

Desarrollo del sistema reproductor interno del macho de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) tratado en estado de larva con el virus de la poliedrosis nuclear (Baculoviridae)

H. K. ALDEBIS; E. VARGAS OSUNA; C. SANTIAGO-ALVAREZ

Los machos de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) procedentes de larvas tratadas con el virus de la poliedrosis nuclear de *S. littoralis* (VPNSI), no presentaron alteraciones en el desarrollo ni diferencias significativas en las dimensiones de las distintas partes del sistema reproductor interno, en relación con los machos del testigo.

H. K. ALDEBIS; E. VARGAS OSUNA; C. SANTIAGO-ALVAREZ: Cátedra de Entomología Agrícola. Departamento de Ciencias y Recursos Agrícolas y Forestales. E.T.S.I. Agrónomos y de Montes. Universidad de Córdoba. Apartado de Correos 3048. 14080 CÓRDOBA.

Palabras clave: *Baculoviridae*, Virus de Poliedrosis Nuclear, Noctuidae, *Spodoptera littoralis*, Sistema reproductor interno, Desarrollo.

INTRODUCCION

Las larvas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) que sobreviven a la infección por el virus de la poliedrosis nuclear (VPN), independientemente del estadio en que son tratadas con el VPNSI (VARGAS OSUNA y SANTIAGO-ALVAREZ, 1988), crecen y se desarrollan con normalidad. Sin embargo, los adultos procedentes de estas larvas muestran alteraciones en la reproducción (ABUL-NARS *et al.*, 1979; VARGAS OSUNA y SANTIAGO-ALVAREZ, 1988).

El principal efecto observado fue la reducción significativa de viabilidad de huevos en aquellas parejas en las cuales el macho, la hembra, o ambos sexos, procedían de larvas tratadas (VARGAS OSUNA y SANTIAGO-ALVAREZ, 1988). Por otro lado, aunque no se vio afectada la capacidad copuladora de

los machos de *S. littoralis* tratados con el baculovirus (SANTIAGO-ALVAREZ y VARGAS OSUNA, 1987), se mantuvo, durante todo su período reproductivo, la reducción de la viabilidad de huevos puestos por las hembras apareadas con ellos (SANTIAGO-ALVAREZ y VARGAS OSUNA, 1988).

El desarrollo del sistema reproductor y de las células germinales del macho de *S. littoralis* se lleva a cabo, casi por completo, durante los estados de larva y pupa (SALAMA *et al.*, 1971; GELBIC y METWALLY, 1981). Por tanto, la reducción del potencial reproductor de los machos que proceden de larvas tratadas con el VPN (SANTIAGO-ALVAREZ y VARGAS OSUNA, 1988), podría deberse a desórdenes en el desarrollo del sistema reproductor o de las células germinales.

El presente trabajo es un estudio macroscópico de la morfología del desa-

rollo del sistema reproductor interno del macho de *S. littoralis* tratado en estado larvario con el VPNSI.

MATERIALES Y METODOS

El método de cría de *S. littoralis*, la obtención de la cepa del VPNSL y el método de inoculación han sido descritos con anterioridad (SANTIAGO-ALVAREZ, 1977; SANTIAGO-ALVAREZ y VARGAS OSUNA, 1985).

El desarrollo del sistema reproductor interno se estudió desde el 3^{er} estadio larvario (L₃) hasta el estado adulto. 500 larvas L₃ recién mudadas se trataron, individualmente, con una dosis de 4×10^3 CI/larva. Otras 500 larvas de idénticas características, que también se individualizaron, sirvieron de testigo. Desde el día siguiente al del tratamiento hasta la pupación, cada 24 horas, se diseccionaban 10 larvas macho de ambas condiciones; de igual modo se procedió con 10 pupas macho de 0, de 3 y de 7 días de edad y 10 machos adultos, recién emergidos y de 1 día de edad.

