

Efecto del tratamiento con fenoxycarb sobre huevos de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep. Pyralidae)

J. MORENO-MARI, N. HAWLITZKY Y R. JIMÉNEZ

Se estudia el efecto del tratamiento por inmersión con concentraciones de 0.1, 0.5, 1, 5, 10 y 50 µg/ml de fenoxycarb sobre los huevos de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep. Pyralidae). Los resultados obtenidos no muestran una actividad ovicida del fenoxycarb habiéndose obtenido tasas de eclosión del orden del 97,5 % - 100 % para los controles y del 92,5 %-100 % para los lotes tratados. La tasa de mortalidad larvaria es mayor en algunos de los lotes tratados pero presenta una gran variabilidad.

J. MORENO-MARI y R. JIMÉNEZ. Departamento de Biología Animal, B. Celular y Parasitología, Universitat de Valencia, Burjasot, Valencia (España).

N. Hawlitzky: Station de Zoologie, INRA-CRA Versailles, Francia.

Palabras Clave: *Ephestia kuehniella*, fenoxycarb, efecto ovicida.

INTRODUCCION

Desde que RIDDIFORD & WILLIAMS (1967) señalaran la actividad de los análogos de la HJ sobre la embriogénesis de los insectos, los resultados de las investigaciones realizadas por otros autores han confirmado la acción ovicida de este tipo de compuestos. Los trabajos realizados por RIDDIFORD (1971) sobre el efecto de este tipo de análogos sobre la embriogénesis de insectos han revelado que estos análogos de la HJ actúan sobre el desarrollo embrionario de los insectos produciendo una detención del desarrollo a nivel de la blastocinesis.

Este efecto ha sido constatado posteriormente por otros autores (RETNAKARAN, 1973, 1974, 1975; CHEN & WYATT, 1981; PELEG, 1982, 1983; RENTNAKARAN *et al.*, 1985; KELLY & HUEBNER, 1987; MASNER *et al.*, 1987, COATS, 1990). MATOLIN (1970) en un estudio sobre *Pyrhocoris apterus* L.

señala que el efecto ovicida de estos análogos es función del momento de desarrollo en el que se realiza el tratamiento: cuando éste se realiza antes o en el momento en que tiene lugar la blastocinesis, se produce una detención en el desarrollo en el momento en que ésta tiene lugar, pero si dicho tratamiento se realiza cuando ésta ha concluido, no se observa este efecto ovicida pero sí una alteración de la metamorfosis.

El efecto ovicida del fenoxycarb, análogo estructural del grupo de los fenilcarbamatos, sobre Lepidópteros ha sido señalado sobre *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (RETNAKARAN, 1980), *Plodia interpunctella* (Hbn.), *Sitotroga cerealella* (Olivier), *Ephestia cautella* (Walker) (KRAMER *et al.*, 1981), *Eupoecilia ambiguella* (Hbn.), *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.) (CHARMILLOT *et al.*, 1983), *Heliothis virescens* (F.) (Masner *et al.*, 1987), *Ostrinia nubilalis* (Hbn.) (MAUCHAMP *in lit.*). DE REEDE *et al.* (1984)

en un estudio sobre los efectos de este análogo sobre *Adoxophyes orana* (F.V.R.) y *Pandemis heparana* (Den. & Schiff.) señala que si bien no se presenta un efecto ovicida, sí que se produce una alteración de la metamorfosis con la formación de larvas con importantes alteraciones morfogénicas.

En este sentido, en el Laboratorio de Entomología del Departamento de Biología Animal de la Universitat de Valencia (España), iniciamos, en colaboración con la Station de Zoologie del INRA de Versailles (Francia), un estudio de los efectos ovicida y morfogénico del fenoxycarb sobre *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep. *Pyralidae*) y la relación de estos efectos con la edad de los huevos tratados.

