

Influencia del disolvente sobre la capacidad de penetración de la ciromacina en larvas de *Ceratitis capitata* (Wied.)

F. BUDIA; E. VIÑUELA; A. ADÁN; J. JACAS; P. DEL ESTAL; V. MARCO

La ciromacina es un Regulador del Crecimiento de los insectos (RCI), que actúa fundamentalmente por ingestión y tiene una buena acción por contacto, estando recomendado para el control de dípteros.

Se ha evaluado mediante aplicación tópica a larvas de siete días de edad de *C. capitata* (Wied.) su actividad por contacto. Para la realización del ensayo se han utilizado tres disolventes distintos (acetona, metanol y tetrahidrofurano), midiéndose el porcentaje de pupación y la emergencia de adultos.

Las DL₅₀ obtenidas para los tres disolventes son:

	DL ₅₀
Acetona	115,45 µg/g
Metanol	59,69 µg/g
Tetrahidrofurano	52,38 µg/g

F. BUDIA; E. VIÑUELA; A. ADÁN; J. JACAS; P. DEL ESTAL; V. MARCO. Entomología Agrícola. ETSI. Agrónomos. 28040 Madrid.

Palabras clave: Ciromacina, disolventes, tratamiento tópico, *Ceratitis capitata*.

INTRODUCCION

La ciromacina (N-ciclopropil-1, 3, 5-triazina-2, 4, 6-triamina) es un RCI efectivo contra varias especies de Dípteros, sobre todo de las familias: *Muscidae* (HAL y FOEHSE, 1980; MULLA y AXELROD, 1983a; EL-OSHARD, *et al.*, 1985; BLOOCAMP, *et al.*, 1987; MEYER, *et al.*, 1987); *Calliphoridae* (BINNINGTON, 1985; FRIEDEL y McDONNELL, 1985); *Agromyzidae* (OVERMAN y PRICE, 1984; YATHOM *et al.*, 1986; FOSTER y SÁNCHEZ, 1988) y *Tephritidae* (BUDIA *et al.*, 1988). Y aunque parece tener poco efecto sobre especies de otros órdenes, diversos autores han visto que inhibe el crecimiento de varias especies de Ledidópteros (*Spodoptera frugiperda* (ROSS y

BROWN, 1982) *Manduca sexta* (HUGHES *et al.*, 1989) y Sifonápteros (*Ctenocephalis canis* (FRIEDEL, 1986)).

La principal actividad de este compuesto es larvicida por ingestión (PARRELLA *et al.*, 1983; BINNINGTON, 1985; FRIEDEL y McDONNELL, 1985; BUDIA *et al.*, 1988), aunque se ha encontrado que la acción por contacto era importante en larvas de último estadio de *Musca domestica* (POCHON y CASSIDA, 1983; SHEN y PLAPP, 1990). Sin embargo los efectos tópicos de la Ciromacina parecen depender del disolvente utilizado, ya que modifican notablemente la penetración del tóxico en el interior del cuerpo del insecto (POCHON y CASSIDA, 1983).

En el presente trabajo se estudian los efectos tópicos de la Ciromacina sobre lar-

vas de último estadio de *C. capitata*, así como la influencia de tres disolventes.

MATERIALES Y METODOS

El insecticida utilizado fue ciromacina (N-ciclopropil-1, 3, 5-triazina-2, 4, 6-triamina) cuyo nombre comercial es Trigard WP, polvo mojable con una riqueza en ciromacina del 75 % de la casa comercial Ciba-Geygi.

Tanto los ensayos como la cría del insecto, se realizaron en el insectario de la Cátedra de Entomología Agrícola, en condiciones controladas:

Temperatura $25 \pm 2^\circ \text{C}$.

Humedad relativa $75 \pm 5 \%$.

Fotoperíodo de 16 horas luz.

Las larvas de *C. capitata* se criaron según el método descrito por ALBAJES (1978) y VIÑUELA (1981), con una densidad de 4 huevos/g de dieta.

Cuando las larvas alcanzan los siete días de edad, se les aplica con la ayuda de un microaplicador manual ARNOLD de la casa BURKARD, una gota de insecticida de $0,5 \mu\text{l}$ en la región dorsal del tórax, según el método descrito por VIÑUELA (1981).

Los ensayos se han realizado disolviendo la ciromacina en tres disolventes muy volátiles metanol, acetona y tetrahidrofurano (THF).