El crecimiento de los testículos se estudió desde el 5^o estadio larvario (L₅) hasta el estado adulto y las dimensiones de las demás partes del sistema reproductor del macho sólo se midieron en el estado adulto. 400 larvas macho L₅ recién mudadas se trataron, individualmente, con una dosis de 4×10^5 CI/larva. Otras 400 larvas de idénticas características se individualizaron para ser empleadas como testigo. A las 48 horas después del tratamiento se diseccionaron 15 larvas L₅ de ambas condiciones; de igual modo se procedió con larvas L₆ recién mudadas y de 4 días de edad; prepupas recién formadas y de 1 día de edad; pupas recién formadas, de 3 y de 7 días de edad, y adultos recién emergidos, de 3 y de 6 días de edad.

Las disecciones se realizaron en solución salina de BELAR (6 gr ClNa; 0,29 gr Na₂CO₃; 0,29 gr Ca Cl₂; 1 l. de agua destilada).

El aparato reproductor interno se extrajo de la cavidad abdominal con ayuda de un microscopio estereoscópico; se limpió y se extendió sobre un portaobjetos en el que se había depositado una gota de la solución salina.

El volumen de los testículos antes de su fusión, se calculó mediante la fórmula de NISHITSUTSUJ-UWO (HOLT y NORTH, 1970): $V = \pi/6 (L \times W)^2$, en donde L= longitud y W= anchura. Para los testículos fusionados se midieron varios diámetros y con el valor medio obtenido (D) se calculó el volumen mediante la fórmula $V = \pi/6 D^3$ que considera esférica la forma de la gónada. La mitad del valor corresponderá al volumen de cada testículo.

Asimismo, se midieron la longitud y la anchura de las demás partes del sistema reproductor interno (HAINES, 1981): vasos deferentes, conducto eyaculador (duplex, simplex primario y simplex secundario o cuticular), aedeago y glándulas accesorias.

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de la varianza y las medias se compararon entre sí mediante la prueba t de Student. El análisis χ^2 se utilizó para los datos referidos a número de individuos.

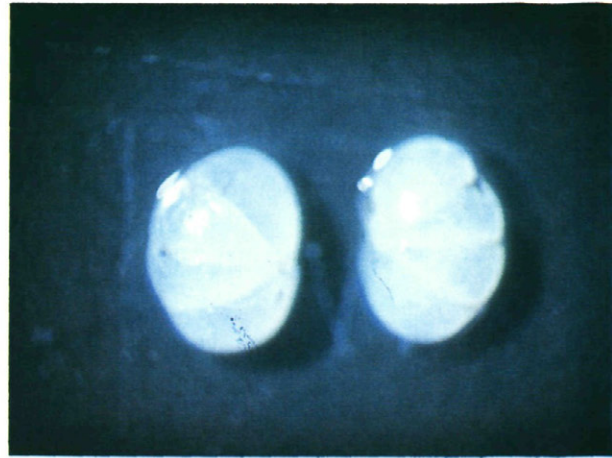
RESULTADOS Y DISCUSION

Las dosis empleadas en los tratamientos de larvas del tercero y quinto estadios originaron el 59 % y el 47 % de mortalidad larvaria, respectivamente. Los machos, en los estados de larva, pupa o adulto, usados en este estudio, que procedían de los supervivientes a los tratamientos, no presentaban síntomas de infección.

El desarrollo, en las larvas de 3^o, 4^o, 5^o y 6^o estadios, en prepupas, en pupas y en adultos, de los testículos, conductos y glándulas accesorias, no presentó diferencias entre machos testigos y tratados con el VPN en estado larvario. Todas las etapas del desarrollo fueron coincidentes con las señaladas previamente para *S. littoralis* (SALAMA *et al.*, 1971) así como para otras especies de lepidópteros (JONES *et al.*, 1984; REINECKE *et al.*, 1983; MISKIMEN *et al.*, 1983). Podemos concluir, por tanto, que la infección con el VPN no altera el desarrollo del sistema reproductor interno del macho de *S. littoralis*.

Machos que presentaban uno o ambos testículos anormales, en su forma o en el número

Figura 1.- Testículos normales (a) y anormales (b,c,d,e) de *Spodoptera littoralis*.



a)



b)



c)



e)

ro de folículos (Fig. 1), se observaron tanto entre los testigos como entre los tratados. El número de machos con estas anomalías fue mayor entre los individuos que procedían de larvas tratadas que entre los del testigo, aunque la diferencia no alcanzó significación estadística (Cuadro 1). Estas patologías, de las que no hay citas en la literatura, requieren un estudio más detallado para conocer las causas de su aparición.

