

Efectos del hexaflumurón sobre la fecundidad y la fertilidad de *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae)

A. ADÁN, P. DEL ESTAL, F. BUDÍA, V. MARCO, J. JACAS y E. VIÑUELA

Se han estudiado los efectos del RCI hexaflumurón sobre la capacidad reproductora de *T. castaneum* cuando se tratan adultos de ambos sexos por ingestión. Los resultados se obtuvieron tras interrumpir el tratamiento. No se observó una reducción significativa de la fecundidad para el rango de dosis empleado, pero sí se obtuvo una inhibición del 100 % en la eclosión para todas ellas. A lo largo del ensayo, las parejas llegaron a poner huevos viables, de forma inversamente proporcional a la concentración aplicada. La eficacia en la reducción de la eclosión fue mayor también si los adultos emergían en dieta tratada.

A. ADÁN, P. DEL ESTAL, F. BUDÍA, V. MARCO, J. JACAS y E. VIÑUELA. Unidad de protección de cultivos, ETSIA Agrónomos, Ciudad Universitaria, 28040 - Madrid.

Palabras clave: *Tribolium castaneum*, hexaflumurón, quitina, fertilidad.

INTRODUCCION

El hexaflumurón es un inhibidor de la quitina (del grupo de las Benzoilfenil ureas) registrado recientemente en nuestro país, para su uso en hortícolas, frutales y forestal. Este producto actúa principalmente como veneno estomacal en larvas, pero como todos los reguladores del crecimiento presenta otros efectos que complementan su acción tóxica (GAZIT *et al.*, 1989; ISHAAYA, 1992). Por ejemplo este producto tiene una acción tóxica cuya importancia varía con las especies; también produce mortalidad diferida en la pupación y en la emergencia, y puede causar al tratar a adultos, alteraciones en su capacidad reproductora.

Tribolium castaneum es una de las plagas de almacén más representativas (CHAMP & DYTE, 1976). Cosmopolita, con un elevado número de generaciones al año y con uno de los porcentajes de resistencia más elevados (DYTE, 1982) causa anualmente importantes

pérdidas en los cereales y en una amplia gama de productos almacenados (HILL, 1990; ZETTLER, 1991; MABBETT, 1993).

Ante la necesidad creciente por un lado, de nuevos productos para el control de plagas de almacén (REICHMUTH, 1989), y desconociéndose todavía por otro, muchos de los aspectos de la acción en la reproducción de este nuevo producto y de su desigual resultado en distintas especies, el objetivo de este trabajo se ha centrado en descubrir los efectos del hexaflumurón al tratar adultos por ingestión, en esta plaga de almacén.

MATERIALES Y METODOS

Material biológico

Se ha trabajado con una población de laboratorio, no expuesta a tratamientos químicos anteriores. La cría se ha realizado según el método descrito por DEL ESTAL *et al.*,

(1983), en un medio compuesto por harina de trigo y levadura de cerveza en proporción 20:1. La cría y el desarrollo de los ensayos se han realizado en insectario, a $27 \pm 2^\circ \text{C}$ de temperatura y $70 \pm 5 \%$ de humedad relativa.

Insecticida

El insecticida utilizado ha sido el preparado comercial «Consult 10 EC» de la compañía Dow Chemical Ibérica. Es un concentrado emulsionable con una riqueza de 100 g de materia activa/litro de hexaflumurón (N-((3,5-dicloro, 4-(1, 1, 2, 2-tetrafluoretoxi)fenil) amino)-carbonil)-2,6-difluorobenzamida).

Método de ensayo

El experimento ha constado de 10-12 repeticiones por dosis y testigo. Cada repetición está formada por una sola pareja. El rango de dosis empleado ha sido de 1, 10, 100 y 200 mg de i.a./kg de dieta. Para cada repetición se emplearon pocillos de cristal (29×35 mm), cerrados con tapas de plástico duro, con 5 gramos de dieta tratada cada uno.