MATERIAL Y METODOS

Naturaleza del fenoxycarb

El fenoxycarb (etil [2-(p-fenoxifenoxi) etil] tiocarbamato) (Ro13-5223) (DORN *et al.*, 1981) ha sido obtenido gracias al Dr. MAUCHAMP (INRA-CRA de Versailles (Francia) de los laboratorios Dr. R. Maag LTD (Dielsdorf, Suiza). La formulación utilizada ha sido la granulada con 95 % AI, la cual era mantenida a -10° C. Las concentraciones utilizadas (0.1, 0.5, 1, 10 y 50 µg/ml.) se han obtenido por dilución de este granulado en acetona en frío.

Material biológico sometido a tratamiento

El estudio se ha realizado sobre *Ephestia kuehniella* Zeller. El material con el que se han realizado las experiencias procede de la colonia existente en la Station de Zoologie del INRA de Versailles. Para la cría de la misma hemos utilizado la metodología puesta a punto y descrita por BILIOTTI & DAUMAL (1969).

Para la realización de la experiencia se recogen los huevos puestos durante un período de 1/2 hora. Estos huevos serán tratados posteriormente cuando alcancen la edad con-

venida para el tratamiento, salvo aquellos que se constituyan como lotes testigo. Los tratamientos han sido realizados sobre huevos que se encontrasen en momentos de desarrollo anteriores (24 y 48 h) y posteriores (120 h) a la blastocinesis, así como sobre huevos cuyo embrión se encontrase en el momento del tratamiento en dicha fase del desarrollo (96 h), con el fin de poder determinar en qué momento del desarrollo se presentan efectos y si éstos varían en función de la edad a la cual son sometidos a tratamiento.

Con el fin de tener una datación precisa del material estudiado, los huevos son criados individualmente desde el momento en que se realiza el tratamiento hasta que la larva emergida de éstos alcanza el último estado larvario. Cada uno de estos huevos es emplazado en una caja de plástico transparente de 22 mm × 2 mm o de 30 mm × 10 mm. En cada una de estas cajas se coloca 1 g de sémola aproximadamente, suficiente para asegurar la alimentación de la larva neonata. Una mayor cantidad de sémola aumenta el riesgo de producir daño durante la búsqueda de la larva. Cada caja, una vez numerada, es herméticamente cerrada. Cuando la larva alcanza el tercer estado, la tapa de la misma es reemplazada por otra tapa provista de un orificio cubierto con una tela metálica de 2 mm de tamaño de malla que asegura un intercambio constante de aire. En este momento, y dado que las necesidades alimenticias de la larva de este estado y sucesivos son más importantes, se añade 1 g de sémola, aproximadamente, a la ya existente. Las orugas producen hilos de seda y granos de sémola para la crisalidación, lo que facilita su búsqueda y observación entre la sémola.

La caracterización de los estados larvarios ha sido realizada por la medida de las cápsulas cefálicas (altura y anchura) y para ello hemos utilizado como referencia los valores obtenidos por HAWLITZKY & CHEVIN (1979). La medida de las cápsulas cefálicas se ha realizado con ayuda de un micrómetro ocular utilizado sobre un microscopio estereostópico.

Efectos sobre el desarrollo preimaginal de *E. kuehniella*

El tratamiento se ha realizado por inmersión pues no hemos conseguido poner a punto una metodología adecuada para el tratamiento tóxico de los huevos debido al pequeño tamaño de los mismos. Los huevos de un mismo lote que van a ser tratados son colocados sobre un recipiente cóncavo de tela metálica de 2 mm. de tamaño de malla con ayuda de un pincel y, seguidamente, son sumergidos en la solución durante 2-3 segundos, tras lo cual se retiran y se secan con ayuda de un papel de filtro para eliminar el exceso de producto. Hemos realizado la inmersión en un pocillo histológico en el cual se había depositado momentos antes la solución, y que se encuentra incluido en una cubeta con hielo, a fin de que la baja temperatura reduzca al mínimo la evaporación de la acetona que utilizamos como disolvente. Los efectos de la acetona son también analizados.

El material tratado es revisado cada 2 días.