El crecimiento testicular, en ambos grupos de machos, está en relación directa con la edad de la larva y no presenta diferencias con lo señalado para esta misma especie por SALAMA *et al.* (1971). El volumen testicular máximo se alcanza en el último estadio larvario (Cuadro 2) justo cuando comienza la

fase de prepupa. Aunque es mayor el volumen en los machos tratados, la diferencia no alcanzó significación estadística. A partir de prepupa de un día de edad y a medida que avanza el desarrollo, va decreciendo el volumen de los testículos hasta alcanzar el valor mínimo en el estado adulto, como consecuencia de la salida de los espermatozoides maduros a los conductos genitales (GELBIC y METWALLY, 1981).

Los testículos, cuando las larvas entran en fase de prepupa, se unen y quedan rodeados por un tejido epitelial común, de manera que las prepupas, las pupas y los adultos tienen aparentemente una sola gónada. La fusión testicular se retrasa en los machos que sobreviven al proceso infeccioso como

Cuadro 1.— Porcentaje de machos de *Spodoptera littoralis* con testículos anormales.

Condición del macho	Número de machos	Machos con testículos anormales			
		En N° folículos		En la forma	
		n	%	n	%
Testigo	45	6	13,33	7	15,55
Tratado	45	14	31,11	10	22,22

Cuadro 2.— Evolución del volumen testicular en machos de *Spodoptera littoralis* tratado con el VPNSI y no tratados.

Estado	Edad (días)	Volumen testicular (mm ³)					
		Testigos			Tratadas		
		n*	Media	± σ	n*	Media	± σ
L ₅	2	15	0,581	0,588	15	0,736	0,356
L ₆	0	15	1,844	1,415	15	1,902	0,738
L ₆	4	15	14,975	7,687	15	12,631	7,880
Prepupa	0	15	17,920	8,682	15	24,206	12,813
Prepupa	1	15	8,751	4,096	15	15,603	9,111
Pupa	0	15	7,555	2,606	15	8,227	3,084
Pupa	3	15	6,898	3,195	15	8,633	2,260
Pupa	7	15	5,861	1,471	15	6,128	2,440
Adulto	0	15	3,281	0,967	15	2,804	0,960
Adulto	3	15	1,709	0,403	15	1,739	0,852
Adulto	6	15	0,428	0,110	15	0,514	0,156

* Número de machos diseccionados.

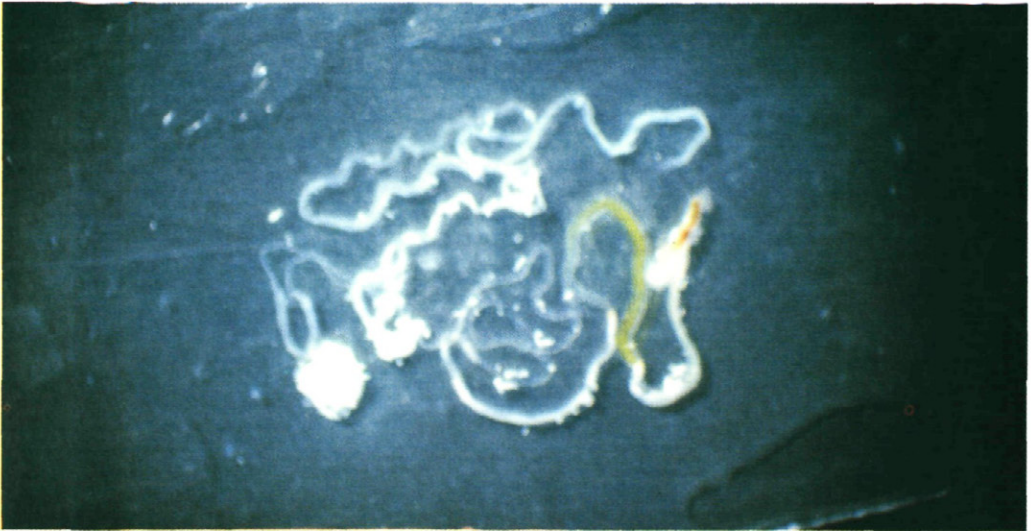


Figura 2.- Sistema reproductor completo del macho adulto de *Spodoptera littoralis*.

