

Efectos del RCI hexaflumuron sobre larvas de la polilla mediterránea de la harina *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: *Pyralidae*) en aplicación tópica y por ingestión. Influencia de la edad de las larvas tratadas

V. MARCO y E. VIÑUELA

Se ha evaluado en laboratorio la actividad de la benzoilfenil urea hexaflumurón sobre larvas de *Ephestia kuehniella* aplicada por ingestión y tópicamente. Por ingestión, se trataron larvas neonatas a dosis (μg i.a./g de dieta) entre 0,008 y 0,128 y larvas de 16 días de edad (3.º estadio), a dosis entre 0,07 y 0,354. Tópicamente las larvas tratadas fueron de 16 días de edad a dosis (μg i.a./g de larva) entre 15,6 y 250,1 y de último estadio a dosis entre 33,5 y 138,9. En todos los casos, el producto produjo mortalidad en el estado de larva, excepto en el tratamiento tópico de larvas de último estadio donde la mortalidad se produjo durante la muda a pupa.

El hexaflumurón resultó ser muy efectivo aplicado por ingestión sobre larvas neonatas, donde la DL50 para la mortalidad a las dos semanas del tratamiento fue de 0,05 μg i.a./g de dieta. Este tratamiento resultó ser unas 9 veces más efectivo que sobre larvas de 16 días de edad.

El compuesto tuvo también un limitado efecto tópico obteniéndose una DL50 de 67,9 y 99,0 μg i.a./g de larva para la reducción en la emergencia de adultos en larvas tratadas a los 16 días de edad y en último estadio, respectivamente.

Los resultados obtenidos indican que el hexaflumuron ofrece buenas perspectivas para su incorporación a Programas de Manejo Integrado de este pirálido.

V. MARCO: Departamento de Agricultura y Alimentación. Área de Producción Vegetal. Universidad de La Rioja. Avda. de la Paz, 105, 26004 Logroño.

E. VIÑUELA: Protección de Cultivos. E.T.S.I. Agrónomos. 28004 Madrid.

Palabras clave: Benzoilfenil ureas, hexaflumuron, *Pyralidae*, *Ephestia kuehniella*, tópico, ingestión, efecto larvicida.

INTRODUCCIÓN

La polilla mediterránea de la harina *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: *Pyralidae*) es una plaga cosmopolita con gran importancia sobre productos almacenados (principalmente harina de trigo). Es especialmente temida en los molinos ya que las larvas, en su desarrollo, producen una abundante masa sedosa capaz de producir obturaciones y averías en la maquinaria (HILL, 1990).

A pesar de existir técnicas de manejo alternativas (limpieza, barreras mecánicas,

modificación de la temperatura y/o humedad, modificación de la atmósfera ordinaria, radiaciones, uso de feromonas, etc.), es habitual combatir las plagas de productos almacenados empleando insecticidas. La aplicación repetida de insecticidas tradicionales neurotóxicos para el control de estas plagas ha generado problemas importantes como la presencia de residuos o el desarrollo de resistencias (BENZ, 1987; VIÑUELA, *et al.*, 1994). Resulta por tanto interesante, investigar las posibilidades de utilización de aquellos plaguicidas que presentan buenas pro-

iedades toxicológicas y nuevos modos de acción.

Las benzoilfenil ureas (BPU), descubiertas como insecticidas a principios de los años 70 (VAN DAALLEN, *et al.*, 1972), están siendo objeto de numerosas investigaciones para evaluar la posibilidad de su uso práctico frente a plagas diversas dado que sus características las hacen compatibles con los programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) (GRANETT, 1987). Es conocido, que las BPU actúan inhibiendo la síntesis de quitina, lo que provoca una deposición anormal de la nueva endocutícula, y el aborto del proceso de la muda (HAJJAR y CASIDA, 1978). Otros estudios señalan la posibilidad de que puedan afectar también al balance hormonal de los insectos provocando diferentes anomalías fisiológicas como la disminución en la síntesis de ADN (ISHAAYA, 1990).

Se ha comprobado que las BPU pueden reducir significativamente la fecundidad de adultos tratados por ingestión (SARASÚA y SANTIAGO-ÁLVAREZ, 1983; PRASAD y SRIVASTAVA, 1990; ATTIA, 1991; MARCO y VIÑUELA, 1994) y acortar la longevidad de los mismos (MARCO y VIÑUELA, 1994). Por otro lado, pueden actuar sobre huevos de diferentes especies por acción ovicida directa (MARCO *et al.*, 1998) o impidiendo su eclosión cuando se administran vía adultos (MARCO y VIÑUELA, 1994; HOWARD y WALL, 1995; MARCO *et al.*, 1998). Incluso, pueden impedir la emergencia de adultos a partir de pupas tratadas tópicamente o por inmersión (GAZIT *et al.*, 1989; GORDON *et al.*, 1989; VIÑUELA y MARCO, 1994). Sin embargo, la principal actividad insecticida de las BPU es la larvicida tal como se indica en la revisión sobre la actividad insecticida de las BPU realizada por RETNAKARAN y WRIGHT (1987). Por otro lado, las BPU han demostrado ser especialmente efectivas sobre las larvas aplicadas por ingestión, sin embargo existen excepciones a ello tal como se ha comprobado en especies del género *Spodotera* cuyas larvas han resultado ser más susceptibles a algunas BPU, tópicamente tratadas (ASCHER y NEMMY, 1976; GRANETT *et al.*, 1983; MARCO *et al.*, 1994).

