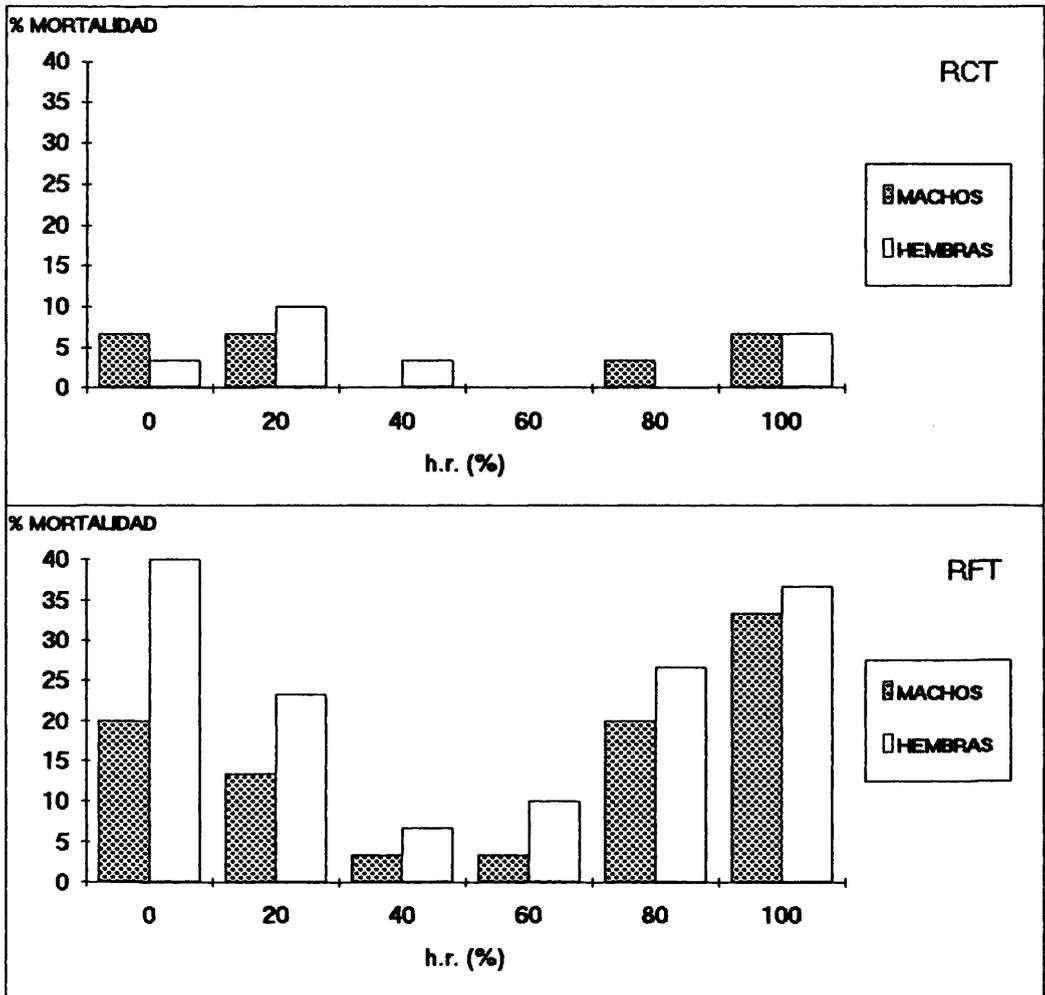


Figura 1.— Mortalidad de las crisálidas de *L. botrana* a diferentes humedades relativas, según dos regímenes térmicos, RCT (24 h. a 22±1° C, Tm= 22° C) y RFT (16 h. a 18±1° C y 8 h. a 30±1° C, Tm= 22° C).



Figura 2.— Crisálidas muertas de *L. botrana*, sometidas durante su desarrollo a niveles desecantes de humedad (0-20 h.r.). Obsérvese el imago perfectamente formado en el interior del exuvio. X 4.5 (Foto: J. P. Carles).