El insecticida se incorpora a la dieta disuelto en acetona, dejándose evaporar durante 24 horas, a una temperatura ambiente de 27°C . A continuación se ha homogeneizado la distribución en una mezcladora modelo «Turbula». Para el control se añade el disolvente a la harina. Cada pareja se ha mantenido en harina tratada durante 30 días.

Las parejas se sexan en la fase de pupa. En la dosis de 200 mg/kg, se tratan adultos de 7-9 días de edad, mientras que para el resto, el tratamiento se inicia con pupas a punto de emerger, de forma que en las primeras horas tras la muda, se alimenten con el insecticida.

El recuento de la puesta se ha realizado siempre después de interrumpir el tratamiento, realizando la extracción con un

tamiz de 0,21 mm de luz. Los huevos recolectados se depositan en otros pocillos de cristal iguales a los empleados con las parejas, pero sin dieta. Diariamente se observa si hay eclosión, y una vez que se inicia ésta, las observaciones pasan a ser de dos veces al día, retirándose las larvas neonatas a otros botes con dieta no tratada. De esta forma evitamos el posible canibalismo. Tanto el manejo de huevos como de larvas se realiza con pincel.

Para la observación al microscopio de una muestra de huevos no viables, se aclararon con ácido láctico al 70 % y se tiñeron con el colorante rosa lignina. Cuando estuvieron suficientemente aclarados, se montaron en un porta sobre Hoyer.

Análisis de datos

La puesta, se ha expresado como el número medio de huevos recolectados a los 13 días de interrumpir el tratamiento (puesta acumulada) para cada dosis y testigo. La eclosión se ha medido como el porcentaje medio, de las larvas neonatas obtenidas respecto del número de huevos puestos. Se ha realizado el cálculo de las eficacias correspondientes, a partir de la fórmula de Abbot.

Para todos los valores medios, se da también el error típico (ET).

RESULTADOS Y DISCUSION

Efectos en la fecundidad

Los valores medios de la puesta acumulada a los 13 días, se dan en el Cuadro 1. El hexaflumurón no ha tenido efecto en la fecundidad de adultos de *T. castaneum*. Sólo obtenemos una moderada reducción en la dosis de 100 mg/kg, mientras que para la dosis mayor, 200 mg/kg, no encontramos diferencias con el testigo. CARTER (1975) no observó ningún efecto en la fecundidad, al tratar con diflubenzurón (benzoilfenil urea también) por ingestión sobre adultos de

esta especie, a una dosis máxima de 3 mg/kg, lo que está de acuerdo con nuestros resultados para las concentraciones más bajas empleadas, 1 y 10 mg/kg. En ningún caso hemos comprobado el efecto contrario, un aumento significativo de la fecundidad en los individuos tratados, como si observaron MIAN y MULLA (1982) al tratar por ingestión con diflubenzurón y triflumurón sobre adultos de *T. castaneum*. Sin embargo la razón de estos resultados, puede deberse a que estos autores no trabajaron con parejas individualizadas, sino con 15 adultos extraídos al azar, para cada repetición.

La fecundidad correspondiente a la dosis mayor, 200 mg/kg, no difiere de la del testigo. Esto puede deberse a que en este caso los adultos fueron tratados después de la emergencia, cuando su tegumento está completamente formado. Aunque el hexaflumurón en principio no produce mortalidad en los adultos, durante la muda que se produce en la emergencia, es mucho más vulnerable a la acción de un inhibidor de la quitina. De hecho, en anteriores ensayos, al tratar la dieta con 300 mg/kg, e introducir pupas a punto de emerger no obtuvimos adultos supervivientes, sino formas intermedias pupa-adulto o adultos ya formados pero muertos. Para 200 mg/kg aunque si hubo supervivientes, más del 50 % de las parejas con las que se inició el ensayo se habían perdido al final. KOEHLER y PATTERSON (1989) al tratar con dosis elevadas de dos benzoilfenil ureas (triflumurón y UC-84572) por vía oral a adultos recién emergidos de *Blatella germanica*, encontraron una disminución de la longevidad de los machos.