La búsqueda de nuevas BPU dio lugar al desarrollo de una segunda generación de compuestos. Uno de ellos es el hexaflumurón, que se ha mostrado como un insecticida con una acción tóxica más potente y rápida que el diflubenzurón sobre varias especies plaga (ISHAAYA, 1990).

En el presente trabajo se evalúan en laboratorio los efectos del hexaflumurón sobre larvas de *E. kuehniella* tratadas tópicamente y por ingestión. Se analiza además la influencia de la edad de las larvas, dado que ésta ha sido señalada como un factor determinante del nivel de susceptibilidad a las BPU (GROSCURT y JONGSMA, 1987). En base a los resultados obtenidos, se discute la posibilidad del uso práctico del hexaflumurón en el manejo de *E. kuehniella*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Para los ensayos se utilizaron larvas obtenidas de una población mantenida en laboratorio sobre una dieta compuesta por harina de trigo blando y levadura de cerveza (95:5, en peso) según el método descrito por MARCO *et al.* (1993). Las condiciones de cría y realización de los diferentes ensayos fueron de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura, $75 \pm 10\%$ de humedad relativa y 16:8(L:O) de fotoperiodo.

Insecticida

Se utilizó el preparado comercial Consult 10 EC de la casa Dow AgroSciences, que tiene una riqueza de 100 g/l de hexaflumurón (1-(3,5-dicloro-4(1,1,2,2, tetrafluoroetoxi)-fenil)-3-3-(2,6-difluorobenzoil) urea).

Método de ensayo

Tratamiento por ingestión. El insecticida se suministró en el mismo tipo de dieta que el señalado para el mantenimiento de la pobla-

ción, incorporándolo según el método descrito por ADÁN, *et al.* (1994) para asegurar una distribución homogénea del mismo. Se trataron larvas neonatas y larvas de 16 días de edad (aproximadamente la mitad de la duración del estado larvario en las condiciones ambientales referidas y en tercer estadio de desarrollo) obtenidas de acuerdo con el método descrito por MARCO, *et al.* (1993). Las dosis aplicadas a las larvas neonatas estuvieron comprendidas entre 0,008 y 0,128 μg i.a./g de dieta y las aplicadas a las de 16 días de edad, entre 0,07 y 0,354 μg i.a./g de dieta. En ambos casos, estos intervalos de dosis fueron elegidos tras ensayos preliminares, para poder realizar los ajustes de las correspondientes rectas de regresión ponderada probit. Para las larvas de ambos grupos de edad se utilizó un testigo, 3 repeticiones por dosis, y 20 larvas por repetición. Las 20 larvas de cada repetición se introdujeron, junto con la dieta correspondiente, en cajas cilíndricas de 5 cm de altura y 12 cm de \emptyset , cuya tapa disponía de un orificio circular de 3 cm de \emptyset cubierto con tela de visillo. Semanalmente se realizaron conteos de individuos vivos y muertos según el método descrito por MARCO, *et al.* (1993), hasta la emergencia de adultos.

Tratamiento tópico. Para realizar los tratamientos tópicos, se utilizó un microaplicador manual «Arnold» de la casa Burkard. Las aplicaciones se realizaron sobre la región dorsal del tórax. El disolvente utilizado fue acetona que, al ser muy volátil, permite una rápida deposición del insecticida sobre el cuerpo del insecto. En este caso, se trataron larvas de 16 días de edad (sobre las que se aplicaron gotas de 0,25 μl) y de último estadio (con gotas de 0,5 μl) obtenidas según el método descrito por MARCO, *et al.* (1993). Las dosis aplicadas estuvieron comprendidas entre 15,6 y 250,1 μg i.a./g de larva para las de 16 días de edad y entre 33,5 y 138,9 μg i.a./g de larva para las de último estadio. Como en el caso anterior, estos intervalos de dosis fueron elegidos tras ensayos preliminares, para poder realizar los ajustes de las rectas de regresión ponderada probit. Para cada

edad se utilizó un testigo tratado únicamente con acetona y 3 repeticiones de 20 larvas por repetición. Tras el tratamiento, las 20 larvas de cada repetición fueron colocadas en cajas idénticas a las descritas en el apartado anterior, con dieta normal sin tratar. Semanalmente, se determinó el número de individuos vivos y muertos utilizando el método descrito por MARCO, *et al.* (1993), hasta la emergencia de adultos.