Figura 3.— Crisálidas muertas de *L. botrana*, sometidas durante su desarrollo a elevados niveles de humedad (80-100 % h.r.), colonizadas por *Penicillium sp.* X 4.5 (Foto: J.P. Carles).

más temprana, deformándose, perdiendo volumen y siendo colonizadas en su mayoría por *Penicillium sp.* (RODRÍGUEZ MOLINA M. C. det.), (Fig. 3). El carácter fundamentalmente saprófito de este género fúngico, hace suponer que las crisálidas estaban ya muertas en el momento de ser colonizadas por el hongo.

Los dos sexos mostraron una mortalidad significativamente más elevada con RFT que con RCT (machos: n= 360, Test G= 14,85, g.l.= 1, p< 0,01); hembras: n= 360, Test G= 33,01, g.l. = 1, p<0,01). El incremento de mortalidad bajo las condiciones de RFT con relación al RCT, puede ser debido al choque térmico entre las fases diarias fría y cálida (o viceversa), o a un efecto letal de la T<sub>máx.</sub> del ensayo; pero los efectos térmicos señalados no actúan exclusivamente, dado que la mortalidad aumenta progresivamente hacia las h. r. extremas (Fig.1). Ello indica que es la desviación de la h. r. del óptimo, estimado en 40-60 %, la causa del incremento en la mortalidad, con una potenciación en la acción combinada de la fluctuación térmica.

En los 6 tratamientos conjuntamente, y con RFT, las crisálidas hembra mostraron una mortalidad significativamente más elevada que las macho (n= 360, Test G= 3,97, g.l.= 1,

p< 0,05), siendo la diferencia entre sexos más grande para h.r. de 0-20 % (Fig. 1). Con RCT, por el contrario, no existieron diferencias en la mortalidad de ambos sexos.

El peso pupal de los machos y hembras que no llegaron a emerger, fue significativamente más bajo que el de las crisálidas que dieron lugar a adultos (Cuadro 1). En otra polilla del racimo, *Eupoecilia ambiguella* Hb., GÖTZ (1944) observa el mismo efecto a bajas h.r. Las crisálidas más ligeras se muestran en consecuencia, menos aptas a la supervivencia después de la pérdida de peso durante este estado, *a priori* por poseer una mayor relación superficie/volumen que aumenta proporcionalmente la transpiración. Sin embargo, y en discordancia con lo dicho, la pérdida de peso no se mostró correlacionada con el peso de la crisálida hembra (RCT: n= 173, r= 0,0041, N.S.; RFT: n= 137, r= 0,0799, N.S.) y en la crisálida macho la correlación fue significativa, pero prácticamente nula (RCT: n= 173, r= 0,1560, p< 0,05; RFT: n= 152, r= 0,1613, p<0,05). Parece existir pues, un umbral letal, que delimitaría el peso mínimo tolerable en la crisálida, compatible con la supervivencia del adulto.

Cuadro 1.— Influencia del peso de la crisálida no diapausante (edad<24 h.) de *L. botrana*, en la supervivencia y emergencia del adulto (RFT<sup>1</sup>).

| Machos         |     |                           | Hembras        |     |                         |
|----------------|-----|---------------------------|----------------|-----|-------------------------|
| Crisálidas     | n   | Peso crisálida (mg)       | Crisálidas     | n   | Peso crisálida (mg)     |
| Supervivientes | 152 | 8,81±1,26                 | Supervivientes | 137 | 12,43±1,92              |
| Muertas        | 28  | 8,10±1,38                 | Muertas        | 43  | 11,43±2,73              |
| Test t         |     | *<br>t= 2,5294<br>gl= 178 | Test t         |     | *<br>t=2,2197<br>gl=178 |

(1) Régimen fluctuante de temperatura: 16 h. a 18 ±1° C., 8 h. a 30 ±1° C. T<sub>m</sub>= 22° C.  
Valores, media ± desviación típica.  
Nivel de significación del test: \*\*\*p<0,001, \*\*p<0,01, \*p<0,05.

## Longevidad pupal

En ninguno de los dos regímenes térmicos, la h.r. afectó a la longevidad pupal del macho. Sin embargo, en el caso de las crisálidas hembra sometidas a RFT, con h.r. extremas del 0 y 100 %, ocurre un ligero pero significativo aumento de la longevidad pupal, es decir, una ralentización del desarrollo (Cuadro 2). A este respecto, la incidencia de las bajas higrometrias sobre el retraso del desarrollo ha sido puesta de manifiesto en numerosos insectos (CHAUVIN, 1956).

