



---

FACULTAD DE  
**AGRONOMIA**  
UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA

**CONTRIBUCION A LA TECNICA DE CRIA DE**  
*Rhyacionia buoliana* Den. et Schiff. (Lepidoptera:  
Tortricidae) EN CONDICIONES DE LABORATORIO

por

Alicia SANCHEZ FIGUEREDO

TESIS

**2000**

---

MONTEVIDEO

URUGUAY

---



**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA**

**FACULTAD DE AGRONOMIA**

**CONTRIBUCIÓN A LA TÉCNICA DE CRÍA DE *Rhyacionia buoliana* Den. et Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae) EN CONDICIONES DE LABORATORIO.**

por

FACULTAD DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE  
DOCUMENTACION Y  
BIBLIOTECA

**Alicia SANCHEZ FIGUEREDO**

**TESIS presentada como uno de los  
requisitos para obtener el título de  
Ingeniero Agrónomo.**

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2000**

Tesis aprobada por:

Director: Ing. Agr. Marta Bianchi.  
Nombre completo y firma.

Ing. Agr. César Basso.  
Nombre completo y firma.

Ing. Agr. Iris B. Scatoni.  
Nombre completo y firma.

Fecha: \_\_\_\_\_

Autora: Alicia Cristina Sánchez Figueredo.  
Nombre completo y firma.

## **AGRADECIMIENTOS**

Se agradece muy especialmente a la Ing. Agr. Marta Bianchi por su dedicación y apoyo durante la dirección de esta tesis y a:

Ing. Agr. César Basso

Ing. Agr. Iris B. Scatoni

Unidad de Estadística y Cómputos de la Facultad de Agronomía.

Sra. Danila Balbi

así como también a todas las personas que de una u otra forma colaboraron para llevar a cabo este trabajo.

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
PAGINA DE APROBACION.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	IV
<b>1. INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISION BIBLIOGRAFICA.....</b>	<b>2</b>
2.1 UBICACIÓN.....	2
2.2 DISTRIBUCION GEOGRAFICA.....	2
2.3 HOSPEDEROS.....	3
2.4 DESCRIPCION.....	3
2.4.1. <u>Adulto</u> .....	3
2.4.2. <u>Huevo</u> .....	3
2.4.3. <u>Larva</u> .....	4
2.4.4. <u>Pupa</u> .....	4
2.5 BIOLOGIA.....	5
2.6 CICLO ESTACIONAL.....	7
2.7 DAÑOS.....	7
2.8 CONTROL.....	8
2.9 BIOLOGIA Y CRIA EN CONDICIONES DE LABORATORIO.....	9
<b>3. MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>15</b>
3.1 OBTENCION DE LARVAS DE PRIMER ESTADIO.....	15
3.2 ACONDICIONAMIENTO DE LAS LARVAS EN LAS DIETAS.....	18
3.3 ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS.....	20
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>21</b>
4.1 ADULTO.....	21
4.2 HUEVO.....	22
4.3 LARVA.....	24
4.4 PUPA.....	29
4.5 DURACION DEL CICLO DE VIDA DE <i>R. buoliana</i> CRIADA.....	31
SOBRE DIETA ARTIFICIAL.	
<b>5. DISCUSION.....</b>	<b>32</b>
5.1 ADULTO.....	32
5.2 HUEVO.....	33
5.3 LARVA.....	33
5.4 PUPA.....	35
5.5 CICLO DE VIDA.....	35
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>37</b>

## LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.

	pág.
Tabla 1. Datos de longevidad, cópula y oviposición de hembras de <i>Rhyacionia buoliana</i> según su origen (Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).	21
Tabla 2. Período de incubación y porcentaje de eclosión de huevos de <i>R. buoliana</i> según origen de los mismos (Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H.R. y fotoperíodo de 16 hs).	24
Tabla 3. Ancho medio de cápsula cefálica (mm) de hembras de <i>R. buoliana</i> y tasa de incremento para cada estadio larval en la dieta de Chawla y Hardwood. (Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H.R. y fotoperíodo de 16 hs.).	26
Tabla 4. Ancho medio de cápsula cefálica (mm) de machos de <i>R. buoliana</i> y tasa de incremento para cada estadio larval en la dieta de Chawla y Hardwood. (Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).	26
Tabla 5. Ancho medio de cápsula cefálica (mm) de hembras de <i>R. buoliana</i> y tasa de incremento para cada estadio larval en la dieta de Shorey y Hale modificada ( Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).	27
Tabla 6. Ancho medio de cápsula cefálica (mm) de machos de <i>R. buoliana</i> y tasa de incremento para cada estadio larval en la dieta de Shorey y Hale modificada ( Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).	27
Tabla 7. Rangos de ancho de cápsulas cefálica y largo de las larvas de <i>R. buoliana</i> en cada estadio desarrollado en las dietas artificiales (Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).	28
Tabla 8. Duración media del período larval de hembras y machos de <i>R. buoliana</i> desarrollado en las dietas artificiales (Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H.R. y fotoperíodo de 16 hs.).	28
Tabla 9. Largo promedio de las pupas de <i>R. buoltiana</i> obtenidas de las dietas artificiales (Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H.R. y fotoperíodo de 16 hs.).	29

Tabla 10.	Peso medio de pupas de <i>R. buoliana</i> discriminado por sexo y origen de las mismas (Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H.R. y fotoperíodo de 16 hs.).	30
Tabla 11.	Duración media del período de pupación de <i>R. buoliana</i> discriminado por sexo y origen (Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H.R. y fotoperíodo de 16 hs.).	30
Tabla 12.	Duración media de la etapa huevo - adulto de <i>R. buoliana</i> en condiciones de laboratorio y criada sobre dieta artificial (Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).	31
Figura 1.	Vista ventral de los últimos uritos de una pupa hembra de <i>R. buoliana</i> .	16
Figura 2.	Vista ventral de los últimos uritos de una pupa macho de <i>R. buoliana</i> .	16
Figura 3.	Vista ventral del abdomen de una hembra copulada de <i>R. buoliana</i> .	17
Figura 4.	Larva de <i>R. buoliana</i> sobre un trozo de la dieta de Chawla y Hardwood (1968).	19
Figura 5.	Larva de <i>R. buoliana</i> sobre un trozo de la dieta de Shorey y Hale modificada (1965).	19
Figura 6.	Adulto hembra de <i>Rhyacionia buoliana</i> .	22
Figura 7.	Huevos de <i>Rhyacionia buoliana</i> .	23
Figura 8.	Huevos de <i>Rhyacionia buoliana</i> próximos a eclosionar.	23
Figura 9.	Distribución de frecuencias de adultos de <i>R. buoliana</i> según el número de estadios larvales desarrollados en la dieta de Chawla y Hardwood (Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).	25
Figura 10.	Distribución de frecuencias de los adultos de <i>R. buoliana</i> según el número de estadios larvales desarrollados en la dieta de Shorey y Hale modificada (Temperatura $25 \pm 2$ °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).	25

## I. INTRODUCCIÓN

*Rhyacionia buoliana* (Lepidoptera: Tortricidae) Denis et Schiffermüller 1776, comúnmente conocida como la " polilla del brote de pino" ataca específicamente al género *Pinus*.

En nuestro país, a partir de la década de los 60' esta especie provocó daños económicos en las plantaciones comerciales de *Pinus radiata* D. Don. (Ruffinelli, 1956). Es por ello y por otros problemas sanitarios que se excluyó a esta especie arbórea de entre las especies de prioridad forestal según la legislación vigente (Ley Forestal N° 15939, 1990). Sin embargo, este taxón presenta una alta tasa de crecimiento dando volúmenes comerciales en turnos más cortos.

El período crítico en el que se producen los daños provocados por este insecto se restringe a los tres o cuatro años del rodal, resultando de sumo interés disponer de una estrategia de tratamientos sanitarios en dicha etapa. Debido a que *R. buoliana* completa la mayor parte de su ciclo de vida dentro del brote de pino, la principal medida para controlar esta plaga es la lucha biológica.

La cría de este lepidóptero en laboratorio mediante el uso de dietas artificiales ha sido implementada para la multiplicación de enemigos naturales (Shen *et al.*, 1967; Cisternas *et al.*, 1983; Smith, 1994) debido a que presentan ventajas sobre la dieta natural (Chawla *et al.*, 1968, 1970).

En el Uruguay no existe experiencia al respecto, y el presente trabajo es el primer aporte que tiene como objetivo general realizar la cría de *R. buoliana* en el laboratorio mediante el uso de dietas artificiales y como objetivos específicos: evaluar el crecimiento larval de *R. buoliana* en cada una de las dietas a través del incremento del ancho de las cápsulas cefálicas y largo de las larvas; conocer el número y la duración de los estadios inmaduros del insecto; así como también, la duración promedio del ciclo de vida de este lepidóptero a partir de la cría en dieta artificiales.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 UBICACIÓN

*Rhyacionia buoliana* Denis et Schiffermüller, es conocida comúnmente como "evetria" o "polilla europea de los brotes del pino", pertenece al Orden Lepidoptera, Familia Tortricidae Stephens y a la subfamilia Olethreutinae.

La descripción original de esta especie fue realizada por Denis y Schiffermüller, quienes en 1776 la denominaron *Tortrix buoliana*. Posteriormente adopta otras denominaciones como: *Retinia buoliana* Guéneé (1845), *Evetria buoliana* Banks (1909) y finalmente en 1923 Heinrich incluye a *buoliana* dentro del género *Rhyacionia* Hübner (1825), (Powel *et al.*, 1978).

### 2.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

El género *Rhyacionia* posee un amplio rango de distribución en el Hemisferio Norte y coincide aproximadamente con el del género *Pinus*. *R. buoliana* es originaria de la región paleártica (Powel y Miller, 1978). A principios de siglo, fue introducida accidentalmente a Estados Unidos (Busck, 1914 citado por Pointing, 1961) y luego se extendió a Canadá (Mc Laine, 1926 citado por Pointing, 1961).

Esta plaga está presente en Argentina desde 1939 (Pastrana, citado por Brewer *et al.*, 1967) y en el Uruguay fue detectada por primera vez por Ruffinelli en el año 1956, sobre plantaciones de *P. radiata*, pertenecientes al Instituto Nacional de Colonización ubicados en Colonia Agraciada en el Dpto. de Soriano (Ruffinelli, 1956), hoy se le encuentra distribuida en todo el país. En el año 1985 se detectó en Chile en la localidad de Ensenada en la X Región y actualmente se ha extendido hasta la VI (Espinoza *et al.*, 1986; Poblete, 1996).

## 2.3 HOSPEDEROS

*Rhyacionia buoliana* constituye una plaga de numerosas especies del género *Pinus*. En nuestro país a partir de la década de los 60, provocó daños económicos importantes en las plantaciones comerciales de *P. radiata*. Este insecto también tiene como hospederos a *Pinus taeda* L. y *Pinus elliottii* Engelm. var. *elliottii*, pero hasta el momento presentan menor susceptibilidad a su ataque (Brewer *et al.*, 1968, 1970)

## 2.4 DESCRIPCIÓN

### 2.4.1 Adulto

El adulto es una mariposa pequeña con las alas anteriores de color siena rojiza con bandas irregulares blanco - plateadas, que en conjunto se asemejan a brotes secos o dañados y sus alas posteriores son de color castaño grisáceo.

Presenta dimorfismo sexual, la hembra es un poco más grande que el macho. Las medidas de expansión alar varían según la descripción de los diferentes autores. Los valores oscilan entre 11 y 20 mm para las hembras y entre 9.5 y 16 mm para el caso de los machos. La hembra posee además, un anillo de pelos rojizos alrededor del orificio genital y su abdomen es distendido, mientras que el del macho es uniformemente gris y más o menos cilíndrico (Brewer *et al.*, 1968; Powel *et al.*, 1978).

### 2.4.2 Huevo

Los huevos son ligeramente ovalados, convexos en la cara superior y planos en la base. Su forma se asemeja a la de una pequeña lenteja. Cuando son recién puestos presentan un color blanquecino el cual se va tomando anaranjado a medida que se completa el desarrollo de los mismos, hasta quedar finalmente grisáceos al momento de la eclosión. Cuando la larva está por emerger del huevo es posible observar a través del corión una zona negra que corresponde a la cápsula cefálica ya desarrollada.

El diámetro de los huevos que están en contacto con la acícula mide aproximadamente 1 mm, aunque según Gasow (1925, citado por Robredo, 1978) las dimensiones de los huevos varían de 0.9 a 1.3 mm en su diámetro mayor y de 0.65 a 0.85 mm en su diámetro menor. Las medidas también difieren de acuerdo al sustrato sobre el que son puestos los huevos y, por lo tanto, de acuerdo a la especie de pino hospedera (Pointing, 1963; Brewer *et al.*, 1968; Robredo, 1978).

### 2.4.3 Larva

La larva del primer estadio mide alrededor de 2 mm de longitud. Es de coloración pardo amarillenta y presenta la cápsula cefálica y el escudete torácico de color negro. La larva madura alcanza una longitud entre 10 y 19 mm. En general, la coloración del cuerpo es pardo-rojiza pálida y está cubierto por setas cortas. La cabeza es hipognata cuyo ancho varía entre 1 y 1.4 mm, la misma es de color castaño oscuro con dibujos superpuestos más oscuros y comúnmente la región ocelar y la sutura postgenal presentan una pigmentación casi negra. El pronoto y las patas torácicas son de color castaño y el escudete anal es amarillento o marrón (Brewer *et al.*, 1968; Robredo, 1978; Espinosa, 1986; Gómez de Aizpurua, 1991; Huerta *et al.*; Pérez, 1997).

### 2.4.4 Pupa

La pupa mide de 11 a 13 mm de longitud, primariamente tiene un color castaño claro pero se torna más oscura a medida que se aproxima el momento de emerger el adulto. Cuando las alas estan casi formadas puede verse el dibujo de las mismas por transparencia.

Los segmentos abdominales 2° y 7° poseen dos series transversales notorias de procesos odontoides, mientras que en los segmentos 8° y 9° presentan sólo una. El cremáster presenta cuatro pares de setas en la zona ventral y otros dos pares en la zona dorsal en la cual subsiste una fila de espinas. En el cuerpo de la pupa se hallan esparcidas setas que se encuentran distribuidas más densamente en el abdomen (Robredo, 1978).

## 2.5 BIOLOGÍA

*Rhyacionia buoliana* posee hábitos crepusculares y su comportamiento depende en forma importante de los factores climáticos (Pastrana, 1961; Pointing, 1961, 1963; Ajenjo, 1961; Haynes *et al.*, 1962; Brewer *et al.*, 1967; Quintana, 1970; Daterman *et al.*, 1972, 1973; Robredo, 1970, 1975, 1978). Una vez que los machos emergen, comienzan a volar contra el viento para captar las feromonas sexuales liberadas por las hembras vírgenes, las cuales se ubican habitualmente en la punta de las acículas. Generalmente, las hembras copulan el mismo día que emergen aunque pueden permanecer atractivas durante siete días. Luego del acoplamiento, la mariposa hembra ovipone principalmente en la base de las acículas, más precisamente en su cara interna.

El período de oviposición depende de la temperatura y abarca aproximadamente tres semanas con un máximo en el tercer día luego de la cópula. Las altas temperaturas adelantan éste máximo y acortan la duración del período, mientras que las bajas temperaturas provocan los efectos contrarios (Pointing, 1961; Brewer *et al.*, 1968; Robredo, 1975). Los huevos son comúnmente colocados en forma aislada o en grupos de no más de tres. En situaciones donde se mantiene a las mariposas en cautiverio, éstas llegan a poner en grupos de más de cien huevos (Pointing, 1963; Robredo, 1978).