Métodos estadísticos

Para evaluar los resultados de los ensayos, se procedió al conteo del % de larvas que llegaban hasta la muda a pupa (L), de pupas normales (P) y de adultos emergidos respecto a larvas tratadas (A). También se calculó el % de adultos emergidos respecto a pupas normales (A'). Para detectar diferencias significativas entre medias ($\alpha = 0,05$) se procedió a comprobar las hipótesis de normalidad (mediante el test de Kolmogorov-Smirnoff sobre residuos) y homocedasticidad (mediante el test de Barlett). Cuando ambas hipótesis se cumplieron, se realizó un test F de Análisis de la Varianza seguido de un test LSD o Bonferroni (este último, cuando el test F no arrojó diferencias significativas) para comparaciones múltiples. Cuando no se cumplieron las hipótesis a priori, se utilizó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis (MILLIKEN y JOHNSON, 1984; Statgraphics, 1987).

Para los tratamientos por ingestión de larvas de las dos edades se ajustaron las rectas de regresión ponderada probit para la mortalidad larvaria a las dos semanas del tratamiento y para los tratamientos tópicos, para reducción en la emergencia de adultos. En ambos casos, se realizaron los test de paralelismo e igualdad en base a la estimación de las potencias relativas. El criterio de solapamiento de sus límites fiduciales al 95%, se empleó para ver si eran o no significativamente diferentes (FINNEY, 1971). Para los análisis se empleó el programa POLO (RURSELL, *et al.*, 1977).

Cuadro 1. - Porcentajes de larvas que llegaron hasta la muda a pupa (L), de pupas formadas normales (P) y de adultos emergidos (A) respecto a larvas tratadas y de adultos emergidos respecto a pupas formadas ($A' = \text{Adultos}/P \times 100$) en el tratamiento por ingestión de larvas neonatas de *E. kuehniella* (cada dato es media de tres repeticiones \pm error típico)

Dosis (ppm)	L (%)	P (%)	A (%)	A' (%)
0	78,3 ^a \pm 6	78,3 ^a \pm 6	78,3 ^a \pm 6	100 ^a \pm 0
0,008	73,3 ^a \pm 3,3	70 ^a \pm 2,9	66,7 ^b \pm 4,4	95,2 ^a \pm 8,3
0,016	38,3 ^b \pm 6	33,3 ^b \pm 6	30 ^c \pm 2,9	92,6 ^a \pm 7,4
0,032	6,7 ^c \pm 1,7	6,7 ^c \pm 1,7	5 ^d \pm 0	83,3 ^a \pm 13,6
0,064	1,7 ^c \pm 1,7	1,7 ^c \pm 1,7	1,7 ^d \pm 1,7	-
0,128	0 ^c \pm 0	0 ^c \pm 0	0 ^d \pm 0	-

Dentro de cada columna, valores seguidos de la misma letra no difieren significativamente al 5% (ANOVA y LSD para L, P y A y ANOVA y BONFERRONI para A').

Cuadro 2. - Porcentajes de larvas que llegaron hasta la muda a pupa (L), de pupas formadas normales (P) y de adultos emergidos (A) respecto a larvas tratadas y de adultos emergidos respecto a pupas formadas ($A' = \text{Adultos}/P \times 100$) en el tratamiento por ingestión de larvas de *E. kuehniella* de 16 días de edad (cada dato es media de tres repeticiones \pm error típico)

Dosis (ppm)	L (%)	P (%)	A (%)	A' (%)
0	75 ^a \pm 7,6	75 ^a \pm 7,6	75 ^a \pm 7,6	100 ^a \pm 0
0,07	81,7 ^a \pm 1,7	80 ^a \pm 0	71,7 ^a \pm 4,4	89,6 ^a \pm 5,5
0,105	75 ^a \pm 8,7	70 ^a \pm 5,8	68,3 ^a \pm 7,3	97,2 ^a \pm 2,8
0,159	43,3 ^b \pm 6,7	43,3 ^b \pm 6,7	41,7 ^b \pm 8,3	94,4 ^a \pm 5,6
0,236	40 ^b \pm 5	35 ^{bc} \pm 2,9	30 ^{bc} \pm 2,9	86,1 ^a \pm 7,4
0,354	20 ^c \pm 2,9	20 ^c \pm 2,9	23,3 ^c \pm 4,7	85 ^a \pm 7,6

Dentro de cada columna, valores seguidos de la misma letra no difieren significativamente al 5% (ANOVA y LSI) para L, P y A y ANOVA y BONFERRONI para A').

RESULTADOS

Tratamiento por ingestión.

Los Cuadros 1 y 2 muestran los valores de los % de larvas que llegaban hasta la muda a pupa (L), de pupas normales (P) y de adultos emergidos respecto a larvas tratadas (A), así como el de adultos emergidos respecto a pupas normales (A') para los tratamientos por ingestión de larvas neonatas y de 16 días de edad, respectivamente. Para neonatas, no aparece dato en A' para las dosis más altas ensayadas al no llegar al estado de pupa un número suficiente de individuos. Como pue-

de observarse, el hexaflumurón presenta un efecto importante sobre las larvas de ambos grupos de edad, efecto que se manifiesta principalmente durante el estado de larva. Efectivamente, los valores de L y P son similares en ambos casos, lo que indica que la mortalidad durante la muda a pupa no fue significativa. Tampoco hubo diferencias significativas entre el testigo y las diferentes dosis para el parámetro A', lo que indica que el producto así aplicado, no afectó al estado de pupa ni a la muda pupa-adulto.