Para el estudio de los efectos hemos considerado los parámetros que a continuación se señalan:

1- tasa de eclosión ($TE = \frac{N^{\circ} W EC}{N^{\circ} W E} \times 100$),

2- duración del desarrollo embrionario (TMDE),

3- duración del desarrollo larvario (TMDL),

4- tasa de mortalidad larvaria ($TML = \frac{N^{\circ} L M}{N^{\circ} W E} \times 100$),

5- tasa de emergencia del adulto (TEA),

6- número de estados larvarios, y,

7- presencia de anomalías morfológicas siendo:

$N^{\circ} W EC$ = número de huevos eclosionados,

$N^{\circ} W E$ = número de huevos estudiados,

$N^{\circ} L M$ = número total de larvas muertas.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados hemos realizado el análisis de la varianza según el GLM Procedure (SAS Institute, 1982) seguido del test F ($P = 0,05$) para lo cual ha sido necesario transformar los porcentajes y tasas por el arcoseno de la raíz cuadrada de su valor. Previamente se ha realizado un test T sobre las diferencias de las medias obtenidas entre el testigo y el lote tratado con acetona para evaluar los posibles efectos del disolvente.

RESULTADOS

En el Cuadro 1, se presentan los valores medios obtenidos para la tasa de eclosión, el tiempo medio de desarrollo larvario y embrionario, la tasa de mortalidad larvaria, y la tasa de emergencia del adulto.

El análisis de las diferencias entre las medias para los lotes testigo y tratado con acetona no ha revelado ninguna diferencia significativa. El análisis estadístico de estos resultados no han revelado una diferencia significativa en la tasa de eclosión como consecuencia del tratamiento ($F = 0,1535$, 1 d.f.; $P < 0,05$). Los resultados obtenidos para la duración de los desarrollos embrionario y larvario, no ofrecen tampoco ninguna diferencia como consecuencia del tratamiento para ninguna de las edades consideradas tal y como se puede deducir de la simple observación del Cuadro.

En cuanto a la tasa de mortalidad larvaria, el análisis de los resultados obtenidos ha revelado una gran variabilidad, por lo que no hemos realizado un análisis estadístico de los mismos. Mientras que para algunos de los lotes tratados se ha podido observar un aumento de la misma, en otros esta tasa es incluso menor que para el lote testigo. Además, en la mayoría de los casos, este aumento de la mortalidad no se produce en el mismo sentido que la concentración utilizada. Sólo hemos podido encontrar un efecto claro del fenoxi-

Cuadro 1.- Valores medios obtenidos para la tasa de eclosión (TE) (%), para el tiempo de desarrollo embrionario (TMDE) (en días), para el tiempo de desarrollo larvario (TMDL) (en días), para la tasa de mortalidad larvaria (TML) (%), y para la tasa de emergencia del adulto (TEA) (%).

		Edad				
		Lote	24h	48h	96h	120h
T E	Testigo		97,5	100,0	100,0	97,5
	Acetona		100,0	100,0	100,0	100,0
	0,1 µg/ml		92,5	95,0	100,0	95,0
	0,5 µg/ml		97,5	92,5	100,0	95,0
	1 µg/ml		90,0	100,0	100,0	97,5
	5 µg/ml		100,0	92,5	95,0	92,5
	10 µg/ml		97,5	92,5	100,0	92,5
	50 µg/ml		97,5	97,5	97,5	100,0
	T M D E	Testigo		6	7	6
Acetona			6	7	6	6
0,1 µg/ml			6	7	7	7
0,5 µg/ml			7	7	7	6
1 µg/ml			7	7	7	7
5 µg/ml			7	6	7	7
10 µg/ml			7	7	7	7
50 µg/ml			6	7	7	7
T M D L		Testigo		65	70	75
	Acetona		66	69	70	67
	0,1 µg/ml		72	75	78	74
	0,5 µg/ml		62	73	76	70
	1 µg/ml		77	78	71	74
	5 µg/ml		71	70	70	69
	10 µg/ml		73	72	75	70
	50 µg/ml		67	69	72	71
	T M L	Testigo		5,1	5,0	2,5
Acetona			7,5	5,0	5,0	2,5
0,1 µg/ml			15,2	5,3	10,0	10,5
0,5 µg/ml			5,1	5,4	2,5	13,2
1 µg/ml			5,5	7,5	2,5	12,8
5 µg/ml			7,5	10,8	5,0	5,4
10 µg/ml			2,8	13,5	10,0	5,4
50 µg/ml			10,3	14,3	5,0	10,0
T E A		Testigo		92,5	95,0	87,2
	Acetona		92,5	95,0	95,0	97,5
	0,1 µg/ml		86,5	94,7	89,5	85,0
	0,5 µg/ml		92,5	94,6	86,8	82,5
	1 µg/ml		94,9	92,5	87,2	85,0
	5 µg/ml		92,5	89,2	94,6	87,5
	10 µg/ml		95,0	86,5	94,6	87,5
	50 µg/ml		89,7	94,9	92,5	90,0