Se utilizaron cinco dosis por tratamiento, calculadas a partir de una solución madre de 4.000 ppm con razón 1,4 y se hicieron cinco repeticiones por disolvente.

Previo a la realización de los ensayos, pesamos dos repeticiones de diez larvas, en balanza de precisión METTLER ($\pm 0,1 \text{ mg}$), para poder dar posteriormente los resultados del ensayo en μg de producto/g de peso de las larvas, en lugar de ppm.

Se estudió el efecto del insecticida en el porcentaje de pupación, y de emergencia de adultos, evaluándose esta última a los quince días de la aplicación del producto, puesto que los adultos de los controles ya habían emergido siete días antes.

La reducción en la emergencia de adultos se analizó mediante el método «Probit» de FINNEY (1971). La comparación entre las diversas rectas calculadas, se efectuó asimismo por el método de paralelismo de este mismo autor.

RESULTADOS

Para todos los disolventes utilizados la pupación fue normal, no encontrándose en ningún caso diferencias significativas con los testigos.

Sin embargo el tratamiento tópico sí redujo la emergencia de adultos de manera significativa al aumentar las dosis de insecticida, para los tres disolventes (Cuadro 1).

Cuadro 1.—Porcentaje de emergencia de adultos, después de tratar con Ciromacina tópicamente, larvas de siete días de edad, previa disolución del insecticida con tres disolventes: Metanol; Tetrahidrofurano y Acetona

Dosis en ppm	Acetona	Metanol	Tetrahidrofurano
T	74,00 ^a $\pm 3,72$	71,00 ^a $\pm 4,18$	92,86 ^a $\pm 1,72$
1.041,23	64,11 ^{ab} $\pm 3,13$	59,84 ^a $\pm 4,72$	72,54 ^b $\pm 3,83$
1.457,72	71,43 ^a $\pm 3,07$	56,21 ^a $\pm 5,33$	69,26 ^b $\pm 2,72$
2.040,82	65,00 ^{abc} $\pm 3,06$	49,71 ^a $\pm 3,83$	37,37 ^c $\pm 2,54$
2.857,14	49,00 ^{bcd} $\pm 3,53$	46,83 ^d $\pm 5,22$	22,19 ^c $\pm 3,50$
4.000	42,17 ^d $\pm 5,17$	26,86 ^a $\pm 3,57$	22,19 ^c $\pm 2,92$

Cada dato es la media de cinco repeticiones de veinte larvas \pm el error típico.

Como se puede ver cuando se utiliza como disolvente metanol y acetona, la mortalidad del testigo es bastante elevada (29 % y 26 % respectivamente), sin embargo las larvas de *C. capitata*, parecen ser más tolerantes al THF ya que en este caso la mortalidad sólo fue del 7 %.

A los porcentajes de reducción de la emergencia de adultos, se le ajustaron tres rectas probits, cuyos parámetros se dan en el Cuadro 2.

El test de paralelismo para las tres rectas, no fue significativo al 5 % ($X^2 = 1,07$ con 2 grados de libertad), por lo que se pudieron representar por rectas de pendiente común $b = 2,7856 \pm 0,2965$ (Fig. 1).

Las potencias relativas y los límites fiduciales al 95 %, calculados tomando de referencia el THF fueron:

Disolvente	Potencia relativa	Límites fiduciales 95 %
Tetrahidrofurano	1 ^a	—
Metanol	0,8776 ^a	1,1425 ; 0,6962
Acetona	0,4537 ^b	0,5621 ; 0,3480

por lo que de acuerdo con el criterio de solapamiento de sus límites fiduciales, el THF se comportó igual que el metanol, mientras que cuando se usó acetona, los insectos fueron más tolerantes a la ciromacina.

DISCUSION

La aplicación tópica de soluciones de ciromacina a larvas de 7 días de *C. capitata* no produjo ningún efecto en los porcentajes de pupación, mientras que redujo la emergencia de adultos en proporción variable con las dosis y disolventes empleados.

La primera barrera que tienen que atravesar los insecticidas por contacto, es la capa de ceras de la cutícula, de aquí el importante papel que juegan los disolventes, ya que no sólo pueden facilitar la penetración de los insecticidas, sino que pueden permanecer en la cutícula constituyendo un almacenamiento tóxico (disolventes no volátiles). Por el contrario cuando el disolvente utilizado es muy volátil, éste se evapora rápidamente, con lo cual el insecticida permanece formando una solución saturada en la capa de ceras (BUSVINE, 1971).