El RFT con relación al RCT aceleró el desarrollo pupal, especialmente en el macho, para el que las diferencias entre ambos regímenes fueron altamente significativas (Cuadro 3). En este mismo sentido, STELWAAG (1940) observa que las variaciones térmicas en el interior de los límites vitales, aceleran el desarrollo embrionario de *L. botrana*, en comparación con la temperatura constante análoga. Sin embargo, el aumento de la velocidad de desarrollo con el RFT no es generalizable, ya que en otros insectos no hay efecto o incluso ocurre al contrario, como en el gusano rosado del algodón, *Pectinophora gossypiella* Saunders (PHILIPS y WATSON, 1971). La explicación de estas discordancias, debe buscarse en el intervalo térmico utilizado, ya que la relación entre la velocidad de desarrollo del insecto y la temperatura es curvilínea, además de poder diferir entre especies.

Existen, por otro lado, pequeñas pero significativas diferencias en la longevidad pupal, entre los dos sexos. El desarrollo de los machos fue más rápido que el de las hembras, en los dos regímenes de temperatura, RCT y RFT, si bien en este último las diferencias entre sexos son aún mayores, alrededor de 14 h. (Cuadro 4). Estos resultados no hacen más que confirmar la protandria en el estado de crisálida, en las generaciones no diapausantes. La causa se encuentra en el diferente cero de desarrollo en ambos sexos en estado pupal, calculado por GABEL (1981) en 7,1° C y 9,1° C, para machos y hembras respectivamente.

## Pérdida de peso

La h.r. no afectó significativamente a la pérdida de peso de las crisálidas macho. Por el contrario, tanto con RCT como con RFT, sí afectó a las crisálidas hembra, que perdieron más peso a bajas h.r. (Cuadro 2).

El régimen térmico, considerando los tratamientos agrupados, no tuvo influencia sobre la pérdida de peso de las crisálidas en ambos sexos (Cuadro 3). Señalar, sin embargo, que la heterogeneidad de esta variable, aumentó fuertemente en el RFT, con un incremento de la desviación típica, respecto al RCT, de aproximadamente el doble; conocida la relación entre la temperatura y la permeabilidad cuticular, ligada a alteraciones estructurales en ésta (RAMSAY, 1935), el incremento observado de la heterogeneidad muestral en la serie con RFT, podría explicarse por la variabilidad de las crisálidas, en lo referente a las modificaciones estructurales de la cutícula y por ende de su permeabilidad, bajo la acción de la T. máx. del ensayo (30° C).

El sexo tuvo, una gran influencia en la pérdida de peso experimentada por la crisálida, alrededor de un 32 % en las hembras frente a un 46 % en los machos (Cuadro 4). El mayor volumen de meconio expulsado por el macho en el momento de la emergencia, no es un factor capaz de explicar por sí solo un incremento del 14 % en la pérdida de peso en este sexo. Por otro lado, el menor peso de la crisálida macho frente a la hembra, y en consecuencia la mayor relación superficie/volumen de la primera, tampoco explica su mayor pérdida de peso. Estudiando las crisálidas de los dos sexos en el intervalo de pesos en que ambos se solapan, de 10 a 12,5 mg. aproximadamente (crisálidas macho de mayor peso y hembra de menor), las relaciones superficie/volumen son comparables y, sin embargo, siguen manteniéndose diferencias significativas entre las pérdidas de peso respectivas. La razón más plausible para explicar la diferencia en la pérdida de peso, ha de buscarse en la composición diferencial en agua y grasa de los dos sexos, debida a la masa ovárica en la hembra, dada la riqueza lipídica

Cuadro 2.— Efecto de la humedad relativa sobre la longevidad y la pérdida de peso, de la crisálida no diapausante de *L. botrana*, según dos regímenes térmicos.

