Les feromones sexuals en el control dels barrinadors del blat de moro *Ostrinia nubilalis* Hbn. I *Sesamia nonagrioides* Lef.

Albert Sans i Badia

BIBLIOTECA VIRTUAL
MIGUEL DE CERVANTES

I S B N: 84-89727-64-3
Depósito Legal: S. 54-98

Servei de Publicacions
Universitat de Lleida

TESITEX, S.L.
c/. Melchor Cano, 15
Télf. 923 - 25 51 15
Fax 923 - 25 87 03
37007 SALAMANCA

ÍNDEX GENERAL

AGRAÏMENTS
RESUM
RELACIÓ D'ABREVIATURES EMPRADES
i.- INTRODUCCIÓ GENERAL
i.1.-INTRODUCCIÓ
i.2.-*O. nubilalis*
i.2.1.- DESCRIPCIÓ TAXONÒMICA
i.2.2.- DISTRIBUCIÓ GEOGRÀFICA
i.2.3.- BIOLOGIA DE L'INSECTE
i.2.4.- PLANTES HOSTE
i.2.5.- COMPORTAMENT LARVAL I DANYS
i.2.6.- COMPORTAMENT DE L'ADULT. VOL I ACOBLAMENT
i.2.7.- PREFERÈNCIES D'OVIPOSICIÓ
i.3.- *S. nonagrioides*
i.3.1.- DESCRIPCIÓ TAXONÒMICA
i.3.2.- DISTRIBUCIÓ GEOGRÀFICA
i.3.3.- BIOLOGIA DE L'INSECTE
i.3.4.- PLANTES HOSTE
i.3.5.- COMPORTAMENT LARVAL I DANYS
i.3.6.- COMPORTAMENT DE L'ADULT. VOL I ACOBLAMENT
i.3.7.- PREFERÈNCIES D'OVIPOSICIÓ
i.4.- CONTROL DELS BARRINADORS
i.4.1.- MÈTODES CULTURALS
i.4.2.- CONTROL BIOLÒGIC
i.4.3.- RESISTÈNCIA
i.4.4.- CONTROL QUÍMIC
i.5.- LES FEROMONES EN EL CONTROL DE PLAGUES
i.5.1.- SEGUIMENT DE POBLACIONS
i.5.2.- CAPTURES MASSIVES ("MASS TRAPPING")
i.5.3.- CULTIUS TRAMPA ("TRAP CROPPING")
i.5.4.- CONFUSIÓ SEXUAL ("MATING DISRUPTION")
i.6.- TÈCNIQUES EN LA CARACTERITZACIÓ DE FEROMONES
i.6.1.- ELECTROANTENOGRAFIA (EAG)
i.6.2.- BIOASSAJOS EN TÚNEL DE VENT
i.6.3.- PROVES DE CAMP: CAPTURES EN TRAMPES
i.7.- OBJECTIUS
ii.- MATERIAL I MÈTODES GENERALS
ii.1.- SÍNTESIS DE PRODUCTES
ii.1.1.- EXPERIMENTAL
ii.1.2.- ACETATS DE (Z)- I (E)-11-TETRADECENIL (Z11-14:Ac I E11-14:Ac)
ii.1.3.- (Z)-11-TETRADECEN-1-OL (Z11-14:OH)
ii.1.4.- (Z)-11-TETRADECENAL (Z11-14:Ald)
ii.1.5.- FLUOROACETAT DE (Z)-11-TETRADECENIL (Z11-14:FAc)
ii.1.6.- DIFLUOROACETAT DE (Z)-11-TETRADECENIL (Z11-14:F_2Ac)
ii.1.7.- TRIFLUOROACETAT DE (Z)-11-TETRADECENIL (Z11-14:F_3Ac)
ii.1.8.- (Z)-1,1,1-TRIFLUORO-14-HEPTADECEN-2-ONA (Z11-14:TFP)
ii.1.9.- 11-DODECEN-1-OL (11-12:OH)
ii.1.10.- 11-DODECENAL (11-12:Ald)
ii.1.11.- ACETAT DE TETRADECANIL (14:Ac)
ii.1.12.- TETRADECANAL (14:Ald)
ii.1.13.- (Z)-9-TETRADECEN-1-OL (Z9-14:OH)
ii.1.14.- ACETAT DE (Z)-9-TETRADECENIL (Z9-14:Ac)
ii.1.15.- (Z)-9-TETRADECENAL (Z9-14:Ald)
ii.1.16.- TRIFLUOROACETAT DE (Z)-9-TETRADECENIL (Z9-14:F3Ac)
ii.1.17.- (Z)-11-HEXADECEN-1-OL (Z11-16:OH)
ii.1.18.- ACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:Ac)

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

ii.1.19.- (Z)-11-HEXADECENAL (Z11-16:Ald)
ii.1.20.- CLOROACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:ClAc)
ii.1.21.- DICLOROACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:Cl_2Ac)
ii.1.22.- TRICLOROACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:Cl_3Ac)
ii.1.23.- FLUOROACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:FAc)
ii.1.24.- DIFLUOROACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:F_2Ac)
ii.1.25.- TRIFLUOROACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:F_3Ac)
ii.1.26.- BROMOACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:BrAc)
ii.1.27.- (Z)-1,1,1-TRIFLUORO-14-NONADECEN-2-ONA (Z11-16:TFP)
ii.2.- CRIA D'INSECTES
ii.2.1.- CRIA D'O. n*ubilalis*
ii.2.2.- CRIA DE S. *nonagrioides*
ii.3.- ASSAJOS D'ELECTROANTENOGRAFIA (EAG)
ii.4.- BIOASSAJOS EN TÚNEL DE VENT
Capítol 1. DETERMINACIÓ DE LA RAÇA FEROMONAL *D'O. nubilalis*
1.1.- INTRODUCCIÓ
1.2.- MATERIAL I MÈTODES
1.2.1.- ANÀLISI CROMATOGRÀFICA DELS COMPONENTS DE LES GLÀNDULES DE LES FEMELLES
1.2.2.- PROVES D'ELECTROANTENOGRAFIA
1.2.3.- PROVES D'ATRACCIÓ EN CAMP
1.3.- RESULTATS I DISCUSSIÓ
1.3.1.- ANÀLISI CROMATOGRÀFICA DE GLÀNDULES FEROMONALS
1.3.2.- PROVES EN EAG
1.3.3.- PROVES DE CAMP
1.4.- CONCLUSIONS
Capítol 2. ESTUDI DE LA FEROMONA SEXUAL DE *S. nonagrioides*
2.1.- INTRODUCCIÓ
2.1.1.- LA FEROMONA DE S. *nonagrioides*. PRECEDENTS
2.2.- MATERIAL I MÈTODES
2.2.1.- EXTRACCIÓ DE FEROMONA DE GLÀNDULES DE FEMELLES DE S. *Nonagrioides*
2.2.2.- ESTUDI DE LA FEROMONA SEXUAL DE S. *nonagrioides*: PROVES EN EAG
a) OPTIMITZACIÓ DE LA BARREJA FEROMONAL
b) ESTUDI DE LA CORBA DOSI-RESPOSTA AMB DUES FORMULACIONS
2.2.3.- PROVES DE TÚNEL DE VENT
2.2.4.- PROVES DE CAMP
2.3.- RESULTATS I DISCUSSIÓ
2.3.1.- ANÀLISIS DE LES GLÀNDULES DE S. *nonagrioides*
2.3.2.- PROVES D'EAG EN S. *nonagrioides*
a) OPTIMITZACIÓ DE LA BARREJA FEROMONAL
b) ESTUDI DE LA CORBA DOSI-RESPOSTA EAG
2.3.3.- PROVES EN TÚNEL DE VENT
2.3.4.- PROVES DE CAMP
2.4.- CONCLUSIONS
Capítol 3. ASSAJOS DE CONFUSIÓ SEXUAL PER AL CONTROL DE *S. nonagrioides*
3.1.- INTRODUCCIÓ
3.2.- MATERIAL I MÈTODES
3.2.1.- ASSAIG DE L'ANY 1990
3.2.2.- ASSAIG DE L'ANY 1992
3.2.3.- ASSAJOS DE L'ANY 1993
3.2.4.- ASSAJOS DE L'ANY 1994
3.2.5.- MÈTODES D'AVALUACIÓ DE L'EFICÀCIA
3.3.- RESULTATS I DISCUSSIÓ
3.3.1.- RESULTATS DE L'ASSAIG DE 1990
3.3.2.- RESULTATS DE L'ASSAIG DE 1992
3.3.3.- RESULTATS DELS ASSAJOS DE 1993
3.3.4.- RESULTATS DELS ASSAJOS DE 1994
3.4.- DISCUSSIÓ
3.5.- CONCLUSIONS

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Capítol 4. ESTUDI D'ANÀLEGS ESTRUCTURALS
4.1.- INTRODUCCIÓ
4.2.- MATERIAL I MÈTODES
4.2.1.- ESTUDI DELS ANÀLEGS EN O. *nubilalis*
a) BIOASSAJOS DE LABORATORI EN EAG
b) ASSAIG DELS ANÀLEGS EN CAMP
4.2.2.- ESTUDI DELS ANÀLEGS EN S. *nonagrioides*
a) BIOASSAJOS DE LABORATORI EN EAG
b) ASSAIG DELS ANÀLEGS EN CAMP
c) PROVES EN TÚNEL DE VENT
4.3.- RESULTATS I DISCUSSIÓ
4.3.1.- ESTUDI DELS ANÀLEGS DE LA FEROMONA EN O. *nubilalis*
a) ESTUDI EN LABORATORI (EAG)
b) PROVES D'INHIBICIÓ EN CAMP
4.3.2.- ESTUDI DELS ANÀLEGS EN S. *nonagrioides*
a) BIOASSAJOS DE LABORATORI EN EAG
b) PROVES DE CAMP
c) PROVES EN TÚNEL DE VENT
4.4.- CONCLUSIONS
CONCLUSIONS GENERALS
BIBLIOGRAFIA

BIBLIOTECA VIRTUAL
MIGUEL DE CERVANTES

AGRAÏMENTS

Aquest treball ha estat realitzat a l'Àrea de Protecció de Conreus del Centre UdL-IRTA de Lleida sota la direcció del Dr. Magí Riba i Viladot i la Dra. Matilde Eizaguirre i Altuna, als qui vull agrair especialment tot el seu interès i ajut per dur-lo a terme.

A més a més, també vull agrair la col•laboració: - A tots els meus companys de l'Àrea de Protecció de Conreus del Centre UdL-IRTA i del Departament de Química de la UdL, pel seu recolzament material i moral en tot moment, en especial a la Carmen.

- Al Departament de Química Orgànica i Biològica del CID-CSIC, per l'ajut en la realització de proves EAG i de túnel de vent i pels espectres de RMN, especialment a l'Angel, Carme, Alfredo i Anna.
- Al Lluis Aguilar i Joan Serra del S.P.V. de Girona i a l'Agustin Perdiguer del S.P.V. d'Osca, per l'ajut en la realització de proves en aquestes zones.
- A SEDEQ, pel subministrament de feromones sintètiques per als assajos de confusió sexual.
- A tots els agricultors que han cedit els seus camps per a la realització de moltes de les experiències.
- A la meva família, que en tot moment m'ha recolzat moralment.
- I a moltes altres persones que amb la seva col•laboració han fet que el meu treball es pogués portar a terme.
- Aquesta tesi s'ha pogut realitzar gràcies al finançament dels projectes QFN-89-4007 (CICYT), QFN-93-4512 (CIRIT-CICYT) i de l'ajut del CDTI per col•laboració SEDEQ-IRTA.

BIBLIOTECA VIRTUAL
MIGUEL DE CERVANTES

RESUM

En aquesta tesi es tracten diversos aspectes referents a les feromones sexuals dels barrinadors del blat de moro *Ostrinia nubilalis* i *Sesamia nonagrioides*. El treball s'ha dividit en quatre capítols.

1) Estudi de la feromona sexual d'*O. nubilalis*. Aquest piràlid es caracteritza per l'existència de diferents races feromonals que difereixen en la composició relativa dels acetats de (Z)- i (E)-tetradecenil en la seva feromona. Donat que la distribució geogràfica d'aquestes races no és uniforme, s'han estudiat les poblacions existents en el nordest de la península Ibèrica. Mitjançant estudis d'anàlisi d'extractes de glàndules de femelles, de bioassajos en electroantenografia (EAG) i de proves de captures de mascles en trampes en camp, s'ha trobat que la raça predominant en la zona estudiada és la que es coneix com a raça Z, que es caracteritza per posseir una proporció majoritària d'isòmer Z en la seva feromona sexual.

2) Estudi de la feromona sexual de *S. nonagrioides*. Aquesta feromona havia estat descrita per una barreja d'acetat de (Z)-11-hexadecenil, (Z)-11-hexadecen-1-ol, (Z)-11-hexadecenal i acetat de dodecil, en relació 69:8:8:15. No obstant, en experiències preliminars s'havia trobat que la barreja descrita era molt poc específica, de manera que atreïa un gran nombre d'individus d'altres espècies de noctúids. Mitjançant el seu estudi per EAG s'ha aconseguit una barreja dels quatre components anteriors (en relació 77:8:10:5) més activa sobre els mascles que la prèviament descrita. Aquesta major activitat també ha estat demostrada per estudis en túnel de vent i de captures en camp. L'efecte de cada component de la feromona s'ha avaluat en túnel de vent, trobant que els quatre actuen com a una unitat, tant a llarga com a curta distància, de manera que la manca de qualsevol component dóna una disminució notable de l'activitat. El component majoritari, l'acetat de (Z)-11-hexadecenil, és el més important alhora de mostrar activitat sobre els mascles. L'especificitat de la feromona s'ha millorat respecte a algunes espècies de noctúids, però no sobre *Mythimna unipuncta*, amb el que es fa difícil l'explicar l'aïllament reproductor entre ambdues espècies.

3) Assajos de confusió sexual per al control de *S. nonagrioides*. S'ha avaluat la tècnica de confusió sexual com a mètode de control de *S. nonagrioides*. Mitjançant diferents experiències efectuades en diferents anys i en diferents parcel•les, no s'ha pogut concloure de moment que aquest sigui un mètode de control eficaç. Per una banda l'avaluació del mètode mitjançant la inhibició de captures en trampes de feromona ha estat molt bona, de manera que s'han inhibit pràcticament totes les captures de *S. nonagrioides* i altres noctúids en les parcel•les tractades amb confusió sexual. Però malgrat això, la reducció de l'atac per part de la plaga avaluada per mostrejos de larves no ha estat sempre clara. Sembla ser que en l'atac en un camp hi intervenen tota una sèrie de factors com podrien ser la varietat, data de sembra, situació del camp, etc... Un fet curiós trobat en aquests assajos és que en els camps tractats amb confusió s'ha observat una reducció de l'atac de l'altre barrinador, *O. nubilalis*.

4) Estudi d'anàlegs estructurals. S'ha estudiat l'activitat de diversos anàlegs estructurals de les feromones d'ambdós barrinadors sobre la inhibició de la percepció de la feromona per part dels mascles. Des d'aquest punt de vista, un inhibidor és un producte d'estructura similar a la feromona, que és capaç d'interaccionar amb els receptors olfactius de l'insecte, però aquest no disposa de mecanismes específics de degradació, amb el que els receptors queden bloquejats, i per tant no pot percebre la feromona. Aquests estudis s'han realitzat (1) per inhibició de la resposta EAG a la feromona per part de mascles que havien estat exposats al possible inhibidor, (2) per avaluació de la inhibició de les captures de mascles en trampes esquerades amb barreges d'anàleg i feromona, i (3) per estudi de la resposta en túnel de vent de mascles a barreges d'anàleg i feromona. Mitjançant estudis de tipus (1) i tipus (2) amb *O. nubilalis* s'ha trobat que dels anàlegs estudiats en aquesta espècie els més interessants com a inhibidors de la feromona són el monofluoro-, difluoro- i trifluoroacetats de (Z)-11-tetradecenil, l'acetat d'11-dodecenil i l'acetat de (Z)-9-tetradecenil. Per a *S. nonagrioides*, mitjançant els tres tipus de proves els millors inhibidors han resultat ser el monofluoro- i trifluoroacetats de (Z)-11-hexadecenil. S'ha de destacar l'efecte sinèrgic en camp mostrat per la trifluorometil cetona anàloga de la feromona en les captures de *S. nonagrioides*, al mateix temps d'inhibir les captures d'altres espècies de noctúids. Igualment, el monofluoroacetat ha resultat ser un bon additiu de la feromona per capturar selectivament mascles de *Discestra trifolii*, i el trifluoroacetat un bon additiu per capturar selectivament mascles de *M. unipuncta*.

RELACIÓ D'ABREVIATURES EMPRADES

11-12:Ac	Acetat d'11-dodecenil
11-12:Ald	11-dodecenal
11-12:OH	11-dodecen-1-ol
12:Ac	Acetat de dodecil
14:Ac	Acetat de tetradecil
14:Ald	Tetradecanal
14:OH	1-Tetradecanol
16:Ac	Acetat d'hexadecil
CGL	Cromatografia gas-líquid
CG-EM	Cromatografia de gasos-espectrometria de masses
DE	Desviació estàndard
DHP	3,4-Dihidro-2H-piran
d.i.	Diàmetre interior
DIBAH	Hidrur de diisobutilalumini
E11-14:Ac	Acetat de (*E*)-11-tetradecenil
EAG	Electroantenograma o electroantenografia
FID	Detector d'ionització de flama
HMPA	Hexametilfosforotriamida
HPLC	Cromatografia líquida d'alta resolució
IE	Impacte electrònic
IR	Espectroscòpia d'infraroig
MDS	Mínima diferència significativa
n-BuLi	*n*-Butil-liti
RMN	Ressonància magnètica nuclear
terc -BuLi	*terc* -Butil-liti
THF	Tetrahidrofuran
UV	Espectroscòpia d'ultraviolat
Z5-12:Ac	Acetat de (*Z*)-5-dodecenil
Z7-12:Ac	Acetat de (*Z*)-7-dodecenil
Z7-14:Ac	Acetat de (*Z*)-7-tetradecenil
Z7-14:OH	(*Z*)-7-tetradecen-1-ol
Z7-14:Ac	Acetat de (*Z*)-7-tetradecenil
Z9-14:Ac	Acetat de (*Z*)-9-tetradecenil
Z9-14:Ald	(*Z*)-9-tetradecenal
Z9-14:OH	(*Z*)-9-tetradecen-1-ol
Z9-14:F_3Ac	Trifluoroacetat de (*Z*)-9-tetradecenil
Z11-14:Ac	Acetat de (*Z*)-11-tetradecenil
Z11-14:Ald	(*Z*)-11-tetradecenal
Z11-14:OH	(*Z*)-11-tetradecen-1-ol
Z11-14:Fac	Fluoroacetat de (*Z*)-11-tetradecenil
Z11-14:F_2Ac	Difluoroacetat de (*Z*)-11-tetradecenil
Z11-14:F_3Ac	Trifluoroacetat de (*Z*)-11-tetradecenil
Z11-14:TFP	(*Z*)-1,1,1-trifluoro-14-heptadecen-2-ona
Z11-16:Ac	Acetat de (*Z*)-11-hexadecenil
Z11-16:Ald	(*Z*)-11-hexadecenal
Z11-16:OH	(*Z*)-11-hexadecen-1-ol
Z11-16:BrAc	Bromoacetat de (*Z*)-11-hexadecenil
Z11-16:ClAc	Cloroacetat de (*Z*)-11-hexadecenil
Z11-16:Cl_2Ac	Dicloroacetat de (*Z*)-11-hexadecenil
Z11-16:Cl_3Ac	Tricloroacetat de (*Z*)-11-hexadecenil
Z11-16:Fac	Fluoroacetat de (*Z*)-11-hexadecenil
Z11-16:F_2Ac	Difluoroacetat de (*Z*)-11-hexadecenil
Z11-16:F_3Ac	Trifluoroacetat de (*Z*)-11-hexadecenil
Z11-16:TFP	(*Z*)-1,1,1-trifluoro-14-nonadecen-2-ona

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

i.- INTRODUCCIÓ GENERAL

i.1.-INTRODUCCIÓ

El blat de moro (*Zea mays* L.) és un cultiu important en les alternatives de regadius de tota Espanya, i també, en els secans humits del nord de la península. La superfície cultivada a Espanya al 1994 va ser de 342.000 ha, amb una producció total de 2.267.600 Tm. La Comunitat Autònoma amb major superfície dedicada al blat de moro és Galícia, seguida per Aragó, Castella i Lleó, Castella-La Mancha, Catalunya, Extremadura i Andalusia. Pel que fa a la Vall de l'Ebre, aquesta és una important zona productora de blat de moro gra a nivell estatal (De León, 1995).