El período de incubación en el campo presenta un amplio rango que oscila entre 9 y 18 días, y es dependiente de las temperaturas medias locales ó, incluso, de las que se dan en los diferentes lugares en el árbol donde son puestos los huevos (Pointing, 1963; Robredo, 1978). Pastrana (1961) encontró diferencias en la duración de este período de acuerdo a la generación que se considere. Para la primera generación (setiembre-noviembre) obtuvo una media de 11 días y para la segunda (diciembre-febrero) la media fue de 8 días.

Al final del período de incubación, las larvas recién emergidas buscan por fototactismo positivo los microblastos más apicales en las proximidades del brote y se establecen en la base de una acícula donde forman su refugio con hilos de seda. Mudan aproximadamente una semana después de que las larvas abandonan el huevo. Durante el primer y segundo estadio minan las partes tiernas de las hojas dentro de las envolturas de las brácteas y se alimentan generalmente de varios microblastos.

Cuando las larvas mudan al tercer estadio, comienzan la fase de alimentación a partir de brotes donde construyen sus refugios y los consumen prácticamente por completo; luego migran constantemente a nuevos brotes en procura de más alimento

hasta que completan su desarrollo larval (Pointing, 1963; Brewer *et al.*, 1968; Robredo, 1978). Con respecto al número de estadios larvales registrados a partir de larvas provenientes del campo, varios autores concuerdan en que *R. buoliana* posee seis estadios (Friend *et al.*, 1933, Miller *et al.*, 1955, citados por Pointing, 1963; Huerta *et al.*, 1997). Pointing (1963) al estudiar la distribución de frecuencias de las cápsulas cefálicas de las larvas, estableció también la existencia de seis estadios larvales para este insecto, sin embargo, sólo logró definir con claridad los tres primeros. Para determinar los restantes estadios este autor encontró algunas dificultades: las cápsulas de las hembras eran más grandes que las de los machos, a su vez el ancho de la cápsula cefálica de los machos se sobreponía al de las hembras del estadio precedente y además, la relación macho/hembra que los adultos alcanzaban en la naturaleza era de uno a tres y por lo tanto, el número de cápsulas cefálicas de las hembras era mayor. Huerta *et al.*, (1997) buscaron una relación entre cada estadio clasificado por los valores de longitud larval y el diámetro de la cápsula cefálica y no les fue posible relacionarlos ya que se producen traslapes en los valores de diámetro cefálico por estadio. En los trabajos de los dos autores anteriormente mencionados, las medias del ancho de cápsulas cefálicas en cada estadio larval no aumentaron de acuerdo a la constante de Dyar (Dyar, 1890, citado por Parra *et al.*, 1989).

La duración del período larval fluctúa en función de la temperatura. Cuando *R. buoliana* presenta una generación la etapa larvaria se extiende durante casi un año (Haynes *et al.*, 1962; Pointing, 1963; Quintana, 1970; Robredo, 1970, 1978; Huerta, 1997), mientras que cuando existe una segunda generación se acorta a cinco meses (Pastrana, 1961; Brewer *et al.*, 1968).

Al final del último estadio, las larvas dejan de comer el brote en el que se encuentran y preparan en el interior de la galería una cámara de pupación tapizada con hilos de seda donde crisalidan. El orificio por donde la larva penetra al brote es obstruido con un tapón de resina y seda, que puede ser fácilmente destruido por el esclerito frontal de la pupa momentos antes de la emergencia del imago.

La duración de la etapa de pupa oscila entre los 17 y 24 días según la temperatura y ubicación en el árbol, aparentemente en las zonas más altas el período de pupación es mayor (Pointing, 1961). Pastrana (1961) obtuvo una duración menor del mismo, con un promedio entre 6 y 7 días para la primera generación y para la segunda entre 8 y 13 días. En condiciones de campo, los machos de *R. buoliana* crisalidan unos días antes que las hembras, lo cual da lugar a una marcada protandria en la emergencia de adultos. La emergencia del imago ocurre mediante la ruptura longitudinal del dorso de la funda pupal, quedando la exuvia adherida al borde del orificio de salida (Pointing, 1961, 1963; Brewer *et al.*, 1968; Robredo, 1978).

## 2.6 CICLO ESTACIONAL

*Rhyacionia buoliana* en su lugar de origen, en América del Norte y en Chile posee una sola generación al año. Las larvas del tercer estadio que migran a los brotes permanecen en ellos como larvas quiescentes o invernantes hasta la primavera siguiente (Pointing, 1963; Robredo, 1978; Huerta *et al.*, 1997). Sin embargo, en Argentina y en Uruguay este lepidóptero presenta una segunda generación. Durante la estación fría, en los días en que las temperaturas son propicias hay aparentemente una migración constante de las larvas a nuevos brotes. Brewer *et al.*, (1967, 1968) observaron que la primera generación tiene una menor población larval pero presenta una muy baja reducción por efecto de enemigos naturales en larvas y pupas. Como consecuencia de ello, los daños ocasionados se ven disminuidos, pero como la oviposición es considerablemente mayor la segunda generación posee una gran población larval, y por lo tanto, los daños son más importantes. A su vez, el número de adultos en la segunda generación es menor por la acción de enemigos naturales (Brewer *et al.*, 1967 y 1968).

En nuestro país, los períodos de vuelo abarcan los meses de octubre - noviembre para la primera generación y febrero - marzo para la segunda (Bianchi<sup>1</sup>, comunicación personal).

## 2.7 DAÑOS

Las larvas de primer estadio de *R. buoliana* se instalan en las acículas de pino y el resto de los estadios en yemas y brotes de las ramas hasta completar la etapa larvaria. Como consecuencia de ello, las acículas comienzan a tomar una tonalidad amarillenta hasta secarse y las yemas y los brotes son consumidos por completo. La actividad larvaria se evidencia a través de las masas de resina solidificada junto con los excrementos expulsados por la larva en el brote atacado (Pointing, 1963; Brewer *et al.*, 1968; Robredo, 1970).

Los daños pueden registrarse en plantas de pino en viveros los que en forma temprana afectan la conformación del árbol y el traslado de las mismas constituye un medio importante para la disseminación de la plaga (Quintana, 1961; Carolin, *et al.*, 1963). Este insecto también ataca frecuentemente los conos inmaduros del primer año,

---

<sup>1</sup> M. Bianchi, Prof. Adjunto Protección Forestal (Entomología). Universidad de la República Facultad de Agronomía. Montevideo, Uruguay.

lo que afecta la producción de semilla genéticamente superior en huertos semilleros y los frutos de *Pinus pinea* L. (Robredo, 1970; Yates, 1970; Charles *et al.*, 1977).

El ataque de *R. buoliana* provoca una disminución del crecimiento del árbol así como la pérdida de rectitud del fuste (presencia de bifurcaciones, número anormal de ramas y la aparición de brotes con forma de "bayoneta"). Todo esto conduce generalmente a pérdidas económicas ya sea por la imposibilidad de obtener madera aserrable o porque el ataque severo y reiterado en árboles jóvenes (menores a cinco años) puede provocar la pérdida total de su valor comercial (Quintana, 1961; Pastrana, 1961; Brewer *et al.*, 1968; Baldini, 1993)

## 2.8 CONTROL

El control de este lepidóptero es complejo dado que la mayor parte de su ciclo de vida transcurre dentro del brote, por lo que permanece poco tiempo expuesto. El control químico, si bien ha sido y es utilizado actualmente, no se presenta como la única herramienta efectiva, económica y práctica para controlar *R. buoliana*, más aún cuando la plaga presenta dos generaciones (Quintana, 1961; Brewer *et al.*, 1968; Yates, 1970; Robredo, 1970; Bascialli *et al.*, 1978; Espinosa, 1986).

Actualmente, las medidas tendientes a disminuir la presencia de este insecto en las plantaciones se enmarcan dentro de programas de lucha integrada que priorizan el control biológico. Con respecto a esta técnica, la introducción y establecimiento desde Europa, del endoparasitoide de larvas específico de *R. buoliana*: *Orgilus obscurator* Nees (Hymenoptera, Braconidae) ha sido ampliamente estudiada y desarrollada con resultados favorables en Estados Unidos y Canadá (Miller, 1959; Syme *et al.*, 1972).

En Argentina se han realizado liberaciones de este endoparasitoide sin éxito (Brewer *et al.*, 1970). En Chile se implementó la organización de campañas cuyo objetivo primordial es lograr el establecimiento definitivo de *O. obscurator* (Espinosa *et al.*, 1986, 1991, 1992; Poblete *et al.*, 1996).

Por otra parte, ha sido importante el estudio de otros enemigos naturales alternativos o que complementen la acción de *O. obscurator* (Brewer *et al.*, 1970, 1971; Robredo, 1972; Lanfranco *et al.*, 1994) tales como los parasitoides de huevos de la familia *Trichogrammatidae*, así como también, otras formas de control basadas en técnicas de confusión sexual y de macho esterilidad, virus entomopatógenos, etc.

(Harris, 1960; Daterman *et al.*, 1970, 1972; Daterman, 1971; Niwa *et al.*, 1988; Tiberi *et al.*, 1988; Coulson *et al.*, 1990).

En Uruguay se han reconocido hasta el momento cuatro parasitoides de este lepidóptero: *Brachymeria pseudovata* (Chalcididae), *Calliephialtas minutus*, *Itopectis oeceticola* y *Pimpla semirufa* (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Ruffinelli, 1967).

## 2.9 BIOLOGÍA Y CRÍA EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Los programas de lucha integrada contra *R. buoliana* como fuera mencionado anteriormente, apuestan al control biológico como principal medida. Por esta razón, la cría en condiciones de laboratorio de este insecto ha sido requerida para cumplir con determinados objetivos. Cuando el interés es realizar estudios de comportamiento, biología, rutas metabólicas, etc., el costo generado por cada insecto criado no representa una limitante importante y se logra la propagación de una o más generaciones del material colectado a campo. Cuando el objetivo es la obtención de un suplemento continuo y en grandes cantidades de la plaga, se realiza una cría masiva en la que se producen un gran número de individuos "acceptables" al más bajo costo posible (Singh, 1982); esta técnica se ha empleado en la cría de enemigos naturales de *R. buoliana* (Shen *et al.*, 1967, Cisternas *et al.*, 1988; Smith, 1994), estudios sobre macho esterilidad (Chawla *et al.*, 1970, Syme *et al.*, 1972) y de extracción de feromonas utilizadas en trampas (Daterman *et al.*, 1970; Smith *et al.*, 1973; Gray *et al.*, 1984).

El uso de dietas artificiales facilita la cría del insecto en condiciones de laboratorio y presenta ciertas ventajas sobre la dieta natural. Las formulaciones comerciales existentes permiten reducir costos de la mano de obra necesaria en la preparación de la dieta, minimizar el tiempo de evaluación, disminuir la mortalidad causada por manipulación excesiva, evitar la desinfección de brotes y maximizar la homogeneidad de la dieta a lo largo del año (Smith, 1994).

La cría en laboratorio de *R. buoliana* ha presentado como principal limitante el apareamiento en cautiverio (Chawla *et al.*, 1968; Daterman, 1968, 1970; Chawla *et al.*, 1970; Ross *et al.*, 1971). Daterman (1968) analizó ciertas características en el comportamiento reproductivo de machos y hembras que explican las dificultades existentes para obtener un número importante de hembras copuladas. La respuesta de los machos ante la presencia de hembras atractivas varía, ya que este autor constató que ciertos especímenes no eran atraídos por las feromonas sexuales femeninas. Otro aspecto que influye en la eficiencia de la técnica de apareamiento es el factor "fatiga" de los machos, debido a que más de un macho es estimulado por una misma hembra y aunque

ésta haya copulado, el resto de los machos del grupo mantiene los movimientos precopulatorios y luego frente a la incorporación de otra hembra virgen no manifiestan respuesta; solamente los machos nuevos son estimulados por una segunda hembra. Este factor, probablemente más que otros, constituye la principal limitante. Ocasionalmente, algunas de las hembras atractivas tratan de escapar a los machos que intentan aparearlas, comportamiento que también fue observado a campo por Pointing (1961).

La presencia y dispersión de las feromonas sexuales femeninas son factores decisivos para que se produzca el acoplamiento, generalmente una sola hembra en un grupo es atractiva en un momento determinado y puede ser fertilizada sólo una vez. Daterman (1970) logró incrementar el número de apareamientos exitosos tanto de *R. buoliana*, como de *R. zozana* (Kearf), *Acleris gloverana* (Wlsm.), *Choristoneura occidentalis* Freeman. y *C. viridis* Freeman, mediante el aporte de un flujo de aire continuo para remover las feromonas sexuales y dirigirlas hacia los machos, el confinamiento de las hembras a un sitio determinado (para lo cual cortó la punta de las alas anteriores), el mantenimiento de un período de crepúsculo para estimular la cópula y por último, el uso de hembras vírgenes de menos de dos días y machos menores de cuatro. En las condiciones anteriormente expuestas, este autor obtuvo un 73 % de hembras fecundadas sobre un total de 362 hembras y 724 machos manteniendo una relación de dos machos por cada hembra. Chawla *et al.* (1970) realizaron la cría de *R. buoliana* para ensayar la técnica de control basada en machos estériles. A pesar de implementar las medidas propuestas por Daterman (1968, 1970) lograron solamente un 25 % de hembras copuladas utilizando 15 ó 20 machos por 4 hembras (a una temperatura de 20 °C, 55 % de humedad relativa y un fotoperíodo de 16 hs. de luz y 8 de oscuridad). Por otra parte, no observaron diferencias al utilizar adultos emergidos de pupas de campo y de dieta artificial.

Luego del apareamiento, la mayoría de las oviposiciones en condiciones de laboratorio ocurren entre los cinco y seis días siguientes (Chawla *et al.*, 1970) y el lapso de ovipostura varía entre 8 y 12 días (Cisternas *et al.*, 1988). Con respecto a la fecundidad y supervivencia de huevos, Daterman (1972) afirma que éstas presentan una relación lineal inversa con los incrementos de los potenciales de evaporación. Con un incremento del déficit del vapor de presión de 4 a 24 mm de Hg (83 % a 0 % de humedad relativa) y a una temperatura media de 25.5°C podría reducirse de 130 a 51 el número de huevos puestos por hembra y de 90 a 20 % el porcentaje de viabilidad de los mismos. La razón por la cual las altas tasas de evaporación producen gran mortalidad de huevos es la deshidratación. La disminución del número de huevos puestos por hembra podría deberse a que existe una mayor pérdida de agua a partir del cuerpo del insecto, lo que obligaría a la hembra a utilizar el agua disponible para otras funciones metabólicas.

Por este motivo, la adición de un trozo de algodón saturado en agua, provee de la misma a la hembra y favorece una disminución de la tasa de evaporación.

La información respecto al número de huevos puestos por hembras de *R. buoliana* confinadas en el laboratorio y la duración del período de incubación es variable. Este último fluctúa en función de la temperatura a las que son expuestos los huevos. Pastrana (1961) mantuvo en el insectario 12 hembras y observó un promedio de 50 huevos/hembra con un máximo de 107 y un mínimo de 7. Daterman (1968) obtuvo un promedio de 106 y 128 huevos puestos por hembras provenientes de pupas colectadas a campo y de dieta artificial respectivamente (a 25 °C de temperatura, 65 % de humedad relativa y 16 hs. de luz).