carb y una relación con la concentración sobre los huevos de 48 h, mientras que para los lotes testigo y acetona, así como para las concentraciones de 0,1 y 0,5 µg/ml, la tasa de mortalidad larvaria se mantiene alrededor del 5 %, para la concentración de 1 µg/ml es del 7,5 % aumentando al 10,8, 13,5 y 14,3 % para las concentraciones de 5, 10, y 50 µg/ml, respectivamente. Para las otras edades, si bien se encuentra un pequeño aumento de la mortalidad larvaria, la gran variabilidad de los datos obtenidos no permite la extracción de resultados concluyentes.

La tasa de emergencia del adulto no presenta diferencias significativas en función del tratamiento ($F=0,4650$, 1 d.f.; $P<0,05$), la concentración utilizada ($F=0,5580$, 5 d.f.; $P<0,05$), ni la edad de los huevos tratados ($F=0,0347$, 3 d.f.; $P<0,05$).

En ninguno de los casos estudiados hemos podido observar la presencia de anomalías morfogenéticas en los individuos obtenidos de huevos tratados ni sobre el estado tratado, ni sobre estados posteriores de desarrollo. El número de estados larvarios ha sido en todos los casos estudiados de 6.

DISCUSION

Como ya indicábamos en la introducción, diversos autores han encontrado una acción ovicida en Lepidópteros de este tipo de productos, y más concretamente del fenoxycarb. Los resultados por nosotros obtenidos indican que esta sustancia no ejerce dicha acción sobre *E. kuehniella* en contra de lo que ha sido señalado para otras especies de Lepidópteros *Pyralidae*. El bloqueo a nivel de la blastocinesis que ha sido señalado como la causa en la reducción en la tasa de eclosión por los autores anteriormente citados, no tiene lugar en el caso de *Ephestia kuehniella* para ninguna de las concentraciones utilizadas.

Se proponen dos hipótesis para explicar la ausencia de efectos:

— que el fenoxycarb no presenta ningún efecto sobre el desarrollo embrionario "per se", o bien,

— que la ausencia de efectos sobre los huevos se debe a que la naturaleza del exocorió de los mismos, posiblemente impermeable a este tipo de sustancias, impide el paso al interior del huevo del producto.

La impermeabilidad de los huevos de *E. kuehniella* a otros productos, tales como determinados fijadores químicos como el Duboscq-Brasil que hemos podido observar durante la realización de otras experiencias (datos no publicados) y que nos obliga a la eliminación del exocorió para conseguir la fijación del embrión, parece apoyar esta segunda hipótesis.