se desprende del porcentaje de prepupas de un día de edad con testículos fusionados, 26,67 %, que fue inferior al de las que proceden de larvas testigo 66,67 %, aunque esta diferencia no alcanzó significación estadística. El retraso observado en la fusión testicular puede ser la causa de que los testículos de los machos tratados alcan-

cen mayor volumen (Cuadro 2). Este retraso puede estar relacionado con la alteración de los niveles hormonales en la hemolinfa (RAABE, 1986) que originan las infecciones del VPN (SUBRAHMANYAM y RAMAKRISHNAN, 1980). No obstante, todas las pupas recién formadas, en ambos grupos de machos, tenían sus testículos fusionados.

Cuadro 3.— Dimensiones de las distintas partes del sistema reproductor interno del macho de *Spodoptera littoralis* tratado con el VPSNI y no tratado.

Condición del macho	N	Dimensiones en mm					
		Testículo $\bar{x} \pm \sigma^*$	Vaso deferente $\bar{x} \pm \sigma$	Glándulas accesorias $\bar{x} \pm \sigma$	Duplex $\bar{x} \pm \sigma$	Simplex no cuticular $\bar{x} \pm \sigma$	Simpl. cut. +Aedeago $\bar{x} \pm \sigma$
Testigo	10	Long.	13,02±1,21	50,80±4,91	8,21±1,50	58,40±8,42	10,21±0,59
		Anch.	2,25±0,25	0,43±0,03	0,11±0,02	0,35±0,06	0,50±0,04
Tratado	10	Long.	11,80±1,35	47,52±9,30	7,01±1,12	51,28±7,79	10,37±0,98
		Anch.	2,15±0,34	0,43±0,08	0,11±0,02	0,42±0,04	0,46±0,09

* Diámetro de los testículos fusionados.

F: Parte del simplex cuticular donde se forma el freno del espermatóforo.

A: Aedeago.

El sistema reproductor interno de los machos adultos de *S. littoralis*, tanto si proceden o no de larvas tratadas, está formado por: testículos fusionados, vesículas seminales, vasos deferentes, conducto eyaculador duplex, glándulas accesorias y conducto eyaculador simplex que termina en el aedeago (Fig. 2). Las dimensiones de las distintas partes fueron del mismo orden que las señaladas para esta misma especie (HAINES, 1981) y la especie congénérica *S. litura* (ETMAN y HOOPER, 1979) y estaban dentro de los límites de variación indicados por estos autores. Aunque no hubo diferencias significativas, en los machos supervivientes al tratamiento con el VPN todas estas partes fueron de menor tamaño que en el testigo (Cuadro 3). Ello puede estar relacionado con el efecto inhibitor de la hormona juvenil (RAABE, 1986) cuyo título se incrementa en la hemolinfa como consecuencia de la alteración que provoca la

infección viral (SUBRAHMANYAN y RAMAKRISHNAN, 1980).

En ambos grupos de machos examinados, el conducto eyaculador simplex contenía la secreción incolora característica de los machos recién emergidos y que vira a amarillenta, más tarde a naranja y finalmente a rojo intenso (HAINES, 1981). Esto parece indicar que el tratamiento no afecta a la actividad fisiológica de los órganos genitales de los machos por lo cual, durante toda su vida, no muestra diferencias con el testigo tanto en la actividad copuladora como en la producción de espermátóforos (SANTIAGO-ALVAREZ y VARGAS OSUNA, 1987).

En conclusión, la reducción del potencial reproductor del macho de *S. littoralis* tratado en estado de larva con el VPN (SANTIAGO-ALVAREZ y VARGAS OSUNA, 1988) no puede ser explicada por alteraciones morfológicas del sistema reproductor interno.

ABSTRACT

ALDEBIS, H.K.; VARGAS OSUNA, E.; SANTIAGO-ALVAREZ, C., (1993): Development of male reproductive system in *Spodoptera littoralis* (Lep.: Noctuidae) treated as larvae with the nuclear polyhedrosis virus (Baculoviridae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **19** (1): 3-9.