Los huevos eclosionan a los diez días luego de mantenerlos en incubadora a 25°C (Chawla *et al.*, 1970), entre ocho y diez días a 20 - 21 °C de temperatura, 75 - 78 % de humedad relativa y un fotoperíodo de 16 hs de luz (Cisternas *et al.*, 1988). Asimismo, Robredo (1978) constató un período de incubación de 12 - 13 días a 18 °C y además que por cada grado centígrado menos en la temperatura media, se retrasa un día más la eclosión de los huevos. A su vez, Cisternas *et al.* (1988) obtuvieron un promedio de 63 huevos por hembra (n=10) en un rango de 39 a 105 huevos en condiciones ambientales de 20 - 21°C de temperatura y 75 - 78 % de humedad relativa.

El inicio de la cría de *R. buoliana* se puede realizar a partir de larvas de primer estadio o de larvas extraídas de brotes de pino colectados en el campo. En tal sentido, Chawla *et al.* (1968) desarrollaron la cría sobre dieta artificial a partir de larvas de primer estadio y del segundo al cuarto estadio extraídas de los brotes de pino recogidos en el campo. Los medios nutritivos utilizados fueron modificaciones de una dieta basada en germen de trigo desarrollada por Berger (1963 citado por Chawla *et al.*, 1968), de otra basada en legumbres ensayada por Shorey *et al.* (1965) y una mezcla de ambas. Con respecto a la dieta basada en legumbres, ésta resultó ser un medio simple, económico y fácil de fabricar que les permitió a Shorey *et al.* (1965) criar fácilmente nueve especies de noctuides. La dieta basada en germen de trigo fue modificada para este lepidóptero reduciendo las cantidades de mezcla de sales e incorporando más celulosa para mejorar la textura y prevenir la condensación de agua en la superficie.

En lo referente a sales minerales, los autores notaron un desarrollo anormal de los insectos en aquellos medios carentes de las mismas. En cuanto a la incorporación de ácidos grasos a las dietas, el crecimiento larval de *R. buoliana* no demostró diferencias frente a la presencia o ausencia de los mismos, lo que sugiere que el germen de trigo los contiene en forma suficiente.

Chawla *et al.* (1968) indican que el agregado de tejido de pino no es un requisito para el crecimiento adecuado de las larvas. Sin embargo, Daterman (1969) si recomienda la inclusión de este elemento al igual que Ross *et al.* (1971) quienes opinaron que el tejido de pino posee fagoestimulantes que promueven el inicio de la alimentación de la larva rápidamente.

Las mudas y cadáveres de insectos, así como los excrementos, favorecen el desarrollo de hongos, bacterias y ácaros. Es por este motivo, que Chawla *et al.* (1967) recomiendan aspersiones con sustancias antifúngicas y antibacterianas en la superficie de la dieta para el control de *Aspergillus niger* (contaminante más común) y *Rhizopus nigricans*. Las sustancias antisépticas que se incorporan en la mayoría de las dietas son generalmente formaldehído, metilparahidroxibenzoato y ácido sórbico, cuyas cantidades deben adecuarse para no incurrir en excesos que podrían provocar la prolongación del período larvario y un crecimiento lento (Ouye, 1962 citado por Chawla *et al.*, 1967).

En el caso de *R. buoliana* cuyo ciclo aún en laboratorio es extenso, se debe realizar el recambio de la dieta periódicamente debido a que la humedad necesaria para el desarrollo de la larva debe ser mantenida. Además, según Vanderzant *et al.* (1963, citado por Ross *et al.*, 1971) las dietas se deterioran en forma gradual, especialmente con la pérdida por oxidación de ácido ascórbico y de acuerdo a los resultados obtenidos en su trabajo, esto produciría mortalidad de prepupas y la emergencia incompleta de los adultos.

Existen aspectos metodológicos relacionados con el manejo y uso más eficiente de la dieta que favorecen el desarrollo de las larvas de *R. buoliana*. La larva, que por naturaleza tiene hábitos deambulatorios, cuando es colocada sobre dieta en recipientes llanos (con un centímetro aproximadamente de distancia entre la tapa y la dieta) pronto vuelve al alimento y lo come más rápidamente. Lo contrario ocurre cuando los recipientes son profundos. Las larvas no demoran en establecerse si la superficie de la dieta presenta irregularidades y el medio nutritivo puede ser mejor aprovechado si se ofrece en trozos (Chawla *et al.*, 1968; Daterman, 1969; Ross *et al.*, 1971). Con relación a la eficacia de las dietas para permitir el desarrollo de este lepidóptero, Chawla *et al.* (1968) observaron que la dieta de Shorey y Hale (1965) aún cuando se consideró el agregado de tejido de pino, no arrojó resultados satisfactorios comparándolos con los obtenidos a partir de las dietas basadas en germen de trigo. Las causas de tales resultados no se conocieron exactamente, y no se le atribuyó a la textura ya que ésta fue mejorada mediante el incremento del volumen de agua utilizado para permitir la mezcla de los ingredientes en forma más homogénea.

Chawla *et al.* (1968) mencionan que existió una alta mortalidad larval en el entorno de los 60 días después de haber manifestado un crecimiento satisfactorio en todas las dietas probadas. Ross *et al.* (1971), también trabajaron con larvas provenientes de brotes con cierto desarrollo, no especificando un estadio en particular. Dichas larvas fueron criadas sobre diferentes dietas basadas en germen de trigo ensayadas por Chawla *et al.* (1968) y obtuvieron un alto porcentaje de mortalidad larval. Las causas de dicha mortalidad se debieron principalmente a que muchas larvas nunca comenzaban a comer muriendo en un par de semanas, otras se ahogaban en la dieta por exceso de agua y en menor cantidad en la manipulación al trasladar las larvas a la dieta.

Para asegurar la presencia de un balance de nutrientes adecuado a los estadios larvales, Chawla *et al.* (1968) plantearon la hipótesis de que como las larvas de *R. buoliana* presentan en la naturaleza hábitos alimenticios diferentes durante su desarrollo (en los primeros estadios se alimentan de acículas y en los posteriores de brotes), debería haber un cambio en los requerimientos nutricionales para cada etapa de período larvario. Si esto fuera así, sería necesario usar varias dietas. Además, dichos autores argumentan la posibilidad de la existencia de un período crítico o de múltiples factores que son necesarios para completar la metamorfosis de la "polilla del brote de pino".

Como consecuencia de la alta mortalidad larval, el porcentaje de pupación a partir de larvas de primer estadio obtenido por Chawla *et al.* (1968) fue bajo, aproximadamente un 20 %. Sin embargo, este porcentaje fue mayor, alrededor de un 70 % para el caso de larvas extraídas de brotes del campo de segundo y tercer estadio que posteriormente son trasladadas a las dietas. Cabe señalar, que ambos porcentajes fueron calculados sobre la base de un número de larvas que se observaron luego de 15 ó 20 días de establecidas en las dietas. Chawla *et al.* (1970) observaron que la supervivencia de pupas en crías sucesivas, disminuyó en forma importante de un 70 % a aproximadamente un 37 % y las medidas adoptadas para aumentarla tales como manejar la humedad y la temperatura y permitir que las pupas permanecieran en su capullo de seda ó en sus propios recipientes de cría, no fueron efectivas.

Ross *et al.* (1971) obtuvieron un 3.9 % de emergencia de adultos teniendo en cuenta que el número inicial de larvas en el laboratorio fue de 231. Sin embargo, de 42 pupas machos y 35 pupas hembras colectadas en el campo emergieron en el laboratorio a 25 °C el 12 % y el 23 % de adultos respectivamente. Una posible explicación a la dificultad que presentaron las pupas para completar la emergencia del imago en laboratorio, sería la inexistencia de algún factor físico del movimiento a través del túnel que realiza la pupa en el brote y que estimularía la salida del adulto en condiciones naturales (Ross *et al.*, 1971). De acuerdo a Chawla *et al.* (1968), el peso promedio de las pupas en la dieta

de Chawla y Hardwood fue de 36.6 mg para las pupas hembras y de 20.6 mg para las pupas machos, mientras que para la dieta de Shorey y Hale fue de 36.9 mg y de 23.5 mg para hembras y machos respectivamente. En relación con el período de pupación de crisálidas de *R. buoliana* obtenidas a partir de larvas provenientes del campo, Robredo (1978) confeccionó la curva de frecuencias de días de pupación para cada sexo separadamente y observó que entre los 16 y 19 días habían emergido el 93.4 % de las mariposas hembras y el 73.5 % de las mariposas machos, en cambio, si consideraba un período comprendido entre el día 15 y 20 habían emergido el 85.3 % de los machos (las temperaturas media máxima y mínima en el laboratorio fueron de  $24.77 \pm 0.89$  °C y  $23.77 \pm 0.50$  °C respectivamente).

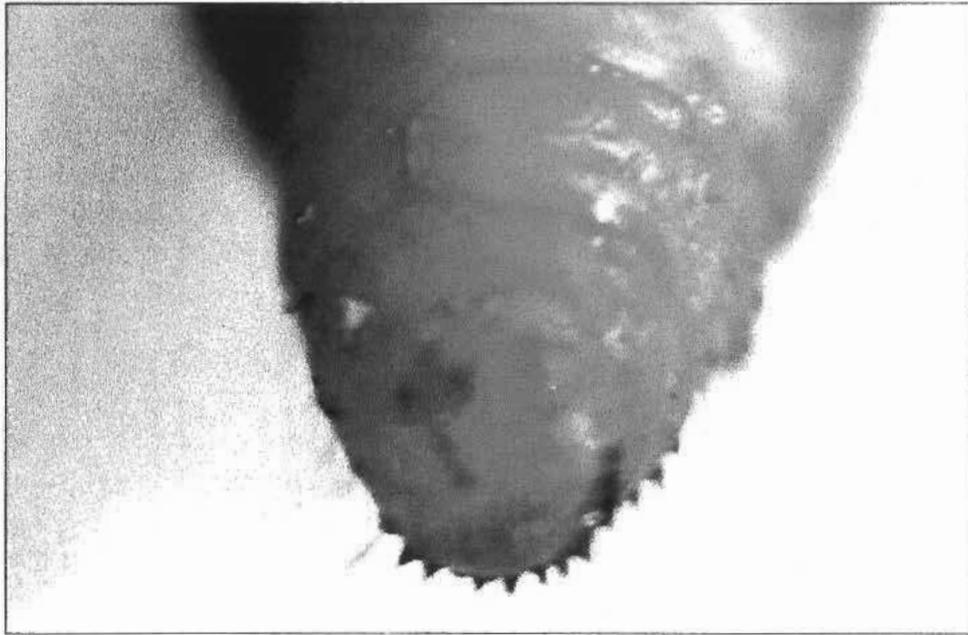
El ciclo de vida de *R. buoliana* en laboratorio es extenso al igual que en la naturaleza lo que dificulta la evaluación de las dietas y condiciones de cría. En tal sentido, Chawla *et al.* (1968) obtuvieron para todas las dietas probadas una duración del ciclo larval que varió de acuerdo a la temperatura de 50 a 100 días a 25 °C y de 92 a 100 días a 23 °C, siendo el valor mínimo medio mencionado por dichos autores de 56 días. Asimismo, Cisternas *et al.* (1988) criaron larvas de *R. buoliana* que completaron el desarrollo en 77 días, utilizando para ello una dieta basada en germen de trigo de la cual no especifican los demás componentes.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 OBTENCIÓN DE LARVAS DEL PRIMER ESTADIO.

Con el propósito de obtener larvas del primer estadio, se realizó a partir del mes de agosto hasta el mes de diciembre de 1996 y en febrero de 1997, la recolección de brotes de pino infestados por *R. buoliana* en diferentes localidades del país: Montevideo, Lavalleja, Cerro Largo, Colonia y Paysandú. La mayor cantidad de brotes infestados por este lepidóptero provino de *P. radiata* implantados en el Departamento de Lavalleja.

Una vez en el laboratorio, los brotes de aproximadamente 20 cm de longitud fueron revisados y disecados para extraer pupas. Cuando en ellos se detectó la presencia de larvas maduras, los brotes fueron introducidos en arena húmeda contenida en frascos de vidrio. Diariamente, se realizó la observación de los mismos para comprobar si las larvas habían empupado o si era necesario colocar un brote nuevo para continuar su alimentación. Las pupas se sexaron según Robredo (1978) (Figuras 1 y 2) y luego se pesaron con una balanza de precisión (Sauter Typ 414, apreciación 0.0001 gr). Posteriormente, se colocaron en cajas de Petri sobre papel secante humedecido, las cuales se acondicionaron en recipientes de vidrio con tapa (20 x 30 x 15 cm) cuyo fondo permaneció cubierto con agua saturada de sal para mantener la humedad relativa (H. R.) a aproximadamente 70 % y se ubicaron en una cámara de cría a  $25 \pm 2$  °C y fotoperiodo de 16 hs. de luz y 8 de oscuridad.



**Figura 1.** Vista ventral de los últimos uritos de una pupa hembra de *R. buoliana*.



**Figura 2.** Vista ventral de los últimos uritos de una pupa macho de *R. buoliana*.

A medida que los adultos fueron emergiendo (en total se obtuvieron 117 adultos) se colocaron en las jaulas entomológicas con paredes de malla plástica de 23 x 17 x 30 cm, ubicadas tanto dentro del laboratorio como bajo techo en el predio de Facultad de Agronomía (Montevideo, Uruguay). Cuando fue posible se mantuvo una razón sexual de 2:1. Una vez colocados los adultos en las jaulas se esperó al menos 48 horas para extraer las hembras copuladas, lo cual fue comprobado mediante la observación de los últimos segmentos abdominales de las mismas (Daterman, 1969) (Figura 3).