En el Cuadro 3 se recogen los parámetros de las rectas de regresión ponderada probit para la mortalidad a las dos semanas de trata-

Cuadro 3. - Parámetros de las rectas de regresión ponderada probit para la mortalidad larvaria a las dos semanas de tratamiento por ingestión de larvas neonatas y de 16 días de edad de *E. kuehniella*

Edad larvas	b ± S.E.	a	DL ₅₀ (µg/g)	Límites fiduciales 95%	DL ₉₀ (µg/g)	Límites fiduciales 95%
Neonatas	1,88 ± 0,21	7,52	0,047	0,039; 0,057	0,221	0, 154; 0,378
16 días	1,88 ± 0,21	5,73	0,409	0,309; 0,580	1,949	1,214; 3,951

miento en larvas de ambos grupos de edad. El test de paralelismo no arrojó diferencias significativas entre pendientes por lo que ambas rectas se pudieron forzar al paralelismo (Figura 1). El cálculo de las potencias relativas y sus límites fiduciales (1, para neonatas y 0, 11 con límites fiduciales de 0,08 y 0,16, para larvas de 16 días) indicó que éstos no se solapaban, pudiéndose concluir que el hexaflumurón fue prácticamente 9 veces más efectivo sobre larvas neonatas que sobre larvas de 16 días de edad.

Tratamiento tópico

Los valores de los % de larvas que llegaban hasta la muda a pupa (L), de pupas normales (P) y de adultos emergidos respecto a larvas tratadas (A) y los de adultos emergidos respecto a pupas normales (A') para los tratamientos tópicos de larvas de 16 días de edad

y de último estadio se recogen en los cuadros 4 y 5, respectivamente. Como ocurría en el tratamiento por ingestión, el efecto del hexaflumurón sobre las larvas tratadas a los 16 días de edad se produce durante el propio estado larvario, sin que sea significativamente diferente su mortalidad de la del testigo, en la muda a pupa, desarrollo pupal y muda pupa-adulto. Por el contrario, cuando las larvas tratadas fueron las de último estadio, hubo diferencias significativas entre tratadas y testigos en los parámetros P y A, y no en L y A' lo que indica que, en este caso, el efecto del producto se manifestó exclusivamente en el momento de la muda a pupa, apreciando individuos intermedios larva-pupa totalmente inviábiles.

En el cuadro 6 aparecen los parámetros de las rectas de regresión ponderada probit para la mortalidad hasta la emergencia de adultos en larvas de ambos grupos de edades. El test de paralelismo arrojó diferencias significati-

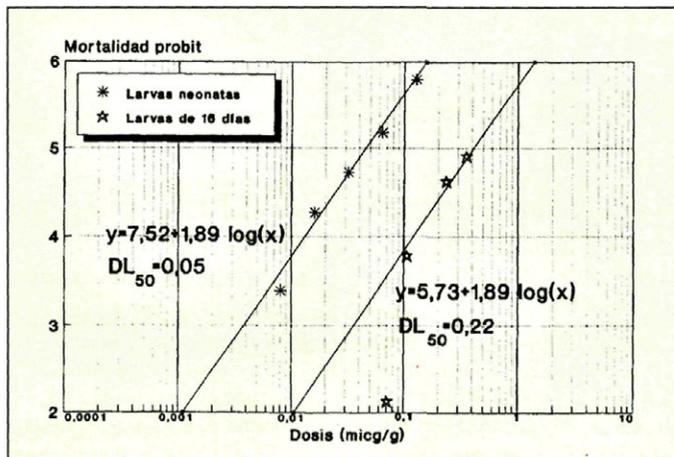


Fig. 1. - Rectas de regresión ponderada probit para la mortalidad larvaria a las dos semanas de tratamiento, cuando larvas neonatas y de 16 días de edad de *E. kuehniella* se crían en un medio tratado con el insecticida.

Cuadro 4. - Porcentajes de larvas que llegaron hasta la muda a pupa (L), de pupas formadas normales (P) y de adultos emergidos (A) respecto a larvas tratadas y adultos emergidos respecto a pupas formadas (A' = Adultos/P × 100) en el tratamiento tóxico de larvas de *E. kuehniella* de 16 días de edad (cada dato es media de tres repeticiones ± error típico).