Malgrat aquestes produccions, el saldo comercial de blat de moro a Espanya és negatiu, ja que la demanda anual total supera els 4.000.000 Tm i, per tant, aquest dèficit s'ha de cobrir a través d'importacions. La demanda principal és la constituïda per la fabricació de pinsos per a l'alimentació animal (81%). En segon lloc es situa la demanda de la indústria amb un 17% (principalment per a l'obtenció de midons i glucoses per a diversos usos). Finalment la demanda de transformació per a alimentació humana i la del subministrament de llavors representa el 2% restant (De León, 1995).

Ostrinia nubilalis Hübner (Lepidoptera: Pyralidae) i *Sesamia nonagrioides* Lefèbvre (Lepidoptera: Noctuidae) constitueixen dues de les plagues més importants del blat de moro en tota l'àrea mediterrània (Castañera, 1986), i són coneguts com els barrinadors d'aquest cultiu.

Una característica important d'ambdues plagues és que les larves s'introdueixen després de l'emergència ràpidament dins de la planta. Aquesta condició de barrinadors fa que una vegada es troben dins de la canya del blat de moro, els tractaments amb insecticides siguin pràcticament ineficaços. Per tant, el control mitjançant l'aplicació de productes insecticides està limitat a un període de temps molt curt en que les larves encara no han tingut temps de penetrar en la tija. A més a més, és de sobres coneguda tota la problemàtica de la utilització d'insecticides en control de plagues: problemes de residus, contaminació ambiental, desenvolupament de resistències o toxicitats inespecífiques que poden donar lloc a desequilibris ecològics. Per aquesta raó, s'estan estudiant mètodes de lluita alternatius per reduir tots aquests efectes no desitjats dels insecticides.

Entre els mètodes alternatius que estan tenint més interès avui dia contra *O. nubilalis* hi ha la utilització de la lluita biològica mitjançant el parasitoide d'ous *Trichogramma maidis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Contra *S. nonagrioides* una de les alternatives és la utilització de feromones mitjançant la tècnica de confusió sexual, que està tenint resultats exitosos en moltes altres plagues de lepidòpters.

De tota manera, per a la utilització de qualsevol dels mètodes de lluita esmentats és del tot necessari disposar d'una feromona sexual sintètica eficaç. Aquesta és necessària per seguir els vols de les plagues i poder realitzar els tractaments insecticides o l'alliberament de parasitoides en el moment oportú, i lògicament, també per a l'aplicació de la tècnica de confusió sexual.

i.2.- *O. nubilalis*

i.2.1.- DESCRIPCIÓ TAXONÒMICA

Phyllum: ARTHROPODA
Classe: INSECTA
Subclasse: PTERYGOTA
Secció: ENDOPTERYGOTA
Ordre: LEPIDOPTERA
Subordre: GLOSSATA
Infraordre: HETERONEURA
Divisió: DITRYSIA
Superfamília: PYRALOIDEA
Família: PYRALIDAE
Subfamília: PYRAUSTINAE
Gènere: OSTRINIA
Espècie: O. NUBILALIS (Hübner, 1796)

i.2.2.- DISTRIBUCIÓ GEOGRÀFICA

O. nubilalis es troba àmpliament distribuïda a l'hemisferi nord entre les latituds de 10° i 58°, incloent Europa, Àsia, nord d'Àfrica, Filipines, Guam i l'arxipèlag japonès (Beck, 1987). També es troba a l'Amèrica del Nord com espècie introduïda sobre l'any 1912 (Vinal, 1917). El seu interval d'adaptació climàtica és molt ampli, incloent tant àrees semi-àrides càlides i fredes com hàbitats tropicals humits (Beck, 1987).

i.2.3.- BIOLOGIA DE L'INSECTE

El barrinador hiverna en un estat de diapausa com larva madura de 5è estadi a la tija, rostoll o panotxa del blat de moro. A la primavera, construeix un capoll dins el qual pupa i es transforma en papallona. Ben aviat després de l'emergència, la femella s'acobla i deixa els seus ous sobre els revers de les fulles a la planta hoste, generalment prop del nervi central. Es desenvolupa en 5 estadis larvals (Hudon i LeRoux, 1986a). A àrees on hi ha 2 o més generacions per any, la larva madura de la primera generació prepara un forat de sortida a la tija per a la papallona adulta i pupa dins la seva mina. Els nous adults emergeixen i dipositen ous per a una segona generació.

El cicle anual d'*O. nubilalis* comprèn d'una a sis generacions, segons la situació geogràfica. En general, a l'hemisferi nord, el nombre de generacions varia inversament amb la latitud (Guennelon, 1972). Així, al nord i centre d'Europa predominen els cicles amb una sola generació, mentre que a la zona mediterrània solen haver-hi dues generacions (Badcock, 1927; Thompson i Parker, 1928). A Espanya, s'ha descrit una generació a Galícia (Urquijo, 1939) i dues a la vall de l'Ebre (Alfaro, 1972).

i.2.4.- PLANTES HOSTE

El blat de moro (*Z. mays*) és la planta hoste més important. Malgrat tot, el barrinador és remarcablement polífag i pot atacar quasi totes les plantes robustes herbàcies i plantes cultivades amb tiges prou grans per què hi puguin entrar les larves (Hodgson, 1928; Dicke, 1932; Hudon i LeRoux, 1986a; Beck, 1987). Lewis (1975) descriu 223 espècies de plantes en les que s'hi pot establir. Al sud dels Estats Units, s'han descrit infestacions tant en plantes herbàcies com en llenyoses, i, en un cas poc usual, Tedders *et al.* (1981) descriuen que les larves que s'havien desenvolupat sobre l'espècie de mill *Panicum ramosum* L. plantades entre presseguers joves (*Prunus persica* (L.) Batch.) migraven al setembre als presseguers, on atacaven el 90% dels limbes. També s'han observat fortes infestacions sobre melca (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) i patata (*Solanum tuberosum* L.)(Hudon *et al.*, 1989).

En alguns llocs de l'Amèrica del Nord es fan postes sobre fava (*Vicia faba* L.) i pebrot (*Capsicum frutescens* L.) durant períodes d'alta densitat de plaga (Elliot *et al*., 1982; Eckenrode *et al*., 1983). També es coneix l'atac del barrinador sobre blat (*Triticum aestivum* L.)(Roelofs *et al*., 1985), crisantems (*Dendranthema spp.*)(Schultz i Coffelt, 1986) i pomera (*Malus pumila* Borkh.)(Straub *et al*., 1986) i, recentment, ha arribat a ser una plaga significativa en cotó (*Gossypium herbaceum* L.) al sud dels Estats Units (Savinelli *et al*., 1986).

i.2.5.- COMPORTAMENT LARVAL I DANYS

Les larves de primera generació mengen inicialment als teixits de la fulla i després ataquen l'espiga interior, menjant principalment a les anteres que s'estan desenvolupant. Quan surt l'espiga, els barrinadors baixen cap a la zona de la panotxa on mengen a la panotxa tendra i beina de la fulla abans d'entrar a la tija. Els estadis posteriors mengen a la mèdula de la tija i fan galeries en direcció descendent en progressar l'estació (Hudon i LeRoux, 1986b). Les larves de segona i posteriors generacions mengen inicialment al pol·len que s'acumula a les axil·les de les fulles, així com als teixits de la beina i collar; més tard, ataquen les panotxes abans de barrinar dins la tija.

El dany per la primera generació dóna lloc a plantes poc desenvolupades i reducció de l'ompliment del gra, mentre que el dany per la segona generació causa trencament de tiges i caiguda de panotxes. Les pèrdues de collita en blat de moro de gra són causades per l'alimentació de les larves durant l'estadi d'espigat del desenvolupament del conreu. La relació entre perjudici per alimentació de fulla i dany al gra per la primera generació va ésser avaluada per Berry *et al*. (1978), els quals van trobar que les reduccions en collita només es donaven quan el 50% o més de les plantes estaven infestades a l'estadi d'espigat del conreu. Aquest índex ha estat àmpliament adoptat com el llindar econòmic per als barrinadors.

i.2.6.- COMPORTAMENT DE L'ADULT. VOL I ACOBLAMENT

Les plantes hoste secundàries en camps de blat de moro i les àrees herbàcies adjacents juguen un paper

important en el comportament nocturn dels adults d'*O. nubilalis* (Showers *et al*., 1974). Els adults són més actius durant les primeres 3 o 4 hores de foscor, i l'acoblament es produeix en àrees de vegetació densa, a les voreres dels camps de blat de moro, on els adults venen a descansar i beure aigua (Showers *et al*., 1976). Aquesta vegetació contribueix a la formació de rosada i a la retenció de gotes de pluja. L'agregació i l'activitat sexual es dóna en aquests "llocs d'acció", que poden estar fins a 100 m del camp de blat de moro més proper (Showers *et al*., 1980). La rosada sembla que afecta significativament l'activitat sexual dels mascles, i l'aigua lliure de rosada o pluja sembla estimular l'activitat sexual de les femelles (DeRozari *et al*., 1977). No obstant, en zones àrides on no hi ha herbes fora de l'àrea conreada, els adults es troben al centre del camp irrigat de blat de moro (Lee, 1988).

El comportament sexual generalment està coordinat entre els sexes. Factors tals com la temperatura ambient (Showers *et al*., 1978), humitat relativa (DeRozari *et al*., 1977; Webster i Cardé, 1982), precipitació i velocitat del vent (Sappington i Showers, 1983) tenen influència en l'acoblament. S'ha observat, tant al laboratori (Loughner i Brindley, 1971) com al camp (Showers *et al*., 1974), que els mascles responen més a les femelles les nits quan la temperatura ambient baixa ràpidament al vespre i llavors es manté a un nivell constant durant més de 4 h, amb humitat relativa elevada.

El desenvolupament de l'adult és més ràpid en el mascle que en la femella, i els mascles emergeixen d'unes poques hores a uns pocs dies més aviat. Les femelles estan preparades per alliberar feromona i aparellar-se en unes poques hores després de l'emergència. El comportament de crida d'aquestes es produeix durant les primeres hores de foscor (Webster i Cardé, 1982). En proximitat d'una femella, el mascle executa una dansa pre-copulatòria característica, amb les ales vibrant i esteses cap a dalt, amb la genitàlia estirada, i amb els claspers obrint-se i tancant-se. Aquesta execució està seguida per l'aparellament (Klun, 1968). Rarament entre les femelles s'han observat aparellaments múltiples, però els mascles són capaços d'aparellar-se diàriament durant 7-9 dies (Loughner, 1971).

BIBLIOTECA VIRTUAL

i.2.7.- PREFERÈNCIES D'OVIPOSICIÓ

Els adults són relativament bons voladors i tendeixen a buscar les plantes de blat de moro més altes i vigoroses, en les que fan la posta. Els adults seleccionen llocs d'oviposició al revers de les fulles, generalment prop del nervi central. Els ous es deixen en masses d'uns 20 ous (Hudon i LeRoux, 1989b).

Per a moltes espècies d'insectes, els olors de la planta es consideren de menor importància en la selecció de l'hoste (Visser, 1986). Malgrat tot, Moore (1928) va dir que l'atracció d'aquest barrinador cap a la planta de blat de moro era en resposta a un oli volàtil produït en petites cèl·lules epidèrmiques trobades en gran nombre a les fibres vasculars de la fulla del blat de moro. Cantelo i Jacobson (1979) van dir que el fenilacetaldehid, una substància volàtil del blat de moro, atreia tant als mascles com a les femelles.

Schurr i Holdaway (1965, 1970) van revelar que les plantes de blat de moro infestades, o plantes amb danys mecànics, produïen una olor que era repel•lent per als adults i que si una proporció suficientment alta de plantes era danyada per larves de la primera generació, els adults emergents deixarien el camp en vols dispersius en massa. Un segon repel•lent va ésser descobert per Dittrick *et al*. (1983), els quals van trobar que els extractes de larves de 5è estadi d'*O. nubilalis* contenien un compost soluble en metanol que era repel•lent per als adults.

i.3.- *S. nonagrioides*

i.3.1.- DESCRIPCIÓ TAXONÓMICA

Phyllum: ARTHROPODA
Classe: INSECTA
Subclasse: PTERYGOTA
Secció: ENDOPTERYGOTA
Ordre: LEPIDOPTERA
Subordre: GLOSSATA
Infraordre: HETERONEURA
Divisió: DITRYSIA
Superfamília: NOCTUOIDEA
Família: NOCTUIDAE
Subfamília: AMPHIPYRINAE
Gènere: SESAMIA
Espècie: S. NONAGRIOIDES (Lefèbvre, 1827)

i.3.2.- DISTRIBUCIÓ GEOGRÀFICA

S. nonagrioides és un noctúid present a quasi tota l'àrea d'influència mediterrània (Prota, 1965). La seva repartició coincideix amb la zona de predominança del blat de moro sobre la melca i engloba tota l'àrea d'influència mediterrània.

Segons el mapa de la CAB nº 399 (1979), *S. nonagrioides* es localitza en països de l'àrea mediterrània com Grècia, Itàlia, França i la península Ibèrica, a més de les illes Canàries, Açores i Cap Verd (Schmutlerer *et al*., 1978). A més a més, ha estat citada a Israel (Melamed-Madjar i Raccah, 1979), Iran (Morradi *et al*., 1979), Turquia (Lodos, 1982), Algèria (Sourcout, 1912) i Xipre (FAO, 1973).

El seu llindar d'activitat nord és el paral·lel 45 (Anglade, 1972; Larue, 1984) i el seu llindar sud és el nord d'Àfrica (Larue, 1984; Naïbo, 1984).

i.3.3.- BIOLOGIA DE L'INSECTE

L'insecte hiverna en un estat de diapausa com larva desenvolupada a la tija, rostoll o panotxa del blat de moro. A la primavera pupa i es transforma en papallona. Ben aviat després de l'emergència, la femella s'acobla i deixa els seus ous a l'interior de la beina d'una de les fulles inferiors. Es desenvolupa en 5 o 6 estadis larvals. La larva desenvolupada prepara un forat de sortida a la tija per a la papallona adulta i pupa dins la seva mina. Els nous adults emergeixen i dipositen ous per a una segona generació.

El nombre de generacions de *S. nonagrioides* depèn de la regió (factor que inclou clima i latitud) en la que es desenvolupa, de l'alimentació i del percentatge de larves de cada generació que entra en diapausa (Eizaguirre, 1989). A Galícia les memòries realitzades per l'Estación de Fitopatologia Agrícola de La Coruña (1927-1938) parlen de dues, de la mateixa manera que Alfaro (1972) a la vall de l'Ebre, Feytaud (1923) a Baiona i Naïbo (1984) a França.

A la vall de l'Ebre es presenten dos vols complets i un tercer vol incomplet (Riba *et al*., 1992), aquest últim durant la segona quinzena de setembre. Aquest resultats coincideixen amb els obtinguts per Alfaro i Hernández (1973) a Saragossa i Galichet (1982) a Avignon.

i.3.4.- PLANTES HOSTE

En el sector més septentrional de la seva zona de distribució, delimitada pel paral•lel 45, *S. nonagrioides* viu preferentment a expenses del blat de moro (Anglade, 1972). La seva presència ha estat assenyalada també sobre altres plantes, entre les quals, per exemple, trobem espècies de gramínies cultivades, com la melca (*Sorghum sp.*), l'arròs (*Oryza sativa* L.)(Nepveu, 1953; Boselli, 1959), mill (*Panicum miliaceum* L.)(Mendes, 1913), civada *(Avena sativa* L.) o blat (*Triticum sp.*)(Miége, 1921), i diverses gramínies espontànies (Nucifora, 1966). També ha estat descrita en altres espècies com espàrrec (*Asparagus officinalis* L.)(Prota, 1965), gladiol (*Gladiolum sp.)* (Ciampolini i Zangheri, 1975), pebrot (*Capsicum anuum* L.) o tomàquet *(Lycopersicon esculentum* Mil.)(Larue, 1984).

i.3.5.- COMPORTAMENT LARVAL I DANYS

Les erugues neonates roseguen el còrion després de deixar el seu allotjament embrionari i s'alimenten del parènquima de les beines amb les que estan en contacte. Les eruguetes viuen sota la protecció de la beina i després del que queda d'ella. En plantes joves s'alimenten de la beina de la fulla superior abans de perforar cap el punt vegetatiu, al que destrueixen. En plantes de més edat, es dirigeixen cap al nus superior, penetren horitzontalment en la tija, o bé a nivell de la zona de formació d'arrels coronàries, o bé en l'esbós d'una panotxa rudimentària fins a la mèdula. Llavors viuen en una galeria que travessa varis entrenussos i expulsen les dejeccions a l'exterior. Les galeries van augmentant de mida a mesura que creixen les larves. Quan les plantes arriben als darrers estadis les erugues poden alimentar-se a les panotxes o sobre els grans (Anglade, 1972).

En l'atac de primera generació les larves troben plantes de blat de moro en els primers estadis fenològics, produint en molts casos la mort de la planta. En la resta de generacions, els danys depenen de la fenologia del panís en el moment de l'atac. La larva, cavant galeries, destrueix la mèdula de la canya, el que comporta un trastorn del corrent circulatori de la planta i, en conseqüència, una alimentació insuficient. A més a més, la debilitació produïda en la canya pot provocar pèrdues importants de collita per caiguda de plantes i panotxes deguda al vent.

i.3.6.- COMPORTAMENT DE L'ADULT. VOL I ACOBLAMENT

Els adults emergeixen durant l'escotofase 2-3 h abans de la fotofase. Les femelles adopten una posició de crida la nit següent a la seva emergència, amb un màxim durant la segona nit (Babilis i Mazomenos, 1992a). Si no hi ha hagut acoblament, la crida continua totes les nits següents, emetent una feromona sexual atraient per als mascles i produïda per les glàndules corresponents, situades entre els segments 7 i 8, 8 i 9+10 (Sreng i Sreng, 1988). El comportament de crida comença a la segona hora de foscor, amb un màxim entre la 4ª i la 6ª hora (Mazomenos, 1984; Babilis i Mazomenos, 1992a). La crida és predominantment contínua i està regulada per un ritme circadià (Babilis i Mazomenos, 1992a). L'activitat pre-copulatòria dels mascles i femelles de *S. nonagrioides* és similar a la descrita per a altres lepidòpters. L'extrusió de la glàndula de feromona per part de la femella, les ales esteses i l'abdomen exposat al corrent d'aire són les principals característiques (Babilis i Mazomenos, 1992a). Com en altres lepidòpters, el mascle respon a la femella ventilant les ales, enlairant el vol, aterrant, atansant-se a la femella, refregant les seves ales al costat de la femella i fent intents de copulació (Babilis i Mazomenos, 1992a).

