

Metodología de cultivo de *Heliothrips haemorrhoidalis* (Bouché) (Thysanoptera: Thripidae) en *Viburnum tinus* L. y desarrollo a dos temperaturas

M. REBOREDO Y R. JORDANA

En este trabajo se describe una metodología para la cría de *Heliothrips haemorrhoidalis* (Thysanoptera: Thripidae) sobre *Viburnum tinus* L. en laboratorio que permite disponer de los distintos estados de desarrollo de la especie, así como realizar un seguimiento de los individuos de forma sencilla. Además, se ha estudiado el desarrollo postembrionario de esta especie en hojas de *V. tinus* a 23 y 25 °C. La duración media, en días, desde la eclosión del huevo a la muda a adulto ha sido de 14,64 a 23 °C y de 14,40 a 25 °C, concluyéndose que no se han observado diferencias significativas en el desarrollo a esas temperaturas.

M. REBOREDO* y R. JORDANA: Departamento de Zoología y Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad de Navarra, Apartado 177, 31080 Pamplona (España). **mreboredo@unav.es*

Palabras clave: *Heliothrips haemorrhoidalis*, cría, laboratorio, desarrollo, temperatura, *Viburnum tinus*.

INTRODUCCIÓN

H. haemorrhoidalis es una especie cosmopolita y polífaga que se encuentra en un amplio rango de plantas en todos los países que presentan condiciones favorables para la especie (45°N-40°S), así como en poblaciones en invernadero. Esta especie originaria de Sudamérica es una de las introducidas que más se han extendido por todo el mundo y es económicamente importante por los daños que ocasiona en diversos cultivos (MORISON, 1957). En España su presencia fue detectada hace tiempo, ocasionando daños principalmente en cítricos, aguacates y plantas ornamentales (CAÑIZO, 1932; GÓMEZ, 1951; TELLO, 1975). Sin embargo, aunque no se puede considerar una plaga importante de cítricos, los cultivos

de aguacates necesitan tratamiento químico ya que deprecia sus frutos (LACASA & LLORENS, 1998). Del mismo modo, las plantas de jardín han de ser tratadas ya que disminuye su valor estético y puede incluso ocasionar la defoliación de los arbustos ornamentales.

En el laboratorio del Departamento de Zoología y Ecología de la Universidad de Navarra, se ha realizado la cría de esta especie con el fin de llevar a cabo una serie de estudios sobre la identificación bioquímica de especies plaga.

Los métodos de cultivo a aplicar siempre dependen del objetivo y envergadura de la investigación. En este caso era necesario emplear una metodología que nos permitiera mantener poblaciones numerosas, que conservaran las características genéticas

originales, y se pudiese disponer de un elevado número de individuos para los experimentos de laboratorio. También era necesario establecer líneas procedentes de una hembra partenogenética con el fin de trabajar con su progenie de forma aislada y realizar el seguimiento de los individuos aislados, hecho que aprovechamos para estudiar la duración del desarrollo postembrionario de esta especie.

Hay cuatro estadios entre el huevo y el adulto (Fig. 1). Varios días después de la puesta, periodo que varía según la temperatura, se produce la eclosión del huevo que origina la larva de primer estadio (larva I). Pocas horas después se produce el cambio a larva de segundo estadio (larva II). Una vez completo el desarrollo larvario, la larva II muda a prepupa, que a su vez se transforma en pupa varias horas después. Finalmente se produce la muda a adulto. Inmediatamente después de la muda son de una tonalidad muy clara, pero progresivamente se produce un oscurecimiento del cuerpo.

En el presente trabajo se describe la metodología empleada para la cría de esta especie. RIVNAY (1935) realizó un extenso trabajo sobre el efecto de la temperatura en el desarrollo de esta especie. Según sus datos el rango de temperatura de 23 a 25 °C es el adecuado para su desarrollo. Para comprobar cual de estas temperaturas ofrecía mejores resultados, con la nueva metodología empleada, los cultivos se llevaron a cabo a esas temperaturas.