Dosis (µg/g)	L (%)	P (%)	A (%)	A' (%)
0	73,3 ^a ± 1,7	73,3 ^a ± 1,7	71,7 ^a ± 1,7	97,8 ^a ± 2,2
15,63	66,7 ^a ± 8,3	66,7 ^a ± 8,3	65 ^a ± 7,6	97,8 ^a ± 2,2
31,26	56,7 ^{ab} ± 3,3	56,7 ^{ab} ± 3,3	55 ^{ab} ± 5	96,7 ^a ± 3,3
65,52	50 ^{ab} ± 16,1	50 ^{ab} ± 16,1	46,7 ^{ac} ± 16,4	89,4 ^{ab} ± 7,5
125,04	30 ^{bc} ± 10,4	30 ^{bc} ± 10,4	28,3 ^{bc} ± 10,1	100 ^a ± 0
250,08	20 ^c ± 10	20 ^c ± 10	20 ^c ± 10	100 ^a ± 0

Dentro de cada columna, valores seguidos de la misma letra no difieren significativamente al 5 % (ANOVA y LSI) para L,P y A y ANOVA y BONFERRONI para A'.

Cuadro 5. - Porcentajes de larvas que llegaron hasta la muda a pupa (L), de pupas formadas normales (P) y de adultos emergidos (A) respecto a larvas tratadas y adultos emergidos respecto a pupas formadas (A' = Adultos/P × 100) en el tratamiento tóxico de larvas de *E. kuehniella* de último estadio (cada dato es media de tres repeticiones ± error típico).

Dosis (µg/g)	L (%)	P (%)	A (%)	A' (%)
0	89,7 ^a ± 3,2	89,7 ^a ± 3,2	76,3 ^a ± 4,5	85,1 ^a ± 3,7
33,49	96,7 ^a ± 3,3	88,3 ^a ± 6	63,3 ^a ± 4,4	72,4 ^a ± 7,6
66,97	96,7 ^a ± 1,7	46,7 ^b ± 6,7	21,3 ^b ± 6,9	43,8 ^a ± 9,6
80,36	91,7 ^a ± 1,7	36,7 ^{bc} ± 4,4	11,7 ^b ± 4,4	29,9 ^a ± 8
96,44	94,9 ^a ± 0,1	40,8 ^{bc} ± 6,5	20,4 ^b ± 3,2	49,9 ^a ± 0,1
115,72	95 ^a ± 2,9	26,7 ^{bc} ± 12	15 ^b ± 10,4	40 ^a ± 20,8
138,87	98,3 ^a ± 1,7	21,7 ^c ± 4,4	13,3 ^b ± 4,4	63,9 ^a ± 21,70

Dentro de cada columna, valores seguidos de la misma letra no difieren significativamente al 5% (ANOVA y BONFERRONI para L, ANOVA y LSI) para P y A y Kruskal-Wallis para A'.

vas entre pendientes por lo que ambas rectas no fueron paralelas (Figura 2). La pendiente de la recta correspondiente a larvas de último estadio fue mayor que la de larvas de 16 días de edad y ambas rectas se cortan en un punto. Ello indica que, si bien para dosis bajas el

producto es más efectivo sobre larvas más jóvenes, en las dosis altas ocurre lo contrario. De hecho, podemos observar que la DL90 es mayor para las larvas más jóvenes, sin que haya solapamiento de sus límites fiduciales (Cuadro 6).

Cuadro 6. - Parámetros de las rectas de regresión ponderada probit para la reducción en la emergencia de adultos de *E. kuehniella* tras tratar tópicamente larvas de 16 días de edad y de último estadio.

Edad larvas	b ± S.E.	a	DL ₅₀ (µg/g)	Límites fiduciales 95%	DL ₉₀ (µg/g)	Límites fiduciales 95%
16 días	1,57 ± 0,38	1,57	98,98	52,08; 154,01	648,63	351,28; 2823,34
último estadio	3 ± 0,51	0,497	67,89	53,2; 80,03	181,49	146,14; 266,21

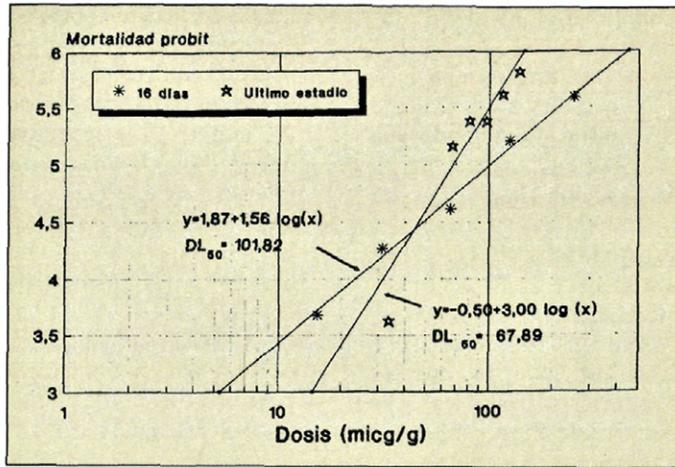


Fig. 2.- Rectas de regresión ponderada probit para la mortalidad antes de la muda a adulto en el tratamiento tópico de larvas de 16 días y de último estadio *E. kuehniella*.