Efectos en la fertilidad

En las figuras 1 y 2, se da la evolución a lo largo del ensayo del efecto en la fertili-

dad. Se observa que para todas las dosis se ha producido una inhibición completa de la fertilidad. Igualmente este efecto ha sido reversible en todos los casos, pero de forma inversamente proporcional a la dosis aplicada. La inhibición o reducción de la fertilidad ha sido señalada en numerosas especies de insectos e incluso de ácaros y es común a todas las benzoilfenil ureas. Sin embargo la eficacia varía con la distinta sensibilidad de las especies y la potencia del producto empleado. Así, si comparamos nuestros resultados con los de CARTER (1975) en *T. castaneum*, el hexaflumurón tiene una acción más tóxica que el diflubenzurón, puesto que para 3 mg/kg de este producto, no se obtuvo una inhibición completa de la eclosión. La mayor duración del efecto en el caso del hexaflumurón frente al diflubenzurón se ha señalado también en el nitidulido *Carpophilus hemipterus* (ASCHER *et al.*, 1986). La reversibilidad del efecto al cesar el tratamiento, se cita también prácticamente en todos los trabajos donde se realizó el seguimiento, independientemente de la especie y de la benzoilfenil urea ensayados. Los mejores resultados de persistencia del efecto, no corresponden a un tratamiento por ingestión sino por inmersión con penflurón de adultos de *Anthonomus grandis*, ya que se obtuvo una inhibición completa de la eclosión durante ocho semanas (OLIVER *et al.*, 1977).

Las razones de la falta de persistencia del efecto sobre la fertilidad apuntan a una detoxificación del producto por parte de los adultos. Así, CHANG y BORKOVEC (1980) establecieron una relación directa entre la cantidad de diflubenzurón o penflurón (marcado radioactivamente) que inyectaron a hembras de *Musca doméstica* y la cantidad de producto translocado al huevo. De la cantidad de producto presente en el huevo, dependía a su vez la eclosión. Con el tiempo las hembras llegaron a poner huevos viables, cuando el

Cuadro 1.—Puesta media acumulada por hembra \pm error típico, a los 13 días de cesar el tratamiento

Dosis (mg/kg)	0	1	10	100	200
Puesta _{media} \pm e.t.	85,6 \pm 10,6 ^a	85,3 \pm 12,8 ^a	89,4 \pm 7,0 ^a	68,6 \pm 10,2 ^a	83,1 \pm 5,6 ^a

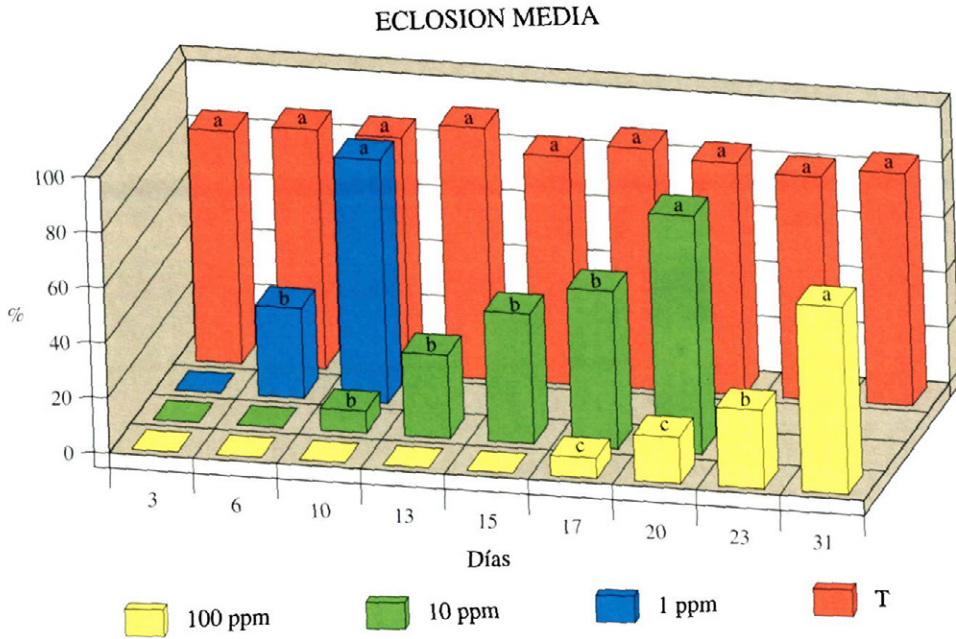


Fig. 1.-Porcentajes medios de eclosión en tratamientos de adultos desde la emergencia.