El màxim d'activitat de crida per part de la femella coincideix amb el màxim de producció de feromona (Babilis i Mazomenos, 1992b), i amb el màxim d'acoblaments (Puena, 1984; Babilis i Mazomenos, 1992a). Una vegada la femella s'ha aparellat, es suprimeix la biosíntesi de feromona (Babilis i Mazomenos, 1992b) i la crida, i no es reaparellen, mentre que alguns mascles es poden reaparellar durant les pròximes nits (Puena, 1984; Babilis i Mazomenos, 1992a). L'acoblament té una durada mitjana d'1 h 30 min (Puena, 1984).

i.3.7.- PREFERÈNCIES D'OVIPOSICIÓ

Anglade (1972) descriu el comportament de posta de la següent manera: la femella s'enfila sobre la planta (és atreta per qualsevol objecte disposat verticalment i paregut a una tija) a partir del sòl, busca una beina, generalment sobre les entrenussos inferiors de la panotxa i pon sobre la cara interna d'ella, després d'haver-la separat lleugerament de la tija. Els ous (de vegades centenars que poden ser postos en plantes diferents del blat de moro però sempre amb beina) es disposen sovint en una sola capa d'una a cinc files paral•leles, podent, segons Larue (1984), cobrir totalment l'interior de la beina.

Prota i Cavalloro (1974) indiquen que la majoria dels ous són postos 24-48 h després de l'aparellament. Segons Lespes i Jourdan (1940) les postes de la natura contenen entre 25-50 ous dipositats en la beina de la fulla del primer al tercer nus, i el nombre de postes per femella varia de tres a nou.

i.4.- CONTROL DELS BARRINADORS

i.4.1.- MÈTODES CULTURALS

Un dels mètodes culturals de control d'*O. nubilalis* i *S. nonagrioides* és l'elecció de la data de sembra, encara que de forma contradictòria. Les parcel·les sembrades més primerencament són les que sofreixen la majoria dels atacs d'*O. nubilalis*: reben la totalitat de les postes i són molt favorables a la supervivència larval (Guennelon i Audemard, 1960). També Prota i Del Rio (1968) aconsellen una sembra tardana per prevenir l'oviposició en massa de *S. nonagrioides* en primavera. Per altra banda, encara que el blat de moro sembrat molt primerenc té més possibilitats de ser infestat per la 1ª generació, sofreix menys atac per la 2ª generació, a causa del seu estadi vegetatiu avançat que el fa menys atractiu per a la posta i menys favorable per a la supervivència larval. Al contrari, quan la data de sembra és tardana, es redueix l'atac per la 1ª generació, però és més sensible per a la 2ª generació. Els panissos sembrats en juny-juliol (com a segon cultiu) reben exclusivament l'atac de la 2ª generació, pel que són molt receptius a la posta i molt favorables al desenvolupament larval (Guennelon i Audemard, 1960). Per altra banda, Anglade i Bergon (1960), Arias i Alvez (1973) i Alvarado *et al*. (1986) recomanen per a *S. nonagrioides* sembres primerenques per evitar la proliferació d'erugues hivernants d'última generació, que seran la causa de les posteriors infestacions primaverals.

Anglade (1962) i Monteagudo (1962) aconsellen endarrerir la sembra del blat de moro com a segon conreu en les proximitats de conreus de sembra normals i, fins i tot, la recollida i destrucció, en els camps que ho permetin, de plantes joves atacades per la 1ª generació i que estan condemnades a desaparèixer. També són recomanables les rotacions amb cultius poc sensibles a les plagues (Guennelon, 1972). Una de les recomanacions generals és la de no sembrar blat de moro en una parcel·la, o en les seves proximitats, que l'any anterior havia tingut un fort atac de barrinadors.

La fertilitat i la humitat del sòl són favorables al desenvolupament de les plagues, però també aquests factors contribueixen a disminuir l'efecte nociu de l'atac. Les plantes de blat de moro més vigoroses toleren

millor l'atac que les plantes de mida petita. El reg per aspersió també s'ha de considerar com un factor de destrucció de larves joves (Guennelon, 1972).

La destrucció de rostolls és una tècnica àmpliament defensada. Delgado (1929) aconsella arrancar i cremar els rostolls a l'hivern i primavera, i si això no és possible, almenys arrancar-los per a que la sequedat produeixi la mort de l'eruga. Anglade (1962) i Monteagudo (1962) aconsellen l'enterrament de rostolls i, fins i tot, la incineració de tiges, executant tot això de forma generalitzada en grans superfícies. Guennelon (1972) i Larue (1984) insisteixen en profunditzar amb l'enterrament i destrucció de rostolls alguns centímetres en el sòl.

i.4.2.- CONTROL BIOLÒGIC

Des dels anys 20 s'han intentat utilitzar una vintena d'espècies per al control biològic d'*O. nubilalis*. La major part d'elles parasiten les larves de la plaga (Guennelon, 1972). Sembla ser que l'enemic natural més efectiu és *Lydella thompsoni* Herting (Diptera: Tachinidae), que parasita les larves hivernants amb un nivell d'eficàcia alt, entre el 15-30% (Guennelon i Audemard, 1960; Guennelon, 1972).

En l'actualitat, sembla adquirir cada cop més interès la utilització de l'entomòfag *T. maidis* (Raynaud i Crauzet, 1985). La femella d'aquest himenòpter fa la posta sobre els ous d'*O. nubilalis*, els quals s'enfosqueixen, no produint-se l'emergència de les larves. Per a una adequada aplicació del control per *T. maidis* es requereix un coneixement profund de la biologia i dels vols de la plaga.

En *S. nonagrioides*, el control biològic no és utilitzable fins al moment. Malgrat tot, no s'ha d'oblidar el parasitisme natural també de *L. thompsoni* (Larue, 1984). Galichet (1982) aconsella, per respectar tot el possible a l'esmentat parasitoide, destruir els rostolls en primavera per permetre-li així l'emergència en els casos en els que hiverni en l'eruga del barrinador, evitar la crema de plantes de les voreres com *Phragmites sp., Arundo sp.* etc..., que destrueix les poblacions de lepidòpters d'aquelles plantes que són hostes alternatius de *L. thompsoni*.

i.4.3.- RESISTÈNCIA

Klun *et al.* (1967) van identificar el DIMBOA (2,4-dihidroxi- 7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona), component principal de les benzoxazinones aïllades del blat de moro com la base de la resistència a la 1ª generació d'*O. nubilalis*. El compost suprimeix el desenvolupament larval i incrementa la mortalitat larval. Gutiérrez i Castañera (1986) observen l'alta correlació entre la concentració de DIMBOA en els teixits de la planta de blat de moro i la seva resistència a l'atac de barrinadors. A més a més, assenyalen que la resistència sembla estar basada en mecanismes d'antibiosi i que les línies de blat de moro amb un elevat contingut de DIMBOA poden actuar com un agent de control efectiu de la 1ª generació dels barrinadors i disminuir la població potencial de la 2ª generació.

Figura 1-1

Anglade i Molot (1967) indiquen que experiments preliminars amb altres plagues i malalties del blat de moro demostren que alguns àcids naturals d'estructura fenòlica inhibeixen el desenvolupament del fong *Fusarium sp.* i poden constituir factors de resistència a l'atac larval de *S. nonagrioides* a la tija. En algunes línies, sílica i lignina semblen conferir resistència a la 1ª generació d'*O. nubilalis*, mentre que el contingut de sílica en els teixits de la beina confereix resistència a la 2ª generació (Guthrie *et al*., 1986).

Una tecnologia nova és l'obtenció de plantes transgèniques que produeixen la-endotoxina del bacteri *Bacillus thuringiensis* mitjançant la inserció del gen responsable per enginyeria genètica en les plantes (Meeusen i Warren, 1989). El primer èxit d'aquesta tecnologia va ser obtingut per Vaeck *et al.* (1987), els quals utilitzant un gen de *B. thuringiensis*, van desenvolupar plantes de tabac que produïen suficient endotoxina per controlar les larves de *Manduca sexta* Joh. (Lepidoptera: Sphingidae).

i.4.4.- CONTROL QUÍMIC

Els insecticides tenen més possibilitats de ser eficaços contra les larves neonates, durant les fases d'alimentació i desplaçament sobre les parts externes de la planta, després de l'eclosió. Una vegada les larves s'han introduït dins de la planta i es troben en les galeries de les tiges i de les panotxes resulten pràcticament invulnerables. Un altre problema del control químic és el llarg període de postes i d'eclosió, que fa que puguin ser necessàries vàries aplicacions successives (Guennelon, 1972).

Segons Alfaro i Hernández (1973) els tractaments químics s'han de dirigir contra erugues neonates durant el temps que romanen sense entrar a les tiges. Alvarado *et al.* (1986) indiquen que tan sols s'ha de tractar el blat de moro quan el 50-60% de les plantes està atacat per barrinadors. Arias i Alvez (1973) aconsellen tractar als 50-55 dies de la sembra per polvorització i 15 dies després mitjançant grànuls repartits per les axil•les de les

fulles. Larue (1984) proposa els tractaments amb diflubenzuron en l'estadi del cultiu de 3-4 fulles o quan s'observin els primers danys i desaconsella els piretroides. Naïbo (1984) aconsella el diflubenzuron i els piretroides per a la 1ª generació i desaconsella els darrers per a la 2ª. Un dels problemes dels tractaments químics, a més de ser ineficaços contra les larves que han penetrat en la tija, és que solen provocar la proliferació d'àcars fitòfags (*Tetranychus sp.*) i pugons en eliminar els seus enemics naturals (Alvarado *et al.*, 1986).

També en el cas d'utilització del control químic és del tot necessari el coneixement dels vols de l'insecte, a efectes d'optimitzar el moment de tractament.

i.5.- LES FEROMONES EN EL CONTROL DE PLAGUES

L'estudi de la comunicació química entre insectes és una alternativa prometedora dins de la recerca de nous mètodes de control de plagues, evitant problemes de toxicitat inespecífica, acumulació de residus en el medi ambient, desenvolupament de soques d'insectes resistents, etc...

La comunicació química es realitza, per part d'un organisme viu, mitjançant l'emissió de substàncies transmissores d'un missatge a nivell intra o interespecífic, anomenats per tal motiu semioquímics (missatgers químics) (Harborne, 1982).

Els efectes interespecífics (o al·leloquímics) poden ser de tipologia diversa, segons suposin un benefici per a l'emissor (al·lomones), per al receptor del missatge (kairomones), o bé per ambdós (sinomones). Dins dels efectes interespecífics es poden assenyalar les interaccions planta-insecte i insecte-depredador (Norlund *et al.*, 1981).

Els efectes intraespecífics són promoguts per substàncies com les feromones, que regulen diferents aspectes del comportament intraespecífic d'una espècie. Aquestes substàncies són particularment importants en els insectes, on es distingeixen, segons el tipus de resposta obtinguda, feromones d'atracció sexual, feromones d'alarma, de marcatge, d'agregació, etc...(Harborne, 1982).

Encara que la primera elucidació estructural d'una feromona sexual, el bombikol, (*E*,*Z*)-10,12-hexadecadienol, de la femella verge del cuc de seda *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), va ser duta a terme a finals dels anys 50 (Butenandt *et al.*, 1959), la petita quantitat en que es troben presents aquestes substàncies en l'insecte ha impedit que la seva investigació es desenvolupés fins dates més recents, amb l'aparició de modernes tècniques analítiques instrumentals, com ara la combinació cromatografia de gasos-espectrometria de masses (CG-EM) i les espectrometries d'infraroigs (IR) i de ressonància magnètico-nuclear (RMN) amb sistema de transformada de Fourier (Heath i Tumlinson, 1984).

Generalment, les feromones sexuals són secrecions constituïdes per una o vàries substàncies volàtils produïdes per les femelles, encara que en algunes espècies també poden ser produïdes pels mascles, per tal d'atraure des de gran distància a la parella de la pròpia espècie.

Aquesta producció de feromona sexual està condicionada per aspectes fisiològics de l'insecte (edat, virginitat,...) i també per factors abiòtics de l'entorn (temperatura, fotoperíode, intensitat lluminosa, etc...)(Jacobson, 1972).

La percepció d'aquest missatge està íntimament lligada a la presència en les antenes de l'insecte de diferents tipus de cèl·lules olfactives *(sensilla trichodea)* que són capaces de respondre als diferents constituents presents en la secreció feromonal (Ganjian *et al.*, 1978). Aquesta resposta es manifesta tant des del punt de vista electrofisiològic, per l'aparició en l'antena d'un potencial elèctric que convenientment amplificat pot registrar-se en un oscil·loscopi (electroantenograma)(Roelofs i Comeau, 1971), com des del punt de vista del comportament de l'insecte receptor de l'estímul, que es concreta en una sèrie de seqüències característiques que van des de la simple acció d'orientació anemotàctica fins l'acoblament.

En algunes espècies d'insectes s'ha comprovat que alguns compostos d'estructura diferent a la seva veritable feromona sexual poden promoure una atracció similar, encara que usats a una dosi molt superior a la requerida pel producte natural (Beroza, 1970). Malgrat tot, generalment en els casos en que s'ha pogut elucidar l'estructura dels components majoritaris de la secreció feromonal sexual, es prefereix utilitzar compostos sintètics amb la mateixa estructura, encara que cal indicar que la reproducció completa de l'activitat del producte natural pot arribar a ser molt difícil, degut a la presència en el mateix de compostos minoritaris sinèrgics que a vegades escapen a la detecció.

Una característica dels components de les feromones sexuals naturals és la seva simplicitat estructural, que ve imposada per la volatilitat requerida per la transmissió del missatge a llarga distància. Dins dels lepidòpters, un dels ordres més estudiats, s'ha comprovat que les estructures són generalment acetats, alcohols o aldehids insaturats de cadena lineal de 8 a 18 àtoms de carboni.

L'especificitat del missatge es modula pel nombre i posició de les insaturacions dins de la cadena, així com per la seva estereoquímica. Aquest darrer requisit és molt estricte, doncs a vegades, la presència de

quantitats ínfimes d'isòmers geomètrics o bé una relació no adequada, pot ocasionar la inhibició d'una activitat.

En feromones òpticament actives, un altre aspecte important és la relació entre la configuració de centres quirals en l'estructura de la feromona i l'activitat. En els casos estudiats fins ara, s'ha vist que un dels diastereoisòmers és més actiu que els altres, que poden exhibir també un cert nivell d'activitat (Rossi, 1978).

L'ús de feromones o atraients sexuals sintètics constitueix un dels elements bàsics dins de l'anomenat control dirigit i control integrat de plagues. La lluita dirigida consisteix bàsicament, en un seguiment de l'evolució de la plaga per tal de determinar el moment òptim per realitzar el tractament. Per altra part, el concepte de lluita integrada ha estat definit per l'Organització Internacional de Lluita Biològica (OILB) com la lluita contra els organismes perjudicials utilitzant un conjunt de mesures que responguin de manera simultània a les exigències econòmiques, toxicològiques i ecològiques, reservant la prioritat d'actuació als elements naturals de control i respectant els llindars de tolerància, entenent per llindar de tolerància el nivell de danys econòmics per sota del qual no està justificat un tractament químic.

Les feromones sexuals dels insectes són molt utilitzades tant en el camp agrícola com en el forestal, principalment per efectuar el seguiment d'una plaga, el que permet la realització de corbes de vol, la detecció de la presència d'una plaga, conèixer el nombre de generacions, el grau d'infestació, etc...

També s'han utilitzat com a mètode de lluita directe, existint tres variants bàsiques d'utilització:

-Reduir la població de la plaga mitjançant la col·locació d'una gran densitat de trampes en un camp (captures massives o "mass trapping").

-Concentrar la infestació sobre una petita part de la parcel·la conreada i tractar posteriorment amb insecticides convencionals (cultius trampa o "trap cropping ").

-Saturar l'atmosfera amb feromona per confondre l'insecte i evitar així la copulació (confusió sexual o "mating disruption").

i.5.1.- SEGUIMENT DE POBLACIONS

Les trampes de feromona es poden utilitzar per detectar la presència i la densitat de certes espècies plaga. Aquestes trampes, en general, capturen, fins i tot, quan la densitat de la plaga és molt baixa, i d'aquesta manera es poden emprar qualitativament per alertar d'una incidència primerenca de la plaga, o per definir àrees d'infestació, particularment quan la distribució global i el cicle biològic són poc coneguts.

Més difícil és intentar amb trampes de feromona relacionar el nombre d'insectes capturats en les trampes amb algun llindar econòmic de danys. En el cas de plagues de lepidòpters, les trampes cacen adults, mentre que l'estadi que provoca els danys és la larva. L'interval de temps, de vegades vàries setmanes, entre els dos estadis, pot donar lloc a una manca total de correlació (Campion, 1987).

i.5.2.- CAPTURES MASSIVES ("MASS TRAPPING")

El concepte de captures massives sembla suficientment simple: un atraient altament específic, distribuït en trampes, pot caçar un nombre prou elevat d'individus per reduir la població fins nivells econòmicament acceptables. La pregunta immediata és quina proporció de la població s'ha de capturar per assolir tals resultats. Per lepidòpters, on només es capturen mascles, s'assumeix, en general, que l'eficiència de les trampes ha de ser del 80-95% (Knipling i McGuire, 1966).

Les captures massives s'han intentat en una àmplia varietat d'espècies de lepidòpters (Webb, 1982). Hi han indicacions d'èxit en alguns casos, però fins al moment cap d'aquest sistemes ha assolit una eficàcia suficient amb un cost econòmic acceptable. Més èxits s'han assolit amb la tècnica de captures massives amb les feromones d'agregació d'alguns coleòpters, tals com *Scolytus multistriatus* (Lanier *et al.*, 1979), *Anthonomus grandis* (Hardee, 1982), o *Ips typographus* (Bakke, 1982).

i.5.3.- CULTIUS TRAMPA ("TRAP CROPPING")

En la tècnica del cultiu trampa es sembra una part de la parcel·la abans de la sembra principal, i els insectes que ataquen les plantes s'eliminen mitjançant insecticides. Eliminant els insectes d'aquesta manera es disminueix el creixement de les poblacions de la plaga durant el cicle posterior del cultiu. Aquesta tècnica pot ser millorada significativament mitjançant el tractament del cultiu trampa amb feromona, de manera que el nombre d'insectes atrets sigui molt més gran i des de distàncies més grans. Amb els insectes concentrats en una petita part del camp, poden ser eliminats amb un mínim d'insecticida. Aquesta tècnica també té un efecte mínim sobre la fauna auxiliar (Kydonieus i Beroza, 1982).

Algunes experiències d'aquest tipus s'han portat a terme en cotó utilitzant la feromona d'agregació del

curculiònid *A. grandis* (Hardee, 1982). També s'ha assajat aquesta tècnica en arbres forestals utilitzant arbres trampa contra els escolítids *I. typographus* (Bakke i Riege, 1982) i *Dendroctonus ponderosae* (Borden, 1992).

i.5.4.- CONFUSIÓ SEXUAL ("MATING DISRUPTION")

La confusió sexual es realitza saturant l'àrea tractada amb feromona sintètica, de forma que es redueix l'encontre o la convergència dels dos sexes. Els mecanismes implicats poden ser els següents:

1.- L'exposició constant de l'insecte a un nivell relativament elevat de feromona provoca l'adaptació dels receptors i l'habituació del sistema nerviós central.

2.- Un nivell prou alt de feromona aplicada emmascara la feromona natural, i d'aquesta manera l'insecte no pot seguir el rastre.

3.- La feromona sintètica s'aplica en suficients fonts discretes de forma que els insectes dins l'àrea tractada es poden despistar de les fonts naturals.