En nuestros estudios empleamos tres disolventes volátiles: metanol, acetona y THF, y hemos comprobado que en la respuesta de *C. capitata* hacia la ciromacina influye considerablemente el producto empleado en la preparación de las disoluciones insecticidas.

No hemos utilizado el agua porque el tratamiento tópico, que es el método más sencillo de dosificar insectos particulares (FAO, 1969), supone la aplicación de cantidades muy pequeñas del insecticida que deben quedar rápidamente en forma de de-

Cuadro 2.—Parámetros de las rectas de regresión «probit», para el tratamiento tópico de larvas de siete días. Influencia del disolvente en la reducción de la emergencia de adultos

Parámetros	Acetona	Metanol	Tetrahidrofurano
a	-1,299	0,753	-0,169
b ± S.E	3,078 ± 0,901	2,365 ± 0,575	3,002 ± 0,434
DL ₅₀ (µg/g)	111,429	62,517	52,723
Límites 95 %	193,0189 97,3195	89,5983 52,8324	59,9515 45,7299
DL ₉₀ (µg/g)	289,734	217,270	140,605
Límites 95 %	1.457,1350 222,4846	815,8306 145,6800	206,8711 111,7635

pósitos sobre la cutícula de los individuos tratados, y aunque el agua es el disolvente más inocuo, la mayoría de los productos no forman soluciones verdaderas en ellas. Además, su volatilidad es baja respecto a una amplia gama de productos orgánicos y no ayudan al tóxico a atravesar la barrera cuticular.

La toxicidad de un plaguicida para un insecto, se puede ver considerablemente modificada en función del disolvente empleado. Así GORDON *et al.* (1989) encuentran que la aplicación tópica de diflubenzurón a pupas de *Delia radicum* no produce ningún efecto cuando usan suspensiones acuosas del insecticida, pero observan que la emergencia de adultos se reduce, si usan dime-tilsulfóxido como disolvente. Análogamente EL-OSHARD *et al.* (1985) encuentran que el tratamiento tópico de larvas de *M. domestica* con suspensiones acuosas de ciro-macina no es buen método porque no consiguen resultados reproductibles.

De los tres disolventes empleados, el metanol y la acetona resultaron ser bastante tóxicos *per se* para *C. capitata*, ya que produjeron en los testigos un 26 y un 29 % de mortalidad pupal respectivamente. Sin embargo, cuando se utilizó acetona como disolvente de diversos productos organofosforados, en tratamiento tópico de adultos de esta misma mosca, resultó ser inocuo (VIÑUELA, 1982).