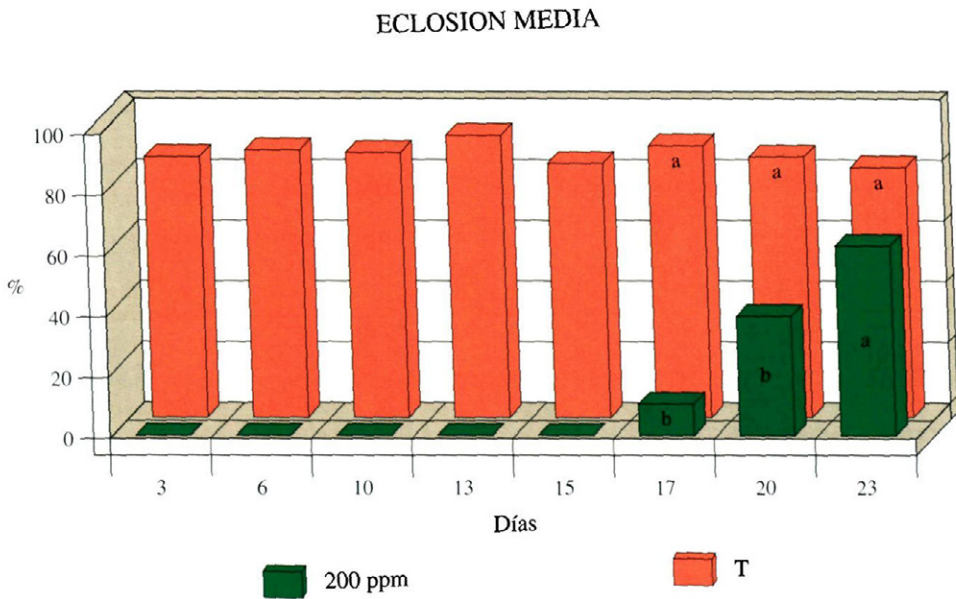


Fig. 2.-Porcentajes medios de eclosión en tratamientos de adultos desde el 7-9 día después de la emergencia.