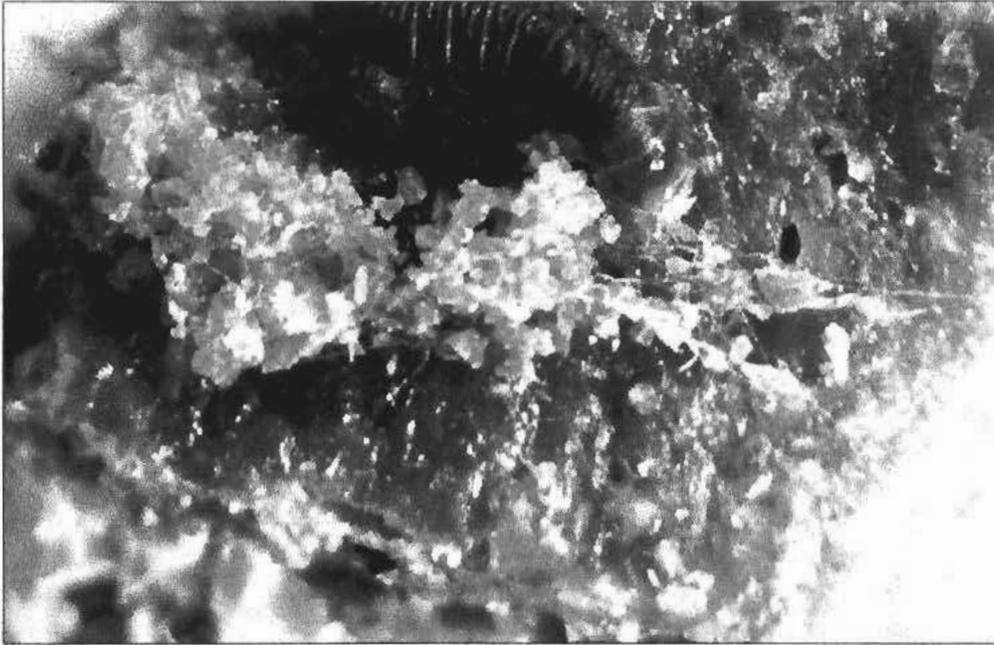


**Figura 3.** Vista ventral del abdomen de una hembra copulada de *R. buoliana*.

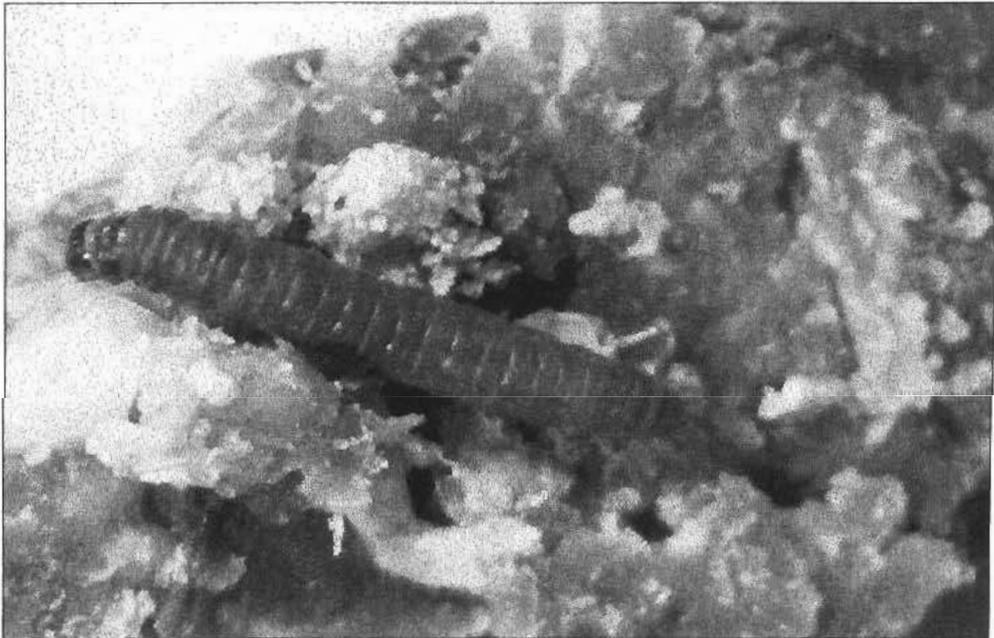
Las hembras copuladas se colocaron individualmente en cajas de Petri con papel secante en la base como sustrato para la oviposición, se adicionó un trozo de algodón embebido en agua y se colocó una cinta plástica sellando los bordes de la caja. Luego, las cajas se acondicionaron en una cámara climatizada a  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % de H.R. y un fotoperíodo de 16 hs de luz y 8 de oscuridad. Las mariposas se cambiaron de caja diariamente y los huevos obtenidos permanecieron en la cámara de cría hasta su eclosión. En esta etapa se registraron fechas de pupación, emergencia del imago, de cópula y oviposición de las hembras, así como también el número de huevos puestos por hembra, dimensiones y momento de eclosión de los mismos (Anexo 1, Cuadros 1, 2 y 3).

### 3.2 ACONDICIONAMIENTO DE LAS LARVAS EN LAS DIETAS.

Se introdujeron 145 y 148 larvas neonatas en orificios realizados sobre trozos de la dieta de Chawla y Hardwood (1968) y de la dieta de Shorey y Hale (1965) modificada respectivamente (Anexo 2, Cuadros 1 y 2). Cada larva y su respectivo trozo de dieta se dispusieron en cajas de plástico con tapa (6 cm de diámetro y 2 cm de altura) las cuales se identificaron y se colocaron en los recipientes de vidrio con tapa (20 x 30 x 15 cm). Éstos, a su vez, se acondicionaron en cámaras a  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % de H.R. y un fotoperíodo de 16 hs. de luz y 8 de oscuridad. El trozo de dieta ofrecido a las larvas fue reemplazado semanalmente y su tamaño aumentó de acuerdo al tamaño de la larva (Figuras 4 y 5).



**Figura 4.** Larva de *R. buoliana* sobre un trozo de la dieta de Chawla y Hardwood (1968).



**Figura 5.** Larva de *R. buoliana* sobre un trozo de la dieta de Shorey y Hale (1965) modificada.

Se registraron en una planilla las fechas de colocación de las larvas en la dieta, muda, pupación, emergencia, cópula y muerte del insecto adulto. Así como también, el tamaño de la cápsula cefálica abandonada en el momento de la muda y el largo aproximado de la larva viva (Anexo 3, Cuadros 1 y 2).

### 3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.

Se calcularon estadísticas descriptivas de longevidad de adultos, duración del período de precópula, preoviposición, oviposición de las hembras, así como número de huevos puestos por hembras, dimensiones, período de incubación, porcentaje de eclosión de los mismos, ancho de cápsula cefálica, largo de las larvas y por último peso y largo de las pupas.

Se realizó análisis de varianza y comparación de medias de la duración del período larval entre sexos y dietas (Anexo 4, Cuadro 1). También se comparó la viabilidad de larvas entre dietas mediante la prueba de Ji - cuadrado utilizando el Test de Fisher (Anexo 4, Cuadro 2).

Con respecto a las pupas, se realizó la comparación del largo entre sexos y dietas (Anexo 4, Cuadro 3). Asimismo, se efectuó la comparación entre orígenes (campo y dietas) y entre sexos del peso y período de pupación de las crisálidas mediante el análisis de varianza (Anexo 4, Cuadros 4 y 5). La comparación de viabilidad de pupas entre las dietas artificiales se realizó mediante la prueba de Ji- cuadrado utilizando el Test de Fisher (Anexo 4, Cuadro 6).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 ADULTO

El número de machos y hembras de *Rhyacionia buoliana* (Figura 6) que emergieron de las pupas colectadas en el campo correspondió a 71 y 46 respectivamente, de las cuales copularon 17 hembras. Con respecto a las dietas artificiales, de la dieta de Chawla y Hardwood se obtuvieron 30 hembras (de las cuales dos hembras fueron copuladas) y 26 machos, mientras que, a partir de la dieta de Shorey y Hale modificada emergieron 19 hembras (de las cuales copuló sólo una) y 23 machos. Debido a que se obtuvo un reducido número de hembras fertilizadas provenientes de las dietas, no se realizaron comparaciones entre los datos correspondientes a éstas y los referentes a las hembras emergidas de las pupas de campo.

Los datos de longevidad, cópula y oviposición de hembras fertilizadas obtenidas de los brotes de pino y de las dietas artificiales se presentan en la Tabla 1.

**Tabla 1. Datos de longevidad, cópula y oviposición de hembras de *R. buoliana* según su origen (Temperatura  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).**

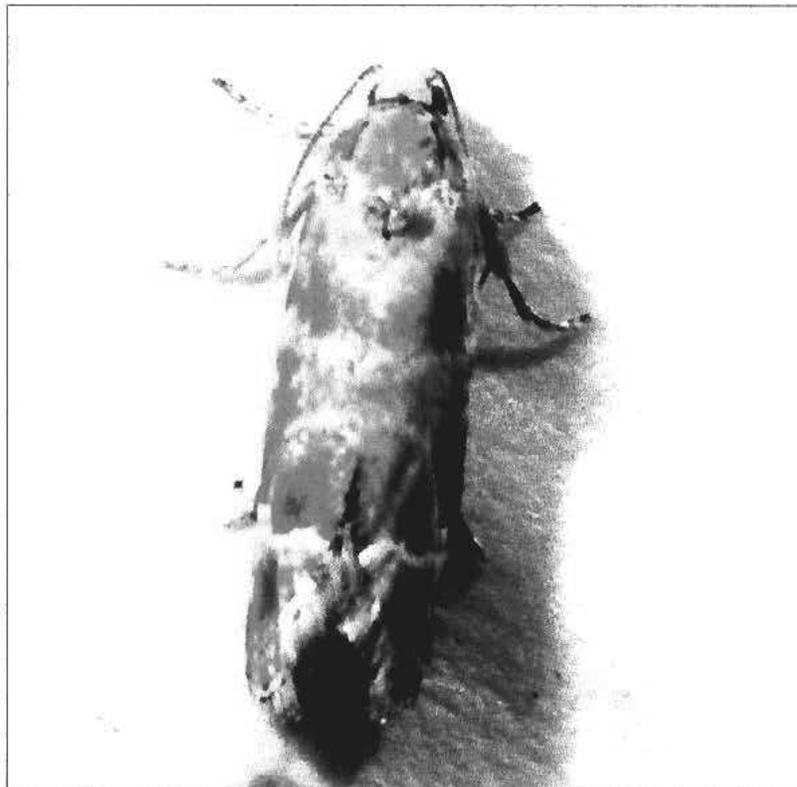
	Campo <sup>1</sup>			Dieta de Chawla y Hardwood			Dieta de Shorey y Hale modificada		
	n	$\bar{x}$	D.S	n	$\bar{x}$	D.S	n	$\bar{x}$	D.S
<b>Longevidad (días)</b>	46	7	4	30	11	6	19	10	4
<b>Período de precópula <sup>2</sup></b>	17	1.5	-	2	5	1	1	2	-
<b>Período de preoviposición <sup>2</sup></b>	17	2	-	2	1	1	1	2	-
<b>Período de oviposición <sup>2</sup></b>	17	5	-	2	8	1	1	6	-
<b>Número de huevos <sup>2</sup></b>	17	77	12	2	65	31	1	148	-

<sup>(1)</sup> Hembras emergidas de pupas colectadas de brotes de pino.

<sup>(2)</sup> Datos correspondientes en las dietas artificiales a la hembra n° 52 y n° 80 de la dieta de Chawla y Hardwood (1968) y a la hembra n° 40 de la dieta de Shorey y Hale (1965) modificada.

Con respecto a los machos emergidos de las pupas del campo, la longevidad media fue de  $5.0 \pm 2.5$  (n = 71), mientras que ésta fue de  $5.0 \pm 4.0$  (n = 26) y  $6.0 \pm 3.0$  (n = 23)

días para los machos provenientes de las pupas de la dieta de Chawla y Hardwood y de la de Shorey y Hale modificada respectivamente.



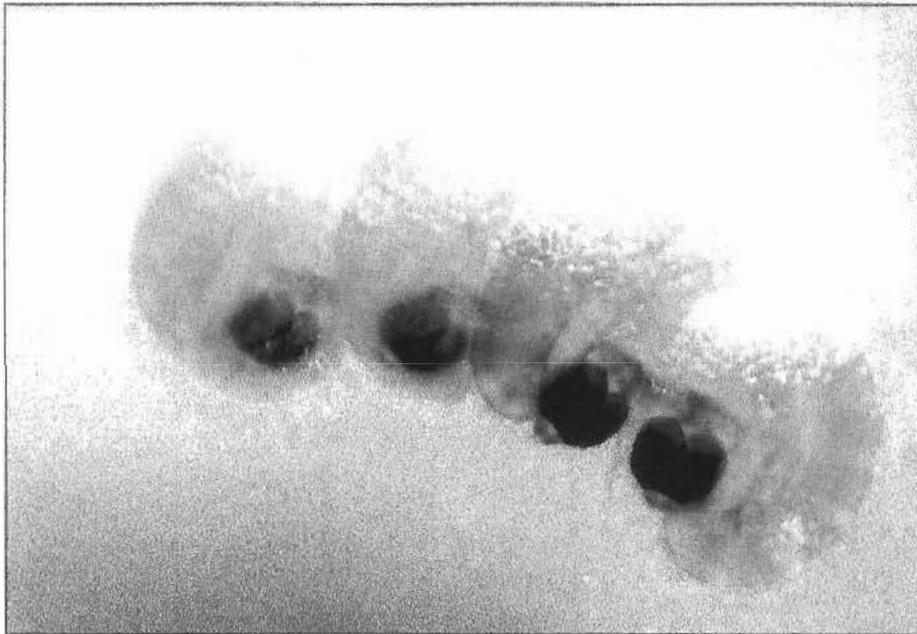
**Figura 6. Adulto hembra de *Rhyacionia buoliana*.**

#### 4.2 HUEVO

Las hembras de *R. buoliana* obtenidas tanto de pupas colectadas de brotes de pino como de las dietas artificiales, ovipusieron indistintamente sobre papel o vidrio, en pequeños grupos o también en forma aislada. Los huevos presentaron forma ovalada, de color amarillo pálido adquiriendo una tonalidad anaranjada a marrón a medida que avanzaba el período de embriogénesis. Aproximadamente dos días antes de emerger las larvas neonatas, fue posible observar una zona negra correspondiente a la cápsula cefálica en desarrollo (Figuras 7 y 8). En relación con el tamaño de los huevos puestos por este insecto, los diámetros promedio menor y mayor fueron de  $0.795 \pm 0.016$  mm y de  $0.998 \pm 0.017$  mm ( $n = 217$ ) respectivamente.



**Figura 7. Huevos de *Rhyacionia buoliana***



**Figura 8. Huevos de *Rhyacionia buoliana* próximos a eclosionar.**

El período de incubación y porcentaje de eclosión de los huevos se muestra en la Tabla 2.

**Tabla 2. Período de incubación y porcentaje de eclosión de huevos de *R. buoliana* según origen de los mismos (Temperatura  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , a aproximadamente 70 % H.R. y fotoperíodo de 16 hs).**

	Campo <sup>1</sup>			Dieta de Chawla y Hardwood <sup>2</sup>			Dieta de Shorey y Hale modificada <sup>3</sup>		
	n	$\bar{x}$	D.S	n	$\bar{x}$	D.S	n	$\bar{x}$	D.S
<b>Período de incubación/postura (días)</b>	56	8.0	1.0	15	10.0	1.0	5	8.0	2.0
<b>Porcentaje de eclosión</b>	807	60.5	0.05	130	21.3	0.12	148	84.5	0.04

<sup>(1)</sup> Huevos puestos por hembras emergidas de pupas colectadas de brotes de pino.

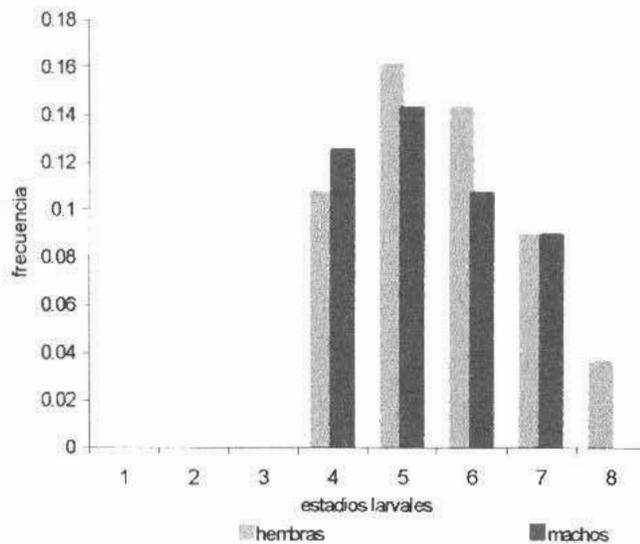
<sup>(2)</sup> Huevos puestos por las hembras n° 52 y n°80 obtenidas de la dieta de Chawla y Hardwood (1968).

<sup>(3)</sup> Huevos puestos por la hembra n° 40 obtenida de la dieta de Shorey y Hale(1965) modificada..