The *Spodoptera littoralis* (Boisduval) male treated as larvae with the *S. littoralis* nuclear polyhedrosis virus (NPVSI), do not show neither development alterations nor statistically significant differences on the size of the various parts of the internal reproductive system, in respect with the untreated males.

Key words: *Baculoviridae* nuclear polyhedrosis virus, *Noctuidae*, *Spodoptera littoralis*, internal reproductive system.

REFERENCIAS

- ABUL-NASR, S. E.; AMMAR, E. D., ABUL-ELA, S. M., 1979: Effects of nuclear polyhedrosis virus on various developmental stages of the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisd.) *Z. angew. Ent.*, **88**: 181-187.
- ETMAN, A.A.M.; HOOPER, G.H.S., 1979: Developmental and reproductive biology of *Spodoptera litura* (F.) (*Lepidoptera: Noctuidae*). *J. Australian Entomol. Soc.*, **18**: 336-372.
- GELBIC, I.; METWALLY, M.M., 1981: Changes in the

- development of male germinal cells in *Spodoptera littoralis* caused by the effects of juvenoids (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Acta ent. bohemoslov.*, **78**: 10-17.
- HAINES, L. C., 1981: Changes in colour of a secretion in the reproductive tract of adult males of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (*Lepidoptera: Noctuidae*) with age and mated status. *Bull. ent. Res.*, **71**: 591-598.
- HOLT, G. G.; NORTH, D.T., 1970: Spermatogenesis in the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **63**: 501-507.
- JONES, J. A.; GUTHRIE, W.D.; BRINDLEY, T. A., 1984: Postembryonic development of reproductive system of male european corn borers, *Ostrinia nubilalis*. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **77**: 155-164.
- MISKIMEN, G. W.; RODRIGUEZ, N.L.; NAZARIO, M.L., 1983: Reproductive morphology and sperm transport facilitation and regulation in the female sugarcane borer, *Diatrea saccharalis* (F.) (*Lepidoptera: Crambidae*). *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **76**: 248-252.
- RAABE, M., 1986: Insect reproduction: Regulation of successive steps. *Adv. Insect Physiol.*, **19**: 29-154.
- REINECKE, L. H., REINECKE, J.P.; ADAMS, T.S., 1983: Morphology of the male reproductive tract of mature larval, pupal, and adult tobacco hornworms (*Lepidoptera: Sphingidae*), *Manduca sexta*. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **76**: 365-375.
- SALAMA, A. E.; ABDELLATIF, M. A.; BARRY, N.M.S., 1971: Developmental differentiation of the reproductive system in the cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Z. angew. Ent.*, **68**: 308-314.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C., 1977: Virus de insectos: Multiplicación, aislamiento y bioensayo de *Baculovirus*. Fundación Juan March. Serie Universitaria. 59 pp.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C.; VARGAS-OSUNA, E., 1985: Algunos efectos de la contaminación larvaria por el virus de la poliedrosis nuclear (*Baculoviridae: Baculovirus*) sobre la reproducción de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Bol. Soc. Port. Ent.* Suplemento 1. Vol II: 491-497.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C.; VARGAS OSUNA, E., 1987: Acción de la infección por el virus de la poliedrosis nuclear (*Baculoviridae*) sobre la capacidad copuladora del macho de *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (*Lep. Noctuidae*). *Bol. San. Veg. Plagas*, **13**: 167-171.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C., VARGAS-OSUNA, E., 1988: Reduction of reproductive capacity of *Spodoptera littoralis* males by a nuclear polyhedrosis virus (NPV). *J. Invertebr. Pathol.*, **52**: 142-146.
- SUBRAHMANYAM, B.; RAMAKRISHNAN, N., 1980: The alterations of juvenile hormone titre in the haemolymph of *Spodoptera litura* (F.) due to a baculovirus infection. *Experientia*, **36**: 471-472.
- VARGAS-OSUNA, E.; SANTIAGO-ALVAREZ, C., 1988: Differential response of male and female *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (*Lep. Noctuidae*) individuals to a nuclear polyhedrosis virus. *Z. angew. Ent.*, **105**: 374-378.

(Aceptado para su publicación 24 abril 1992).