MATERIAL Y METODOS

Cultivo de *H. haemorrhoidalis*

Las poblaciones de *H. haemorrhoidalis* empleadas proceden de muestras recogidas en Wageningen (Holanda) sobre plantas tropicales de invernadero, Tapada-da-Ajuda (Lisboa, Portugal) sobre *Viburnum tinus* L., La Laguna (Tenerife, Canarias) sobre castaño, O Grove (Galicia) sobre li-

monero y Elorrio (Vizcaya) sobre *V. tinus*. Estas poblaciones se mantuvieron como poblaciones de reserva en una cámara de cultivo acondicionada a $23 \pm 0,5$ °C y 16 L: 8 O de fotoperiodo y se establecieron líneas de descendencia a partir de una hembra partenogenética. La humedad relativa en el interior de los recipientes fue a saturación.

Mantenimiento de la población de reserva

El mantenimiento de las poblaciones de reserva se llevó a cabo sobre plantas de *V. tinus* (Fig. 2). La planta se aisló en una caja de metacrilato (40x40x40 cm) con un orificio en la parte frontal cubierto de malla (60 μ m \varnothing poro), cerrado con velcro y una tira adhesiva superpuesta. Esto permite la aireación necesaria, a la vez que impide la salida de los insectos y facilita su manipulación.

Mantenimiento de líneas aisladas

Se emplearon pequeños recipientes de plástico (20x15x7 cm) (Fig. 3), con una tapa perforada en la parte superior cubierta de malla (60 μ m \varnothing de poro) para permitir la aireación. Esto es sumamente importante, no sólo para la supervivencia de la planta, sino también para evitar, en la medida de lo posible, la condensación de agua (en la que insectos de pequeño tamaño, como los trips quedan adheridos y mueren). En estos recipientes se vertía el agar líquido (0,6% en agua) y, antes de que gelificase, se incluía la hoja cortada con el peciolo inmerso en el gel agar (BRODEUR y CLOUTIER, 1992). De nuevo, se emplearon hojas de *V. tinus* para el cultivo.

Para el buen desarrollo de la experimentación es muy importante que el compartimento sea estanco, por lo que se sellaban los recipientes con Parafilm® después de cada manipulación.



Fig. 1.—*H. haemorrhoidalis* sobre *V. tinus*.

1. Huevo. 2. Larva I (recién eclosionada). 3. Larva II (5 días).

4. Larva II (antes de convertirse en prepupa). 5. Prepupa (11 días). 6. Pupa (10 días).

7. Pupa (antes de mudar a adulto). 8. Adulto (1 hora después de la muda). 9. Adulto (4 horas después de la muda).

10. Adulto (48 horas después de la muda).



Fig. 2.—Hojas de *V. tinus* infectadas por *H. haemorrhoidalis*.

Cultivo de ejemplares aislados

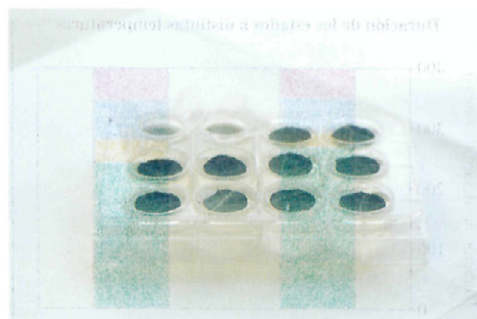
Para el cultivo de cada ejemplar larvario aislado se desarrolló el siguiente sistema (Fig. 4). Los pocillos (2,3 cm Ø y 1,75 cm de profundidad) de placas de serocultivo (Cell culture cluster dish, Costar®) se rellenan de agar (2/3), siguiendo el método ya descrito en el apartado anterior, y se introducía en su interior un disco de hoja obtenido con un sacabocados del diámetro adecuado, colocando el animal en la superficie. Los pocillos se sellaban para impedir la migración de las larvas utilizando unas arandelas de metacrilato que ajustaban perfectamente al diámetro de los pocillos y que a su vez enganchan la malla antes empleada.

Desarrollo de los inmaduros

Para estudiar la duración del desarrollo postembrionario (desde la eclosión del huevo a la muda a adulto) se empleó la población de *H. haemorrhoidalis* procedente de Wageningen (Holanda). Para este experimento se utilizaron dos métodos de cultivo. Las hembras procedentes de líneas parten-

genéticas realizaron la oviposición sobre hojas de *V. tinus* en los recipientes de cultivo en hoja entera descritos anteriormente y las larvas aisladas, obtenidas de las hojas, se cultivaron en placas de serocultivo. El cultivo se llevó a cabo en una cámara acondicionada a $23 \pm 0,5$ °C y $25 \pm 0,5$ °C y 16 L: 8 O de fotoperiodo. La humedad relativa en el interior de los recipientes fue a saturación.