DISCUSIÓN

El RCI hexaflumurón resultó ser eficaz frente a larvas de *E. kuehniella*, especialmente cuando se aplicó por ingestión sobre larvas neonatas. Para ellas, la DL50 a las dos semanas de tratamiento fue de 0,05 μg i.a./g de dieta. Ello está en concordancia con lo propuesto por RETNAKARAN y WRIGHT (1987) en su revisión sobre la actividad insecticida de las BPU donde señalan que la principal, es la larvicida por ingestión. Es destacable el bajo valor de esa DL50. DEL ESTAL, *et al.* (1990) aplicando el hexaflumaurón de idéntica manera sobre otra plaga de la harina como *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae) obtuvieron una DL50 de 0,25 μg i.a./g de dieta para la mortalidad larvaria total, lo que supone un valor 5 veces superior al obtenido para nuestra especie y en un período de tiempo superior. También con *T. castaneum*, pero considerando la mortalidad larvaria más la pupal, ISHAAYA, *et al.* (1989) obtuvieron una DL50 de 0,07 μg i.a./g de dieta. Estos resultados indican que para evaluar la actividad insecticida de las BPU es importante el momento al que se refieran los mismos, dado que su acción se manifiesta de forma progresiva.

Tanto para las BPU en general (RETNAKARAN y WRIGHT, 1987) como para el hexaflumurón en particular, se considera que su efecto por contacto es más limitado que por ingestión. Estudios realizados *in vitro* e *in vivo* han indicado que el nivel de penetración del hexaflumuron a través del tegumento de lepidópteros no es comparable con el de otros insecticidas clasificados claramente como de contacto (LEONARD, *et al.*, 1987). No obstante, el producto resultó tener efecto tópicamente aplicado sobre larvas de *E. kuehniella*, tanto de 16 días de edad como de último estadio. En el caso de las primeras, se obtuvo una DL50 para la mortalidad antes de la emergencia de adultos de 99,0 μg i.a./g de larva y de 67,9 μg i.a./g de larva, para las últimas. Estos valores son superiores, sin embargo, a los obtenidos con otras especies que han manifestado una mayor susceptibilidad a las BPU tópicamente aplicados. Así, la DL50 obtenida para la mortalidad antes de la pupación de larvas de *S. exigua* tratadas con hexaflumurón en tercer estadio fue de 3,9 μg i.a./g de larva (MARCO, 1994) y un valor similar fue obtenido por ASCHER, *et al.* (1991) con larvas de edades intermedias de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lep.: Noc-

tuidae) para la mortalidad a los 5 días de tratamiento.

También las larvas de último estadio de *S. exigua* son muy susceptibles al tratamiento tópico con hexaflumurón presentando una DL50 de 0,9 µg i.a./g de larva para la mortalidad antes de la pupación (MARCO, *et al.*, 1994).

La edad de las larvas tratadas es un factor importante en la susceptibilidad a las BPU. Tomando como referencia el diflubenzurón, GROSCURT Y JONGSMA (1987) señalan que, a pesar de ser activo sobre todos los estadios larvarios de las especies susceptibles, si la eficacia del producto sobre ellos es diferente, la susceptibilidad disminuye a medida que se incrementa la edad. Como se ha señalado en el apartado de resultados, en los tratamientos por ingestión, se ha confirmado esta tendencia en *E. kuehniella* puesto que las larvas neonatas resultaron ser unas 9 veces más susceptibles al hexaflumurón al cabo de 2 semanas de tratamiento que las de 16 días de edad. Sin embargo, la literatura recoge excepciones a ello, como es el caso investigado por GRANETT Y RETNAKARAN (1977). Éstos observaron que las larvas de los últimos estadios de *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae) eran más susceptibles al diflubenzurón que las más jóvenes.

Una situación diferente es la que se ha observado en los resultados de los tratamientos tópicos; allí la mayor o menor susceptibi-

lidad al producto depende del nivel de dosis empleado, de forma que si bien para dosis bajas el producto es más efectivo sobre las larvas más jóvenes, en las dosis altas ocurre lo contrario. De hecho, podemos observar que la DL90 es mayor para las larvas más jóvenes, sin que haya solapamiento de sus límites fiduciales (tabla 6). Por otro lado, en la literatura se observan resultados dispares, incluso con la misma especie, dependiendo de la BPU utilizada; así, mientras que MARCO (1994) observó que *S. exigua* fue más susceptible al hexaflumurón tópicamente aplicado sobre larvas de último estadio que sobre las de tercero, GRANETT, *et al.* (1983) con la misma especie no encontraron diferencias en la susceptibilidad de larvas de primer y cuarto estadio tópicamente tratadas con diflubenzurón y penflurón. Probablemente un factor importante en esta disparidad de resultados, mayor que la observada en los tratamientos por ingestión, será debida al proceso de penetración de los productos a través del tegumento.

A la vista de todos estos resultados se puede concluir que el hexaflumurón ofrece buenas perspectivas de cara a su incorporación a los programas de Manejo Integrado de *E. kuehniella*, fundamentalmente por su importante acción aplicado por ingestión sobre larvas neonatas y complementada por la que ejerce sobre larvas de mayor edad e incluso por la limitada acción tópica observada.

ABSTRACT

MARCO V. Y E. VIÑUELA, 1999: Efectos del RCI hexaflumuron sobre larvas de la polilla mediterránea de la harina *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) en aplicación tópica y por ingestión. Influencia de la edad de las larvas tratadas. *Bol. San Veg. Plagas*, 25 (1): 59-68.