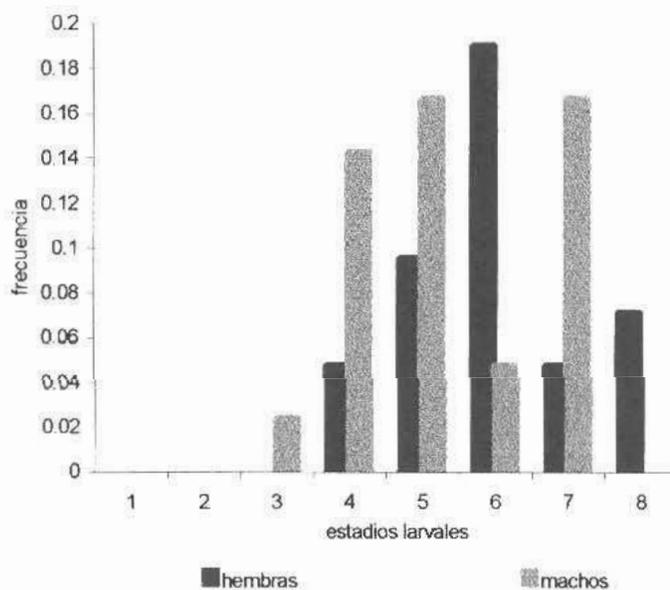
#### 4.3 LARVA

Las larvas recién emergidas presentaron un color castaño claro que se fue oscureciendo a medida que se desarrollaba el período larvario y una vez maduras, volvían a tornarse de color más claro antes de empupar.

El número de estadios que componen el desarrollo larval de *R. buoliana* no pudo definirse con exactitud ya que en ambos sexos y en las dos dietas presentaron 4, 5, 6 ó 7 estadios larvales. Excepcionalmente, se observó en las hembras un octavo estadio en ambas dietas y un individuo macho que se desarrolló en 3 estadios en la dieta de Shorey y Hale modificada (Figuras 9 y 10).



**Figura 9.** Distribución de frecuencias de adultos de *R. buoliana* según el número de estadios larvales desarrollados en la dieta de Chawla y Hardwood (Temperatura  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).



**Figura 10.** Distribución de frecuencias de los adultos de *R. buoliana* según el número de estadios larvales desarrollados en la dieta de Shorey y Hale modificada (Temperatura  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).

El ancho de las cápsulas cefálicas no aumentó según la constante de Dyar (1890) (Tablas 3 a 6), las larvas que mudaron más veces alcanzaron un tamaño de cápsula cefálica más grande.

**Tabla 3. Ancho medio de cápsula cefálica (mm) de hembras de *R. buoliana* y tasa de incremento para cada estadio larval en la dieta de Chawla y Hardwood. (Temperatura  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % H.R. y fotoperíodo de 16 hs.).**

	4 estadios n=6			5 estadios n=9			6 estadios n=8			7 estadios n=5		
	$\bar{x}$ (mm)	D.S	Incr.	$\bar{x}$ (mm)	D.S	Incr.	$\bar{x}$ (mm)	D.S	Incr.	$\bar{x}$ (mm)	D.S	Incr.
I	0.261	0.013	1.28	0.267	0.02	1.35	0.251	0.014	1.36	0.259	0.011	1.37
II	0.335	0.041	1.77	0.362	0.06	1.38	0.342	0.013	1.42	0.353	0.036	1.37
III	0.595	0.142	1.49	0.500	0.05	1.35	0.486	0.045	1.36	0.485	0.083	1.12
IV	0.888	0.181	-	0.675	0.08	1.34	0.661	0.067	1.18	0.542	0.138	1.30
V				0.906	0.13	-	0.779	0.076	1.20	0.705	0.079	1.23
VI							0.940	0.122	-	0.870	0.111	1.28
VII										1.111	0.112	-
$\bar{x}$			1.51			1.36			1.30			1.27

**Tabla 4. Ancho medio de cápsula cefálica (mm) de machos de *R. buoliana* y tasa de incremento para cada estadio larval en la dieta de Chawla y Hardwood. (Temperatura  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).**

	4 estadios n=7			5 estadios n=8			6 estadios n=6			7 estadios n=5		
	$\bar{x}$ (mm)	D.S	Incr.									
I	0.261	0.021	1.59	0.258	0.013	1.55	0.262	0.013	1.32	0.256	0.019	1.37
II	0.416	0.060	1.40	0.399	0.113	1.31	0.346	0.345	1.46	0.349	0.021	1.33
III	0.578	0.086	1.40	0.522	0.100	1.34	0.504	0.095	1.30	0.466	0.080	1.29
IV	0.808	0.210	-	0.698	0.084	1.26	0.654	0.101	1.16	0.603	0.083	1.20
V				0.879	0.100	-	0.757	0.086	1.34	0.721	0.113	1.19
VI							1.013	0.105	-	0.859	0.148	1.09
VII										0.937	0.140	-
$\bar{x}$			1.46			1.36			1.31			1.25

**Tabla 5. Ancho medio de cápsula cefálica (mm) de hembras de *R. buoliana* y tasa de incremento para cada estadio larval en la dieta de Shorey y Hale modificada (Temperatura  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).**

	4 estadios n=2			5 estadios n=4			6 estadios n=8			7 estadios n=2		
	$\bar{x}$ (mm)	D.S	Incr.									
I	0.310	0.060	1.35	0.259	0.013	1.37	0.278	0.041	1.33	0.252	0.001	1.36
II	0.418	0.090	1.40	0.354	0.036	1.43	0.373	0.048	1.39	0.342	0.018	1.41
III	0.582	0.040	1.30	0.560	0.172	1.33	0.516	0.33	1.26	0.481	0	1.24
IV	0.760	0.072	-	0.747	0.139	1.23	0.649	0.045	1.19	0.595	0.054	1.23
V				0.922	0.165	-	0.769	0.056	1.30	0.734	0.036	1.17
VI							1.003	0.114	-	0.861	0.036	1.34
VII										1.152	0.054	-
$\bar{x}$			1.35			1.38			1.29			1.29

**Tabla 6. Ancho medio de cápsula cefálica (mm) de machos de *R. buoliana* y tasa de incremento para cada estadio larval en la dieta de Shorey y Hale modificada (Temperatura  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).**

	4 estadios n=6			5 estadios n=7			6 estadios n=2			7 estadios n=7		
	$\bar{x}$ (mm)	D.S	Incr.									
I	0.277	0.028	1.43	0.254	0.039	1.64	0.253	0.000	1.45	0.253	0.008	1.32
II	0.397	0.071	1.42	0.416	0.091	1.43	0.367	0.089	1.31	0.333	0.027	1.35
III	0.561	0.061	1.25	0.596	0.099	1.21	0.481	0.143	1.21	0.449	0.035	1.24
IV	0.703	0.041	-	0.720	0.079	1.24	0.582	0.072	1.24	0.557	0.036	1.21
V				0.893	0.146	-	0.722	0.090	1.25	0.673	0.052	1.23
VI							0.899	0.161	-	0.830	0.046	1.23
VII										1.020	0.032	-
$\bar{x}$			1.37			1.38			1.29			1.26

Las variaciones de tamaño de las cápsulas cefálicas permitieron identificar con claridad sólo los tres primeros estadios, tanto en ambos sexos como en las dos dietas. En los restantes se superponen los anchos de las cápsulas y el largo de las larvas (Tabla 7). Cabe señalar, que las mediciones del largo de las larvas se realizaron sobre individuos

vivos, por lo tanto, están afectadas por más errores que el ancho de las cápsulas cefálicas el cual fue medido en las mudas.

**Tabla 7. Rangos de ancho de las cápsulas cefálicas y largo de las larvas de *R. buoliana* en cada estadio desarrollado en las dietas artificiales (Temperatura  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).**

Estadio	Dieta de Chawla y Hardwood		Dieta de Shorey y Hale modificada	
	Ancho de cápsula cefálica (mm)	Largo (mm)	Ancho de cápsula cefálica (mm)	Largo (mm)
I	0.251 - 0.267	3.40 - 3.99	0.252 - 0.277	2.81 - 3.71
II	0.335 - 0.416	4.40 - 5.79	0.333 - 0.418	4.00 - 6.25
III	0.466 - 0.595	5.94 - 7.10	0.449 - 0.596	5.88 - 7.25
IV	0.545 - 0.888	6.92 - 10.11	0.557 - 0.760	7.49 - 8.82
V	0.705 - 0.906	7.21 - 9.70	0.673 - 0.922	7.79 - 9.25
VI	0.859 - 1.010	9.15 - 11.0	0.830 - 1.000	8.69 - 10.37
VII	0.937 - 1.110	9.32 - 9.46	1.020 - 1.150	11.77 - 15.00

La duración de la etapa larvaria presentó diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) entre las dietas y entre sexos (Anexo 4, Cuadro 1). El periodo larval en la dieta de Chawla y Hardwood fue más corto que en la dieta de Shorey y Hale modificada. Las hembras en ambas dietas presentaron una etapa larvaria más larga que la de los machos (Tabla 8).

**Tabla 8. Duración media del período larval de hembras y machos de *R. buoliana* desarrollado en las dietas artificiales (Temperatura  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).**

	Dieta de Chawla y Hardwood			Dieta de Shorey y Hale modificada		
	n	$\bar{x}$ (días)*	D.S (días)	n	$\bar{x}$ (días)*	D.S (días)
Hembra	30	77 <sup>b</sup>	15	23	81 <sup>a</sup>	8
Macho	26	66 <sup>d</sup>	15	19	74 <sup>c</sup>	7

\*Las letras en la columna y en la fila muestran diferencias estadísticamente significativas. Prueba F, diferencias entre dietas  $P = 0.0192$  y entre sexos  $P = 0.0002$ .

El mayor porcentaje de mortalidad ocurrió en el primer estadio y correspondió a un 25 % en la dieta de Chawla y Hardwood, mientras que en la de Shorey y Hale modificada fue de 34 %. La viabilidad de las larvas que se adaptaron desde un principio a las dietas fue de 73 % y de 66 % en la dieta de Chawla y Hardwood y en la de Shorey y Hale modificada respectivamente. Entre ambos porcentajes no se encontraron diferencias estadísticamente significativas,  $P = 0.225$  (Anexo 4, Cuadro 2).

#### 4.4 PUPA

Las pupas de *R. buoliana* al comienzo de la etapa de crisalidación presentaban un color castaño muy claro y se tornaban oscuras cuando la mariposa estaba próxima a emerger.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre dietas ( $P=0.0132$ ) y entre sexos ( $P=0.0001$ ) en el largo promedio de las pupas hembras y machos de la dieta de Chawla y Hardwood y de Shorey y Hale modificada (Tabla 9). En el caso de los machos, el largo de las pupas estuvo condicionado por el tipo de dieta ( $P=0.0002$ ) (Anexo 4, Cuadro 3).

**Tabla 9. Largo promedio de las pupas de *R. buoliana* obtenidas de las dietas artificiales (Temperatura  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).**

<b>Dieta</b>	<b>Sexo</b>	<b>n</b>	<b>Largo (mm)*</b>
Dieta de Chawla y Hardwood	hembra	39	9.33 <i>a</i> $\pm$ 0.89
	macho	40	8.58 <i>b</i> $\pm$ 0.90
Dieta de Shorey y Hale modificada.	hembra	29	9.37 <i>a</i> $\pm$ 0.59
	macho	36	7.93 <i>c</i> $\pm$ 0.60

\*Medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente. Prueba F, diferencias entre dietas  $P=0.0132$ , entre sexos  $P=0.0001$  y la interacción sexo/dieta  $P=0.0065$ .

El peso medio de las pupas hembras fue significativamente mayor que el de los machos, a su vez las pupas hembras provenientes de los brotes traídos del campo fueron más pesadas que las originadas de las dietas a una probabilidad menor o igual al 5 % (Tabla 10). Sin embargo, las pupas machos de la dieta de Shorey y Hale modificada

fueron significativamente menos pesadas que las de campo y de la dieta de Chawla y Hardwood (Anexo 4, Cuadro 4).

**Tabla 10. Peso medio de pupas de *R. buoliana* discriminado por sexo y origen de las mismas (Temperatura  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).**

Origen	sexo	n	Peso de pupa (gr)	
			$\bar{x}$ *	D.S.
Campo	hembra	55	0.0367 a	0.0123
Dieta de Chawla y Hardwood	hembra	29	0.0304 b	0.0055
Dieta de Shorey y Hale	hembra	28	0.0271 b	0.0044
Campo	macho	92	0.0213 c	0.0069
Dieta de Chawla y Hardwood	macho	30	0.0220 c	0.0036
Dieta de Shorey y Hale modificada	macho	33	0.0173 d	0.0030

\* Medias seguidas de la misma letra no difieren significativamente a  $P \leq 0.05$ . Test de Fisher (LSD).

Las pupas hembras y las pupas machos provenientes de brotes del campo, tuvieron una duración del período de crisalidación significativamente menor ( $P \leq 0.05$ ) que las pupas de ambos sexos originadas de las dietas artificiales (Tabla 11 y Anexo 4, Cuadro 5).

**Tabla 11. Duración media del período de pupación de *R. buoliana* discriminada por sexo y origen (Temperatura  $25 \pm 2$  °C, a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).**

Origen	sexo	n	Período de pupación (días)	
			$\bar{x}$ *	D.S.
Campo	hembra	46	18 a	4
Dieta de Chawla y Hardwood	hembra	30	23 b	3
Dieta de Shorey y Hale	hembra	19	23 b	3
Campo	macho	71	19 a	5
Dieta de Chawla y Hardwood	macho	23	22 b	2
Dieta de Shorey y Hale modificada	macho	23	23 b	3

\* Medias seguidas de la misma letra no difieren significativamente a  $P \leq 0.05$ . Test de Fisher (LSD).

La viabilidad de pupas extraídas de los brotes de pino, de la dieta de Chawla y Hardwood y de la dieta de Shorey y Hale modificada fue de 80, 68 y 64 % respectivamente. Cabe aclarar, que los porcentajes de crisalidación de cada dieta artificial fueron calculados sobre la base del número de larvas que desde un principio se adaptaron a las mismas. El porcentaje de mortalidad de las pupas fue independiente de las dietas sobre las que se criaron las larvas,  $P= 0.724$  (Anexo 4, Cuadro 6).

#### 4.5 DURACIÓN DEL CICLO DE VIDA DE *R. buoliana* CRIADA SOBRE DIETA ARTIFICIAL.

El ciclo biológico de *R. buoliana* desarrollado en condiciones de laboratorio fue extenso, siendo su duración similar en ambas dietas (Tabla 12).

**Tabla 12. Duración media de la etapa huevo - adulto de *R. buoliana* en condiciones de laboratorio y criada sobre dieta artificial (Temperatura  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , a aproximadamente 70 % H. R. y fotoperíodo de 16 hs.).**

Estado	Duración Media en Días			
	Dieta de Chawla y Hardwood		Dieta de Shorey y Hale modificada	
	hembra	macho	hembra	macho
<b>Huevo</b>	$12 \pm 1$	$12 \pm 1$	$8 \pm 2$	$8 \pm 2$
<b>Larva</b>	$77 \pm 15$	$66 \pm 15$	$81 \pm 8$	$74 \pm 7$
<b>Pupa</b>	$23 \pm 3$	$22 \pm 3$	$23 \pm 3$	$23 \pm 3$
<b>Adulto</b>	$11 \pm 6$	$5 \pm 4$	$10 \pm 4$	$6 \pm 3$
<b>Total</b>	<b>123</b>	<b>105</b>	<b>122</b>	<b>111</b>

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1 ADULTO

Los porcentajes de adultos de *Rhyacionia buoliana* emergidos en laboratorio, tanto a partir de pupas extraídas de los brotes (80 %), como de aquellas obtenidas de la dieta de Chawla y Hardwood (68 %) y de Shorey y Hale modificada (64%); fueron superiores a los registrados por Chawla *et al.* (1968) y Ross *et al.* (1971), correspondientes a un 37 % y 3.9 % respectivamente. En el momento de la emergencia del imago, muchas veces parte del mismo quedaba dentro de la exuvia, problema que también fue detectado por Chawla *et al.* (1970) y Ross *et al.* (1971).