Els factors importants a considerar en la utilització de confusió sexual per al control d'una plaga són (Campion, 1987):

1.- Una feromona amb una estructura estable i sense components secundaris complicats.
2.- Insectes plaga poc polifàgs.
3.- Insectes amb capacitat migratòria limitada.
4.- Un coneixement bàsic de la biologia de l'insecte.
5.- Mesures adequades de la confusió i de l'estimació de les poblacions de larves.
6.- Formulacions adequades i mètodes apropiats d'aplicació.
7.- Importància econòmica de la plaga per garantir un interès comercial.
8.- Raons convincents per canviar les actuals estratègies de lluita.

i.6.- TÈCNIQUES EN LA CARACTERITZACIÓ DE FEROMONES

i.6.1.- ELECTROANTENOGRAFIA (EAG)

La tècnica de l'electroantenografia (EAG) consisteix en la mesura de la diferència de potencial que es produeix en l'antena d'un insecte en resposta a un estímul volàtil. Encara que la percepció d'olors és, en general, poc coneguda, el sistema perifèric sensible de l'insecte, les antenes, és fàcilment accessible i ha estat estudiat amb gran detall (Steinbrecht i Schneider, 1980; Kaissling i Thorson, 1980). Schneider (1957) fou un dels pioners en la tècnica de l'electroantenograma (EAG) i va dur a terme el primer experiment electrofisiològic sobre el sentit olfactiu dels insectes amb *B. mori*. Aquests estudis van revelar que es podien detectar petits potencials olfactoris en els receptors a partir d'una antena aïllada posada entre dos microelectrodes capil•lars connectats a un amplificador i a un instrument integrador.

Segons Schneider, l'electroantenograma és bàsicament la suma de molts potencials olfactoris registrats més o menys simultàniament per un elèctrode situat a l'epiteli sensorial. L'amplitud de la resposta, correlacionada amb la freqüència dels impulsos nerviosos generats, augmentava quan s'incrementava la concentració de l'estímul químic fins assolir el grau de saturació.

En general, les antenes dels mascles posseeixen milers de llargs pèls olfactius *(sensilla trichodea)* que contenen cèl·lules receptores que responen als components de feromona de la femella. Les parets d'aquests pèls estan perforades per gran quantitat de porus d'uns 10-15 nm de diàmetre que probablement estan involucrats en la difusió de les molècules causants de l'olor fins a la dendrita receptora (Kaissling, 1971).

Un electroantenograma presenta 3 fases característiques:

a) Una ràpida deflecció negativa a l'inici de l'estímul, durant la qual l'electroantenograma assoleix la seva màxima amplitud.

b) Una fase intermèdia, tònica, durant la qual el potencial es manté en un valor sostre durant tot el temps de l'estímul.

c) La fase final de l'estímul en la qual es produeix el retorn a la línia de base més o menys ràpidament, segons la naturalesa del compost inhalat i la duració de l'estímul.

L'amplitud EAG està produïda pels processos descrits anteriorment i depèn de la concentració i de l'estructura química del compost. Un dels components de la feromona sexual, generalment provoca la resposta EAG més elevada en els mascles dels lepidòpters. Aquesta sensibilitat i especificitat de l'antena del mascle als components de la seva feromona sexual fan que l'EAG sigui una eina molt valuosa en l'assaig de components feromonals i en la predicció de l'estructura dels mateixos.

Per a un compost donat, l'amplitud de resposta està en relació directa amb la intensitat de l'estímul (concentració del mateix a l'aire). A més a més, l'amplitud global de la resposta de l'antena està correlacionada amb l'estructura del producte estimulant, amb la qual cosa podem qualificar la resposta de productes similars a la feromona i comparar l'activitat de diversos compostos (Roelofs i Comeau, 1971).

Existeixen diferents formes d'obtenir un electroantenograma. Schneider utilitza un capil·lar ple d'un electrolit que incideix sobre la base de l'antena connectada a un elèctrode de referència i un capil·lar d'idèntica constitució que incideix sobre els anells de l'antena (prèviament seccionada en el seu extrem), connectada a un elèctrode de registre (Schneider, 1962).

Roelofs usa igualment una antena aïllada, la base de la qual està en contacte amb una superfície humida d'un bloc de cera, col·locada en un vidre de rellotge ple de solució de Ringer i serveix d'elèctrode de referència, mentre que l'elèctrode actiu es posa en contacte, amb l'ajuda d'un manipulador, amb l'extremitat de l'antena, a la que prèviament s'han seccionat alguns dels seus artells finals (Roelofs *et al.*, 1971b).

Nagai *et al.* (1977) col·loquen una antena seccionada per sobre de petites corbes simètriques plenes de solució conductora. Ambdues extremitats estan en contacte amb els líquids d'on surten els corresponents fils de plata, que fan d'elèctrodes.

Existeix una variant de la tècnica de l'EAG, el SCR (*single cell recording*), que consisteix en mesurar la resposta electrofisiològica de *sensilla* olfactives individuals (Boeckh, 1962), en lloc de l'antena completa. El seu avantatge és que es pot avaluar la resposta de cada una de les cèl•lules receptores especialitzades en un dels components feromonals.

Per estimular l'antena s'utilitza un corrent d'aire saturat amb el producte actiu. La inserció a l'aire del compost es pot efectuar amb ajut d'una xeringa o mitjançant formes més sofisticades. El corrent d'aire pur s'haurà de mantenir sobre l'antena constantment per assegurar la seva descontaminació.

Amb solucions valorades dels compostos a provar, s'impregnen trossos de paper de filtre que es col•loquen dins de pipetes Pasteur o d'una xeringa. D'aquesta manera, la seva introducció dins del corrent d'aire és més fàcil. En algunes ocasions s'ha utilitzat la pròpia glàndula de l'insecte com a font de producte a provar.

Des de la seva aparició, aquesta tècnica ha constituït un mètode particularment interessant en la determinació d'estructures de feromones. Les amplituds dels diferents compostos assajats poden ser comparades quan es treballa amb les mateixes concentracions. Així, per exemple. Roelofs i Comeau (1971) van assajar sobre l'espècie *Argyrotaenia velutinana* Walker (Lepidoptera: Tortricidae) els anàlegs de la seva feromona, l'acetat de *(Z)* -11-tetradecenil, i van estudiar tots els alcohols i acetats isòmers que es distingien en la posició i geometria del doble enllaç. El resultat va ser que tant l'alcohol com l'acetat amb insaturació al C_{11} i amb geometria Z eren els més actius.

Estudiant els perfils dels EAG s'ha pogut predir a partir de les respostes de l'antena front als diferents compostos monoinsaturats, l'estructura de compostos dienics. Així doncs, en el cas de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae), la feromona de la qual és el *(E,E)* -8,10-dodecadien-1-ol, va resultar que d'entre tots els alcohols monoinsaturats amb 12 àtoms de carboni assajats, els més actius eren els que presentaven insaturacions en *E* 8, *E* 9 i *E* 10 (Roelofs *et al.*, 1971a).

Un altre exemple el trobem en *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae).

Els monoens més actius eren els acetats de tridecenil amb les insaturacions en *E* 4, *Z* 7 i *Z* 10, i la feromona natural va resultar ser una barreja dels acetats de (*E,Z*)-4,7-tridecadienil i de (*E,Z,Z*)-4,7,10-tridecatrienil (Persoons *et al.*, 1976).

Aquesta tècnica pot utilitzar-se acoblada a un cromatògraf de gasos, permetent la detecció d'activitat de pics minoritaris en un cromatograma complex.

i.6.2.- BIOASSAJOS EN TÚNEL DE VENT

Els bioassajos que utilitzen el comportament de vol dins d'un corrent d'aire són probablement els més discriminatius en la investigació de feromones (Baker i Linn, 1984).

En laboratori s'utilitza el túnel de vent, i aquest té clars avantatges sobre els assajos de camp (captures d'insectes en trampes). El primer i més important és que es poden controlar els factors ambientals (temperatura, humitat, velocitat del vent, constitució de l'atraient). D'aquesta manera, la relació causa-efecte de cadascuna d'aquestes variables es pot obtenir fàcilment en túnel de vent. Un altre avantatge és que els experiments es poden realitzar durant tot l'any.

El túnel de vent s'ha anat utilitzant per a una àmplia varietat d'estudis que requereixen la detecció de canvis subtils de comportament. Així, s'ha emprat per a identificació de feromones, proves de qualitat de barreges atraients, disseny de trampes, proves d'habituació, estudis d'orientació, etc...

El tipus més comú de túnel de vent en investigació de feromones implica un moviment horitzontal de l'aire, que permet un desplaçament horitzontal de l'insecte mitjançant anemotaxi. El corrent d'aire ha de tenir un

flux laminar, sense turbulències. Per altra banda, s'ha de tenir cura d'evitar la contaminació de l'aire i de les superfícies interiors del túnel amb altres productes diferents del que es prova (Baker i Linn, 1984).

i.6.3.- PROVES DE CAMP: CAPTURES EN TRAMPES

Les proves de captures en trampes de feromona també s'han utilitzat com un bioassaig en la caracterització i identificació de moltes feromones sexuals (Cardé i Elkinton, 1984). En aquests bioassajos es determina l'activitat relativa de diferents tractaments que difereixen en la composició de l'atraient, bé sigui des del punt de vista qualitatiu (presència o absència d'algun component), o des del punt de vista quantitatiu (relació entre components o quantitat total d'atraient). L'objectiu d'aquestes comparacions és distingir estadísticament els tractaments per la seva capacitat d'atraure i capturar els individus de l'espècie. Aquestes proves de camp també serveixen per avaluar l'especificitat de la barreja feromonal en relació a altres espècies simpàtriques.

Per altra banda, les trampes de feromona també s'utilitzen en control de plagues de diferents maneres. Es poden utilitzar per realitzar el seguiment, la detecció i, fins i tot, l'estimació de les poblacions de l'insecte. També es poden emprar en la supressió directa de poblacions mitjançant la tècnica de captures massives. Finalment, una altra aplicació de les trampes de feromona és l'avaluació de l'eficàcia de la tècnica de confusió sexual.

i.7.- OBJECTIUS

Els objectius d'aquesta tesi són millorar les possibilitats de la utilització de feromones en el seguiment i control dels barrinadors del blat de moro. Aquests objectius es poden dividir en els quatre punts següents:

1.- Determinació de la raça o les races feromonals d'*O. nubilalis* existents en el nord-est de la península Ibèrica, mitjançant tres tipus d'estudis.

-Anàlisi cromatogràfica dels extractes de glàndules de femelles.

-Resposta de mascles en EAG a les tres barreges de la feromona corresponents a les tres principals races feromonals descrites.

-Comparació de les captures en camp de mascles en trampes amb les tres formulacions de la feromona sexual.

2.- Optimització de la composició de la feromona sexual de *S. nonagrioides* mitjançant diferents estudis:

- Anàlisi dels extractes de glàndules de femelles.

-Optimització de la barreja feromonal mitjançant proves en EAG.

-Estudi de diferents barreges i efecte dels components minoritaris en proves de túnel de vent.

-Estudi de diferents barreges mitjançant proves de camp.

3.- Avaluació de la confusió sexual com a possible mètode de control de *S. nonagrioides*.

4.- Determinació de l'eficàcia de diferents anàlegs estructurals de la feromona com a inhibidors o potenciadors de la percepció feromonal per part dels mascles d'*O. nubilalis* i *S. nonagrioides*, mitjançant diferents tipus de proves:

-Proves de laboratori d'inhibició de la resposta en EAG.

-Proves de camp d'inhibició de captures en trampes de feromona a la que s'hi ha afegit l'anàleg.

-Proves en túnel de vent d'inhibició de la resposta dels mascles.

ii.- MATERIAL I MÈTODES GENERALS

ii.1.- SÍNTESIS DE PRODUCTES

ii.1.1.- EXPERIMENTAL

Els espectres d'infraroig (IR) s'han enregistrat en un espectrofotòmetre Philips PU-9714, utilitzant CCl_4 com a dissolvent. Els espectres de ressonància magnètica nuclear (RMN) s'han realitzat en espectròmetres Varian XL200 i Varian Unity 300 operant a freqüències de 200 i 300 MHz per a [^{1}H] i a 50 i 75 MHz per a [^{13}C], respectivament. En tots els casos s'ha utilitzat deuterocloroform com a dissolvent i els desplaçaments químics (δ) s'han referit al tetrametilsilà, com a referència interna. Els espectres de RMN- [^{19}F] s'han realitzat amb l'instrument Varian Unity 300 a 282 MHz i, els valors s'han expressat en escala δ relativa a l'àcid trifluoroacètic, que es va emprar com a referència externa (solució a l'1% en deuterocloroform). Les multiplicitats observades en l'assignació de senyals apareixen en el text de la següent manera: s, singlet; t, triplet; c, quatruplet; q, quintuplet; m, multiplet; dd, doble doblet; dt, doble triplet; dc, doble quatruplet; dm, doble multiplet; sa, senyal ampla; sc, senyal complexa.

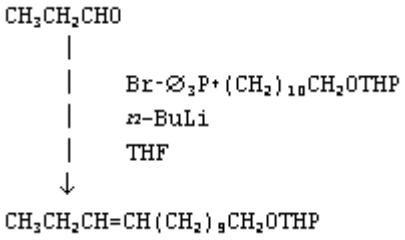
Les anàlisis per acoblament CG-EM es van realitzar amb un espectròmetre Hewlett-Packard 5889A, equipat amb un analitzador quadrupol i treballant amb la tècnica d'ionització per impacte electrònic. El cromatògraf estava equipat amb una columna capil·lar de sílica fosa HP-1 (12 m x 0,2 mm d.i., 0,33 μm d'espessor de pel·lícula), emprant heli com a gas portador. Les anàlisis per cromatografia de gasos s'han realitzat amb cromatògrafs Carlo Erba models Mega 5160 i Vega 5000 equipats amb detector d'ionització de flama (FID), utilitzant una columna capil·lar Supelcowax-10 (30 m x 0,25 mm d.i., 0,25 μm d'espessor de pel·lícula) i, una columna de vidre OV-101 al 10% sobre Chromosorb W (2 m x 2 mm d.i.), respectivament. Com a gasos portadors es van emprar hidrogen i nitrogen, respectivament.

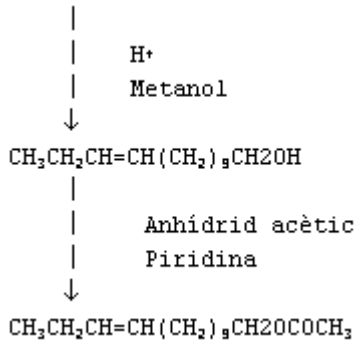
La separació d'isòmers Z i E de l'acetat d'11-tetradecenil es va efectuar per HPLC en un cromatògraf Waters emprant una columna de fase reversa $C_{18}\mu$-Bondapak semipreparativa (10 μm de mida de partícula, 125 Å de mida de porus, 7,8 mm x 300 mm) i detector UV regulat a 220 nm de longitud d'ona. Com a fase mòbil es va emprar una barreja d'acetonitril:aigua (80:20), amb un flux isocràtic de 2,5 ml/min.

Les reaccions que requerien condicions anhidres i sense oxigen s'han portat a terme sota atmosfera de nitrogen. Els reactius comercials eren de Fluka AG Buchs (Suïssa) i s'han emprat sense altra purificació. Els dissolvents anhidres s'han preparat de la següent manera: el tetrahidrofuran (THF) i l'èter dietílic per destil•lació sobre sodi i benzofenona, l'hexametilfosforotriamida (HMPA) i piridina per destil·lació sobre hidròxid potàssic i, el diclorometà i pentà sobre pentòxid de fòsfor.

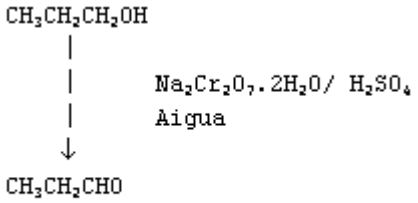
ii.1.2.- ACETATS DE (Z)- I (E)-11-TETRADECENIL (Z11-14:Ac I E11-14:Ac)

La síntesi es va efectuar seguint l'esquema que es presenta a continuació:





ii.1.2.1.- OBTENCIÓ DEL PROPANAL CH

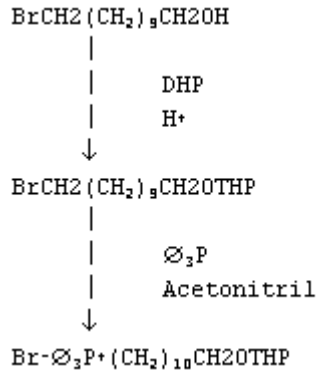


Es van dissoldre en 265 ml d'aigua 50 g de dicromat sòdic dihidrat i, s'hi van afegir suaument 35 ml d'àcid sulfúric concentrat. Es van posar 30 g (37,3 ml, 0,50 mols) d'alcohol *n* -propílic en un matràs de tres boques, es va escalfar i, s'hi va afegir la solució àcida de dicromat per un embut d'addició. L'aldehid es destil·lava del matràs de reacció conforme s'anava formant. Del destil·lat es va rebutjar la capa aquosa i la capa orgànica es va assecar amb MgSO4 anhidre. Aquesta es va tornar a destil·lar en una columna de fraccionament petita, recollint com a propanal tota la fracció que va destil·lar fins a 54ºC.

IR (cm^{-1}): 3432, 2976, 2936, 2890, 2810, 2712, 1733, 1457, 1411, 1334, 1090, 796.

RMN-[^{1}H] (δ): 9,7 (t, J=4,5 Hz, 1H, C<u>H</u>O), 2,4 (dc, J=7,1 Hz i J'=4,5 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$), 1,2 (t, J=7,1 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$).

ii.1.2.2.- OBTENCIÓ DEL BROMUR D'(11-(2-TETRAHIDROPIRANILOXI))-1-UNDECILTRIFENILFOSFONI BrCH2(CH



a) OBTENCIÓ DEL 2-(11-BROMOUNDECILOXI)TETRAHIDROPIRAN

Es van agitar en presència de traces d'àcid *p* -toluensulfònic 6,45 g d'11-bromo-1-decanol (26 mmols) i 2,6 ml de 3,4-dihidro-2H-piran (29 mmols). Després de 2 hores la reacció es dóna per acabada, s'hi afegeix una mica de bicarbonat sòdic en pols i es destil·la el cru (140°C/0,01 Torr), obtenint 8,01 g (24 mmols) del producte desitjat (rendiment: 93%).