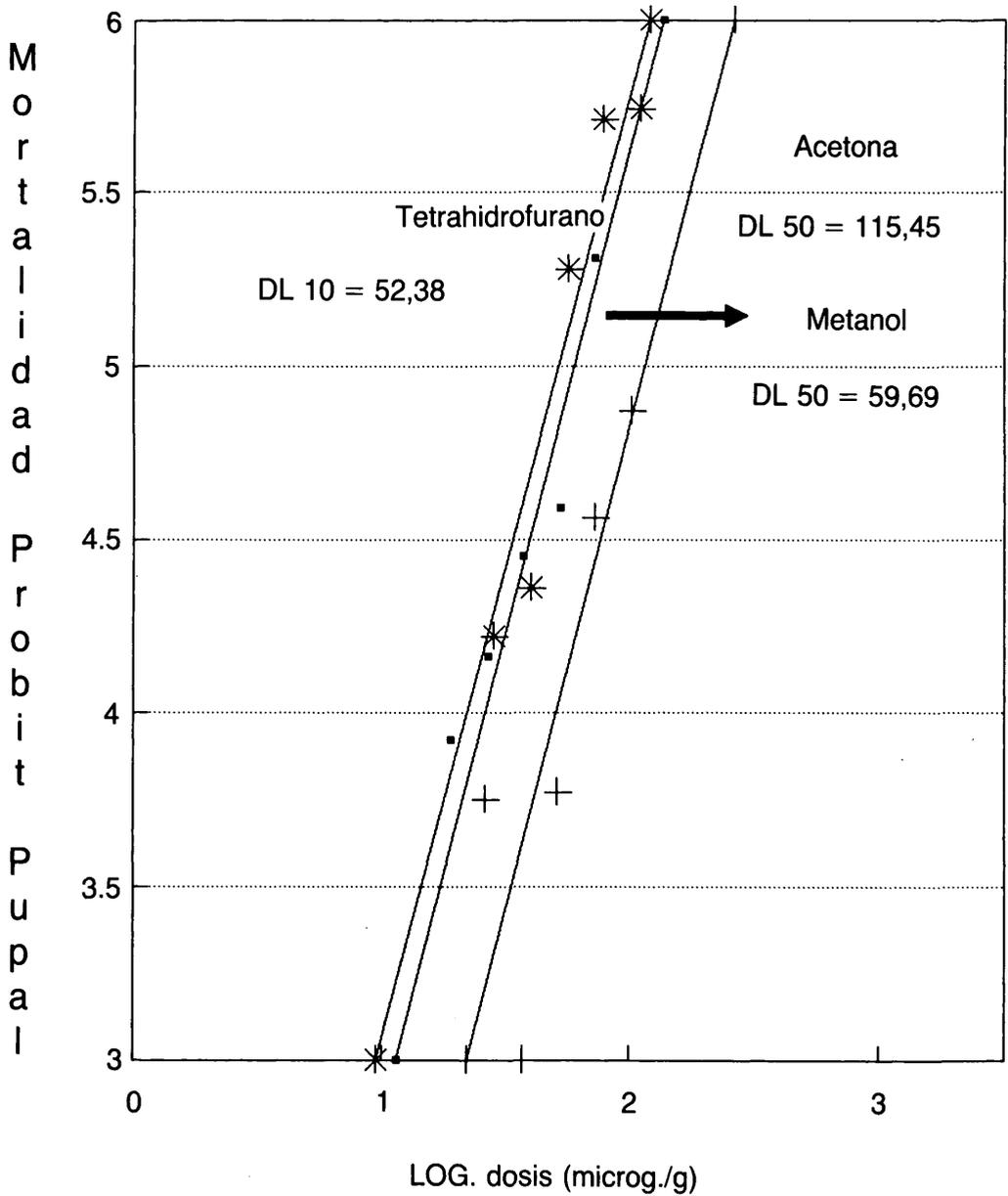
La susceptibilidad de una especie frente a los productos aplicados tópicamente varía pues notablemente con el estado de desarrollo de la misma. En los insectos holometábolos en general, son más susceptibles las larvas que las pupas jóvenes, por la dificultad que encuentra el tóxico en atravesar la cutícula pupal, que está más esclerotizada, en especial en aquellas especies que tienen pupa coartada. Esto ha sido comprobado por POCHON y CASSIDA (1983) en *M. domestica*, donde ven que la DL_{50} de pupas de menos de 1 hora, es aproximadamente un 30 % superior a la obtenida para larvas a punto de pupar. A tenor de los resultados obtenidos por VIÑUELA (1982) para la acetona, los adultos de *C. capitata*

parecen ser también más tolerantes que las larvas a este tóxico, y las razones no se pueden atribuir en este caso a una mayor esclerotización de la cutícula de los primeros, sino a la diferente composición cualitativa y cuantitativa de la misma en los diversos constituyentes, lo que se traduce en una mejor o peor penetración de los agentes externos.

También hay diferencias de sensibilidad entre estadios larvarios, y en general la toxicidad de un producto disminuye al incrementar el peso larvario y el estadio, aunque puede haber excepciones. KING y BENNETT (1988) encuentran que las ninfas de último estadio de *Blatella germanica* son las más tolerantes al fenoxicarb e hidropeno, cuando lo aplican tópicamente en acetona. CORBITT *et al.* (1989) observan que la toxicidad de la abamectina B1 disminuye desde el estadio 3.º al 5.º en *Spodoptera littoralis*, pero en el 6.º se incrementa 200 veces y lo atribuyen a problemas de penetración de este producto en los estadios jóvenes, ya que cuando inyectan el tóxico, obtienen mejores efectos. La penetración varía notablemente de unos tóxicos a otros, ya que los anteriores autores comprobaron que si empleaban cipermetrín, la sensibilidad de los estadios 4.º al 6.º era idéntica.

El metanol y el THF se comportaron de forma semejante para las larvas de *C. capitata* y las DL_{50} obtenidas para ellos fueron inferiores en más del 50 % a la calculada para la acetona, luego ambos productos potenciaron la acción tópica de la ciro-macina en este insecto por facilitar la entrada del insecticida hasta el «lugar sensible» dentro del mismo, ya sea aumentando la velocidad de entrada, como vieron POCHON y CASSIDA (1983) con el THF en *M. domestica*, o permitiendo que entre mayor cantidad de tóxico.