El apareamiento de los insectos adultos en el laboratorio constituyó sin dudas el obstáculo más importante para lograr la cría en laboratorio; del mismo modo lo ha sido para varios autores como Chawla *et al.* (1968, 1970), Ross *et al.* (1971) y particularmente Daterman (1968, 1970) quien estudió exhaustivamente el comportamiento reproductivo de *R. buoliana* e implementó dispositivos y una metodología específica para ajustar una técnica efectiva que incrementara el número de apareamientos exitosos de dicho lepidóptero en cautiverio. En este trabajo, pese a seguir lo más exactamente posible las indicaciones de este autor para obtener hembras copuladas en el laboratorio, no fue posible lograrlo. Esto obligó a mantener en cautiverio a las hembras y machos pero en condiciones naturales y aún así, se obtuvieron muy pocas hembras fertilizadas. Cabe agregar, que existieron también problemas en la sincronización de las emergencias de las hembras y de los machos. En condiciones naturales, el porcentaje de hembras copuladas procedentes de los brotes de pino (37 %) y de ambas dietas (5 y 7 %), fue menor al 73 y 25% obtenidos en condiciones de laboratorio por Daterman (1970) y Chawla *et al.* (1970) respectivamente.

La fertilidad de las hembras obtenidas a partir de la cría de larvas en las dos dietas ensayadas no pudo ser suficientemente evaluada, ya que sólo dos hembras originadas de la dieta de Chawla y Hardwood y una de la dieta de Shorey y Hale modificada fueron copuladas. Por este motivo, se hace necesario contar con mayor número de datos para aumentar la confiabilidad de los resultados obtenidos en aquellas variables inherentes a la fertilidad de las hembras. A pesar de esto, se pudo observar que el período de oviposición luego de la cópula para el caso de las hembras de campo y la hembra n° 40 de la dieta de Shorey y Hale modificada, fue similar al obtenido por Chawla *et al.* (1970) (5 a 6 días) pero menor al registrado por Cisternas *et al.* (1988) (8 a 12 días); excepto para las hembras n° 52 y 80 de la dieta de Chawla y Hardwood cuyo lapso de ovipostura promedio fue de 8 días.

El número promedio de huevos puestos por hembras emergidas de las pupas extraídas de los brotes de pino fue de 77, siendo menor que la media de 106 huevos obtenida por Daterman (1970). Por otra parte, si bien sólo tres hembras de las dietas artificiales copularon, es de destacar, que el número de huevos puestos por la hembra n° 80 de la dieta de Chawla y Hardwood fue de 96 y por la n° 40 de la dieta de Shorey y Hale modificada fue de 148, éstos valores se asemejan al promedio de 128 huevos puestos por hembras de la dieta artificial mencionado por Daterman (1970) y al promedio de 63 huevos por hembra, dentro de un rango de 39 - 105 dado por Cisternas *et al.*(1988).

## 5.2 HUEVO

Los valores correspondientes al diámetro medio menor ( $0.795 \pm 0.017$  mm) y mayor ( $0.998 \pm 0.017$  mm) de los huevos de *R. buoliana* están comprendidos dentro del rango que obtuvo Gasow (citado por Robredo, 1978) de 0.65 a 0.85 y de 0.9 a 1.3 mm respectivamente. En general, también dichos valores concuerdan con las descripciones de varios autores en las que se menciona que los huevos alcanzan un tamaño de aproximadamente 1 mm (Pointing, 1963; Brewer *et al.*, 1968 y Robredo, 1978).

La duración media del período de incubación de los huevos puestos por hembras de campo y de las dietas artificiales (8 a 10 días) se encuentra dentro de los valores 10 días (a 25 °C) y 8 a 12 días (a 20 - 21°C) obtenidos por Chawla *et al.* (1970) y Cisternas *et al.* (1988) respectivamente.

El porcentaje de huevos eclosionados tanto de los obtenidos a partir de hembras de campo (60.5 %) como de las dietas artificiales (21.3 % y 84.5 %) resultó inferior al 99 % mencionado por Robredo (1978).

## 5.3 LARVA

En cuanto a la determinación del número de estadios larvales a través del ancho de las cápsulas cefálicas y largo de las larvas, se logró identificar con claridad los tres primeros estadios larvales al igual que Pointing (1963). En ambas dietas probadas, las larvas completaron su desarrollo en 4 y hasta 8 estadios, raramente lo hicieron en tres, no encontrándose un número de estadio más frecuente. Los resultados de Pointing (1963), basados en mediciones de cápsulas cefálicas de larvas de campo y de Huerta *et al.* (1997), a partir del largo de las larvas muertas muestran que "la polilla del brote de pino"

presenta 6 estadios larvales, sin discriminar por sexos. La ocurrencia de 7 estadios en los dos sexos y de 8 estadios para las hembras en ambas dietas artificiales, quizás pueda deberse al tipo de alimento y a la cría individual de las larvas, pues según Parra *et al.* (1989) estos factores entre otros, afectan el número normal de estadios larvales desarrollados por un insecto.

Cabe destacar, que las cápsulas cefálicas no aumentaron de acuerdo a la constante de Dyar (1890) correspondiente a 1.4, lo que también se puede deducir a partir de los resultados obtenidos por Pointing (1963) y Huerta *et al.* (1997). Por otra parte, Schmidt *et al.* (1977, citado por Parra *et al.*, 1989) consideran que esta regla no se aplicaría a lepidópteros que presentan un desarrollo polimórfico, ya que la compleja distribución de frecuencias de los estadios dificulta la visualización de cada uno de ellos.

La duración media de la etapa larvaria en la dieta de Chawla y Hardwood fue para las hembras de  $77 \pm 15$  días y de  $66 \pm 15$  días para los machos, mientras que, en la dieta de Shorey y Hale modificada fue de  $81 \pm 8$  días y de  $74 \pm 7$  días para las hembras y los machos respectivamente. Estos resultados fueron superiores al valor medio mínimo mencionado por Chawla *et al.* (1968) de 56 días. Sin embargo, en las dietas ensayadas por dicho autor, el período larval abarcó entre 50 y 100 días a una temperatura de 25 °C y entre 92 y 100 días a 23 °C.

Al inicio de la cría se perdió un número importante de larvas, ya que muchas murieron ahogadas debido a que el contenido de agua de la dieta era excesivo. Una vez ajustado el contenido de humedad de las dietas, las larvas neonatas que no se adaptaron a las mismas, deambulaban sobre la dieta y morían en pocos días quedando arrolladas y de color negro. La mayor mortalidad ocurrió en el primer estadio larval debido a problemas en la adaptación de las larvas a las dietas (25 a 34 %), tal como fue observado por Ross *et al.* (1971).

Por otra parte, durante el transcurso de la cría no se presentaron problemas importantes respecto a la contaminación por hongos o bacterias y no se registró la presencia de ácaros en las dietas, posiblemente debido a que el presente trabajo consistió en una cría en laboratorio y no una cría masiva en la que se mantiene un gran número de insectos, generando en este caso condiciones más propicias para el desarrollo de agentes contaminantes.

#### 5.4 PUPA

El peso promedio de las pupas provenientes de la dieta de Chawla y Hardwood fue para el caso de las hembras (30.4 mg) menor al obtenido por Chawla *et al.* (1968), en cambio, para los machos (22 mg) fue similar. Sin embargo, en la dieta de Shorey y Hale modificada los pesos de las pupas hembras y machos (27.1 y 17.3 mg respectivamente) resultaron menores que los hallados por Chawla *et al.* (1968).

La duración promedio del período de crisalidación fue de 23 días para las hembras mientras que para los machos fue de 22 días en la dieta de Chawla y Hardwood, en la dieta de Shorey y Hale modificada fue de 23 días tanto para machos como hembras. Este período al igual que el larval fue extenso en ambas dietas, asemejándose al desarrollado por los insectos en condiciones naturales de 17 a 24 días según lo registrado por Pointing (1963), Brewer *et al.* (1968) y Robredo, (1978). En el caso particular de las pupas obtenidas de las larvas de brotes de pino colectados en el campo, la duración media del período de pupación en condiciones de laboratorio fue de  $18 \pm 4$  y de  $19 \pm 5$  días para machos y hembras respectivamente, estos rangos de valores son similares a los obtenidos por Robredo (1978).

La viabilidad de las pupas alcanzada a partir de larvas de primer estadio adaptadas a las dietas fue de 68 % para la dieta de Chawla y Hardwood y de 64 % para la de Shorey y Hale modificada, valores superiores al 20 % obtenido por Chawla *et al.* (1968) en las mismas condiciones, pero similares al porcentaje de viabilidad (70 %) obtenido para pupas provenientes de larvas de campo de segundo y tercer estadio que fueron posteriormente criadas en las dietas artificiales. La mortalidad de pupas registrada en todos los casos, pudo deberse a causas naturales que se desconocen (Ross *et al.*, 1971) y/o a otras que pueden ser atribuibles a la manipulación de las mismas.

#### 5.5 CICLO DE VIDA

La duración del ciclo de vida (huevo - adulto) de *R. buoliana* en condiciones de laboratorio fue de 123 días para las hembras y de 105 días para los machos en la dieta de Chawla y Hardwood y de 122 y 111 días para las hembras y los machos respectivamente en la dieta de Shorey y Hale modificada. Dicha duración fue prolongada si se compara con la de otros tortricidos criados en dietas artificiales como por ejemplo, *Choristoneura occidentalis* (Freeman) lepidóptero defoliador de coníferas cuyo ciclo abarcó 39 días para las hembras y 38 días para los machos (Singh, 1985); así como también de otros

tortrícidos plaga de árboles frutales tales como *Argyrotaenia spheropa* Meyrick el cual requirió de un tiempo medio de 38 días para completar una generación (Bentancourt *et al.*, 1986), *Argyrotaenia velutinana* (Wlkr.), *Ephiphyas postvittana* (Walker) de 47 y de 41 días respectivamente (Singh, 1985) y *Phtheochroa cranaodes* Meyrick de 49 días (Parra *et al.*, 1995). Este factor unido a las ya mencionadas dificultades en el apareamiento y sincronización de emergencias de ambos sexos, obstaculizaron la cría de este insecto y el estudio de las características inherentes a la fertilidad de las hembras provenientes de las dietas.

## 6. CONCLUSIONES

1. La mayor dificultad que presentó la cría de *Rhyacionia buoliana* fue lograr el apareamiento en cautiverio de individuos tanto provenientes del campo como de las dietas artificiales. Este factor sumado a los problemas en la sincronización de las emergencias de los adultos y a lo prolongado del ciclo de vida de este lepidóptero en condiciones de laboratorio, obstaculizó la cría y el estudio de la fertilidad de las hembras.
2. Ambas dietas ensayadas podrían ser indistintamente utilizadas en una cría artificial de *R. buoliana*.
3. El período larval de los machos y hembras de *R. buoliana* obtenidos de la dieta de Chawla y Hardwood (1968) y la de Shorey y Hale (1965) modificada no se completó en un único número de estadios debido a que la etapa larvaria de la mayoría de los individuos, en ambos sexos y en cada dieta, se desarrolló tanto en 4 como en hasta 7 estadios. Las cápsulas cefálicas y el largo de las larvas permitieron definir con claridad los tres primeros estadios.
4. La duración promedio del ciclo de vida del insecto (huevo - adulto), desarrollado en el laboratorio, mediante la cría de larvas sobre dietas artificiales fue extenso y duró aproximadamente 122 y 108 días para hembras y machos respectivamente a una temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , a aproximadamente 70 % H. R. y un fotoperíodo de 16 hs.

## 7. RESUMEN

El presente trabajo consistió en la cría en laboratorio a partir de larvas de primer estadio de *Rhyacionia buoliana* (Lepidoptera: Tortricidae) Denis et Schiffermüller (1776) a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C, aproximadamente 70 % de humedad relativa y 16 hs. de luz, sobre dos dietas artificiales, una de ellas basada en germen de trigo ensayada por Chawla y Hardwood (1968) y otra en legumbres ensayada por Shorey y Hale (1965) la cual fue modificada.

La mayor dificultad que presentó la cría fue el apareamiento en cautiverio tanto de individuos provenientes del campo (37 %) como de las dietas artificiales (5 y 7 % respectivamente).

El número de huevos puestos por hembras provenientes del campo fue de 77 (n=17), de la dieta de Chawla y Hardwood 65 (n=2) y de la dieta de Shorey y Hale modificada fue de 148 (n=1), los porcentajes de eclosión fueron 60.5, 21.3 y 84.5 % respectivamente. Para cada dieta, se determinó el número de estadios larvales sobre la base del ancho de las cápsulas cefálicas y largo de larvas, identificándose con claridad los tres primeros estadios. En ambas dietas probadas las larvas completaron su desarrollo en 4 y hasta 8 estadios, no encontrándose un estadio más frecuente. Los pesos promedio de las pupas originadas de los brotes de pino, de las dietas de Chawla y Hardwood y de Shorey y Hale modificada fueron para las hembras de 36.7, 30.4 y 27.1 mg respectivamente y en el caso de los machos correspondieron a 21.3, 22 y 17.3 mg respectivamente. La viabilidad de las pupas de brotes de pino, de la dieta de Chawla y Hardwood y de la de Shorey y Hale modificada fue de 80, 68 y 64 % respectivamente.

En la dieta de Chawla y Hardwood la duración media del ciclo biológico fue de 123 y 105 días para hembras y machos respectivamente. El período de incubación de los huevos fue de  $10 \pm 1$  días. En las hembras, el período larval duró  $77 \pm 15$  días y el de pupación  $23 \pm 3$  días, en el caso de los machos dichos períodos correspondieron a  $66 \pm 15$  y  $22 \pm 3$  días respectivamente. La longevidad media de los adultos hembras fue de  $11 \pm 6$  días y la de los machos  $5 \pm 4$  días. En la dieta de Shorey y Hale modificada la duración media del ciclo de vida de las hembras fue de 122 días y la de los machos 111. El período de incubación de los huevos fue de  $8 \pm 2$  días. La etapa larval abarcó  $81 \pm 8$  y  $74 \pm 7$  días para hembras y machos respectivamente. El período de pupación correspondió a  $23 \pm 3$  días tanto para hembras como para machos. La longevidad de los adultos fue de  $10 \pm 4$  y de  $6 \pm 3$  días para hembras y machos respectivamente.

## 8. SUMMARY

*Rhyacionia buoliana* Denis et Schiffermüller (1776) (Lepidoptera: Tortricidae) was reared from first instar larvae under laboratory conditions on two artificial diets, Chawla and Hardwood's (1968) wheat-germ based diet and modified Shorey and Hale's (1965) bean-based diet. Temperature was held at  $25 \pm 2$  °C, relative humidity at approximately 70 % and the photoperiod at 16 hs. throughout the entire experiment.