RMN-[^{1}H] (δ): 4,5 (s, 1H, OC<u>H</u>(CH2)O), 3,8-3,3 (sc, 4H, 2C<u>H</u>$_2$O), 3,4 (t, J=6 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$Br), 1,8-1,2 (sa, 24H, 12C<u>H</u>2).

a) FORMACIÓ DE LA SAL DE FOSFONI

Es van afegir al 2-(11-bromoundeciloxi)tetrahidropiran (24 mmols) 20 ml d'acetonitril i 6,26 g de trifenilfosfina (24 mmols) i es van deixar a reflux durant 48 h. Després d'evaporar l'acetonitril, rentar vàries vegades amb hexà i assecar, es van obtenir 12,6 g d'un sòlid de difícil cristal·lització corresponent a la sal de fosfoni desitjada (21 mmols) (rendiment: 88%).

ii.1.2.3.- OBTENCIÓ DEL 2-(11-TETRADECENILOXI)TETRAHIDROPIRAN

Sota atmosfera de N2 i en el si de 25 ml de THF, es van fer reaccionar a -25ºC 4,26 g de la sal de fosfoni (7,3 mmols) amb 7,3 ml de solució 1 M de *n* -BuLi en hexà (7,3 mmols). Després de 20 min d'agitació es va observar la formació del corresponent ilur de color taronja, i s'hi van addicionar gota a gota a -40ºC 0,42 g de propanal (7,3 mmols). Acabada l'addició es va mantenir l'agitació durant 3 h a -25ºC. El cru es va hidrolitzar agregant al mateix una barreja d'aigua i gel i, uns ml de HCl 2 M. Després d'extraure amb hexà (4 x 20 ml), rentar els extractes orgànics amb solució saturada de NaCl i assecar sobre $MgSO_4$ anhidre, es va evaporar el dissolvent obtenint 1,154 g (3,9 mmols) de producte desitjat (rendiment: 54%).

ii.1.2.4.- OBTENCIÓ DE L'11-TETRADECEN-1-OL

Es van dissoldre 1,154 g (3,9 mmol) de 2-(11-tetradeceniloxi)tetrahidropiran en 20 ml de metanol i s'hi van posar uns cristalls d'àcid *p* -toluensulfònic. La barreja es va escalfar a reflux durant 18 h i acabada la reacció es va tractar amb una mica de $NaHCO_3$ en pols i, després de 10 min d'agitació, es va filtrar el cru i es va evaporar el dissolvent al buit. El residu es va dissoldre en aigua i es va extraure amb èter dietílic (4 x 25 ml). Els extractes orgànics reunits es van rentar amb una solució saturada de NaCl i es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar el dissolvent al buit, es van obtenir 937 mg de residu. Aquest residu resultant es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2 eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 784 mg (3,7 mmols) de l'alcohol desitjat (rendiment: 94%).

ii.1.2.5.- SÍNTESI DE L'ACETAT D'11-TETRADECENIL

Durant 18 h es van agitar 784 mg (3,7 mmol) d'11-tetradecen-1-ol en el si de 3 ml d'anhídrid acètic i 3 ml de piridina. El progrés de la reacció es va seguir per Cromatografia de Capa Prima (SiO_2, elució hexà:èter 1:1). Una vegada acabada la reacció es van addicionar 12 ml de metanol. La barreja es va agitar 30 min més. La part volàtil es va evaporar al rotavapor i es van afegir 15 ml de HCl 2 M, agitant 15 min. Després es va addicionar aigua i es va extraure la solució amb hexà (4 x 20 ml). Els extractes orgànics reunits es van rentar amb solució saturada de NaCl i, després, es va assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar al buit el dissolvent es van obtenir 864 mg (3,4 mmols) de l'acetat desitjat (rendiment: 91%). L'anàlisi per CGL en columna Supelcowax-10 programada de 80 a 180°C a 10°C/min mostrava una proporció d'estereoisòmers 30E:70Z. Els temps de retenció dels isòmers E i Z eren aproximadament de 26 i 27 min, respectivament.

Els isòmers es van separar per HPLC. Els temps de retenció d'ambdós isòmers Z i E eren aproximadament de 29 i 33 min, respectivament.

- ISÒMER Z (**Z11-14:Ac**):

IR (cm^{-1}): 3002, 2956, 2924, 2850, 1738, 1459, 1362, 1236, 1037, 727.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,0 (t, J=7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,0 (s, 3H, C<u>H</u>$_3$CO), 1,9 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,3 (sa, 14H, 7CH$_2$), 0,9 (t, J=7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 194 (M-60, 18), 167 (3), 152 (3), 138 (11), 124 (14), 110 (21), 96 (58), 82 (100), 68 (91), 55 (69), 43 (86).

-ISÒMER E (**E11-14:Ac**):

IR (cm^{-1}): 3002, 2958, 2924, 2852, 1950, 1770, 1466, 1362, 1235, 1043, 816.

RMN-[^{1}H] (d): 5,4 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,0 (t, J=7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,0 (s, 3H, C<u>H</u>$_3$CO), 1,9 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,3 (sa, 14H, 7CH$_2$), 0,9 (t, J=7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 194 (M-60, 15), 166 (3), 152 (3), 138 (10), 124 (13), 110 (19), 96 (57), 82 (100), 68 (94), 55 (70), 43 (88).

ii.1.3.- (Z)-11-TETRADECEN-1-OL (Z11-14:OH)

Sota atmosfera de N_2 es van addicionar 75 mg (1,97 mmol) de $LiAlH_4$ a una solució agitada de 500 mg (1,97 mmol) d'acetat de (*Z*)-11-tetradecenil en 15 ml d'èter. Després de 2 h es va addicionar acetat d'etil per eliminar el $LiAlH_4$ sobrant, es va filtrar i es va evaporar. El residu es va purificar per cromatografia de columna

(SiO_2 eluint amb barreges d'hexà:èter) obtenint 390 mg (1,87 mmol) del producte desitjat (rendiment: 95%).

IR (cm^{-1}): 3625, 3519, 3358, 2997, 2953, 2920, 2848, 1456, 1374, 1046, 794, 734.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,4 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,4 (sa, 1H, O<u>H</u>), 3,6 (t, J=7,5 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$OH), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=CH), 1,5 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$OH), 1,4 (sa, 14H, 7C<u>H</u>2), 1,3 (t, J=7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 194 (M-18, 17), 167 (3), 152 (3), 138 (10), 124 (14), 110 (20), 96 (57), 82 (100), 68 (92), 55 (70), 43 (86).

ii.1.4.- (Z)-11-TETRADECENAL (Z11-14:Ald)

Sota atmosfera de N_2 es van addicionar 282 mg (2,82 mmols) de triòxid de crom anhidre (CrO_3)(assecat en dessecador a 0,05 Torr) a una solució agitada de 464 μl (5,76 mmols) de piridina (assecada sobre KOH i destil·lada sobre tamisos moleculars de 4 Å) en 10 ml de diclorometà (preparat per rentats del mateix amb H_2SO_4 concentrat (4 x 100 ml), amb aigua fins a pH neutre, assecat sobre $MgSO_4$ anhidre i destil·lat sobre tamisos moleculars de 4 Å). La solució es va agitar a temperatura ambient durant 15 min. Llavors es van addicionar 100 mg (0,48 mmols) de (*Z*)-11-tetradecen-1-ol dissolts en 2 ml de diclorometà. Immediatament s'observa un dipòsit negre. Es va continuar l'agitació 15 min més. En acabar la reacció es va filtrar el cru i, el precipitat de sals de Cr (III) es va rentar amb diclorometà. Es va evaporar el dissolvent i el residu es va dissoldre amb KOH 2 M i, es va extraure amb hexà (3 x 15 ml). Els extractes es van rentar amb KOH 2 M, HCl 2 M i NaCl saturat i, posteriorment, es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. L'evaporació de l'hexà va donar 92 mg d'un cru que fou purificat per destil·lació (85-90°C/0,1 Torr), obtenint-se 80 mg (0,38 mmols) del producte desitjat (rendiment: 80%).

IR (cm-1): 3000, 2970, 2922, 2845, 1726, 1462, 1374, 1124, 665.

RMN-[^{1}H] (δ): 9,7 (sa, 1H, C<u>H</u>O), 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 2,4 (t, J=7,2, 2H, C<u>H</u>$_2$CO), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 12H, 6C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 210 (M^+, 1), 192 (7), 163 (2), 149 (3), 138 (2), 135 (8), 121 (17), 110 (17), 98 (39), 81 (61), 69 (75), 55 (93), 41 (100).

ii.1.5.- FLUOROACETAT DE (Z)-11-TETRADECENIL (Z11-14:FAc)

Sota atmosfera de N_2, es van agitar 63 mg (0,63 mmols) de fluoroacetat sòdic i 17 μl de H_2SO_4 concentrat durant 1 h en 1 ml d'èter. Posteriorment es van addicionar 50 mg (0,24 mmols) de (*Z*)-11-tetradecen-1-ol, 5 mg (0,05 mmols) de 4-(N,N-dimetilamino)piridina i 100 mg (0,47 mmols) de diciclohexilcarbodiimida (Neises i Steglich, 1978). La barreja es va agitar durant 22 h a temperatura ambient. Posteriorment es va evaporar l'èter, es va addicionar aigua i es va extraure amb hexà (3 x 10 ml). Després d'evaporar l'hexà, es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 32 mg (0,12 mmols) del producte desitjat (rendiment: 50%).

IR (cm^{-1}): 2990, 2914, 2842, 1766, 1737, 1458, 1202, 1086.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,9 (d, J=46,8 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$F), 4,2 (t, J=6,7 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 14H, 7C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 194 (M-78, 5), 138 (5), 124 (10), 110 (15), 96 (55), 82 (66), 67 (48), 55 (100).

ii.1.6.- DIFLUOROACETAT DE (Z)-11-TETRADECENIL (Z11-14:F $_2$ Ac)

Sota atmosfera de N_2, a una solució de 50 mg (0,24 mmols) de *(Z)* -11-tetradecen-1-ol i 40 μl (0,63 mmols) d'àcid difluoroacètic en 3 ml d'èter anhidre s'hi van afegir 7 mg (0,06 mmols) de 4-(N,N-dimetilamino)piridina seguit per 130 mg (0,63 mmols) de diciclohexilcarbodiimida (Neises i Steglich, 1978). La barreja es va agitar durant 22 h a temperatura ambient. Posteriorment es va evaporar l'èter, es va addicionar aigua i es va extraure amb hexà (3 x 10 ml). Després d'evaporar l'hexà, es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 52 mg (0,18 mmols) del producte desitjat (rendiment: 75%).

IR (cm^{-1}): 2990, 2914, 2840, 1769, 1757, 1456, 1291, 1218.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,9 (t, J=54 Hz, 1H, C<u>H</u>F$_2$), 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,3 (t, J=7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 14H, 7C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,8 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 194 (M-96, 3), 152 (3), 138 (5), 124 (10), 110 (15), 96 (33), 82 (44), 69 (50), 55 (100).

ii.1.7.- TRIFLUOROACETAT DE (Z)-11-TETRADECENIL (Z11-14:F_3 Ac)

Sobre una solució agitada a 0ºC de 97 μl (0,70 mmols) d'anhídrid trifluoroacètic en 1,5 ml d'èter dietílic anhidre sota atmosfera de N_2, s'hi van afegir 100 mg (0,47 mmols) de (*Z*)-11-tetradecen-1-ol dissolts en 1,5 ml d'èter i 56 μl (0,70 mmols) de piridina. Després de 2 h es va evaporar el dissolvent, es va dissoldre el sòlid en 10 ml d'aigua, es va extraure amb èter (3 x 5 ml) i es va assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar l'èter, el residu es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 90 mg (0,29 mmols) del producte desitjat (rendiment: 62%).

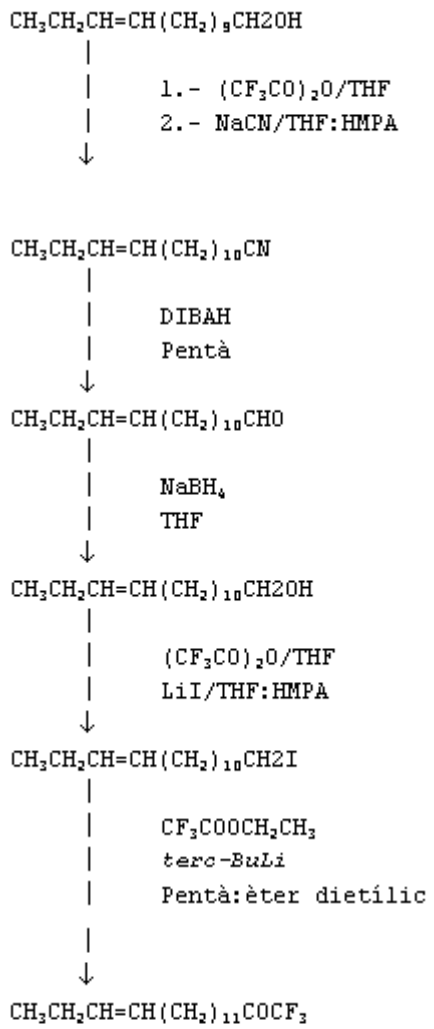
IR (cm^{-1}): 2990, 2914, 2840, 1778, 1454, 1341, 1215, 655.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,4 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,3 (t, J=7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,7 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 14H, 7C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 308 (M^+, 4), 194 (5), 97 (12), 83 (17), 69 (42), 55 (88), 41 (100).

ii.1.8.- (Z)-1,1,1-TRIFLUORO-14-HEPTADECEN-2-ONA (Z11-14:TFP)

La síntesi es va efectuar seguint l'esquema que es presenta a continuació:



ii.1.8.1.- OBTENCIÓ DEL (*Z*)-12-PENTADECENONITRIL

En un matràs de 25 ml de dues boques provist d'agitació, refrigerant i entrada de N_2, es van col·locar 500 mg (2,36 mmol) de (*Z*)-11-tetradecen-1-ol. Es va afegir 1 ml de THF anhidre i 662 mg (3,16 mmol) d'anhídrid trifluoroacètic. Es va agitar a temperatura ambient durant 15 min. Una vegada evaporat al buit l'excés d'anhídrid i l'àcid trifluoroacètic format, el residu es va dissoldre amb 2,2 ml d'una barreja 1:1 de THF:HMPA anhidre. A continuació es van afegir 180 mg (3,66 mmols) de NaCN, prèviament assecat a 100-120ºC/0,1 Torr durant 5 h. La barreja de reacció es va portar a reflux durant 3 h, es va refredar a temperatura ambient, es va eliminar el THF a pressió reduïda i es va afegir solució saturada de NaCl. Es van decantar les fases i es va extraure amb hexà (5 x 20 ml). Les fases orgàniques reunides es van rentar amb solució saturada de NaCl fins a neutralitat i es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar el dissolvent al buit es va purificar per cromatografia en columna (SiO_2, eluint amb hexà:èter 100:12), obtenint 360 mg (1,63 mmols) del nitril (rendiment: 69%).

IR (cm^{-1}): 2990, 2965, 2910, 2840, 2340, 2310, 1720, 1675, 1450, 1210, 1070, 650.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,3 (dt, J=14 Hz i J=2 Hz, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 2,3 (t, J=10 Hz, 2H, C<u>H$_2$</u>CN), 2,0 (c, J=7 Hz, 4H, C<u>H$_2$</u>CH=C), 1,6 (m, 18H, 9C<u>H$_2$</u>), 0,9 (d, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H$_3$</u>CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 221 (M^+, 4), 192 (7), 178 (11), 164 (7), 150 (10), 136 (30), 122 (38), 110 (8), 97 (14), 83 (17), 69 (42), 55 (72), 41 (100).

ii.1.8.2.- OBTENCIÓ DEL (*Z*)-12-PENTADECENAL

Una barreja de 350 mg (1,58 mmol) de (*Z*)-12-pentadecenonitril, 2 ml (2 mmol) de DIBAH 1 M en pentà i 50 ml de pentà anhidre es va agitar a -70ºC sota atmosfera inert. La reacció es va seguir per CGL fins a la desaparició del producte de partida (4 h). Es va afegir solució saturada de NH_4Cl a 0ºC i es va mantenir l'agitació durant 15 min, transcorreguts els quals es van decantar les fases i es va extraure l'aquosa amb èter en medi àcid (5 x 10 ml). Les fases orgàniques es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar el dissolvent a pressió reduïda es va purificar per cromatografia en columna (SiO_2, eluint amb hexà:èter 100:12), obtenint 190 mg (0,85 mmols) de l'aldehid (rendiment: 54%).

IR (cm^{-1}): 3000, 2980, 2920, 2840, 1725, 1545, 1460, 1260, 1090, 1010, 970, 770.

RMN-[^{1}H] (δ): 9,7 (sa, 1H, C<u>H</u>O), 5,35 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 2,4 (t, J=7,2, 2H, C<u>H$_2$</u>CO), 2,0 (m, 4H, C<u>H$_2$</u>CH=C), 1,65 (m, 2H, C<u>H$_2$</u>CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 14H, 7C<u>H$_2$</u>), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H$_3$</u>CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 224 (M^+, 1), 206 (4), 180 (1), 149 (2), 135 (4), 121 (9), 111 (9), 98 (20), 81 (28), 69 (41), 55 (77), 41 (100).

ii.1.8.3.- OBTENCIÓ DEL (*Z*)-12-PENTADECEN-1-OL

El (*Z*)-12-pentadecenal (180 mg, 0,80 mmol) es va dissoldre en 1 ml de THF que contenia 4 μl d'aigua. Es van afegir 32 mg (0,85 mmol) de $NaBH_4$. Després d'1 h d'agitació a temperatura ambient es va evaporar el THF i el cru es va dissoldre en pentà. La solució es va tractar amb HCl 0,1 M, es va decantar la fase orgànica, es va rentar amb solució saturada de NaCl i es va assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar el dissolvent a pressió reduïda, el residu es va purificar per cromatografia en columna (SiO_2, eluint amb hexà:èter 100:40), obtenint 90 mg (0,40 mmols) de l'alcohol (rendiment: 50%).

IR (cm^{-1}): 3630, 3360, 3000, 2980, 2925, 2845, 1550, 1460, 1260, 1050, 1005, 770.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,4 (sa, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 3,6 (m, 2H, C<u>H$_2$</u>O), 2,1 (sa, 4H, C<u>H</u>2CH=C), 1,9 (s, 1H, OH), 1,6 (sa, 2H, C<u>H</u>2CO), 1,4-1,2 (sa, 16H, 8C<u>H$_2$</u>), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H$_3$</u>CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 226 (M^+, 1), 208 (5), 180 (2), 152 (3), 138 (4), 124 (8), 110 (13), 96 (37), 82 (71), 68 (64), 55 (96), 41 (100).

ii.1.8.4.- OBTENCIÓ DEL (*Z*)-1-IODO-12-PENTADECÈ

Sobre una dissolució de (*Z*)-12-pentadecen-1-ol (85 mg, 0,38 mmol) en 1 ml de THF sota atmosfera de N_2, es van addicionar lentament 97 μl (0,70 mmol) d'anhídrid trifluoroacètic recent destil·lat sobre $NaHCO_3$. La barreja es va agitar a temperatura ambient durant 15 min. A continuació es va eliminar l'excés d'anhídrid i l'àcid format a pressió reduïda. Es van addicionar 121 mg (0,90 mmol) de LiI anhidre i una barreja de THF:HMPA 1:1. La reacció es va escalfar a reflux fins al consum total del trifluoroacetat intermedi, després del qual es va evaporar el THF. Es va afegir aigua i es va extraure amb hexà (5 x 10 ml). Les fases orgàniques reunides es van rentar amb solució 1 M de tiosulfat sòdic, després amb aigua i es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. El cru resultant es va purificar per cromatografia en columna (SiO_2, eluint amb hexà), obtenint 111 mg (0,33 mmols) del iodur (rendiment: 88%).

IR (cm^{-1}): 3002, 2923, 2852, 1670, 1464, 1370, 1170, 960, 721.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,4 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 3,2 (t, J=7 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$I), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>2CH=C), 1,8 (m, 2H, C<u>H</u>2CH2I), 1,4 (m, C<u>H</u>2CH2CH2I), 1,3 (sa, 14H, 7C<u>H</u>2), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 336 (M^+, 5), 266 (4), 224 (2), 210 (1), 183 (1), 155 (3), 125 (3), 111 (12), 97 (34), 83 (52), 69 (85), 55 (100), 41 (87).

ii.1.8.5.- SÍNTESI DE LA (*Z*)-1,1,1-TRIFLUORO-14-HEPTADECEN-2-ONA (Z11-14:TFP)

En un baló de 25 ml de dues boques, prèviament flamejat sota corrent de N_2 i provist d'agitació magnètica, es va addicionar el (*Z*)-1-iodo-12-pentadecè (105 mg, 0,31 mmol) en 5 ml d'una barreja pentà:èter dietílic 3:2. La solució es va refredar a -78ºC mitjançant un bany extern d'acetona/neu carbònica i, en atmosfera inert i amb agitació, es van afegir, gota a gota, 0,5 ml (0,62 mmol) de *terc* -BuLi 1,25 M en pentà. L'agitació es va continuar durant 2 min, i a continuació, es van afegir 260 μl (2,2 mmol) de trifluoroacetat d'etil recent destil•lat (Villuendas *et al.*, 1994). Es va deixar 10 min a -78ºC i es va escalfar a temperatura ambient durant 1 h. Es va hidrolitzar amb solució saturada de NH_4Cl, la fase aquosa es va extraure amb èter i les fases orgàniques reunides es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després d'evaporar el dissolvent, el cru es va purificar per cromatografia en columna (SiO_2, eluint amb hexà:èter 95:5), obtenint 86 mg (0,28 mmols) de la trifluorometil cetona (rendiment: 89%).