El seguimiento de los distintos estados de desarrollo, desde la eclosión del huevo hasta la muda a adulto (Fig. 1), se realizó con ayuda de una lupa binocular. Las hembras realizaron la puesta en las cámaras de oviposición. Al cabo de 15 días aproximadamente comenzó la eclosión de los huevos, apareciendo las larvas I. Se realizaron observaciones a intervalos de 1-2 horas para recoger las larvas recién nacidas que fueron trasladadas a las placas de serocultivo, donde transcurre el desarrollo larvario. La duración del estado larvario se contabiliza en su conjunto, es decir, desde la eclosión del huevo a la muda a prepupa, manteniéndose el mismo intervalo de registro, excepto durante la noche, periodo en el que no se realizaron observaciones. A continuación se produce la muda a pupa, que finalmente

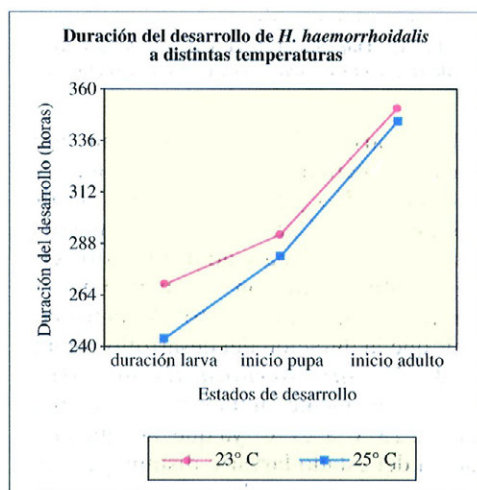


muda a adulto. La duración del estado de prepupa se obtuvo por diferencia entre los valores de inicio del estado pupa y final del larvario. La duración del estado de pupa se obtuvo por diferencia entre el inicio del estado adulto y pupa. Esto es así porque al no realizar observaciones durante la noche no se dispone de todos los valores de muda de todos los individuos.

RESULTADOS

Desarrollo de los inmaduros a dos temperaturas

En el Cuadro 1 se muestran los datos correspondientes a la estadística descriptiva de la duración del desarrollo a ambas temperaturas. En la Figura 5 podemos observar como la duración del desarrollo postembrionario de esta especie parece acortarse a medida que aumenta la temperatura. Para comprobar estadísticamente si estos datos



eran significativos se realizó la prueba t con los datos obtenidos para cada uno de los estados de desarrollo a ambas temperaturas. Así, se puede inferir que la duración del es-

Cuadro 1.—Estadísticos descriptivos de la duración del desarrollo de *H. haemorrhoidalis* a diferentes temperaturas

	Duración del estado larvario		Inicio del estado pupal		Inicio del estado adulto	
	23° C	25° C	23° C	25° C	23° C	25° C
Media (horas)	268,95	243,93	292,11	282,10	351,26	345,60
Error típico	4,48	2,57	3,63	3,90	2,51	2,65
Desviación estándar	26,49	18,92	23,77	26,19	17,58	18,94
Varianza de la muestra	702,01	358,00	565,47	686,14	308,96	358,75
coeficiente de variación (%)	9,85	7,76	8,14	9,29	5,00	5,48

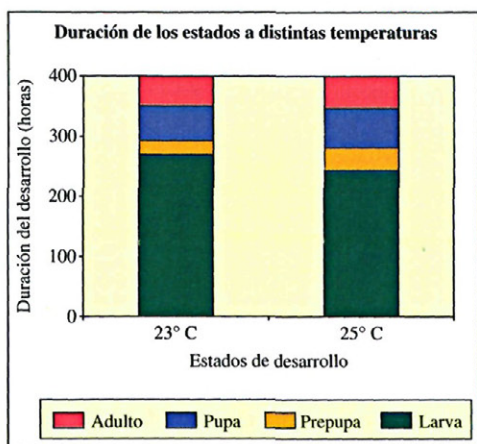


Fig. 6.—Duración de los estados de desarrollo de *H. haemorrhoidalis* a distintas temperaturas.