Por lo que respecta a la tasa de mortalidad, pese a la gran variabilidad, existe un aumento de la misma como consecuencia del tratamiento con el fenoxycarb. Esto estaría de acuerdo con los resultados obtenidos por MATOLIN (1970) sobre *Pyrrhocoris apterus* y sobre lepidópteros por DE REEDE *et al.* (1984) sobre *Adoxophyes orana* (F.v.R.) y *Pandemis heparana* (Den. & Schiff.). A diferencia de los resultados por nosotros obtenidos, este autor encontró que el tratamiento de huevos de las mismas con fenoxycarb, si bien producía un aumento de la mortalidad larvaria, éste iba acompañado de una alteración de la metamorfosis con la formación de larvas con anomalías morfogenéticas. Además, los resultados obtenidos por este autor indican una relación entre los efectos observados, la concentración utilizada y el momento del desarrollo en que se realice el tratamiento, relación que nosotros no hemos podido establecer para *E. kuehniella*.

Si tenemos en cuenta lo que señalábamos anteriormente sobre la impermeabilidad de los huevos de *E. kuehniella*, pensamos que los efectos sobre las larvas serían debidos a la ingestión por la larva neonata del exocorió contaminado más que a un efecto como consecuencia de la penetración del fenoxycarb. La probabilidad de

que la larva perfore el exocorión por zonas más o menos contaminadas con fenoxycarb determinaría la tasa de mortalidad encontrada. Esto podría explicar la gran variabilidad de la tasa de mortalidad observada así como la ausencia de relación entre la concentración utilizada, la edad de los huevos tratados y la tasa de mortalidad encontrada.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado a través del Programa de Becas de Postgrado de la C.I.C.Y.T.

Nuestro agradecimiento a los Dres. P. BARRY, B. MAUCHAMP (INRA-CRA Versailles, Francia) y M. J. VERDU (I.V.I.A., Valencia, España) por la ayuda prestada en la realización del presente trabajo.

ABSTRACT

MORENO-MARI, J., N. HAWLITZKY & R. JIMÉNEZ (1993): Effects of the eggs treatment by fenoxycarb on the development of the *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep. Pyralidae). *Bol. San Veg. Plagas*, **19** (1): 11-17.

Eggs of *Ephestia kuehniella* were dipped into fenoxycarb concentrations of 0.1, 0.5, 1, 5, 10 y 50 µg/ml. The percentage hatching was not affected by the treatment at any of the concentrations tested, being 97,5 %- 100 % for controls and 92,5 % - 100 % for eggs treated. Larval mortality increased slightly but showed great variability. The impermeability to fenoxycarb of the eggs of *Ephestia kuehniella* is hypothesized.

Key Words: *Ephestia kuehniella*, fenoxycarb, ovicidal effects eggs.

REFERENCIAS

- BIBLIOTTI, E. & DAUMAL, J. (1969): Biologie de *Phanerotoma flavitestacea* Fischer (Hym., Braconidae). Mise au point d'un élevage permanent en vue de la lutte biologique contre *Ectomyelois ceratoniae* Zell. *Ann. Zool. Ecol. anim.*, **1**, 379-394.
- CHARMILLOT, P. J., FRISCHKNECHT, M. L., SCHMID, A. & HOEHN, H. (1886): Lutte contre les vers de la grappe cochylis (*Eupoecilia ambiguella* Hbn.) et eudémis (*Lobesia botrana* Den. & Schiff.) au moyen d'un régulateur de croissance d'insectes utilisé pour son action ovicide. *Mitt. Schweiz. Ent. Ges.*, **59**, 251-262.
- CHEN, T. T. & WYAT, G.R. (1981): Juvenile hormone control of the vitellogenin synthesis in *Locusta migratoria*. In *regulation of Insect Development and Behaviour*. Part I. Edited by F. SEHNAL, A. ZABRA, J. MENN and B. CYMBOROWSKY. pp. 505-522. Wrocław Technical University Press. Wrocław, Poland.
- COATS, S. A. (1990): Ovicidal effects of fenoxycarb on eggs of fuller rose beetle, *Pantomorus cervinus* (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomol.*, **72**(1), 187-189.
- DORN, S., FRISCHKNET, M. L., MARTÍNEZ, V., ZURFLUH, R. & FISCHER, U. (1981): A novel non-neurotoxic insecticide with a broad activity spectrum. *Zeitschr. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz*, **88**, 269-275.
- HAWLITZKY, N. & CHEVIN, S. (1979): Etude expérimental des relations hôte-parasite chez les insectes. II. Action d'un parasite ovo-larvaire, *Phanerotoma flavitestacea* Fisch. (Hym. Braconidae) sur quelques caractères biologiques et anatomiques de son hôte, *Anagasta kuehniella* Zell. (Lep., Pyralidae). *Arch. Zool. exp. gén.*, **120**, 337-352.
- KRAMER, S. J., BEEMAN, R. W. & HENDRICKS, L. H. (1981): Activity of Ro 13-5223 and Ro 13-7744 against stored-product insects. *J. Econ. Entomol.*, **74** (6), 678-680.
- KELLY, G. M. & HUEBNER, E. (1987): Juvenoid effects