IR (cm^{-1}): 2990, 2914, 2875, 1754, 1250, 1079, 1004.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,4 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 2,7 (t, J=7,2 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$CO), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,7 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 16H, 8C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 306 (M^+, 13), 264 (1), 237 (8), 222 (2), 208 (2), 194 (6), 179(5), 165 (5), 152 (5), 139 (8), 124 (7), 110 (10), 97 (26), 83 (35), 69 (75), 55 (100), 41 (87).

ii.1.9.- 11-DODECEN-1-OL (11-12:OH)

Sota atmosfera de N_2 es van addicionar 50 mg (1,32 mmol) de $LiAlH_4$ a una solució agitada de 300 mg (1,32 mmol) d'acetat d'11-dodecenil en 8 ml d'èter. Després de 2 h es va addicionar acetat d'etil per eliminar el $LiAlH_4$ sobrant, es va filtrar i es va evaporar. El residu es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2 eluint amb barreges d'hexà:èter) obtenint 230 mg (1,25 mmol) del producte desitjat (rendiment: 95%).

RMN-[^{1}H] (δ): 5,8 (sa, 1H, C<u>H</u>=CH$_2$), 5,0 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$=CH), 4,4 (s, 1H, OH), 3,6 (t, J=6 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$OH), 2,0 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 14H, 7C<u>H</u>$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 138 (M-46, 4), 124 (5), 109 (15), 95 (44), 82 (85), 67 (84), 55 (100), 41 (94).

ii.1.10.- 11-DODECENAL (11-12:Ald)

Sota atmosfera de N_2 es van addicionar 440 mg (4,40 mmols) de triòxid de crom anhidre (CrO_3)(assecat en dessecador a 0,05 Torr) a una solució agitada de 710 μl (8,80 mmols) de piridina (assecada sobre KOH i destil·lada sobre tamisos moleculars de 4 Å) en 15 ml de diclorometà (preparat per rentats del mateix amb H_2SO_4 concentrat (4 x 100 ml), amb aigua fins a pH neutre, assecat sobre $MgSO_4$ anhidre i destil·lat sobre tamisos moleculars de 4 Å). La solució es va agitar a temperatura ambient durant 15 min. Llavors es van addicionar 135 mg (0,73 mmols) d'11-dodecen-1-ol dissolts en 5 ml de diclorometà. Immediatament s'observa un dipòsit negre. Es va continuar l'agitació 15 min més. En acabar la reacció es va filtrar el cru i, el precipitat de sals de Cr (III) es va rentar amb diclorometà. Es va evaporar el dissolvent i el residu es va dissoldre amb KOH 2 M i, es va extraure 3 vegades amb hexà. Els extractes es van rentar amb KOH 2 M, HCl 2 M i NaCl saturat i, posteriorment es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. L'evaporació de l'hexà va donar 94 mg d'un cru que fou purificat per destil·lació (75-78°C/0,1 Torr), obtenint-se 83 mg (0,46 mmols) del producte desitjat (rendiment: 63%).

RMN-[^{1}H] (δ): 9,7 (sa, 1H, C<u>H</u>O), 5,8 (sa, 1H, C<u>H</u>=CH$_2$), 5,0 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$=CH), 2,5 (sa, 2H, C<u>H</u>2CO), 2,0 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$CO), 1,4-1,2 (sa, 12H, 6C<u>H</u>$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 164 (M-18, 2), 138 (4), 135 (9), 121 (17), 111 (16), 98 (38), 81 (66), 67 (78), 55 (100), 41 (100).

ii.1.11.- ACETAT DE TETRADECANIL (14:Ac)

Sobre una solució agitada a 0ºC de 198 μl (2,10 mmols) d'anhídrid acètic en 4 ml d'èter anhidre sota atmosfera de N_2, s'hi van afegir 200 mg (0,93 mmols) d'1-tetradecanol dissolts en 4 ml èter i 169 μl (2,10

mmols) de piridina. Després de 2 h es va evaporar el dissolvent, es va dissoldre el sòlid en 10 ml d'aigua, es va extraure amb èter (3 x 5 ml) i es va assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar l'èter, es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 226 mg (0,88 mmols) del producte desitjat (rendiment: 95%).

RMN-[^{1}H] (δ): 4,1 (t, J=7,1 Hz, 2H, C$\underline{H}_2$O), 2,0 (s, 3H, C$\underline{H}_3$CO), 1,6 (m, 2H, C$\underline{H}_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 22H, 11C$\underline{H}_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C$\underline{H}_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 196 (M-60, 13), 168 (15), 125 (16), 111 (34), 97 (65), 83 (88), 69 (90), 61 (79), 55 (100).

ii.1.12.- TETRADECANAL (14:Ald)

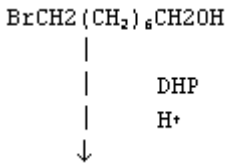
Sota atmosfera de N_2 es van addicionar 600 mg (6 mmols) de triòxid de crom anhidre (CrO_3)(assecat en dessecador a 0,05 Torr) a una solució agitada de 967 μl (12 mmols) de piridina (assecada sobre KOH i destil·lada sobre tamisos moleculars de 4 Å) en 15 ml de diclorometà (preparat per rentats del mateix amb H_2SO_4 concentrat (4 x 100 ml), amb aigua fins a pH neutre, assecat sobre $MgSO_4$ anhidre i destil•lat sobre tamisos moleculars de 4 Å). La solució es va agitar a temperatura ambient durant 15 min. Llavors es van addicionar 200 mg (0,93 mmols) d'1-tetradecanol dissolts en 5 ml de diclorometà. Immediatament s'observa un dipòsit negre. Es va continuar l'agitació 15 min més. En acabar la reacció es va filtrar el cru i, el precipitat de sals de Cr (III) es va rentar amb diclorometà. Es va evaporar el dissolvent i el residu es va dissoldre amb KOH 2 M i, es va extraure 3 vegades amb hexà. Els extractes es van rentar amb KOH 2 M, HCl 2 M i NaCl saturat i, posteriorment es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. L'evaporació de l'hexà va donar 191 mg d'un cru que fou purificat per destil·lació (80-83°C/0,1 Torr), obtenint-se 175 mg (0,82 mmols) del producte desitjat (rendiment: 89%).

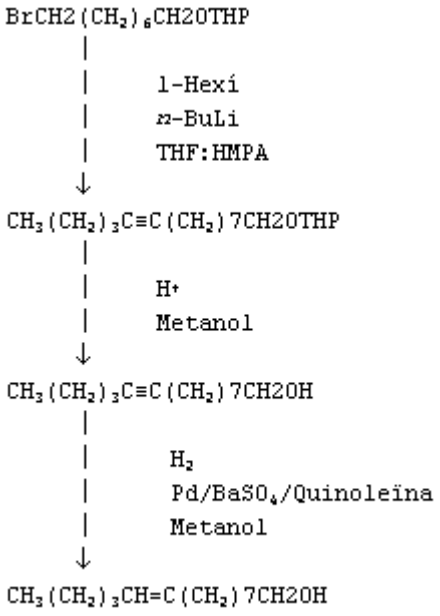
RMN-[^{1}H] (δ): 9,7 (sa, 1H, C$\underline{H}$O), 2,4 (m, 2H, C$\underline{H}_2$CO), 1,4-1,2 (sa, 22H, 11C$\underline{H}_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C$\underline{H}_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 212 (M^+, 1), 194 (3), 110 (16), 96 (44), 82 (75), 71 (41), 68 (50), 57 (100).

ii.1.13.- (Z)-9-TETRADECEN-1-OL (Z9-14:OH)

La síntesi es va efectuar seguint l'esquema que es presenta a continuació:





ii.1.13.1.- OBTENCIÓ DEL 2-(8-BROMOOCTANILOXI)TETRAHIDROPIRAN

Es van agitar en presència de traces d'àcid *p* -toluensulfònic, 6,21 g (26 mmols) de 8-bromo-1-octanol i 2,70 g (32 mmols) de 3,4-dihidro-2H-piran. Després de 3 h, la reacció es dóna per acabada, s'hi afegeix una mica de $NaHCO_3$ en pols i es destil·la el cru (125-127ºC/0,02 Torr), obtenint 6,27 g (20 mmols) del producte desitjat (rendiment: 75%).

RMN-[^{1}H] (δ): 4,5 (s, 1H, OC<u>H</u>(CH2)O), 3,8-3,3 (sc, 4H, 2C<u>H</u>$_2$O), 3,4 (t, J=6 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$Br), 1,8-1,2 (sa, 18H, 9C<u>H</u>2).

ii.1.13.2.- OBTENCIÓ DEL 2-(9-TETRADECINILOXI)TETRAHIDROPIRAN

Sota atmosfera de N_2 i en el si de 10 ml de THF, es van fer reaccionar a -10ºC 0,65 g (8 mmols) d'1-hexí amb 9,1 ml de solució 0,95 M de *n* -BuLi en hexà (8,65 mmols). La suspensió de l'acetilur format es va addicionar sobre una solució d'1,9 g (6,65 mmols) de 2-(8-bromooctaniloxi)tetrahidropiran en 16 ml d'HMPA. Acabada l'addició es va mantenir l'agitació durant 1 h a temperatura ambient. El cru es va hidrolitzar agregant-li una barreja d'aigua:gel. Després d'extraure amb hexà (4 x 20 ml), rentar els extractes orgànics amb aigua i assecar sobre $MgSO_4$ anhidre, es va evaporar el dissolvent obtenint 1,51 g (5,28 mmol) del producte desitjat (rendiment: 79%).

ii.1.13.3.- OBTENCIÓ DEL 9-TETRADECIN-1-OL

En el si de 20 ml de metanol es van dissoldre 1,30 g (4,55 mmol) de 2-(9-tetradecinoxi)tetrahidropiran i s'hi van posar uns cristalls d'àcid *p* -toluensulfònic. La barreja es va escalfar a reflux durant 3 h. Després es va tractar amb una mica de $NaHCO_3$ en pols i, al cap de 10 min d'agitació es va filtrar el cru i es va evaporar el dissolvent. El residu es va dissoldre en aigua i es va extraure amb èter dietílic (4 x 25 ml). Els extractes orgànics reunits es van rentar amb una solució saturada de NaCl i es van assecar sobre $MgSO_4$. Després de filtrar, evaporar el dissolvent i destil·lar (120-125ºC/0,1 Torr) es van obtenir 861 mg (4,10 mmol) de l'alcohol desitjat (rendiment: 90%).

IR (cm^{-1}): 3626, 3510, 3330, 2928, 2852, 1638, 1461, 1376, 1117, 1065, 1048, 909, 796, 759, 739, 490, 457.

RMN-[^{1}H] (δ): 3,6 (t, J=7,5 Hz, 2H, C<u>H</u>2O), 3,2 (s, 1H, O<u>H</u>), 2,1 (t, J=7 Hz, 4H, C<u>H</u>$_2$CC), 1,5 (sc, 18H, 9C<u>H</u>2). 1,1 (t, J=5,5 Hz, 3H, C<u>H</u>3CH2).

ii.1.13.4.- SÍNTESI DEL (*Z*)-9-TETRADECEN-1-OL (Z9-14:OH)

Una barreja de 215 mg (1,02 mmols) de 9-tetradecin-1-ol, 30 mg de Pd al 10% sobre $BaSO_4$ i 7 μl de

quinoleïna en el si de 3 ml de metanol es va hidrogenar a temperatura ambient. Al cap de 3 h, l'absorció d'H_2 va ser de 25 ml i la reacció es dóna per acabada. La barreja es va filtrar i el dissolvent evaporat. El residu es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter de polaritat creixent) i posteriorment amb destil·lació en forn de boles (125ºC/0,1 Torr), obtenint 194 mg (0,92 mmols) de producte desitjat (rendiment: 90%).

IR (cm^{-1}): 3628, 3522, 3362, 2998, 2950, 2922, 2850, 1458, 1376, 1117, 1068, 1048, 796, 739, 734.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,4 (sa, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 3,6 (t, J=7,5 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,1 (sa, 4H, C<u>H</u>2CH=C), 1,9 (s, 1H, OH), 1,6 (sa, 2H, C<u>H</u>2CO), 1,4-1,2 (sa, 14H, 7C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 194 (M-18, 13), 152 (2), 138 (7), 124 (12), 110 (24), 96 (60), 82 (85), 67 (72), 55 (93), 43 (100), 41 (56).

ii.1.14.- ACETAT DE (Z)-9-TETRADECENIL (Z9-14:Ac)

Durant 4 h es van agitar 50 mg (0,24 mmols) de (*Z*)-9-tetradecen-1-ol en el si d'1 ml de piridina i 1 ml d'anhídrid acètic. Una vegada acabada la reacció, es van addicionar 4 ml de metanol i es va agitar 20 min més. Després d'evaporar al rotavapor, el residu es va dissoldre en aigua i es va extraure amb èter (3 x 10 ml). Els extractes orgànics es van rentar successivament amb solució saturada de Na_2CO_3, HCl 2 M i solució saturada de NaCl i, es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar al buit el dissolvent, el cru es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter) i per destil·lació (115-117ºC/0,1 Torr), obtenint 57 mg (0,23 mmols) de l'acetat buscat (rendiment: 95%).

IR (cm^{-1}): 3002, 2956, 2924, 2850, 1738, 1459, 1362, 1236, 1037, 727.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,4 (sa, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,1 (t, 7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,1 (sa, 4H, C<u>H</u>2CH=C), 1,9 (s, 3H, C<u>H</u>$_3$CO), 1,6 (sa, 2H, C<u>H</u>2CH2O), 1,4-1,2 (sa, 14H, 7C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 194 (M-60, 14), 152 (2), 138 (8), 124 (11), 110 (23), 96 (61), 82 (86), 67 (70), 55 (91), 43 (100), 41 (57).

MIGUEL DE CERVANTES

ii.1.15.- (Z)-9-TETRADECENAL (Z9-14:Ald)

Sota atmosfera de N_2 es van addicionar 141 mg (1,41 mmols) de triòxid de crom anhidre (CrO_3)(assecat en dessecador a 0,05 Torr) a una solució agitada de 232 μl (2,88 mmols) de piridina (assecada sobre KOH i destil·lada sobre tamisos moleculars de 4 Å) en 5 ml de diclorometà (preparat per rentats del mateix amb H_2SO_4 concentrat (4 x 100 ml), amb aigua fins a pH neutre, assecat sobre $MgSO_4$ anhidre i destil·lat sobre tamisos moleculars de 4 Å). La solució es va agitar a temperatura ambient durant 15 min. Llavors es van addicionar 50 mg (0,24 mmols) de (*Z*)-9-tetradecen-1-ol dissolts en 2 ml de diclorometà. Immediatament s'observa un dipòsit negre. Es va continuar l'agitació 15 min més. En acabar la reacció es va filtrar el cru i, el precipitat de sals de Cr (III) es va rentar amb diclorometà. Es va evaporar el dissolvent i el residu es va dissoldre amb KOH 2 M i, es va extraure 3 vegades amb hexà. Els extractes es van rentar amb KOH 2 M, HCl 2 M i NaCl saturat i, posteriorment es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. L'evaporació de l'hexà va donar 45 mg d'un cru que fou purificat per destil·lació (75-78°C/0,1 Torr), obtenint-se 37 mg (0,17 mmols) del producte desitjat (rendiment: 71%).

IR (cm^{-1}): 3000, 2970, 2922, 2853, 1734, 1455, 1275, 1102, 692.

RMN-[^{1}H] (δ): 9,7 (sa, 1H, C<u>H</u>O), 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 2,4 (t, J=7,2, 2H, C<u>H</u>$_2$CO), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 12H, 6C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 210 (M^+, 1), 192 (8), 149 (3), 138 (2), 135 (8), 121 (19), 110 (17), 98 (39), 81 (58), 69 (66), 55 (100), 41 (97).

ii.1.16.- TRIFLUOROACETAT DE (Z)-9-TETRADECENIL (Z9-14:F3Ac)

Sobre una solució agitada a 0ºC de 84 μl (0,60 mmols) d'anhídrid trifluoroacètic en 2,5 ml d'èter anhidre sota atmosfera de N_2, s'hi van afegir 50 mg (0,24 mmols) de (Z)-9-tetradecen-1-ol dissolts en 2,5 ml d'èter i 48 μl (0,60 mmols) de piridina. Després de 2 h es va evaporar el dissolvent, es va dissoldre el sòlid en 10 ml d'aigua, es va extraure amb èter (3 x 5 ml) i es va assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar l'èter, el residu es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 61 mg (0,20 mmols) del producte desitjat (rendiment: 83%).

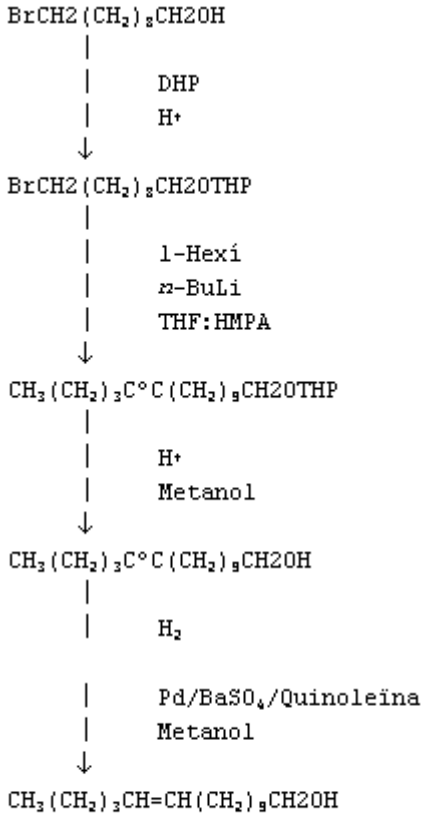
IR (cm^{-1}): 2990, 2914, 2840, 1776, 1454, 1328, 1222, 650.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,4 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,3 (t, J=7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,7 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 14H, 7C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 194 (M-114, 14), 152 (2), 138 (8), 124 (11), 110 (23), 96 (61), 82 (86), 67 (70), 55 (91), 43 (100), 41 (57).

ii.1.17.- (Z)-11-HEXADECEN-1-OL (Z11-16:OH)

La síntesi es va efectuar seguint l'esquema que es presenta a continuació:



ii.1.17.1.- OBTENCIÓ DEL 2-(10-BROMODECILOXI)TETRAHIDROPIRAN

Es van agitar en presència de traces d'àcid *p* -toluensulfònic, 6,21 g (26 mmols) de 10-bromo-1-decanol i 2,70 g (32 mmols) de 3,4-dihidro-2H-piran. Després de 3 h, la reacció es dóna per acabada, s'hi afegeix una mica de $NaHCO_3$ en pols i es destil·la el cru (125-127°C/0,02 Torr), obtenint 6,27 g (20 mmols) del producte desitjat (rendiment: 75%).