tado larvario difería significativamente a ambas temperaturas, obteniéndose unos valores de 11 días y 5 horas a 23 °C y 10 días y 3 horas a 25 °C. Sin embargo, el inicio de los estados de pupa y adulto no difirieron significativamente con el aumento de temperatura producido (Fig. 6). Podemos concluir que la duración del desarrollo completo de *H. haemorrhoidalis* no difiere significativamente en un rango de temperatura de 23 °C a 25 °C, ya que, aunque la duración del estado larvario disminuye con la temperatura, esta reducción se compensa con una mayor duración de los estadios posteriores.

DISCUSIÓN

La cría en masa de cada una de las poblaciones de trabajo para disponer permanentemente de un remanente de individuos, resultó bastante fácil en el caso de *H. haemorrhoidalis*, ya que al igual que otras especies todo su ciclo biológico se lleva a cabo sobre el material vegetal. Aunque es habitual el cultivo de esta especie sobre limones (NEWBERGER y McMURTRY, 1992), después de realizar ensayos, optamos por el empleo de plantas enteras, que resulta ser un sustrato más duradero (recambio bimes-

tral) y adecuado para la proliferación de la especie. El hospedador elegido fue la planta de porte arbustivo *V. tinus* variedad "Eve price" por su resistencia, disponibilidad y bajo coste. Otros candidatos como la azalea, hortensia y geranio fueron descartados por diversos motivos; debilidad de la planta, excesiva proliferación de hongos, o falta de viabilidad de la especie sobre el geranio, probablemente debido al uso de insecticidas en los viveros.

Debido a la naturaleza de los experimentos que requerían el cultivo de líneas generadas a partir de una hembra partenogénica se empleó el sistema descrito en el apartado de material y métodos. La elección de hojas, y no otra parte de la planta, se debió a la mayor facilidad con que se manejaban los ejemplares sobre una superficie plana, en un espacio reducido y controlado. Existe un método desarrollado por MURAI y LOOMANS (LEWIS, 1997) que permite realizar el cultivo de trips de forma eficiente sobre un sustrato artificial y polen. Sin embargo, el cultivo de *H. haemorrhoidalis* requiere material vegetal fresco para su viabilidad. El empleo de hojas de *V. tinus* vino condicionado por el tamaño foliar (mayor superficie de cultivo), además de por su persistencia, dado el largo periodo de desarrollo del insecto. Se consideraron varias opciones en cuanto al material sobre el que cultivar, entre las que figuraron: alubia, hortensia, limonero, magnolia, rosa y *Viburnum davidii* Franch. Aunque, esta última ofreció excelentes resultados no pudo ser seleccionada finalmente, debido a su escasa comercialización en la zona.

El seguimiento diario de la progenie resultante de una hembra partenogénica requería el aislamiento de cada una de las larvas a medida que los huevos eclosionaban. Los recipientes de oviposición e incubación empleados resultaban demasiado grandes. Las placas de serocultivo ahorran espacio de almacenaje en la cámara, disminuyen el coste y esfuerzo de la investigación, y aportan un microhábitat de dimensiones óptimas de observación respecto al

tamaño de la larva. Debido a la reducida cantidad de agar, era preciso cambiar los individuos a un nuevo pocillo al cabo de una semana.

Como existe un trabajo realizado al respecto contrastamos los datos obtenidos con los publicados por RIVNAY (1935). Según este autor la duración del desarrollo postembrionario de esta especie se acorta a medida que aumenta la temperatura. Según sus datos la muda a adulto se retrasa 3 días en los individuos cultivados a 23 °C, respecto a los cultivados a 25 °C. Esto difiere de los resultados obtenidos en el presente trabajo pero como la metodología de cultivo es muy diferente, los datos no son fácilmente comparables.

Es difícil explicar los motivos de las diferencias de la duración del estado de prepupa a diferentes temperaturas encontradas con los datos que se tienen. Hubiera sido necesario medir el título de las respectivas hormonas, la hormona juvenil y la hormona de la glándula protorácica, para arrojar algo de luz sobre este inesperado resultado. RIVNAY no aporta datos sobre la duración del estado de prepupa ya que considera el estado pupal en su conjunto, por lo que no es posible realizar alguna comparación con los datos presentes.