- on *Rhodnius prolixus* embryogenesis. *Insects. Biochem.* **17** (7), 1079-1083.
- MASNER, P., ANGST, M. & DORN, S. (1987): Fenoxycarb, an insect growth regulator with juvenile hormone activity: A candidate for *Heliothis virescens* (F.) control on cotton. *Pestic. Sci.*, **18**, 89-94.
- MATOLÍN, S. (1970): Effects of a juvenile hormone analogue on embryogenesis in *Pyrrhocoris apterus* L. *Acta Ent. Bohem.*, **67**, 9-12.
- PELEG, B. A. (1982): Effect of a new insect growth regulator, RO13-5223 on scale insects. *Phytoparasitology* **10**, 27-31.
- PELEG, B. A. (1983): Effect of 3 Insect Growth Regulators on larval development fecundity and egg viability of the coccinellid *Chilocorus bipustulatus* [Col.: Coccinellidae]. *Entomophaga*, **28** (2), 117-121.
- REEDE, R. H. de, GROENDIJK, R.F. & WIT, A.K.H. (1984): Field tests with the Insect Growth Regulators, epofenonane and fenoxycarb, in apple orchards against leafrollers and sideeffects on some lefroller parasites. *Entomol. exp. appl.*, **35**, 275-281.
- RETNAKARAN, A. (1973): Ovicidal effect in the pine weevil, *Pissodes strobi* (Coleoptera: Curculionidae), of a synthetic analogue of juvenile hormone. *Canad. Ent.*, **105**, 459-461.
- RETNAKARAN, A. (1974): Induction of sexual maturity in the white pine weevil *Pissodes strobi* (Coleoptera: Curculionidae), by some analogues of juvenile hormone. *Canad. Ent.*, **106**, 831-834.
- RETNAKARAN, A. (1975): Hormone-mimetic and pharmacological effects of some juvenile analogues on the embryonic respiration of spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clemens). *Comp. Biochem. Physiol.*, **50 C**, 81-87.
- RETNAKARAN, A. (1980): Effect of 3 new moult-inhibiting insect growth regulators on the spruce budworm *Choristoneura fumiferana* (Clemens). *J. Econ. Ent.*, **73**, 520-524.
- RETNAKARAN, A. GRANETT, J. & ENNIS, T. (1985): Insect Growth Regulators. In: *Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology*. Vol. 12: Insect control. Ed. by G.A. KERKUT and L.I. GILBERT. pp. 529-601. New York: Pergamon Press.
- RIDDIFORD, L. M. (1971): Juvenile hormone and insect embryogenesis. *Mitt. Schweiz. Ent. Ges.*, **44**, 177-186.
- RIDDIFORD, L. M. & WILLIAMS, C.M. (1967) The effects of juvenile hormone analogues on the embryonic development of silkworms. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Amer.)*, **57**, 595-601.
- SAS INSTITUTE, 1982: *SAS user's guide: statistics*. SAS INSTITUTE, CARY, N. C.

(Aceptado para su publicación : 9 junio 1992)