RCT: Tm=22° C (24 h. a 22±1° C.)

| Machos   |    |                                    |                            | Hembras |                                    |                            |
|----------|----|------------------------------------|----------------------------|---------|------------------------------------|----------------------------|
| h.r. (%) | n  | Longevidad crisálida (días)<br>(1) | Pérdida de peso (%)<br>(2) | n       | Longevidad crisálida (días)<br>(3) | Pérdida de peso (%)<br>(4) |
| 0-5      | 28 | 12,28±0,76                         | 46,52±1,90                 | 29      | 12,59±1,09                         | 33,65±1,82a                |
| 20±5     | 28 | 11,89±0,57                         | 45,96±2,34                 | 27      | 11,96±0,81                         | 33,12±1,97ab               |
| 40±5     | 30 | 12,17±0,75                         | 45,61±2,23                 | 29      | 12,31±0,81                         | 31,66±1,72bc               |
| 60±10    | 30 | 11,97±0,85                         | 46,48±2,63                 | 30      | 12,07±0,74                         | 30,73±2,33c                |
| 80±10    | 29 | 12,03±0,78                         | 46,01±2,26                 | 30      | 12,33±0,71                         | 30,21±1,94c                |
| 95-100   | 28 | 12,11±0,57                         | 45,04±2,08                 | 28      | 12,18±0,61                         | 30,84±2,56c                |

RFT: Tm= 22° C (16 h. a 18±1° C, 8 a 30±1° C).

| Machos   |    |                                    |                            | Hembras |                                    |                            |
|----------|----|------------------------------------|----------------------------|---------|------------------------------------|----------------------------|
| h.r. (%) | n  | Longevidad crisálida (días)<br>(5) | Pérdida de peso (%)<br>(6) | n       | Longevidad crisálida (días)<br>(7) | Pérdida de peso (%)<br>(8) |
| 0-5      | 24 | 11,67±0,64                         | 46,56±6,77                 | 18      | 12,33±0,59ab                       | 33,01±6,50a                |
| 20±5     | 26 | 11,81±0,69                         | 45,53±4,04                 | 23      | 12,09±0,10a                        | 34,41±3,95a                |
| 40±5     | 29 | 11,45±0,78                         | 45,72±5,34                 | 28      | 11,64±0,62a                        | 32,45±3,55a                |
| 60±10    | 29 | 11,31±0,85                         | 46,47±5,03                 | 27      | 11,81±0,88a                        | 33,23±3,98a                |
| 80±10    | 24 | 11,50±0,72                         | 45,33-5,10                 | 22      | 11,95±0,84a                        | 31,94±4,57ab               |
| 95-100   | 20 | 11,70±0,92                         | 44,67±4,13                 | 19      | 13,47±0,84b                        | 28,79±4,29b                |

Los valores (media ± desviación típica) seguidos de la misma letra no difieren significativamente. Test de Kruskal-Wallis seguido de un test no paramétrico de comparaciones múltiples (Scherrer, 1984).

(1) H= 3,92 g.l.= 5, N.S.

(2) H= 10,18 g.l.= 5, N.S.

(3) H= 7,52 g.l.= 5, N.S.

(4) H= 47,13 g.l.= 5, p<0,05

(5) H= 6,52 g.l.= 5, N.S.

(6) H= 2,46 g.l.= 5, N.S.

(7) H= 42,83 g.l.=5, p<0,05

(8) H= 19,77 g.l.= 5, p<0,05.

Cuadro 3.— Efecto de la fluctuación térmica sobre la longevidad y la pérdida de peso de la crisálida no diapausante de *L. botrana*.

| Machos    |     |                             |                             | Hembras  |     |                             |                             |
|-----------|-----|-----------------------------|-----------------------------|----------|-----|-----------------------------|-----------------------------|
| Tm= 22° C | n   | Longevidad crisálida (días) | Pérdida de peso (%)         | Tm=22° C | n   | Longevidad crisálida (días) | Pérdida de peso (%)         |
| RCT       | 173 | 12,8±0,72                   | 45,94±2,28                  | RCT      | 173 | 12,24±0,82                  | 31,68±2,41                  |
| RFT       | 152 | 11,56±0,78                  | 45,76±5,12                  | RFT      | 137 | 12,15±0,98                  | 32,39±4,63                  |
| Test t    |     | ***<br>t= 6,1620<br>gl= 323 | N.S.<br>t= 0,3951<br>gl=323 | Test t   |     | N.S.<br>t= 0,9256<br>gl=308 | N.S.<br>t= 1,6458<br>gl=308 |

RCT: 24 h. a 22±1° C. RFT: 16 h. 18±1° C, 8 h a 30±1° C.

Valores, media±desviación típica.