Nuestros resultados contrastan sin embargo con los obtenidos por los anteriores autores, ya que ellos vieron que el THF se comportaba de forma diferente al metanol y acetona, que eran peores disolventes. Nosotros hemos encontrado también que el THF es el disolvente que potencia más la



acción tóxica de la ciromacina en nuestra mosca, ya que la DL_{50} obtenida es la más pequeña, pero se comporta casi igual que el metanol, mientras que al usar acetona, la mosca tolera más cantidad de insecticida. La razón puede estar en diferencias cuticulares, de penetración o del mecanismo

sensible de cada especie, y en que POCHON y CASSIDA (1983) comparan las rectas pro-bit obtenidas sin obligarlas al paralelismo, por lo que al tener pendientes diferentes, la relación existente entre DL_{50} no se mantiene para otras DL.

Por otra parte, no podemos hablar de un

disolvente ideal sin tener en cuenta el insecticida que se va a aplicar, pues WRIGHT (1974) no obtuvo ningún efecto sobre la emergencia de adultos de *M. domestica*, y *Stomoxys calcitrans* al hacer tratamientos tópicos a pupas recién formadas, con varios derivados de la urea disueltos en metanol.

Por tanto, aunque dentro de los estados y estadios de desarrollo que no ofrecen dificultades de manipulación en el tratamiento tópico, hemos elegido para los ensayos aquel estadio de desarrollo que en principio tenía buena sensibilidad, las DL_{50} obtenidas son muy elevadas (entre 52 y

115 $\mu\text{g/g}$ = 1900 a 4500 ppm), por lo que la acción tóxica de la ciromacina, al utilizar estos disolventes, es mala en *C. capitata*, mientras que *M. domestica* exhibe una mayor sensibilidad (POCHON y CASSIDA, 1983).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología la concesión del Proyecto PPA 86-0050, gracias al cual ha sido posible la realización del presente trabajo.

ABSTRACT

BUDIA F., VIÑUELA E., ADAN A., JACAS J., DEL ESTAL P. y MARCO V., (1992): Influence of dissolvent upon susceptibility of *Ceratitis capitata* larvae to cyromazine. *Bol. San. Veg. Plagas*, **18** (2): 419-425.

Cyromazine [Trigard 75 WP (N-cyclopropyl-1-3, 5-triazine-2, 4, 6-triamine)], is an insect growth regulator recommended for dipteran control. It is effective by ingestion, inhibiting the larval development, as well as by topical administration just before pupation.

This compound was applied to 7-day-old larvae of *Ceratitis capitata*. The insecticide was dissolved using three different carriers: methanol, acetone and tetrahydrofuran. LD_{50} values (topical application, $\mu\text{g/g}$) attending to adult emergence were:

Acetone	115,45 $\mu\text{g/g}$
Methanol	59,69 $\mu\text{g/g}$
Tetrahydrofuran	52,38 $\mu\text{g/g}$

Key words: Cyromazine, dissolvents, *Ceratitis capitata*.

REFERENCIAS

- ALBAJES, R., 1978: Estudio en condiciones controladas de la influencia de diversos factores en el desarrollo de *Ceratitis capitata* y determinación de los niveles óptimos para la cría masiva con vistas a su empleo en lucha autocida. *Tesis doctoral*. ETSIA Madrid, 186 pp.
- BINNINTONG, K. C., 1985: Ultrastructural changes in the cuticle of the sheep blowfly *Lucilia*, induced by certain insecticides and biological inhibitors. *Tissue Cell*, **17**(1): 131-140.
- BLOOMCAMP, C. L.; PATTERSON, R. S.; KOELLER, P. G., 1987: Cyromazine resistance in the housefly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.*, **80**: 352-357.
- BUDIA, F.; VIÑUELA, E.; DEL ESTAL, P., 1988: Estudios preliminares de los efectos de la ciromacina sobre *Ceratitis capitata* (Diptera: Trypetidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **14**: 141-147.
- BUSVINE, J. R., 1971: *A critical review of the techniques for testing insecticides*. CAB London, 345 pp.
- CORBITT, T. S.; GREEN, A. St. J.; WRIGHT, D. J., 1989: Relative potency of abamectin against larval stages of *Spodoptera littoralis* (Boisd), *Heliothis armigera* (Hüb.), and *Heliothis virescens* (F) (Lepidoptera: Noctuidae). *Crop Protection*, **8**: 127-132.
- EL-OSHAR, M. A.; MOTAYAMA, N.; HUGHES, P. B.; DAUTERMAN, W. C., 1985: Studies on cyromazine in the house fly *Musca domestica*. *J. Econ. Entomol.*, **78**(6): 1203-1207.
- FAO, 1969: Métodos recomendados para la detección y la medición de la resistencia de plagas agrícolas a los plaguicidas. *Bol. Fitosan. FAO*, **17**(4): 76-82.
- FINNEY, D. J., 1971: *Probit analysis*. Cambridge University Press. 3.ª ed., 333 pp.
- FOSTER, R. E.; SÁNCHEZ, C. A., 1988: Effect of *Liromyza trifolii* larval damage on growth, yield and cosmetic quality of celery in Florida. *J. Econ. Entomol.*, **81**: 1721-1725.