Effects of IGR hexaflumuron on larvae of the Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) treated both topically and via the rearing medium. Influence of larval age.

The benzoylphenyl urea hexaflumuron was evaluated in laboratory against *Ephestia kuehniella* larvae, applied both on the rearing medium and topically. Neonate and 16 day-old larvae were exposed to treated rearing medium at doses ($\mu\text{g a.i./g}$ of diet) ranging from 0.008 to 0.128 and from 0.07 to 0.354, respectively. In topical treatments, 16 day-old and last instar larvae were treated with doses ranging from 15.6 to 250.1 and from 33.5 to 138.9 $\mu\text{g a.i./g}$ of larvae, respectively.

A direct larval mortality was observed in every treatment except when last instar larvae were topically treated; in this case, only disruptions in the larvae-pupae moult were observed causing abortive moulting.

The insecticide was highly effective against larvae applied mixed with the diet. The percentage of larval mortality two weeks after the treatment for the two studied age classes, could be represented by parallel probit regression lines of common slope $b = 1.88 \pm 0.21$, and the compound was 9 times more effective against neonate larvae ($\text{LD}_{50} = 0.05 \mu\text{g a.i./g}$ of diet) than 16 days old larvae ($\text{LD}_{50} = 1.949 \mu\text{g a.i./g}$ of diet).

Hexaflumuron topically applied had a limited activity. The reduction in adult emergence could be represented by probit lines for both treated age classes being the LD_{50} of 99.0 and 67.9 $\mu\text{g a.i./g}$ of larvae for 16 days old and last instar larvae, respectively.

Our results are indicative of the potential of hexaflumuron to be incorporated in the Integrated Pest Management programmes against this moth.

Key words: Benzoylphenyl ureas, hexflumuron, Pyralidae, *Ephestia kuehniella*, topical treatment, ingestion, larvicidal effect.

REFERENCIAS

- ADÁN, A.; DEL ESTAL, P.; MARCO, V.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C., y VIÑUELA, E., 1994: Influencia de la temperatura en la distribución de la benzoilfenil urea hexaflumuron en la harina. VI Congreso Ibérico de Entomología. Madrid. 1994.
- ASCHER, K. R. S., y NEMMY, N. E., 1976: Contact activity of diflubenzuron against *Spodoptera littoralis* larvae. *Pestic. Sci.*, 7: 447-452.
- ASCHER, K. R. S., ELIYAHU, M. Y NEMMY, N. E., 1991: Inherent toxicity of the Acylureas hexaflumuron and chlorfluzuron against larvae of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lep.: Noctuidae). *Journal of plant diseases and Protection*, 98 (4): 391-397.
- ATTIA, B. M., 1991: Effects of two insect growth inhibitors on egg laying and eggs of *Heliothis armigera* (Hb.) (Lep. Noctuidae). *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz*, 64(4): 75-76.
- BENZ, G., 1987: Integrated pest management in material protection, storage and food industry. In: Protection intégrée: quo vadis? «Parasitis 86». Ed Ex. V. Delucchi. Suiza. 31-36.
- DEL ESTAL, P.; VIÑUELA, E.; ADÁN, A. Y BUDIA, F., 1990: Efectos del regulador del crecimiento de los insectos XRD-473 (Hexaflumuron) sobre *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Bol. San Veg. Plagas*, 16: 339-345.
- FINNEY, D. J., 1971: *Probit analysis*. Cambridge University press. 3.^a ed. Cambridge. 333 pp.
- GAZIT, Y.M.; ISHAAYA, Y., y PERRY, A. S., 1989: Detoxification and synergism of diflubenzuron and chlorfluzuron in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Pestic. Biochem. and Physiol.*, 34: 103-110.
- GORDON, R., YOUNG, T.; CORNETC, M.; y HONG, D., 1989: Effects of two insect growth regulators on the larval and pupal stages of the cabbage maggot (Dip. Anthomyiidae). *J. Econ. Entomol.*, 82: 1.040-1.045.
- GRANETT, J., 1987: Potential of benzoylphenyl ureas in Integrated Pest Management. In: *Chitin and Benzoylphenyl ureas*. Ed. by Wright, J. E. and Retnakaran, A. The Netherlands: Dr. Junk Pub., 283-309.
- GRANETT, J., y RETNAKARAN, A., 1977: Stadial susceptibility of eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lep. Tortricidae), to the insect growth regulator dimilin. *Can Ent.*, 109: 893-894.
- GRANETT, J.; BISABRI-ERSHADI, B., y HEJAZI, M. L., 1983: Some parameters of benzoylphenyl urea toxicity to beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, 76(3): 399-473.
- GROSCURT, A. C., y JONGSMA, B., 1987: Mode of action and insecticidal properties of diflubenzuron. In: *Chitin and Benzoylphenyl ureas*. Ed. by Wright, J. E. and Retnakaran, A. The Netherlands: Dr. Junk Pub., 75-99.