Nivel de significación del Test t: \*\*\*p<0,001. \*\*p<0,01. \*p<0,05.

Cuadro 4.— Influencia del sexo sobre los pesos de crisálida y adulto, longevidad y pérdida de peso de la crisálida no diapausante de *L. botrana*.

| RCT: Tm: 22° C (24 h a 22±1° C).                |     |                             |                            |                             |                            |
|---|-----|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Sexo  | n   | Peso crisálida (mg)         | Peso adulto (mg)           | Longevidad crisálida (días) | Pérdida de peso (%)        |
| Machos  | 173 | 9,19±1,03                   | 4,97±0,56                  | 12,08±0,72                  | 45,94±2,28                 |
| Hembras   | 173 | 13,13±1,18                  | 8,97±0,87                  | 12,24±0,82                  | 31,68±2,41                 |
| Test t  |     | ***<br>t= 33,1508<br>gl=344 | ***<br>t=50,8987<br>gl=344 | *<br>t=2,0155<br>gl=344     | ***<br>t=56,5058<br>gl=344 |
| RFT: Tm= 22° C (16 h a 18±1° C, 8 h a 30±1° C). |     |                             |                            |                             |                            |
| Sexo  | n   | Peso crisálida (mg)         | Peso adulto (mg)           | Longevidad crisálida (días) | Pérdida de peso (%)        |
| Machos  | 152 | 8,81±1,26                   | 4,77±0,78                  | 11,56±0,78                  | 45,76±5,12                 |
| Hembras   | 137 | 12,43±1,92                  | 8,40±1,37                  | 12,15±0,98                  | 32,39±4,63                 |
| Test t  |     | ***<br>t= 18,7628<br>gl=287 | ***<br>t=27,2975<br>gl=287 | ***<br>t=5,5895<br>gl=287   | ***<br>t=23,3201<br>gl=287 |

Valores, media±desviación típica.

Nivel de significación del Test t: \*\*\*p<0,001 \*\*p<0,01 \*p<0,05..

Cuadro 5.— Efecto de la humedad relativa actuando sobre la crisálida no diapausante de *L. botrana*, sobre algunos parámetros bióticos de la hembra adulta. 22±1° C, 60±10 % h.r.

| h.r. (%) | n  | Peso crisálida (mg) | Peso adulto (mg) | Fecundidad (Puesta Total) (2) | Fertilidad (Puesta Viable) (3) | Viabilidad puesta (%) (4) | Longevidad adulto (días) (5) | P.V./P.O. (#) (huevos/día) (6) | P.V./P.A. (#) (huevos/mg) (7) |
|----------|----|---------------------|------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| 0-5      | 8  | 13,03±0,91          | 8,44±1,10        | 183,00±31,37                  | 172,88±27,48                   | 94,68±3,18                | 11,13±2,70                   | 17,79±4,02                     | 20,63±3,28                    |
| 20±5     | 10 | 13,33±1,15          | 8,84±0,74        | 176,00±38,88                  | 152,10±51,61                   | 84,63±16,98               | 10,50±2,12                   | 16,22±5,55                     | 17,18±5,47                    |
| 40±5     | 9  | 13,51±0,53          | 9,05±0,57        | 195,67±20,21                  | 178,67±20,27                   | 91,36±4,82                | 10,44±1,81                   | 19,51±3,95                     | 19,82±2,78                    |
| 60±10    | 11 | 13,42±0,71          | 8,63±0,85        | 181,45±48,37                  | 163,45±45,57                   | 90,18±8,32                | 9,55±1,75                    | 18,85±2,74                     | 19,21±5,77                    |
| 80±10    | 11 | 13,62±0,92          | 9,28±0,78        | 202,00±33,51                  | 181,36±38,11                   | 89,63±9,60                | 10,64±1,86                   | 19,75±6,64                     | 19,50±3,38                    |
| 95-100   | 8  | 13,30±1,94          | 9,32±1,31        | 182,88±49,96                  | 156,88±44,93                   | 85,71±8,27                | 9,75±2,19                    | 18,19±4,73                     | 16,87±4,20                    |

Los valores (media ± desviación típica) no difieren significativamente. Test de Kruskal-Wallis.

(1) H= 5,73 g.l.= 5, N.S.

(3) H= 2,12 g.l.= 5, N.S.