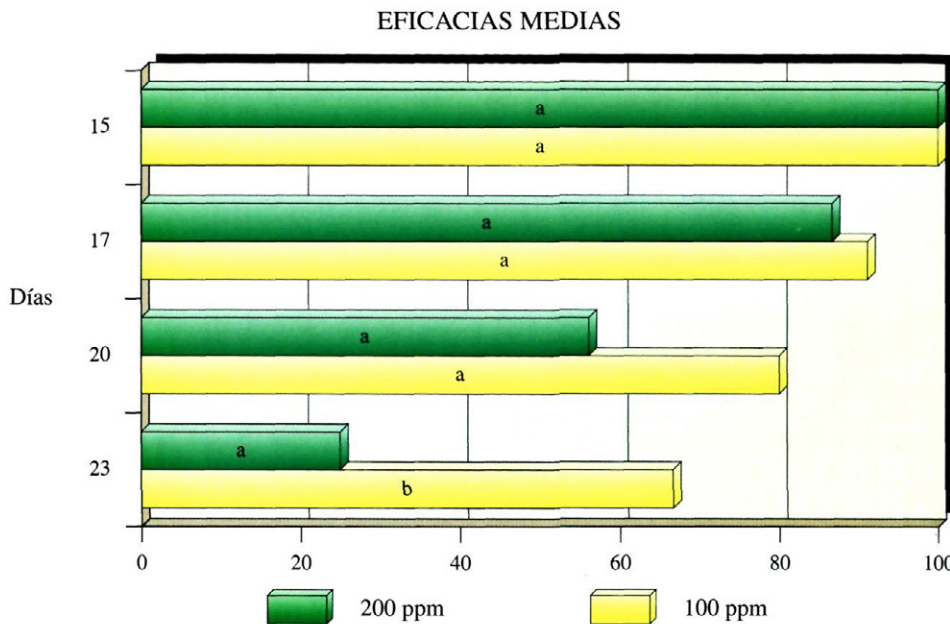


Fig. 3.-Eficacias medias en la reducción de la fertilidad respecto del control, para las mayores dosis.



Fig. 4.-Embrión de *Tribolium castaneum*.

producto inyectado fue metabolizado y excretado. Esto explica no sólo la desaparición del efecto, sino también el que para dosis mayores, permanezca más tiempo.

Al observar por microscopio las preparaciones de huevos, se puede ver a la larva o embrión aparentemente formada dentro de la cubierta del huevo (Figura 4), razón por la que se ha señalado la conveniencia de nombrar a este efecto como embriocida, más que ovicida (RETNAKARAN y WRIGHT, 1987). Esta acción embriocida probablemente es semejante a la larvicida, aunque en este último caso las dosis letales son claramente inferiores (DEL ESTAL *et al.*, 1990), basadas en alterar el recambio de la vieja cutícula por la nueva. El embrión al igual que la larva aumenta de tamaño, y para ello experimenta varias mudas (CHANG, 1993). Por lo tanto el embrión muere dentro del huevo, debilitado por la falta de quitina en su nueva cutícula, y en el caso de sobrevivir, no puede probablemente realizar los importantes esfuerzos musculares característicos en la eclosión de muchos insectos, entre otros de los tenebrionidos (WIGGLES-WORTH, 1974).

Además del efecto acumulativo de la dosis que tienen estos productos en la alteración de la fertilidad, nuestros resultados indican otro factor importante a tener en cuenta: el momento de tratamiento, ya que al tratar durante la emergencia, la eficacia obtenida ha sido mayor. En la Figura 3, se exponen los valores medios de la eficacia obtenida respecto del control, para cada dosis y en el tiempo. Com-

probamos que para la dosis mayor a la que se tratan adultos en la emergencia, 100 mg/kg, se consigue el efecto más prolongado, siendo la eficacia mucho mayor que al tratar adultos con el tegumento formado, a pesar de ingerir una dosis muy superior.

La recuperación de la eclosión ha sido muy variable dentro de cada dosis, pero siempre progresiva. A lo largo del ensayo, hemos encontrado simultáneamente en parejas a las que se suministro la misma concentración de hexaflumurón, el porcentaje de eclosión varió desde el 90 % al 0 %. Esto se refleja en los altos valores de los errores típicos de las medias de la eclosión y de la eficacia.

Aunque el hexaflumurón no tiene un efecto directamente adulticida para las concentraciones ensayadas, si el tratamiento no se interrumpe puede impedir la reproducción de esta especie, y si se interrumpe puede evitarla o reducirla durante un período de tiempo más o menos prolongado. Así, para dosis equivalentes a la toxicidad de los insecticidas convencionales que se emplean en almacén, como son 1 y 10 mg/kg (BENGSTON, 1986), se obtiene una eficacia del 100 % en el control del nacimiento de larvas durante seis y trece días respectivamente, tras interrumpir el tratamiento.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la DGICYT la financiación de este trabajo (proyecto PS89-0028).

ABSTRACT

ADÁN, A.; DEL ESTAL, P.; BUDIA, F.; MARCO, V.; JACAS, J. y VIÑUELA, E., 1994: Effects of hexaflumuron on fecundity and fertility of *Tribolium castaneum* Herst. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**(2): 371-377.