- HAJJAR, N. P., y CASIDA, J. E., 1978: Insecticidal benzoylphenyl ureas: structure-activity relationship as chitin synthesis inhibitors. *Science*, **200**: 1499-1500.
- HILL, D. S., 1990: *Pests of stored food products and their control*. Belhaven Press. London. 274 pp.
- HOWARD, J. J. y WALL, R., 1995: The use of triflumuron on sugar-baited targets for autosterilization of the house fly *Musca domestica*. *Ent. exp. appl.*, **77**: 159-165.
- ISHAAYA, Y., 1990: Benzoylphenyl ureas and other selective insect control agents-mechanisms and applications: In: *Pesticides and natives*. Ed. by Casida, J. E. Amsterdam: Elsevier, 365-376.
- ISHAAYA, Y.; YABLONSKY, S., y ASCHER, K. R. S., 1989: Toxicological and biochemical aspects of novel acylureas on resistant and susceptible strains of *Tribolium castaneum*. En: Proc. 4th. Int. Work Conf. Stored Products-Protein. Ed. E. Donahay y S. Navarro. Tel Aviv. 613-622.
- LEONARD, R. K.; RICHES, M. N., y HOWARD, M., 1987: Extended summaries pesticides group symposium Acylurea Insecticides. *Pestic. Sci.*, **20**: 157-159.
- MARCO, V., 1994: Efectos del RCI hexaflumurón sobre dos lepidópteros plaga: *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae) y *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lep. Noctuidae). Tesis Doctoral. Madrid. 244 pp.
- MARCO, V.; BUDIA, F.; ADÁN, A.; DEL ESTAL, P.; JACAS, J., y VIÑUELA, E., 1993: Manejo de *Ephestia kuehniella*, Zeller (Lep.: Pyralidae) para evaluar la toxicidad de plaguicidas en laboratorio. *Bol. San. Veg. Plagas*, **19**(4): 587-596.
- MARCO, V.; DEL ESTAL, P.; BUDIA, F.; ADÁN, A.; JACAS, J., y VIÑUELA, E., 1994: Efectos del RCI hexaflumurón sobre larvas de último estadio de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lep. Noctuidae). Comparación de las actividades por contacto e ingestión. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**: 389-399.
- MARCO, V., y VIÑUELA, E., 1994: Effects of hexaflumuron on fecundity, fertility and longevity of *Ephestia kuehniella* Zeller and *Spodoptera exigua* (Hübner). *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, **59**(2a): 457-463.
- MARCO, V., PÉREZ-FARINOS, G., y CATAÑERA, P., 1998: Transovarial, ovicidal and offspring development effects of hexaflumuron on *Aubeonymus mariafranciscas* Roudier (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.*, **27** (4): 812-816.
- MILLIKEN, G. A., y JOHNSON, D. E., 1984: *Analysis of messy data*. Volume I: Designed of experiments. Ed. Van Nostrand Reinhold. New York. 473 pp.
- PRASAD, S., y SRIVASTAVA, B. B. L., 1990: Potenciality of diflubenzuron as reproductive suppressant for the adults of *Spodoptera litura* Fabr. and *Earias vitella* Fabr. *Annals of Agricultural Science* (Cairo), **35**(1): 469-475.
- RETNAKARAN, A., y WRIGHT, J. E., 1987: Control of insect pest with benzoylphenyl ureas. In: *Chitin and Benzoylphenyl ureas*. Ed. by Wright, J. E. and Retnakaran, A. The Netherlands: Dr. Junk Pub., 205-281.
- RUSSELL, R. N., ROBERTSON, J. L.; SAVIN, N. E., 1977: Polo: a new computer program for probit analysis. *Bull. Entomol. Soc. Am.*, **23**: 209-215.
- SARASÚA, M. J., y SANTIAGO-ÁLVAREZ, C., 1983: Effects of diflubenzuron on the fecundity of *Ceratitidis capitata*. *Ent. exp. appl.*, **33**: 223-225.
- STATGRAPHICS, 1987: *User's guide*. USA: Graphic software system, STSC Inc. Rockville, MD.
- VAN DAALEN, J. J.; MELTZER, J.; MULDER, R., y WELLINGA, K., 1972: A selective insecticide with a novel mode of action. *Naturwissenschaften*, **59**: 312-313.
- VIÑUELA, E.; ONDRACEK, J.; JACAS, J.; ADÁN, A.; REJZEK, M., y ZIMMER, Z., 1994: Laboratory evaluation of five new JHA derivatives from 2-(4-hydroxybenzyl (-1-cyclohexanone)) against *Tribolium castaneum* (HERBST) *J. Stored Prod. Res.*, **30**: 149-155.
- VIÑUELA, E. y MARCO, V., 1994: Evaluación en laboratorio de la actividad del RCI hexaflumurón sobre pupas de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep. Pyralidae) y *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lep. Noctuidae). *Bol. San. Veg. Plagas.*, **20**: 379-387.

(Recepción: 16 junio 1998)

(Aceptación: 26 enero 1999)