(5) H= 2,54 g.l.= 5, N.S.

(7) H= 5,45 g.l.= 5, N.S.

(2) H= 2,40 g.l.= 5, N.S.

(4) H= 7,45 g.l.= 5, N.S.

(6) H= 3,11 g.l.= 5, N.S.

(#) P.V.: Puesta viable, P.O.: Período de Oviposición= (Longevidad del adulto-1), P.A.: Peso del Adulto.

ca de los ovocitos (MARCHAL, 1912; LUDWIG, 1948; CHAUVÍN, 1956).

Llama la atención, el que siendo el macho el que menor mortalidad presenta en la fase de crisálida, posea una pérdida de peso muy superior a la hembra; el umbral letal de pérdida de humedad en estado pupal, ha de ser, pues, diferente en los dos sexos, mayor en el macho que en la hembra.

### Fecundidad

Las hembras adultas provenientes de los 6 tratamientos del ensayo con RFT, abarcando completamente el intervalo de h.r. (0-100 %), no mostraron diferencias significativas en fecundidad (puesta total), fertilidad (puesta viable) ni consecuentemente, en el % de viabilidad de la puesta. La longevidad de los imagos no se vio modificada, y tampoco se encontraron diferencias en otros parámetros bióticos compuestos, como la *fertilidad diaria media* (puesta viable/período de oviposición, expresada en [huevos viables/día]), o en la *eficacia reproductora* (puesta viable/peso del adulto, expresada en [huevos viables/mg.] (Cuadro 5).

En resumen, la h.r. actuando sobre la crisálida hembra, no modifica las variables estimadoras del potencial biótico del adulto, utilizadas en el ensayo. Queda sin explicar, cómo las crisálidas hembras sometidas a bajas higrometrías (0-20 %) y que experimentan mayores pérdidas de peso, no ven afectado su potencial reproductivo, en contra de lo observado en el gusano de seda, *Bombyx mori* L. (CORRADINI, 1938 en: CHAUVIN, 1956), o en el taladro de la cebolla y el puerro, *Acrolepiopsis assectella* Z. (NOMBAHARI y THIBOUT, 1990). En cualquier caso, los resultados obtenidos indican que en la *L. botrana*, existe una alta resistencia de la crisálida a las h.r. extremas, en lo que se refiere a la modificación del potencial biótico del adulto hembra superviviente.

### AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero reconocimiento a los técnicos V. Pronier, J. P. Carles y P. Lecharpentier por su preciosa ayuda durante el desarrollo del trabajo, así como al Dr. A. Lacasa Plasencia por su disponibilidad y por la revisión del original en español.

### ABSTRACT

TORRES-VILA L. M.; OUSTRY L.; SCHMITZ V.; ROEHRICH R.; STOCKEL J. (1993): Acción de la humedad relativa y la fluctuación térmica sobre la crisálida no diapausante de la "polilla del racimo" *Lobesia botrana* Den. y Schiff. (*Lep.: Tortricidae*). *Bol. San. Veg. Plagas*, **19** (1): 79-93.

The non diapausing pupae of the grape vine moth *L. botrana* which were exposed during their development at relative humidity (r.h.) of 0 to 100 %, under the fluctuating temperature regime (FTR) (16 h. at 18±1° C et 8 h. at 30±1° C, Tm= 22°), showed a progressively increasing mortality near the extreme r.h. (0 and 100 %), with maximums of 35- 40 %. On the contrary, under a constant temperature regime (CTR) (24 h. at 22±1° C, Tm= 22° C), the r.h. had no appreciable effect on the pupal mortality, which did not overcome the 10 %.

Low hygrometries brought about longer losses of weight in female pupae than high ones, and they no effect on male pupae. On the other hand, thermic fluctuation had no influence on the loss of pupal weight. In both sexes pupae with the least weight suffered a significantly higher mortality.

Pupal longevity of females increased with the extreme values of r.h. (0 and 100 %) in the FTR, and it had no effect on male pupae. On the contrary, FTR accelerated the pupal development on males in relation to the CTR, but it had no effect on females.

Sex and some other important effects besides the ones above indicated: pupal and imaginal weight and pupal mortality were significantly higher in female. Pupal development, which was faster in the males, showed to be protandric. As a whole, male pupae suffered higher weight losses (46 %) than the female pupae (32 %), probably because of the ovarian mass.