Effects of the IGR hexaflumuron on the reproductive capacity of *T. castaneum* were studied. Newly emerged and 4-6 day-old adults were exposed to treated medium with 1, 10 and 100 ppm or 200 ppm of product, for 31 and 24 days respectively. Assessment of fecundity and fertility was done after finishing the treatment, for 31 days. Fecundity was normal in treated insects but a 100 % reduction of fertility was observed; a certain number of days (depending of doses) although the effect was reversible and at the end of the evaluation period fertility in treated insects was not significantly different from that of control ones.

Key words: *Tribolium castaneum*, Hexaflumuron, quitin, fertility, fecundity.

REFERENCIAS

- ASCHER, K. R. S., NADIA, E., BLUMBERG D. y GOLDENBERG, S., 1986. Egg-sterilizing effect of Benzoylphenylureas via the adult stage of the Nitidulid beetle *Carpophilus hemipterus*. *Phytoparasitica*, **14**(3):187-192.
- BENGSTON, M., 1986. Insect growth regulators. *Proc. 4th Int. Work. Conf. Stored-Product Protection*. Eds. E. Donahaye and S. Navarro. 35-46.
- CARTER, S. W., 1975. Laboratory evaluation of three novel insecticides inhibiting cuticle formation against some susceptible and resistant stored products beetles. *J. stored Prod. Res.* **11**: 187-193.
- CHAMP, B. R. y DYTE, C. E., 1976. Report of the FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests. *FAO Plant Production and Protection series*, n.º 5, ed. FAO, Rome, 297 p.
- CHANG, C., 1993: Comparative endocrinology of molting and reproduction: insects and crustaceans. *Ann. Rev. Entomol.* **38**: 161-180.
- DEL ESTAL, P., VIÑUELA, E., CAMACHO, C. y PAGE, E. 1983. Estudios preliminares sobre tratamientos de pupas de *Ceratitidis capitata* y *Tribolium castaneum* con radiación electromagnética no-ionizante. *Anales INIA. Serie Agrícola*, **22**:51-59.
- DEMARK, J. J. y BENNET, G. W., 1989. Efficacy of Chitin Synthesis Inhibitors on Nymphal German Cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, **82**: 1.633-1.637.
- DYTE, C. E., 1982. Recent development in insecticide resistance of storage pests with special reference to the Mediterranean region. *Les Cahiers de la Recherche Agronomique*, **39**: 77-78.
- GAZIT, Y., ISHAAYA, I. y PERRY, A. S., 1989. Detoxification and synergism of diflubenzuron and chlorfluazuron in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **34**, 103-110.
- HILL, D. S., 1990. *Pests of stored products and their control*. Belhaven Press. Londres. 274 pp.
- ISHAAYA, I., 1992. Insect resistance to BPU and other insect growth regulators. Mechanism and countermeasures en «Molecular mechanisms of insecticide resistance». Mullin and Scott (eds.). *American Chemical Society*. 231-246.
- KOEHLER, P. G. y PATTERSON, 1989: Effects of chitin synthesis inhibitors on german cockroach (Ort: Blattellidae). Mortality and Reproduction. *J. Econ. Entomol.* **82**(1):143-148.
- MABBETT, T., 1993. What's in store for rice. *Agribusiness worldwide*, 14-19 pp.
- MIAN, L. S. y MULLA, M. S. 1982. Biological activity of IGRs against four stored-product coleopterans. *J. Econ. Entomol.*, **75**: 80-85.
- OLIVER, J. E., DEMILO, A. B., BROWN, R. T. y McHAFEEY, D. G., 1977. A highly effective boll weevil sterilitant. *J. Econ. Entomol.* **70**(3):286-288.
- REICHMUTH, C., 1989. Latest aspects in stored product protection in developing countries. En *Integrated Pest Management in tropical and subtropical cropping systems*. vol. **3**: 927-937.
- RETNAKARAN, A. y WRIGHT, J. E., 1987. Control of insect pests with Benzoylphenyl ureas, en Chitin and Benzoylphenyl ureas, W. Junk (ed), *Netherlands*. 309
- WIGGLESWORTH, V. B., 1974. Los huevos de los insectos, en La vida de los insectos. *Historia Natural Destino*. **7**: 396.