Main difficulty found for rearing was caged mating both in adults emerging from field-collected pupae (37 %) and individuals reared on artificial diets (5 and 7 % respectively).

Females emerged from field-collected pupae, those from Chawla and Hardwood's diet and from Shorey and Hale's laid average values of 77 (n=17), 65 (n=2) and 148 (n=1) eggs, with hatching percentages of 60.5, 21.3 and 84.5 % respectively. Number of larval instars was determined for each diet through measurements of head capsule width and larvae length. Discrimination was clear only up to the third instar. Larval development was complete in 4 and even in 8 instars for both diets. Mean female pupal weight for those removed from pine shoots, Chawla and Hardwood's diet and the modified Shorey and Hale's diet was 36.7, 30.4 and 27.1 mg whereas mean pupal weight was 21.3, 22 and 17.3 mg respectively. Corresponding values for pupal viability were 80, 68 and 64 %.

Average life cycle duration of females and males from Chawla and Hardwood's diet was 123 and 105 days. Mean egg-incubation period was  $10 \pm 1$  days, females larval period took  $77 \pm 15$  days, pupal stage took  $23 \pm 3$  days; corresponding periods in males were  $66 \pm 15$  and  $22 \pm 3$  days. Females and males modified Shorey and Hale's diet completed their life cycle in 122 and 111 days respectively. Embryogenesis period was  $8 \pm 2$  days. Female larval stage lasted  $81 \pm 8$  days, whereas male larval stage was  $74 \pm 7$  days. Females and males mean pupal periods both lasted  $23 \pm 3$  days. Average female and male adult lifespan was  $10 \pm 4$  and  $6 \pm 3$  days respectively.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. AJENJO, R. 1961. Datos sobre dispersión, bionomía y morfología de *Rhyacionia buoliana* (Schiff., 1776 ) en España (Lep. Tortricidae). Boletín del Servicio de Plagas. 4 (8): 21-31.
2. BALDINI, U.A. 1993. Polilla del brote, un desafío para las ciencias forestales. CONAF Chile Forestal 202: 16-17.
3. BASCIALLI, M.E.; LAUDI, S. C. 1978. Control químico de *Evetria buoliana* en *Pinus radiata*. In Tercer Congreso Forestal Argentino, (30<sup>a</sup>, 1978, Provincia de Buenos Aires). Buenos Aires pp 1-4.
4. BENTANCOURT C. M.; SCATONI, I. B. 1986. Biología de *Argyrotaenia sphaleropa* Meyrick (1909) (Lep., Tortricidae) en condiciones de laboratorio. Revista Brasileira de Biología 46 (1): 209-216.
5. BREWER, M.; NAUMANN, K. 1968. *Rhyacionia buoliana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera, Tortricidae) en Córdoba. Revista de la Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales 61: 47-69.
6. \_\_\_\_\_; FERCHMIN, B.; MONTENEGRO, R.A.; NAUMAN, K, 1969. Datos y conclusiones preliminares sobre la mariposita del ápice de los pinos *Rhyacionia buoliana*(Denis & Schiff. ) (Lepidoptera, Tortricidae) en el Valle de Calamuchita, Córdoba, Edición del autor. 39 p.
7. \_\_\_\_\_; M.; NAUMANN, K. 1970. Aspectos ecológicos en pinares artificiales de Calamuchita (Córdoba) Nota III. Acta Zoológica Lilloana 26 (9): 129 - 144.
8. \_\_\_\_\_; VARAS, D. 1971. Cría masiva de *Parasierola nigrifemur* (Ash.) Hym., Bethyridae): Primeras liberaciones en Calamuchita, Córdoba, Argentina. Revista Periódica entomológica 14 (2): 352-361.
9. CAROLIN, V. M.; COULTER, W.K. 1963. Eradicating European shoot moth in commercial nurseries with methylbromide. U.S Forest Service Research Paper PNW-1. U.S.A. pp 1-1.

10. CHAWLA, S. S.; HOWELL, J. F., HARDWOOD, R. F. 1967. Surface treatment to control fungi on wheat germ diets. *Journal of Economic Entomology* 64 (6): 307-308.
11. \_\_\_\_\_; HARDWOOD, R. F. 1968. Artificial diets for the European shoot moth *Rhyacionia buoliana* (Schiffermüller) (Lepidoptera: Oleuthreutidae). Washington Agricultural Experimental Station. Technical Bulletin n° 59. 13 p.
12. \_\_\_\_\_; TAYLOR, K.B.; BERRYMAN, A. A. 1970. Studies on the sterile male technique for control of the European shoot moth *Rhyacionia buoliana* (Lepidoptera: Oleuthreutidae). Washington Agricultural Experimental Station. Technical Bulletin n° 64 6 p.
13. CISTERNAS, E. A.; ZUÑIGA, S. A. 1988. Crianza artificial de la polilla europea del brote del pino *Rhyacionia buoliana* Den. et. Schiff. (Lep., Tortricidae). *Agricultura técnica (Chile)* 48 (1):48-50.
14. COULSON, R.; WITTER. 1989. *Entomología Forestal*. México, Editorial Limusa. 751 pp.
15. DATERMAN, G. E. 1968. Laboratory mating of the European shoot moth, *Rhyacionia buoliana* in the laboratory. *Annals of the Entomological Society of America* 61 (4): 920-923.
16. \_\_\_\_\_. 1969. Reproductive biology of the European pine shoot moth *Rhyacionia buoliana* (Schiff) (Lepidoptera: Oleuthreutidae) with special reference to mating behavior, sex attraction, and fecundity . *Dissertation Abstracts International* 30: 2237.
17. \_\_\_\_\_. 1970. An improved technique for mating European shoot moth, *Rhyacionia buoliana* (Lepidoptera: Oleuthreutidae) in the laboratory. *Canadian Entomologist* 102 (5): 541-545.
18. \_\_\_\_\_; Mc. COMB, D. 1970. Female sex attractant for survey trapping European shoot moth. *Journal of Economic Entomology* 63: 1406 - 1409.
19. \_\_\_\_\_. 1972. Effects of high temperature and vapor pressure deficit on European shoot moth, *Rhyacionia buoliana* (Lepidoptera: Oleuthreutidae), egg production and survival. *Canadian Entomologist* 104: 1387-1396.
20. \_\_\_\_\_; DAVES, G. D., Jr.; JACOBSON, M. 1972. Inhibition of pheromone perception in European shoot moth by synthetic acetates. *Environmental Entomology* 1: 382-383.

21. \_\_\_\_\_; CAROLIN, V. M. Jr. 1973. Survival of European shoot moth, *Rhyacionia buoliana* (Lepidoptera: Olethreutidae), under caged conditions in a ponderosa pine forest. *Canadian Entomologist* 105 (7): 929-940.
22. ESBJERG, P. 1970. Mortality of first instar larvae of the European shoot moth (*Rhyacionia buoliana* Schiff.) on waterlacking needles of lodgepole Pine (*Pinus contorta* Loud.). *Ent. Scand.* 1 (3): 215-218.
23. ESPINOSA, H. R. 1986. Detección y control de la polilla del brote del pino *Rhyacionia buoliana* Den. et Schiff. ) en Chile 1985-1986. Santiago de Chile Ministerio de Agricultura 43 p.
24. \_\_\_\_\_.1987. Detección y control de la polilla del brote del pino (*Rhyacionia buoliana* Den. et Schiff. ) en Chile 1986-1987. Santiago de Chile. Ministerio de Agricultura 50 p.
25. GRAY, T.G; SLESSOR, K. N.; SHEPHERD, R.F; GRANT, G.G; MANVILLE, J. F. 1984. European pine shoot moth, *Rhyacionia buoliana* (Lepidoptera: Tortricidae): identification of additional pheromone components resulting in an improved lure. *Canadian Entomologist* 116: 1525-1532.
26. GÓMEZ de AIZPURÚA, C. 1991. Algunos lepidópteros huéspedes del pino silvestre *Pinus sylvestris* Linne. *Boletín del Servicio de Sanidad Vegetal y Plagas* 17 (2): 229.
27. HARRIS, P. 1960. Natural mortality of the pine shoot moth, *Rhyacionia buoliana* (Schiff.) (Lepidoptera: Olethreutidae), in England. *Canadian Journal of Zoology* 38: 755- 768.
28. HAYNES, D. L.; BUTCHER, J.W. 1962. Studies on the ecology of the european pine shoot moth larvae in Michigan. *Ecology* 43: 96-107.
29. HUBER, J.; DICKLER, E. 1977. Codling Moth Granulosis Virus: its efficiency in the field in comparison with Organophosphorus insecticides. *Journal of Economic Entomology* 70 (5): 557-561.
30. HUERTA, A.; PÉREZ, C. 1997. Ciclo de la polilla del brote del pino (European shoot moth *Rhyacionia buoliana* Den et Schiff.) en la VII Región de Chile. *Boletín del Servicio de Sanidad Vegetal y Plagas* 23 (3): 385-391.

31. LANFRANCO, D. M.; AGUILAR, A. M.; HORCOS, R.; BÜCHNER, J. F. 1994. Parasitoides nativos en el control de la polilla del brote del pino (*Rhyacionia buoliana*): ¿Un complejo funcional?. Bosque 15 (1): 15- 26.
32. MILLER, W. E. 1960. Discovery in Michigan of *Orgilus obscurator* (Nees) a foreign parasite of the European pine shoot moth *Rhyacionia buoliana* Den et Schiff. Journal of Economic Entomology 53 (2): 318.
33. PARRA, J. R. P 1979. Biología dos insetos. Piracicaba- SP. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" 383 p.
34. \_\_\_\_\_, HADDAD, M L. 1989. Determinação do número de instares de insetos. Piracicaba- SP. Fundação de Estudios Agrários "Luiz de Queiroz" 49 p.
35. \_\_\_\_\_, EIRAS A. E.; HADDAD, M L; FERREIRA V. E; KOVALESKI A. 1994. Técnica de criação de *Phtheochroa cranaodes* Meyrick (Lepidoptera: Tortricidae) em dieta artificial. Revista Brasileira de Biologia 55 (4): 537-543.
36. PASTRANA, J.A. 1961. Contribución al conocimiento de la ecología de *Evetria buoliana* Schiff. In Reunión Regional de Coníferas (1ª. , 1961, Buenos Aires) Asociación Forestal Argentina, pp. 1-5.
37. POINTING, P.J, 1961. The biology and behavior of the european pine shoot moth, *Rhyacionia buoliana* (Schiff.) in Southern Ontario. I. Adult. Canadian Entomologist 93: 1098-1112.
38. POINTING, P.J. 1961. The biology and behavior of the european pine shoot moth, *Rhyacionia buoliana* (Schiff.) in Southern Ontario. II. Egg, larvae and pupae. Canadian Entomologist 95: 844-863.
39. POBLETE, R.M.; RÁMIREZ, G. O.; DE FERARI, F.L.; HERRERA, T. G.; JAIME, F.C.; RAMIREZ, A. N. C.; VALDIVIAC. R. 1996. Estrategia de Manejo integrado de la Polilla del brote del pino. Temporada 1996 - 1997. Controladora de Plagas Forestales S.A. 13 p.
40. POWELL, J.A.; MILLER, W.E. 1978. Nearctic pine tip moths of the Genus *Rhyacionia*: Biosystematic review. (Lepidoptera: Tortricidae, Olethreutidae) US. Department of Agriculture. Agriculture Handbook n° 514. 51p.
41. QUINTANA, F. J. 1961. Observaciones biológicas y ensayos para el control químico de la "mariposita europea de los brotes del pino" (*Evetria buoliana*) en Balcarce. IDIA 160: 1-10

42. ROBREDO, F. 1970a. Contribución al conocimiento de la bioecología de *Rhyacionia buoliana* Schiff. y sus daños. Boletín del Servicio de Plagas Forestales 13 (26): 181-185.
43. \_\_\_\_\_. 1970b. Desarrollos recientes en la lucha contra *Rhyacionia buoliana* Schiff., en España. Boletín del Servicio de Plagas Forestales 13 (26): 197 - 202.
44. \_\_\_\_\_. 1972. Control integrado de *Rhyacionia buoliana* (Den et Schiff.) en repoblaciones de *Pinus sylvestris* L.: Estudio preliminar sobre niveles de daños y crecimiento del arbolado. Boletín de la Estación Central de Ecología 1 (1): 31-39.
45. \_\_\_\_\_. 1975a. Contribución al conocimiento de la bioecología de *Rhyacionia buoliana* Den et Schiff., 1776 (Lep.: Tortricidae). I.- Estudio del adulto. Boletín del Servicio de Plagas 1 (1): 69-81.
46. \_\_\_\_\_. 1975b. Contribución al conocimiento de la bioecología de *Rhyacionia buoliana* Den et Schiff., 1776 (Lep.: Tortricidae). II.- Estudio de los estados inmaturos, puesta, oruga y crisálida. Boletín del Servicio de Plagas 4 (1): 69-88.
47. ROQUES, A. 1977. Étude du complexe entomologique lié aux cônes de pin sylvestre en forêt de Fontainebleau. Ardon, France. Bulletin Ecologique 8 (4): 415 - 434.
48. ROSS, R.H. Jr.; MONROE, R.E.; BUTCHER, J.W. 1971. Studies on techniques for the xenic and aseptic rearing of the European shoot moth, *Rhyacionia buoliana* (Lepidoptera: Olethreutidae). Canadian Entomologist 103:1449-1454.
49. RUFFINELLI, A. 1956. Una plaga nueva afecta los brotes terminales de los pinos. Boletín Informativo del MGAP (Uruguay). 12 (614): 6-7.
50. SHEN, S. K.; BERRYMAN, A. A. 1967. The male reproductive system and spermatogenesis of the the European pine shoot moth (Lepidoptera: Olethreutidae), with observations on the effects of gamma Irradiation. Annals of the Entomological Society of America 60 (4): 767-774.
51. SHOREY, H.H. y HALE, R.L. 1965. Mass rearing of the larvae of nine Noctuid species on a simple artificial medium. Journal of Economic Entomology 58 (3): 522-523.

52. SINGH, P. 1982. Artificial diets for insects, mites and spiders. New York I.F.I./Plenum Company. 594 p.
53. \_\_\_\_\_, MOORE R. F. 1985. Handbook of insect Rearing. Amsterdam, ELSEVIER. 2 v.
54. SMITH, R. G.; DATERMAN, G. E.; DAVES, G. D., Jr.; McMURTREY, K. D.; ROEOLFS, W. L. 1974. Sex pheromone of the European shoot moth: chemical identification and field tests. Journal of insect physiology 20: 661 - 668.
55. SMITH, J.L. 1994. Una dieta artificial exitosa. Chile Forestal 217. 8 p.
56. SYME, P.D.; GREEN, G.W. 1972. The effect of *Orgilus obscurator* (Hymenoptera: Braconidae) on the development of the european pine shoot moth (Lepidoptera: Olethreutidae). Canadian Entomologist 104: 523-530.
57. TIBERI, R.; COVASSI, M.; ROVERSI, P. F. 1988. La tecnica della confusione contro *Rhyacionia buoliana* Den et Schiff. in gionani pinete dell'Italia Centrale (Lepidoptera: Tortricidae). REDIA 71(2): 355 - 368.
58. URUGUAY. MINISTERIO DE GANADERÍA AGRICULTURA Y PESCA, DIRECCION FORESTAL, 1990. Ley Forestal N° 15.939. Montevideo.
59. VANDERZANT, E. S. 1974. Development, significance, and application of artificial diets for insects. Annual Review of Entomology 19: 138-159.
60. YATES, H.O. 1970. Control of pine tip moth, *Rhyacionia* spp. (Lepidoptera: Oleuthreutidae), in seed orchards with phorate. Journal of Georgia Entomology Society 5 (2): 100-105.