In the experimental conditions, none of the studied variables, i.e. relative humidity and thermic fluctuation, acting on the non diapausing pupae had any significative effects on fecundity, fertility or longevity of the adult female.

**Key words:** *Lobesia botrana*, pupae, relative humidity, temperature, weightloss, mortality, fecundity, protandry.

### RESUME

Les chrysalides no diapausantes de "l'Eudémis de la Vigne", *L. botrana*, exposées au cours du développement à différentes humidités relatives (h.r.) comprises entre 0 et 100 %, sous un régime de température fluctuante (RTF) (16 h. :  $18 \pm 1^\circ \text{C}$  et 8 h. :  $30 \pm 1^\circ \text{C}$ ,  $T_m = 22^\circ$ ), ont montré une mortalité élevée augmentant progressivement aux h.r. extrêmes (0 et 100 %), avec des valeurs maximales de 35 à 40 %. En revanche, sous un régime de température constante (RTC) (24 h. :  $22 \pm 1^\circ \text{C}$ ,  $T_m = 22^\circ \text{C}$ ), la h.r. n'a pas d'effet appréciable sur la mortalité nymphale qui n'atteint pas alors 10 %.

Les faibles hygrométries ont provoqué une perte de poids plus grande chez la chrysalide femelle que les hygrométries élevées. Elles n'agissent pas sur la chrysalide mâle. En outre, la fluctuation thermique n'a pas eu d'incidence sur la perte de poids à ce stade. Chez les deux sexes, les chrysalides les plus légères, ont présenté une mortalité significativement plus importante que les plus lourdes.

Sans effet sûr les chrysalides mâles, sous le RFT augmentait la durée de la nymphose des femelles pour les valeurs extrêmes d'h.r. (0 et 100 %). Cependant, sous ce régime seule la vitesse de développement des mâles était accrue par rapport au RTC.

D'autres effets liés au sexe ont été observés; le poids des chrysalides et des papillons d'une part, et la mortalité nymphale d'autre part, sont significativement plus importants chez la femelle. De plus, le développement nymphal est plus rapide chez le mâle: on note un léger protandrie significative. Enfin, la chrysalide mâle présente globalement une perte de poids (46 %) plus élevée que la femelle (32 %), en raison probablement de la masse ovarienne de cette dernière.

Dans les conditions de l'essai, aucune des variables étudiées, humidité relative et fluctuation thermique, agissant sur la chrysalide no diapausante, n'a eu d'effet significative sur fécondité, fertilité et longévité de la femelle.

**Most clef:** *Lobesia botrana*, chrysalide, humidité relative, température, perte de poids, mortalité, fécondité, protandrie.