RMN-[^{1}H] (δ): 4,5 (s, 1H, OC<u>H</u>(CH2)O), 3,8-3,3 (sc, 4H, 2C<u>H</u>$_2$O), 3,4 (t, J=6 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$Br), 1,8-1,2 (sa, 22H, 11C<u>H</u>2).

ii.1.17.2.- OBTENCIÓ DEL 2-(11-HEXADECINILOXI)TETRAHIDROPIRAN

Sota atmosfera de N_2 i en el si de 20 ml de THF, es van fer reaccionar a -10°C 1,40 g (17,5 mmols) d'1-hexí amb 19,4 ml de solució 0,8 M de *n* -BuLi en hexà (17,4 mmols). La suspensió de l'acetilur format es va addicionar sobre una solució de 5,53 g (17,22 mmols) de 2- (10- bromodeciloxi) tetrahidropiran en 25 ml d'HMPA. Acabada l'addició es va mantenir l'agitació durant 1 h a temperatura ambient. El cru es va hidrolitzar agregant-li una barreja d'aigua:gel. Després d'extraure amb hexà (4 x 20 ml), rentar els extractes orgànics amb aigua i assecar sobre $MgSO_4$ anhidre, es va evaporar el dissolvent obtenint 5,37 g de producte desitjat (rendiment: 97%).

Una part (0,5 g) del cru de reacció es va destil·lar en un forn de boles en presència de cristalls de Na_2CO_3, obtenint 0,45 g de producte desitjat (135°C/0,05 Torr).

ii.1.17.3.- OBTENCIÓ DE L'11-HEXADECIN-1-OL

En el si de 100 ml de metanol es van dissoldre 5,37 g de 2- (11-hexadeciniloxi) tetrahidropiran i s'hi van posar uns cristalls d'àcid *p* -toluensulfònic. La barreja es va escalfar a reflux durant 3 h. Després es va tractar amb una mica de $NaHCO_3$ en pols i, al cap de 10 min d'agitació es va filtrar el cru i es va evaporar el dissolvent. El residu es va dissoldre en aigua i es va extraure amb èter dietílic (4 x 25 ml). Els extractes orgànics reunits es van rentar amb una solució saturada de NaCl i es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar, evaporar el dissolvent i destil·lar (120-125°C/0,1 Torr) es van obtenir 3,75 g de l'alcohol desitjat (rendiment:

93%).

IR (cm^{-1}): 3624, 3512, 3331, 2925, 2849, 1642, 1465, 1372, 1113, 1062, 906, 759, 457.

RMN-[^{1}H] (δ): 3,6 (t, J=7,5 Hz, 2H, C<u>H</u>2O), 3,2 (s, 1H, O<u>H</u>), 2,1 (t, J=7 Hz, 4H, C<u>H</u>$_2$CC), 1,5 (sc, 20H, 10C<u>H</u>2), 1,1 (t, J=5,5 Hz, 3H, C<u>H</u>3CH2).

ii.1.17.4.- SÍNTESI DEL (*Z*)-11-HEXADECEN-1-OL (Z11-16:OH)

Una barreja de 2,53 g (10,6 mmols) d'11-hexadecin-1-ol, 122 mg de Pd al 10% sobre $BaSO_4$ i 28 ml de quinoleïna en el si de 10 ml de metanol es va hidrogenar a temperatura ambient. Al cap de 3 h, l'absorció d'H_2 va ser de 255 ml i la reacció es dóna per acabada. La barreja es va filtrar i el dissolvent evaporat. El residu es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter de polaritat creixent) i, posteriorment, amb destil·lació en forn de boles (125°C/0,1 Torr), obtenint 2,14 g (8,9 mmols) de producte desitjat (rendiment: 84%).

IR (cm^{-1}): 3630, 3360, 3000, 2980, 2925, 2845, 1550, 1460, 1260, 1050, 1005, 770.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,4 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,4 (sa, 1H, O<u>H</u>), 3,6 (t, J=7,5 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$OH), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=CH), 1,5 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$OH), 1,4 (sa, 18H, 9C<u>H</u>2), 1,3 (t, J=7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 222 (M-18, 5), 166 (2), 152 (2), 138 (5), 124 (9), 110 (16), 96 (53), 82 (78), 69 (42), 55 (100), 41 (58).

ii.1.18.- ACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:Ac)

Durant 4 h es van agitar 0,89 g (3,71 mmols) de (*Z*)-11-hexadecen-1-ol en el si de 4 ml de piridina i 4 ml d'anhídrid acètic. Una vegada acabada la reacció, es van addicionar 4 ml de metanol i es va agitar 30 min més. Després d'evaporar al rotavapor, el residu es va dissoldre en aigua i es va extraure amb èter (3 x 20 ml). Els extractes orgànics es van rentar successivament amb solució saturada de Na_2CO_3, HCl 2 M i solució saturada de NaCl i, posteriorment, es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar al buit el dissolvent, el cru es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter) i per destil·lació (115-117°C/0,1 Torr), obtenint 0,86 g (3,04 mmols) de l'acetat buscat (rendiment: 82%).

IR (cm^{-1}): 3000, 2950, 2924, 2850, 1737, 1462, 1362, 1235, 1043, 661.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,4 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,1 (t, J=7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 18H, 9C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 222 (M-60, 16), 166 (5), 152 (4), 138 (10), 124 (19), 110 (31), 96 (82), 82 (94), 67 (78), 55 (98), 43 (100).

ii.1.19.- (Z)-11-HEXADECENAL (Z11-16:Ald)

Sota atmosfera de N_2 es van addicionar 1,2 g (12 mmols) de triòxid de crom anhidre (CrO_3)(assecat en dessecador a 0,05 Torr) a una solució agitada d'1,94 ml (24 mmols) de piridina (assecada sobre KOH i destil·lada sobre tamisos moleculars de 4 Å) en 30 ml de diclorometà (preparat per rentats del mateix amb H_2SO_4 concentrat (4 x 100 ml), amb aigua fins a pH neutre, assecat sobre $MgSO_4$ anhidre i destil·lat sobre tamisos moleculars de 4 Å).

La solució es va agitar a temperatura ambient durant 15 min. Llavors es van addicionar 500 mg (2,08 mmols) de (*Z*)-11-hexadecen-1-ol dissolts en 5 ml de diclorometà. Immediatament s'observa un dipòsit negre. Es va continuar l'agitació 15 min més. En acabar la reacció es va filtrar el cru i el precipitat de sals de Cr (III) es va rentar amb diclorometà. Es va evaporar el dissolvent i el residu es va dissoldre amb KOH 2 M i, es va extraure amb hexà (3 x 20 ml). Els extractes es van rentar amb solució KOH 2 M, HCl 2 M i NaCl saturada i, posteriorment, es van assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. L'evaporació de l'hexà va donar 408 mg d'un cru que fou purificat per destil·lació (75-78°C/0,1 Torr), obtenint-se 376 mg (1,58 mmols) del producte desitjat (rendiment: 76%).

IR (cm^{-1}): 3000, 2950, 2924, 2850, 1726, 1460, 1375, 1129, 661.

RMN-[^{1}H] (δ): 9,7 (sa, 1H, C<u>H</u>O), 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 2,4 (t, J=7 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$CO), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 12H, 6C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 238 (M+, 1), 220 (5), 138 (4), 124 (6), 121 (13), 111 (13), 98 (32), 81 (36), 69 (45), 55 (100), 41 (60).

ii.1.20.- CLOROACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:ClAc)

Sota atmosfera de N_2, a una solució de 100 mg (0,42 mmols) de *(Z)* -11-hexadecen-1-ol i 60 mg (0,63 mmols) d'àcid cloroacètic en 3 ml d'èter anhidre s'hi van afegir 7,3 mg (0,06 mmols) de 4-(N,N-dimetilamino)piridina seguit per 130 mg (0,63 mmols) de diciclohexilcarbodiimida (Neises i Steglich, 1978). La barreja es va agitar durant 22 h a temperatura ambient. Posteriorment es va evaporar l'èter, es va addicionar aigua, es va extraure amb hexà (3 x 10 ml) i es va assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar l'hexà, el residu es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 113 mg (0,36 mmols) del producte desitjat (rendiment: 85%).

IR (cm^{-1}): 2988, 2912, 2840, 1756, 1455, 1430, 1278, 1185, 720.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,4 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,2 (t, J=7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 4,0 (s, 2H, C<u>H</u>$_2$Cl), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 18H, 9C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

RMN-[^{13}C] (δ): 167,2 (CO), 129,78, 129,76 (C-11, C-12), 66,2 (C-1), 40,7 (C-1'), 31,9 (C-14), 29,7-29,1 (C-4 a C-9), 28,4 (C-2), 27,1 (C-13), 26,8 (C-10), 25,7 (C-3), 22,2 (C-15), 13,8 (C-16).

ii.1.21.- DICLOROACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:Cl $_2$ Ac)

Sota atmosfera de N_2, a una solució de 150 mg (0,62 mmols) de *(Z)* -11-hexadecen-1-ol i 81 mg (0,63 mmols) d'àcid dicloroacètic en 3 ml d'èter anhidre s'hi van afegir 7,3 mg (0,06 mmols) de 4-(N,N-dimetilamino)piridina seguit per 130 mg (0,63 mmols) de diciclohexilcarbodiimida (Neises i Steglich, 1978). La barreja es va agitar durant 22 h a temperatura ambient. Posteriorment es va evaporar l'èter, es va addicionar aigua, es va extraure amb hexà (3 x 10 ml) i es va assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar l'hexà, es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 200 mg (0,57 mmols) del producte desitjat (rendiment: 92%).

IR (cm^{-1}): 3000, 2920, 2850, 1767, 1744, 1461, 1261, 1157, 661.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,9 (s, 1H, C<u>H</u>Cl$_2$), 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,3 (t, J=7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,7 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 18H, 9C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

RMN-[^{13}C] (δ): 164,5 (CO), 129,83, 129,80 (C-11, C-12), 67,7 (C-1), 64,3(C-1'), 31,9 (C-14), 29,7-29,0 (C-4 a C-9), 28,2 (C-2), 27,1 (C-13), 26,8 (C-10), 25,5 (C-3), 22,3 (C-15), 13,9 (C-16).

ii.1.22.- TRICLOROACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:Cl $_3$ Ac)

Sobre una solució agitada a 0ºC de 78 μl (0,70 mmols) de clorur de tricloroacetil en 1,5 ml d'èter anhidre sota atmosfera de N_2, s'hi van afegir 150 mg (0,62 mmols) de (*Z*)-11-hexadecen-1-ol dissolts en 1,5 ml d'èter i 56 μl (0,70 mmols) de piridina. Després de 2 h es va evaporar el dissolvent, es va dissoldre el sòlid en 10 ml d'aigua, es va extraure amb èter (3 x 5 ml) i es va assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar l'èter, es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 152 mg (0,39 mmols) del producte desitjat (rendiment: 64%).

IR (cm^{-1}): 3000, 2914, 2850, 1759, 1455, 1228, 902, 673.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,3 (t, J=7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,7 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 18H, 9C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

RMN-[^{13}C] (δ): 162,0 (CO), 129,86, 129,82 (C-11, C-12), 95,0 (C-1'), 69,5 (C-1), 31,9 (C-14), 29,7-29,0 (C-4 a C-9), 28,2 (C-2), 27,2 (C-13), 26,9 (C-10), 25,5 (C-3), 22,3 (C-15), 13,9 (C-16).

ii.1.23.- FLUOROACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:FAc)

Sota atmosfera de N_2, es van agitar 63 mg (0,63 mmols) de fluoroacetat sòdic i 17 μl de H_2SO_4 concentrat durant 1 h en 1 ml d'èter. Posteriorment es van addicionar 150 mg (0,62 mmols) de (*Z*)-11-hexadecen-1-ol, 7 mg (0,06 mmols) de 4-(N,N-dimetilamino)piridina i 130 mg (0,63 mmols) de diciclohexilcarbodiimida (Neises i Steglich, 1978). La barreja es va agitar durant 22 h a temperatura ambient. Posteriorment es va evaporar l'èter, es va addicionar aigua, es va extraure amb hexà (3 x 10 ml) i es va assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar l'hexà, es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 125 mg (0,42 mmols) del producte desitjat (rendiment: 69%).

IR (cm^{-1}): 2990, 2914, 2842, 1766, 1737, 1458, 1202, 1086.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,9 (d, J=46,8 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$F), 4,2 (t, J=6,7 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 18H, 9C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

RMN-[^{13}C] (δ): 167,8 (d, J=21,7 Hz, CO), 129,78, 129,75 (C-11, C-12), 77,5 (d, J=181,5 Hz, C-1'),

65,5 (C-1), 31,9 (C-14), 29,7-29,1 (C-4 a C-9), 28,4 (C-2), 27,1 (C-13), 26,8 (C-10), 25,7 (C-3), 22,3 (C-15), 13,9 (C-16).

RMN [^{19}F] $(CD_3)_2CO$) (δ): -156,6 (t, J=50,7 Hz).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 222 (M-78, 5), 138 (5), 124 (10), 110 (15), 96 (55), 82 (66), 67 (48), 55 (100).

ii.1.24.- DIFLUOROACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:F $_2$ Ac)

Sota atmosfera de N_2, a una solució de 100 mg (0,42 mmols) de *(Z)* -11-hexadecen-1-ol i 40 μl (0,63 mmols) d'àcid difluoroacètic en 3 ml d'èter anhidre s'hi van afegir 7 mg (0,06 mmols) de 4-(N,N-dimetilamino)piridina seguit per 130 mg (0,63 mmols) de diciclohexilcarbodiimida (Neises i Steglich, 1978). La barreja es va agitar durant 22 h a temperatura ambient. Posteriorment es va evaporar l'èter, es va addicionar aigua, es va extraure amb hexà (3 x 10 ml) i es va assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar l'hexà, es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 117 mg (0,39 mmols) del producte desitjat (rendiment: 88%).

IR (cm^{-1}): 2990, 2914, 2840, 1769, 1757, 1456, 1291, 1218.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,9 (t, J=54 Hz, 1H, C<u>H</u>F_2), 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,3 (t, J=7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,7 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 18H, 9C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,8 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

RMN-[^{13}C] (δ): 162,5 (d, J=28,5 Hz, CO), 129,84, 129,80 (C-11, C-12), 106,7 (t, J=248,2 Hz, C-1'), 66,9 (C-1), 31,9 (C-14), 29,7-29,1 (C-4 a C-9), 28,3 (C-2), 27,1 (C-13), 26,9 (C-10), 25,6 (C-3), 22,3 (C-15), 13,9 (C-16).

RMN [^{19}F] (δ): -50,9 (asim. d, J=54,9 Hz).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 222 (M-96, 3), 152 (3), 138 (5), 124 (10), 110 (15), 96 (33), 82 (44), 69 (50), 55 (100).

ii.1.25.- TRIFLUOROACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:F $_3$ Ac)

Sobre una solució agitada a 0ºC de 97 μl (0,70 mmols) d'anhídrid trifluoroacètic en 1,5 ml d'èter anhidre sota atmosfera de N_2, s'hi van afegir 150 mg (0,62 mmols) de (*Z*)-11-hexadecen-1-ol dissolts en 1,5 ml d'èter i 56 μl (0,70 mmols) de piridina. Després de 2 h es va evaporar el dissolvent, es va dissoldre el sòlid en 10 ml d'aigua, es va extraure amb èter (3 x 5 ml) i es va assecar sobre $MgSO_4$ anhidre. Després de filtrar i evaporar l'èter, es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 102 mg (0,29 mmols) del producte desitjat (rendiment: 49%).

IR (cm^{-1}): 2990, 2914, 2840, 1778, 1454, 1341, 1215, 655.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,3 (t, J=7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,7 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 18H, 9C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

RMN-[^{13}C] (δ): 157,5 (q, J=42,0 Hz, CO), 129,83, 129,78 (C-11, C-12), 114,5 (q, J=284,2 Hz, C-1'), 68,3 (C-1), 31,9 (C-14), 29,7-29,0 (C-4 a C-9), 28,1 (C-2), 27,2 (C-13), 26,9 (C-10), 25,5 (C-3), 22,3 (C-15), 13,9 (C-16).

RMN [^{19}F] (δ): -0,58 (s).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 336 (M^+, 18), 97 (12), 83 (17), 69 (42), 55 (88), 41 (100).

ii.1.26.- BROMOACETAT DE (Z)-11-HEXADECENIL (Z11-16:BrAc)

Sota atmosfera de N_2, a una solució de 100 mg (0,42 mmols) de *(Z)* -11-hexadecen-1-ol i 88 mg (0,63 mmols) d'àcid bromoacètic en 3 ml d'èter anhidre s'hi van afegir 7 mg (0,06 mmols) de 4-(N,N-dimetilamino)piridina seguit per 130 mg (0,63 mmols) de diciclohexilcarbodiimida (Neises i Steglich, 1978). La barreja es va agitar durant 22 h a temperatura ambient. Posteriorment es va evaporar l'èter, es va addicionar aigua i es va extraure amb hexà (3 x 10 ml). Després d'evaporar l'hexà, es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 117 mg (0,32 mmols) del producte desitjat (rendiment: 77%).

IR (cm^{-1}): 2998, 2920, 2850, 1752, 1735, 1460, 1274, 1108, 662.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 4,2 (t, J=7,1 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$O), 3,8 (s, 2H, C<u>H</u>$_2$Br), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,6 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$O), 1,4-1,2 (sa, 18H, 9C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

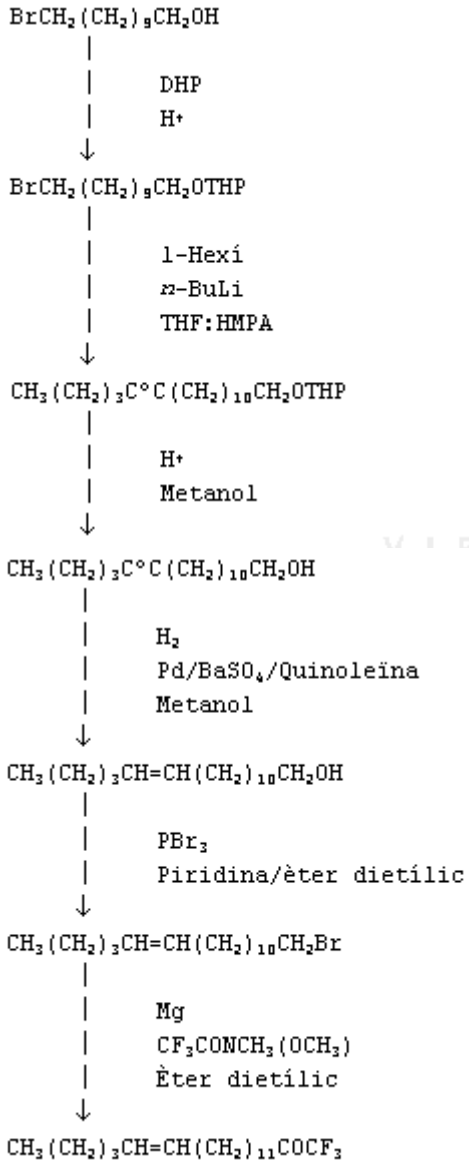
RMN-[^{13}C] (δ): 167,2 (CO), 129,82, 129,79 (C-11, C-12), 66,4 (C-1), 31,9 (C-14), 29,7-29,1 (C-4 a C-

9), 28,3 (C-2), 27,1 (C-13), 26,8 (C-10), 25,8 (C-1), 25,7 (C-3), 22,3 (C-15), 13,9 (C-16).