- FRIEDEL, T., 1986: Cyromazine inhibits larval development of the dog flea *Ctenocephalis canis* (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Econ. Entomol.*, **79**: 697-699.
- FRIEDEL, T.; McDONELL, P. A., 1985: Cyromazine inhibits reproduction and larval development of the Australian sheep blow fly (Dip: Calliphoridae). *J. Econ. Entomol.*, **78**(4): 868-873.
- GORDON, R.; YOUNG, T. L.; CORNECT, M., 1989: Effects of two insect growth regulators on the larval and pupal stages of the cabbage maggot (Dip: Anthomyiidae). *J. Econ. Entomol.*, **89**(4): 1040-1045.
- HALL, R. D.; FOESHE, M. C., 1980: Laboratory and field tests of CGA-72662 for control of the house fly and face fly in poultry, bovine or swine manure. *J. Econ. Entomol.*, **73**: 564-569.
- HUGHES, P. B.; DAUTERMAN, W. C.; MOTOYAMA, N., 1989: Inhibition of growth and development of tobacco Hornworm (Lep: Sphingidae) larvae by cyromazine. *J. Econ. Entomol.*, **82**(1): 45-51.
- KING, J. E.; BENNET, G. W., 1988: Mortality and developmental abnormalities induced by two juvenile hormone analogs on nymphal german cockroaches (Dyctioptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, **81**(1): 225-227.
- MULLA, M. S.; AXELROD, H., 1983b: Evaluation of the IGR larvadex as a feed-through treatment for the control of pestiferous flies on poultry ranches. *J. Econ. Entomol.*, **76**: 515-519.
- OVERMAN, A. J.; PRICE, J. F., 1984: Application of avermectin and cyromazine via drip irrigation, and fenamiphos by soil incorporation for control of insect and nematode pest in chrisanthemus. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, **97**: 304-306.
- PARRELLA, M. P.; CHRISTIE, G. D.; ROBB, K. L., 1983: Compatibility of insect growth regulators and *Chrysocharis parksi* (Hym: Eulophidae) for the control of *Liriomyza trifolii* (Dip: Agromyzidae). *J. Econ. Entomol.*, **76**: 949-951.
- POCHON, J. M.; CASIDA, J. E., 1983: Cyromazine sensitive stages of house fly development: influence of penetration metabolism and persistency on potency. *Entomol. Exp. Appl.*, **34**: 251-256.
- ROSS, D. C.; BROWN, T. M., 1982: Inhibition of larval growth in *Spodoptera frugiperda* by sublethal dietary concentrations of insecticides. *J. Agr. Food Chem.*, **30**: 196-197.
- SHEN, J.; PLAPP, Jr., F. W., 1990: Cyromazine resistance in the house fly (Dip.: Muscidae): genetics and cross-resistance to Diflubenzuron. *J. Econ. Entomol.*, **83**(5): 1689-1697.
- VINUELA, E., 1981: Resistencia de los insectos a los insecticidas. Normalización del método para su detección en laboratorio en la mosca mediterránea de las frutas *Ceratitis capitata*. *Tesis Doctoral*. UPM. Madrid, 244 pp.
- 1982: Influence of cold and carbon dioxide anaesthesia on the susceptibility of adults of *Ceratitis capitata* to malathion. *Ent. exp. appl.*, **32**: 296-298.
- WRIGHT, J. E., 1974: Insect growth regulators: laboratory and field evaluation of thompson Hwara TH-6040 against the house fly and the stable fly. *J. Econ. Entomol.*, **63**(3): 746-747.
- YATHOM, S.; ASCHER, K. R. S.; TAL, S.; NEMNY, N. E., 1986: The effect of cyromazine on different stage of *Liriomyza trifolii* (Burgess). *Israel J. Entomol.*, **XX**: 85-93.