## REFERENCIAS

- BOVEY P., 1966: Superfamilie des *Tortricioidea*. En: Balachowsky A. S. (éd), *Entomologie Appliquée à l'Agriculture*. Lépidoptères I. Masson et Cie., Paris, pp. 859-887.
- CAUSSE R., BARTHES J., MARCELIN H., VIDAL G., 1984: Localisation et mortalité hivernale des chenilles de l'Eudémis de la Vigne, *Lobesia botrana* Schiff. *Vignes et Vins*, **326**: 8-15.
- CHAUVIN R., 1956: *Physiologie de l'insecte*. INRA. Paris, 917 pp.
- COSCOLLA R., SÁNCHEZ J., 1986: Estudio preliminar sobre la mortalidad de huevos de *Lobesia botrana* Den. y Schiff. por efecto de altas temperaturas y bajas humedades relativas en laboratorio. *Bol. San. Veg. Plagas*, **12**: 3-7.
- GABEL B., 1981: Über den Einfluß der Temperatur auf die Entwicklung und Vermehrung des Bekreuzten Traubenwicklers, *Lobesia botrana* (Den. et Schiff.) (Lepid., Tortricidae). *Anz. Schädlingskde., Pflanzenschutz. Umweltschutz*, **54**: 83-87.
- GABEL B., 1989: Fixation du seuil de nuisibilité des chenilles de la Tordeuse de la Grappe de la première génération. *Def. Vég.*, **259**: 17-20.
- GABEL B., MOCKO V., 1984: Forecasting the cyclical timing of the grape vine moth, *Lobesia botrana* (Lepidoptera, Tortricidae). *Acta ent. bohemoslov.*, **81**: 1-14.
- GABEL B., MOCKO V., 1986: A functional simulation of European vine moth *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lep., Tortricidae) population development. *Z. angew. Ent.* **101**: 121-127.
- GÖTZ B., 1944: Freiland und laboratoriumuntersuchungen über das puppenstadium des einbindigen traubenwicklers *Clysia ambiguella*. *Z. angew. Ent.*, **30**: 526-550.
- KOMAROVA O. S., 1949: Causes provoquant la diapause chez la Tordeuse de la grappe, *Polychrosis botrana* Schiff. *Dok., Akad. Nauk. SSSR*, **68**: 789-792.
- LUDWIG D., 1948: The relation between the lipid content of the cuticle, the duration of diapause and resistance to desiccation of pupae of the cynthia moth, *Samia walkeri*. *Physiol. Zool.*, **21**: 252-257.
- MARCHAL P., 1912: *Rapport sur les travaux accomplis par la mission d'étude de la Cochylys et de l'Eudémis*. Béranger, Paris, 317 pp.
- NOWBAHAR I., THIBOUT E., 1990: The cocoon and humidity in the development of *Acrolepiopsis assectella* (Lep.) pupae: Consequences in adults. *Physiol. Entomol.*, **15**: 363-368.
- PHILIPP J. S., WATSON T. F., 1971: Influence of temperature on population growth of the Pink Bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **64**: 334-340.
- RAMSAY J. A., 1935: The evaporation of water from the cockroach. *J. exp. biol.* **12**: 373-383.
- ROEHRICH R., 1969: La diapause de l'Eudémis de la Vigne *Lobesia botrana* Schiff. (Lép. Tortricidae): induction et élimination. *Ann. Zool. Ecol. anim.*, **1**: 419-431.
- ROEHRICH R., SCHMID A., 1979: Tordeuses de la grappe: Evaluation du risque, détermination des périodes d'intervention et recherche des méthodes de lutte biologique. *Proc. Int. Symp. IOBC/WPRS on Integrated Plant Protection in Agriculture and Forestry*. Vienna, pp. 245-254.
- ROEHRICH R., STOCKEL J., 1988: Recommandations particulières pour l'utilisation des pièges sexuels en vignoble, En: *Piégeage de lépidoptères nuisibles aux cultures à l'aide de phéromones sexuelles de synthèse*. INRA, Paris, pp 34-35.
- SCHERRER B., 1984: *Biostatistique*. Gaëtan Morin, Québec, 850 pp.
- STELWAAG F., 1940: Die einwirkung schwankender freilandtemperaturen auf insekten. *Anz. f. Schädlingsk.*, **16**: 109-113.
- STOCKEL J., 1989: Vers de la grappe: Comment prévoir le risque. *Connissance de la vigne et du vin, Hors série*: 75-80.
- STOCKEL J., 1990: Analyse préliminaire du piégeage sexuel de *Lobesia botrana* au cours du 1<sup>er</sup> vol dans le cadre de l'essai international 1988. *Bull. OILB/SROP.*, **13**: (7): 58-61.
- STOCKEL J., ROEHRICH R., CARLES J. P., NADAUD A., 1989: Technique d'élevage pour l'obtention programmée d'adultes vierges d'Eudémis. *Phytoma*, **412**: 45-47.
- TORRES-VILA L. M., 1991: Influence de l'âge et de l'état sexuel sur la reproduction de l'Eudémis de la Vigne *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lep: Tortricidae). Consequences ecologiques. *Mémoire DEA. Institut d'oenologie-INRA*. Université de Bordeaux II. 34 pp.
- TORRES-VILA L. M., SCHMITZ V., STOCKEL J., 1992: Efecto de la evolución fenológica y de la variedad de vid en la instalación y supervivencia en primera generación de las orugas de la polilla del racimo (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.; Lep.: Tortricidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **18** (4): 755-764.
- TOUZEAU J., 1981: Modelisation de l'évolution de l'Eudémis de la Vigne pour la région Midi-Pyrénées. *Bol. Zool. agr. Bachic. Série II*, **16**: 26-28.

(Aceptado para su publicación: 29 julio 1992)