Concluimos que el sistema de cultivo presentado es útil, de bajo coste y permite el seguimiento individual.

AGRADECIMIENTOS

A A. González (Ser. Protec. Veg., La Laguna-Tenerife), Dr. Guimarães (Direcção-Geral de Protecção das Culturas, Portugal), Dr. A. Lacasa (C.I.D.A., Murcia) y A. Loomans (Dpto. Entomol. Univ. Agric. Wageningen, Holanda) por la aportación de muestras. A la Dra. Moraza por sus sugerencias, al Dr. Baquero que ha realizado algunas de las fotografías. Este trabajo ha sido posible gracias a una beca predoctoral concedida por el MEC. La investigación estuvo enmarcada dentro del proyecto de la CEE (1995-1996) Pest Thysanoptera of Mediterranean fruit-trees. Investigador principal: Laurence MOUND, coordinado por el Departamento de Entomología del British Museum Natural History con el Departamento de Biología, Defensa y Biotecnología Agroforestal, de la Universidad de la Basilicata de Potenza (Italia), la Universidad de Agricultura de Wageningen (Holanda) y el Departamento de Zoología y Ecología de la Universidad de Navarra.

ABSTRACT

In this work a rearing method for *H. haemorrhoidalis* (Thysanoptera: Thripidae) in *Viburnum tinus* L. under laboratory conditions is described. This method would allow a continuous availability of larvae, pupae and adults and an easy follow-up of individuals. Besides, the postembryonic development of this specie was studied at 23 and 25 °C. The mean development time, in days, from hatched larvae to adult was of 14,64 at 23 °C and of 14,40 at 25 °C. In conclusion, no significant difference on development at these temperatures was observed.

Key words: *Heliiothrips haemorrhoidalis*, rearing, laboratory, development, temperature, *Viburnum tinus*.

REFERENCIAS

- BRODEUR, J. y C. CLOUTIER, 1992: A modified leaf disk method for rearing predaceous mites (Acarina: Phytoseiidae). *Phytoprotection*, **73**(2): 69-72.
- CAÑIZO, J. DEL, 1932: Tisanópteros de la península ibérica. *Bol. Patol. Veg.*, **6**: 98-109.
- GÓMEZ, F., 1952: Un tisanóptero causante de daños en las naranjas de algunas zonas de Levante. *Bol. Patol. Veg. Entomol. Agric.*, **19**: 135-145.
- LACASA, A. y J.M. LLORÉNS, 1998: Trips y su control biológico. Pisa Ediciones. 312 pp.

- LEWIS, T., 1997: *Thrips as crop pests*. Lewis, T. (Eds.). CAB International, UK. 740 pp.
- MORISON, G.D., 1957: A review of British glasshouse Thysanoptera. *Trans. R. Entomol. Soc. Lond.*, **109**(16): 481-483.
- NEWBERGER, S.J. y J.A. McMURTRY, 1992: Insectary production of *Thripobius semiluteus* Boucek (Hymenoptera: Eulophidae), an imported parasitoid of the greenhouse thrips, *Heliethrips haemorrhoidalis* (Bouché). *Internal paper, University of California, Riverside*. 3 pp.
- RIVNAY, E., 1935: Ecological studies of the greenhouse thrips, *Heliethrips haemorrhoidalis*, in Palestine. *Bull. Entomol. Res.*, **26**: 267-278.
- TELLO, J.C., 1975: Un tisanóptero perjudicial a los aguacates de las Islas Canarias. *An. INIA/Ser. Prot. Seg./N.* **5**: 307-315.

(Recepción: 6 de septiembre de 2000)

(Aceptación: 2 de abril de 2001)

- 2.–En el artículo: “**Metodología de cultivo de *Heliothrips haemorrhoidalis* (Bouché) (Thysanoptera: Thripidae) en *Viburnum tinus* L. y desarrollo a dos temperaturas**” de los autores M. REBOREDO, R. JORDANA, publicado en el volumen 27, nº 1, figura la dirección incorrecta del e-mail de M. REBOREDO. La dirección correcta es: mrebored@unav.es