## 10. ANEXOS

## Anexo 1

**Cuadro 1. Fragmento de planilla de registro de datos del material extraído de los brotes de pino atacados por *Rhyacionia buoliana*.**

Brote	Fecha estado de larva	Fecha estado de pupa	Sexo	Peso de pupas (gr)	Fecha de emergencia del adulto	Fecha de muerte	Observaciones
1		2/08/96	m	0.0214	14/08/96	18/08/96	
2		2/08/96	m	0.0204			murió como pupa
3		2/08/96	m	0.0179	14/08/96	16/08/96	
4		2/08/96	m	0.0135	16/08/96	17/08/96	con alas deformes
5		2/08/96	m	0.0177	16/08/96	17/08/96	
6		2/08/96	h	0.0452	17/08/96	20/08/96	
7		2/08/96	m	0.0229			murió como pupa
8	2/08/96	20/08/96	m	0.0147	3/09/96	7/09/96	
8	2/08/96	22/08/96	m	0.0189	6/09/96	7/09/96	con alas deformes
9	2/08/96	23/08/96	m	0.0147			murió como pupa
10	2/08/96	30/08/96	m	0.0168	9/09/96	13/09/96	no termino de emerger
11	2/08/96	30/08/96	h	0.0229			murió como pupa
12	2/08/96						murió como larva
13	2/08/96	30/08/96	m	0.0165	14/09/96	21/09/96	
14	2/08/96	1/09/96	m	0.0169	17/09/96	17/09/96	no termino de emerger
15	2/08/96	1/09/96	m	0.0168	18/09/96	20/09/96	
16	2/08/96	1/09/96	m	0.03			murió como pupa
17	2/08/96						murió como larva
18	2/08/96						murió como larva
19	2/08/96	6/09/96	h	0.0412	20/09/96	25/09/96	

**Cuadro 2. Fragmento de planilla de registro de datos de las hembras de *Rhyacionia buoliana* copuladas procedentes de brotes.**

Hembra	Fecha emergencia	Fecha puesta a copular	Fecha de cópula	Fecha postura	N° de huevos	Fecha de eclosión	N° de larvas emergidas	Fecha de muerte			
A	15/01/97	16/01/97	17/01/97	18/01/97	10	25/01/97	5	30/01/97			
						26/01/97	3				
						19/01/97	13	26/01/97	10		
								27/01/97	1		
							20/01/97	17	28/01/97	12	
							21/01/97	0			
B	20/01/97	21/01/97	23/01/97	25/01/97	3	30/01/97	1	28/01/97			
						26/01/97	20	31/01/97	2		
								2/02/97	18		
							27/01/97	0			
C	23/01/97	23/01/97	25/01/97	27/01/97	18	2/02/97	10	7/02/97			
							3/02/97	6			
						28/01/97	30	3/02/97	15		
								5/02/97	10		
							30/01/97	12	4/02/97	4	
									5/02/97	5	
D	24/01/97	26/01/97	27/01/97	28/01/97	5	3/02/97	4	9/02/97			
						29/01/97	50	4/02/97	29		
						31/01/97	23	6/02/97	20		
							1/02/97	0			
E	3/02/97	4/02/97	6/02/97	8/02/97	12	16/02/97	6	10/02/97			
						9/02/97	18	20/02/97	16		
						10/02/97	0				
F	22/03/97	22/03/97	24/03/97	26/03/97	10	1/04/97	5	6/04/97			
							3/04/97	4			
						27/03/97	11	3/04/97	10		

**Cuadro 3. Fragmento de planilla de registro de tamaño de huevos de *Rhyacionia buoliana*.**

<b>Diámetro mayor (mm)</b>	<b>Diámetro menor (mm)</b>
1.0128	0.81024
1.06344	0.86088
1.03812	0.8862
0.98748	0.7596
1.06344	0.86088
1.0128	0.7596
1.0128	0.7596
0.93684	0.7596
0.91152	0.7596
1.0128	0.78492
0.93684	0.73428
0.96216	0.7596
1.0128	0.7596
1.0128	0.7596
1.03812	0.78492
1.0128	0.83556
1.05078	0.83556
1.06344	0.83556
1.05078	0.81024
0.98748	0.81024
1.0128	0.81024
1.0128	0.7596
1.00014	0.81024
1.0128	0.78492
1.0128	0.81024
1.02546	0.7596
0.98748	0.8229
0.98748	0.7596
1.0128	0.7596
1.00014	0.7596

## ANEXO 2

Composición de las dietas artificiales utilizadas en la cría de *Rhyacionia buoliana*.

Cuadro 1. Dieta de Chawla, S.S. y Hardwood, R.F. (1968).

<b>Ingredientes secos</b>	<b>Peso (gr)</b>
Brotos de pino	35,00
Agar papa-dextrosa	16,00
Germen de trigo	30,00
Sacarosa	25,00
Proteína de soja	07,00
Alphacel	07,00
Sales de Wesson	02,50
Mezcla vitamínica de Vanderzant	11,00
Cloruro de colina	00,60
Acido ascórbico	02,30
Acido sórbico	00,60
Colesterol	00,50
Beta-sitosterol	00,50
Amoxicilina*	00,40
Caseína libre de vitaminas	25,00

<b>Ingredientes líquidos</b>	<b>Vol. (ml)</b>
Agua destilada	640,00
Formaldehído	000,80
Nipagin disuelto en etanol	010,00
KOH (4 M) (hidróxido de potasio)	006,00
Aceite de maíz	002,00
Aceite de germen de trigo	003,00

\* Se sustituyó el antibiótico aureomicina de la dieta original por amoxicilina debido a que no pudo encontrarse en plaza.

**Cuadro 2. Dieta modificada de Shorey, H.H. y Hale, R.L (1965).**

<b>Ingredientes secos</b>	<b>Peso (mg)</b>
Porotos blancos	54,00
Levadura de cerveza	08,00
Brotes de pino *	09,00
Acido ascórbico	00,80
Acido sórbico	00.30
Alphacel	01.50
Nipagin	00.50
Agar papa-dextrosa	03.20

<b>Ingredientes líquidos</b>	<b>Vol. (ml)</b>
Agua destilada	160.00
Formaldehído	000.50
Alcohol absoluto	006.00

\* La dieta original fue modificada mediante la adición de tejido de pino.

ANEXO 3

Cuadro 1. Fragmento de la planilla de registro de fechas de los diferentes estadios de desarrollo de *Rhyacionia buoliana* en la cría sobre dieta artificial.

Dieta: Chawla y Hardwood (1968).

Larva Nº	Inoculada en dieta	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º	Murio como larva	Pupa	Murio como pupa	Adulto		Observaciones
		estadio	estadio	estadio	estadio	estadio	estadio	estadio	estadio				Emergió	Murio	
1	11/04/97	19/04/97	28/04/97	8/05/97	24/05/97	14/06/97	9/07/97	-	-	-	30/07/97	-	21/08/97	26/08/97	-
2	11/04/97	19/04/97	28/04/97	8/05/97	5/06/97	30/06/97	-	-	-	-	26/07/97	-	14/08/97	16/08/97	-
3	11/04/97	19/04/97	25/04/97	8/05/97	23/05/97	24/06/97	5/07/97	-	-	-	21/07/97	-	12/08/97	16/08/97	No copuló con machos 22 y 9 habia 95 huevos al disectarla.
4	11/04/97	25/04/97	28/04/97	8/05/97	3/06/97	26/06/97	7/07/97	-	-	-	23/07/97	13/08/97	-	-	-
5	11/04/97	21/04/97	28/04/97	24/05/97	5/06/97	17/06/97	28/06/97	-	26/08/97	3/09/97	-	-	-	-	Cápsula cefálica deforme.
6	11/04/97	21/04/97	28/04/97	8/05/97	24/06/97	5/07/97	2/08/97	-	-	-	4/08/97	30/08/97	-	-	-
7	11/04/97	-	-	-	-	-	-	-	-	28/04/97	-	-	-	-	-

**Cuadro 2. Fragmento de la planilla de registro de datos de las larvas y pupas de *Rhyacionia buoliana* correspondientes a la cría sobre dieta artificial.**

Larva	1°		2°		3°		4°		5°		6°		7°		8°		Pupa		
	a.c.c (mm)	l.la (mm)	Peso (mg)	Largo (mm)	Sexo														
1	0.28	4.5	0.38	4.5	0.56	8.0	0.71	7.81	0.78	7.81	0.89	9.38	1.13	14.1	-	-	0.03	9.38	h
2	0.28	3.7	0.41	4.0	0.48	6.5	0.76	7.5	0.86	7.81	1.16	7.81	-	-	-	-	0.02	8.59	m
3	0.25	4.6	0.38	5.0	0.51	7.3	0.68	8.59	0.76	7.5	0.99	12.5	1.22	13	-	-	0.05	10.8	h
4	0.25	4.5	0.35	4.5	0.56	8.2	0.85	8.0	0.94	9.0	1.16	8.1	1.16	10.9	-	-	0.04	10.2	h
5	0.25	4.2	0.35	5	0.63	7.2	0.76	8.3	0.86	8.5	0.91	7.81	0.94	8.59	1.16	9.38	-	-	-
6	0.24	4.2	0.33	5.0	0.51	8.0	0.78	7.81	0.81	8.1	-	-	-	-	-	-	0.02	7.97	m
7	0.28	4.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	0.28	4.5	0.4	5.0	0.56	8.0	0.84	13.3	1.16	12.3	-	-	-	-	-	-	0.04	10.3	h
9	0.28	3.7	0.33	4.5	0.53	8.2	0.78	9.16	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	8.3	m
10	0.25	4.0	0.35	6.0	0.48	7.1	0.73	8.3	0.86	11.3	1.11	8.5	-	-	-	-	0.03	9.4	h
11	0.28	4.5	0.35	5.0	0.52	8.0	0.68	9.0	0.76	9.0	0.89	10.9	-	-	-	-	0.03	9.84	h
12	0.25	4.0	0.35	4.5	0.49	8.5	0.68	9.26	0.96	10.9	-	-	-	-	-	-	0.03	10.0	h
13	0.27	4.5	0.38	6.0	0.58	7.0	0.68	7.8	0.81	7.8	0.91	8.13	0.96	10.2	-	-	0.03	9.53	m
14	0.27	3.5	0.35	5.0	0.48	5.5	0.63	7.0	0.68	7.0	0.76	6.5	0.91	14.1	1.22	-	0.04	10.5	h
15	0.28	3.64	0.39	4.3	0.51	7.0	0.71	8.1	1.01	10.3	-	-	-	-	-	-	0.02	8.44	m

Dieta: Chawla y Hardwood (1968)

a. c. c = ancho de cápsula cefálica de la larva  
l.la = largo de larva

#### Anexo 4

**Análisis estadístico de las variables inherentes a las larvas y pupas de *Rhyacionia buoliana*.**

**Cuadro 1. Comparación de la duración media del período larval (días) de *Rhyacionia buoliana* entre las dietas artificiales.**

Clase	Niveles	Valores		
Sexo	2	hembra, macho		
Dieta	2	Dieta de Chawla y Hardwood Dieta de Shorey y Hale		
Variable dependiente: <b>Período larval (días)</b>				
F.V	G.L	C.M	F	Pr>F
Sexo	1	3011.101	15.09	0.0002
Dieta	1	1119.856	5.61	0.0192
Sexo*Dieta	1	154.022	0.77	0.3811
Error	140	199.477		
C.V	19.115			
Media	74			
Sexo	Media (días)			
Hembra	79			
Macho	70			
Dieta	Media (días)			
Chawla y Hardwood	72			
Shorey y Hale modificada	77			
Sexo	Dieta	Media (días)		
Hembra	Chawla y Hardwood	77		
Hembra	Shorey y Hale modificada	81		
Macho	Chawla y Hardwood	66		
Macho	Shorey y Hale modificada	74		

**Cuadro 2. Comparación de la viabilidad de larvas de *Rhyacionia buoliana* entre las dietas artificiales.**

Dieta	No mueren		Mueren		Total
	%	n°	%	n°	
<b>Chawla y Hardwood</b>	74.31	81	25.69	28	109
<b>Shorey y Hale modificada</b>	66.33	65	33.67	33	98
<b>Total</b>		<b>146</b>		<b>61</b>	<b>207</b>
Test exacto de Fisher (2 colas)					
Tamaño efectivo de muestra = 207					
Frecuencia perdida = 86					
<b>Probabilidad = 0.225</b>					

**Cuadro 3. Comparación del largo promedio de pupas de *Rhyacionia buoliana* entre las dietas artificiales.**

Variable dependiente: <b>Largo de pupas (mm)</b>				
<b>F. V</b>	<b>G.L</b>	<b>C.M</b>	<b>F</b>	<b>Prob &gt; F</b>
<b>Sexo</b>	1	43.1263	77.29	0.0001
<b>Dieta</b>	1	3.5185	6.31	0.0132
<b>Sexo* Dieta</b>	1	4.2618	7.64	0.0065
<b>Error</b>	142	0.55799		
<b>C.V</b>	8.4984			
<b>Media</b>	8.7897			
<b>Sexo</b>			<b>Media (mm)</b>	
Hembra			9.3531	
Macho			8.2559	
<b>Dieta</b>			<b>Media (mm)</b>	
Chawla y Hardwood			8.9612	
Shorey y Hale modificada			8.6478	
<b>Sexo</b>	<b>Dieta</b>		<b>Media (mm)</b>	
Hembra	Chawla y Hardwood		9.3373	
Hembra	Shorey y Hale modificada		9.3689	
Macho	Chawla y Hardwood		8.5851	
Macho	Shorey y Hale modificada		7.9268	
<b>Sexo* Dieta:</b> Para largo de pupa esta interacción está condicionada por el sexo.				
<b>F. V</b>	<b>G.L</b>	<b>C.M</b>	<b>F</b>	<b>Prob &gt; F</b>
Hembra	1	0.01687	0.0302	0.8622
Macho	1	8.21082	14.7149	0.0002

Para las hembras no hay efecto de dieta mientras que para los machos si lo hay.

**Cuadro 4. Comparación del peso medio de las pupas de *Rhyacionia buoliana* según su origen.**

F. V	G.L	C.M	F	Prob > F
Origen	5	0.002368	42.88	0.0000
Error	261	0.000055		
C.V %	38.57			
Media (gr)	0.02567			

**Cuadro 5. Comparación de la duración del período de pupación de *Rhyacionia buoliana* según su origen.**

F. V	G.L	C.M	F	Prob > F
Origen	5	154.057	9.77	0.0000
Error	205	15.7632		
C.V %	20.81			
Media (días)	20			

**Cuadro 6. Comparación de la viabilidad de pupas de *Rhyacionia buoliana* entre las dietas artificiales.**

Dieta	No mueren		Mueren		Total
	%	n°	%	n°	
Chawla	67.90	55	32.10	26	81
Shorey	64.06	41	35.94	23	64
<b>Total</b>		<b>96</b>		<b>49</b>	<b>145</b>
Test exacto de Fisher (2 colas)					
Tamaño efectivo de muestra = 145					
Frecuencia perdida = 148					
<b>Probabilidad = 0.724</b>					