BIBLIOTECA VIRTUAL
MIGUEL DE CERVANTES

ii.1.27.- (Z)-1,1,1-TRIFLUORO-14-NONADECEN-2-ONA (Z11-16:TFP)

La síntesi es va efectuar seguint l'esquema que es presenta a continuació:



ii.1.27.1.- OBTENCIÓ DEL 2-(11-BROMOUNDECILOXI)TETRAHIDROPIRAN

Es van agitar en presència de traces d'àcid *p* -toluensulfònic, 4,70 g (18 mmols) d'11-bromo-1-undecanol i 1,9 ml (22 mmols) de 3,4-dihidro-2H-piran. Després de 24 h, la reacció es va donar per acabada, s'hi va afegir una mica de $NaHCO_3$ en pols i una vegada evaporat al buit, es va purificar el cru per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 5,91 g (18 mmols) del producte desitjat (rendiment: 80%).

RMN-[^{1}H] (δ): 4,5 (s, 1H, OC<u>H</u>(CH2)O), 3,8-3,3 (sc, 4H, 2C<u>H</u>$_2$O), 3,5 (t, J=6 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$Br), 1,8-1,2 (sa, 24H, 12C<u>H</u>2).

ii.1.27.2.- OBTENCIÓ DEL 2-(12-HEPTADECINILOXI)TETRAHIDROPIRAN

Sota atmosfera de N_2 i en el si de 30 ml de THF, es van fer reaccionar a -25ºC 1,60 g (20 mmols) d'1-hexí amb 31,5 ml de solució 0,55 M de *n* -BuLi en hexà (17,15 mmols). La suspensió de l'acetilur format es va adicionar sobre una solució de 5,75 g (17,15 mmols) de 2- (11-bromoundeciloxi) tetrahidropiran en 60 ml de HMPA. Acabada l'addició es va mantenir l'agitació durant 2 h a temperatura ambient. El cru es va hidrolitzar agregant-li una barreja d'aigua:gel. Després d'extraure amb hexà (4 x 20 ml), rentar els extractes orgànics amb solució al 10% de NH_4Cl i assecar sobre $MgSO_4$ anhidre, es va evaporar el dissolvent obtenint 5,59 g (16,64 mmols) de producte desitjat (rendiment: 97%).

ii.1.27.3.- OBTENCIÓ DEL 12-HEPTADECIN-1-OL

En el si de 100 ml de metanol es van dissoldre 5,59 g (16,64 mmols) de 2-(12-heptadeciniloxi)tetrahidropiran i s'hi van posar uns cristalls d'àcid *p* -toluensulfònic. La barreja es va escalfar a reflux durant 24 h. Després es va tractar amb una mica de $NaHCO_3$ en pols i, al cap de 15 min d'agitació, es va filtrar el cru i es va evaporar el dissolvent. El residu es va dissoldre en aigua i es va extraure amb èter dietílic (4 x 25 ml). Els extractes orgànics reunits es van rentar amb una solució saturada de NaCl i es van assecar sobre $MgSO_4$. Després de filtrar i evaporar el dissolvent, es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter) obtenint 3,33 g (13,21 mmols) de l'alcohol desitjat (rendiment: 77%).

RMN-[^{1}H] (δ): 3,6 (t, J=7,5 Hz, 2H, C<u>H</u>2OH), 3,2 (s, 1H, O<u>H</u>), 2,1 (t, J=7 Hz, 4H, C<u>H</u>$_2$CC), 1,4-1,2 (sc, 22H, 11C<u>H</u>2), 1,1 (t, J=6,5 Hz, 3H, C<u>H</u>3CH2).

ii.1.27.4.- OBTENCIÓ DEL (*Z*)-12-HEPTADECEN-1-OL

Una barreja de 620 mg (2,46 mmols) de 12-heptadecin-1-ol, 80 mg de Pd al 10% sobre $BaSO_4$ i 20 μl de quinoleïna en el si de 10 ml de metanol es va hidrogenar a temperatura ambient. Al cap de 3 h, l'absorció d'H_2 va ser de 60 ml i la reacció es dóna per acabada. Després de filtrar la barreja i evaporar el dissolvent, el residu es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2 eluint amb barreges d'hexà:èter de polaritat creixent), obtenint 620 mg (2,44 mmols) de producte desitjat (rendiment: 99%).

RMN-[^{1}H] (δ): 5,4 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 3,9 (s, 1H, O<u>H</u>), 3,6 (t, J=7 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$OH), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=CH), 1,5 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$OH), 1,4-1,2 (sa, 20H, 10C<u>H</u>2), 1,1 (t, J=7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

ii.1.27.5.- OBTENCIÓ DEL (*Z*)-1-BROMO-12-HEPTADECÈ

A una solució de 620 mg (2,44 mmols) de (Z)-12-heptadecen-1-ol en 8 ml d'èter s'hi van afegir 0,1 ml de piridina anhidra i, a -20ºC, 86 μl (0,9 mmols) de tribromur de fòsfor. La barreja es va agitar durant 20 min i després es va mantenir 4 h a reflux. Posteriorment es va realitzar la hidròlisi sobre aigua:gel i es va extraure amb èter (4 x 15 ml). Els extractes orgànics es van rentar amb solució saturada de NaCl fins a pH neutre i, es van assecar sobre $MgSO_4$. Després de filtrar i evaporar, el residu es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter de polaritat creixent), obtenint 182 mg (0,57 mmols) de producte desitjat (rendiment: 24%).

RMN-[^{1}H] (δ): 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 3,4 (t, J=6,5 Hz, 2H, C<u>H</u>2Br), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,8 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$Br), 1,4-1,2 (sa, 20H, 10C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,7 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

RMN-[^{13}C] (δ): 129,8 (C-14, C-15), 34,0 (C-2), 32,8 (C-11), 32,0 (C-14), 29,8 (C-1), 29,8 (C-15), 29,6-28,2 (C-5 a C-10), 27,1 (C-4), 26,9 (C-3), 22,3 (C-16), 14,0 (C-17).

ii.1.27.6.- OBTENCIÓ DE LA N-METIL-N-METOXITRIFLUOROACETAMIDA

Es va posar 1 g (10 mmols) de clorhidrat de N,O-dimetilhidroxilamina en un matràs de 3 boques. Sota corrent de N_2 i a 0ºC s'hi van afegir 1,74 ml (8,3 mmols) d'anhídrid trifluoroacètic. Després s'hi van afegir 5,5 ml de trietilamina i es va agitar la barreja a 0ºC durant 1 h i 4 h més a temperatura ambient. Posteriorment es va decantar la trietilamina, s'hi va afegir èter dietílic i es va filtrar. Després d'evaporar l'èter, es va destil·lar (30-36ºC/25 Torr) obtenint 200 mg (1,27 mmols) del producte desitjat (rendiment: 16%).

IR (cm^{-1}): 2980, 2940, 1717, 1460, 1256, 1218, 1167, 1083, 990, 662.

RMN-[^{1}H] (δ): 3,8 (s, 3H, C<u>H</u>3O), 3,3 (s, 3H, C<u>H</u>3).

ii.1.27.7.- SÍNTESI DE LA (*Z*)-1,1,1-TRIFLUORO-14-NONADECEN-2-ONA (Z11-16:TFP)

Un matràs de 3 boques es va carregar amb 20 mg de Mg i 1 ml d'èter dietílic. Sota atmosfera de N_2, s'hi van afegir 150 mg (0,47 mmols) de *(Z)* -1- bromo-12-heptadecè dissolts en èter. Acabada l'addició, es va deixar

la barreja 1 h a reflux. Després es va refredar a 0ºC i s'hi van afegir 111 mg (0,70 mmols) de N-metil-N-metoxitrifluoroacetamida (Shaw i Tuominen, 1985) dissolts en 3 ml d'èter. Després d'agitar a temperatura ambient durant 2 h es va fer la hidròlisi sobre aigua:gel i HCl. La solució aquosa es va extraure amb hexà:diclorometà (1:1) (3 x 20 ml), es va assecar amb $MgSO_4$ anhidre i es va evaporar. El residu es va destil·lar (120-170ºC/0,01 Torr) i es va purificar per cromatografia de columna (SiO_2, eluint amb barreges d'hexà:èter), obtenint 60 mg (0,18 mmols) del producte desitjat (rendiment: 38%).

IR (cm^{-1}): 2992, 2912, 2879, 1758, 1252, 1087, 1007.

RMN-[^{1}H] (δ): 5,3 (m, 2H, C<u>H</u>=C<u>H</u>), 2,7 (t, J=7,2 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$CO), 2,0 (m, 4H, C<u>H</u>$_2$CH=C), 1,7 (m, 2H, C<u>H</u>$_2$CH$_2$CO), 1,4-1,2 (sa, 20H, 10C<u>H</u>$_2$), 0,9 (t, J=5,5 Hz, 3H, C<u>H</u>$_3$CH$_2$).

RMN-[^{13}C] (δ): 191,6 (q, J=34,4 Hz, CO), 129,8 (C-14, C-15), 115,5 (q, J=290 Hz, CF_3), 36,3 (C-3), 31,9 (C-17), 29,7-29,1 (C-4 i C-6 a C-12), 28,7 (C-5), 27,1 (C-16), 26,9 (C-13), 22,3 (C-18), 13,9 (C-19).

RMN [^{19}F] (δ): -3,6 (s).

EM (IE) m/z (intensitat relativa): 334 (M^+, 11), 265 (9), 179 (6), 167 (5), 153 (7), 149 (7), 139 (10), 111 (13), 97 (34), 83 (46), 69 (66), 55 (100).

ii.2.- CRIA D'INSECTES

ii.2.1.- CRIA D'O. *Nubilalis*

La cria d'*O. nubilalis* es va realitzar segons el mètode descrit per Lee i Spence (1987) amb lleugeres modificacions. Aquesta es va dur a terme en una cambra condicionada a 25 ± 1°C i un fotoperíode 16:8 (llum/foscor). Un aspecte fonamental de la cria era la renovació periòdica de la dieta, amb la doble finalitat alimentària i de protecció contra la dessecació.

La cria s'iniciava amb la recollida de larves o de postes en camps de blat de moro. Les larves es posaven en grups de 4-5 en capses cilíndriques de plàstic (5,3 cm Ø x 3,2 cm d'alçària) amb una porció de dieta semi-sintètica (Eizaguirre, 1989) d'aproximadament 1 x 1 x 1 cm. En el cas de postes, aquestes, prèviament, es desinfectaven amb solució d'hipoclorit sòdic al 5% durant 7 min i, posteriorment, es rentaven dues vegades amb aigua durant 5 min. Cada 3-4 dies es canviava la capsa de cria i es renovava la dieta.

Quan els insectes arribaven a l'estadi de pupa, es separaven els mascles de les femelles i es col·locaven en el mateix tipus de capses, també amb una porció de dieta. Quan emergien els adults es traslladaven a un pot de plàstic transparent (17 cm Ø x 11,5 cm d'alçària) amb la paret recoberta de paper parafinat. En cada pot s'hi col•locaven 1-2 femelles i 2-4 mascles. Una vegada es detectaven postes, aquestes es retallaven del paper, es desinfectaven i es disposaven en capses de cria amb dieta. Tot aquest procés es repetia fins un màxim de 3-4 generacions de laboratori.

ii.2.2.- CRIA DE S. *nonagrioides*

La cria de *S. nonagrioides* es va dur a terme de forma molt similar a la d'*O. nubilalis*. Aquesta també procedia de larves recollides en camp de blat de moro. Les larves es disposaven en grups de 2-3 en les capses de cria amb dieta semi-sintètica (Eizaguirre, 1989) a 25 ± 1°C i un fotoperíode 16:8 (llum/foscor). Periòdicament (3-4 dies), també es renovaven les capses i la dieta.

En arribar a la pupació es separaven els mascles de les femelles. Segons la utilitat dels adults per a certs assajos, s'invertia l'horari del fotoperíode, de forma que les hores de foscor coincidissin amb les hores normals de treball del dia. Per continuar la cria, els adults es col·locaven en gàbies de plàstic transparent de 50 x 50 x 50 cm amb 2-3 plantes petites de blat de moro a l'interior per realitzar la posta. A diferència d'*O. nubilalis*, les femelles de *S. nonagrioides* necessiten la planta per realitzar la posta, ja que aquesta s'efectua en la beina de la fulla.

Les postes recollides en les plantes de blat de moro es desinfectaven i es disposaven en capses de cria amb dieta i un petit bocí de fulla de blat de moro. En *S. nonagrioides*, a diferència d'*O. nubilalis*, la supervivència dels primers estadis larvals amb dieta sola és molt baixa. Per aquesta raó es posava la fulla de blat de moro amb les postes per a que s'alimentessin les larves joves. Posteriorment es continuava la cria amb dieta sola, repetint tot el procés. També, periòdicament (3-4 generacions) es renovaven les poblacions amb individus del camp.

ii.3.- ASSAJOS D'ELECTROANTENOGRAFIA (EAG)

En la Figura 1-2 es presenta un esquema de l'aparell utilitzat per efectuar els assajos d'electroantenografia amb *O. nubilalis* i *S. nonagrioides*.

Figura 1-2

L'aparell és essencialment el model de Roelofs i Comeau (1971), i presenta unes modificacions que consisteixen principalment en la introducció d'un sistema d'injecció de la mostra de forma automàtica, format per un temporitzador connectat a una electrovàlvula (Guerrero *et al.*, 1986).

Una pipeta Pasteur amb un petit paper de filtre (0,8 cm^2) impregnat amb el producte actiu està connectada amb l'extrem del tub procedent de l'electrovàlvula i deixa anar el seu corrent d'aire a intervals regulars dins del flux d'aire continu que desemboca a un petit tub de vidre que dirigeix el flux a l'antena.

Aquest sistema totalment automatitzat d'injecció descrit permet una ràpida despolarització de l'antena, així com un fàcil càlcul del temps mínim de recuperació dels receptors de l'antena.

Els elèctrodes estan fets de Ag (99,5% Ag) amb una capa electrolítica de AgCl. Tenen una longitud d'uns 15 cm i 0,6 mm de diàmetre. Tot el sistema està protegit de senyals elèctrics estranys per una caixa de Faraday de 76 x 70 x 60 cm metàl·lica.

Una vegada comprovades totes les connexions es procedeix a tallar el cap de l'insecte (mascle, d'1 a 4 dies de vida) i posteriorment es fa la dissecció dels últims artells terminals de l'antena. Es col·loca el cap de l'insecte sobre la cera i s'assegura la connexió de l'extrem de l'antena amb l'elèctrode d'entrada mitjançant l'ús de solució de Ringer. Aquesta solució salina consisteix en una barreja de: NaCl (7,5 g/l), CaCl2 (0,21 g/l), KCl (0,35 g/l) i NaHCO3 (0,2 g/l).

L'elèctrode d'entrada està connectat a un amplificador amb una alta impedància d'entrada (1012 ohms). La resposta de l'antena se situa normalment entre 0,1 i 10 mV i es necessita amplificar aquest senyal més de 100 vegades per poder observar-lo amb un oscil·loscopi. El sistema està connectat a un oscil·loscopi (Tektronik model 5111), on es pot llegir amb precisió les màximes amplituds de resposta assolides per l'EAG.

BIBLIOTECA VIRTUAL

ii.4.- BIOASSAJOS EN TÚNEL DE VENT

Les proves d'estudi de la feromona i d'inhibició en *S. nonagrioides* es van realitzar en un túnel de vent construït de peces rectangulars de vidre amb suport d'alumini. Les dimensions exteriors del túnel eren 200 cm de longitud, 50 cm d'altura i 50 cm d'amplada. La font d'aire era un ventilador de 30 cm de diàmetre situat a la part anterior del túnel davant d'un filtre i una malla. El fons del túnel tenia un dibuix, que consistia en taques alternades de color blanc i vermell. La llum la donaven dos tubs fluorescents de color vermell situats damunt del túnel. Uns papers de filtre entre les llums i el túnel servien per difondre la llum, per tal de donar una il·luminació uniforme de 4 lux en el fons del túnel, mesurada amb un luxímetre (Gossen Panlux electronic 2).

La part posterior del túnel estava coberta amb una malla plàstica per evitar que els insectes es poguessin escapar o ser xuclats per un aspirador de 30 cm de diàmetre, que estava situat darrera. La velocitat del vent es va mantenir, durant tots els experiments a 28 cm/s. La part lateral del túnel consistia en dues portes corredisses que facilitaven la recaptura dels insectes.

Els esquers es situaven a 30 cm de la part anterior del túnel penjats a una altura de 20 cm del sostre amb una sèrie de clips.

Els insectes, amb grups de 2-5 es col·locaven sobre una plataforma de 30 cm d'altura a 20 cm de la part posterior del túnel sobre un paper de filtre. Cada experiment es mantenia durant un temps màxim de 5 min. El comportament de resposta es registrava utilitzant la següent seqüència: NR, sense resposta; MA, activació, moviment ràpid d'antenes; IV, inici del vol; VM, vol fins la meitat del túnel; OR, vol d'orientació cap a la font; CO, contacte amb la font. Tots els mascles provats es mantenien prèviament sota la il·luminació de l'habitació durant un període mínim de 30 min. Tots els experiments es van realitzar a 20-22°C, de 2-5 hores dins de l'escotofase. Tots els insectes tenien 1-2 dies després de l'emergència i s'havien mantingut en absència de femelles abans de ser utilitzats en els bioassajos.

Capítol 1. DETERMINACIÓ DE LA RAÇA FEROMONAL *D'O. Nubilalis*

1.1.- INTRODUCCIÓ

La feromona sexual d'*O. nubilalis* es produeix en glàndules epidèrmiques associades amb els 9è i 10è segments abdominals, i s'allibera des de les superfícies de l'ovopositor (Klun, 1968; Klun i Maini, 1979).

Utilitzant un extracte de 10.000 femelles verges en dicloroetà, Klun (1968) va aïllar per primera vegada la feromona sexual d'*O. nubilalis*, que posteriorment va ser identificada per Klun i Brindley (1970) com l'acetat de *(Z)* -11-tetradecenil (Z11-14:Ac). A l'estat d'Iowa (Estats Units), els mascles responien a aquesta feromona, però aquesta resposta era inhibida per l'isòmer E (E11-14:Ac)(Klun i Robinson, 1971).

Roelofs *et al.* (1972) van descobrir que els mascles a l'estat de Nova-York eren atrets per l'isòmer E i l'isòmer Z tenia poca acció inhibitòria. Segons Klun *et al.* (1973) l'atracció òptima, a Iowa, es dóna quan s'afegeix un 3% d'isòmer E a l'isòmer Z. Kochanski *et al.* (1975) van observar que la composició de la feromona sexual extreta era 4Z:96E per a femelles de Nova-York i 97Z:3E per a femelles d'Ontàrio (Canadà).

Així, sembla ser que poblacions diferents, que s'han desenvolupat sota condicions ambientals amb diferent pressió de selecció, han experimentat una evolució genètica que ha afectat, entre altres coses, al seu sistema de comunicació sexual. D'aquesta manera, han aparegut dues races d'*O. nubilalis* que difereixen en la composició relativa en la seva feromona sexual dels acetats de (*Z*)- i (*E*)-11-tetradecenil. Així la raça en la que l'isòmer Z és el majoritari en la feromona sexual es coneix com a raça d'Iowa o raça Z i conté una relació isomèrica aproximada 97Z:3E (Klun *et al.*, 1973). I la raça en la que l'isòmer majoritari és l'E es coneix com a raça de Nova-York o raça E i la relació aproximada d'isòmers és 4Z:96E (Kochansky *et al.*, 1975).

La raça Z està àmpliament distribuïda per tot el món mentre que la raça E es troba principalment a Itàlia, Holanda, Suïssa i nord-est dels Estats Units (Klun i cooperadors, 1975; Anglade *et al.*, 1984). Cardé *et al.* (1975, 1978) i Klun i cooperadors (1975) van trobar que coincidien les races feromonals Z i E a Itàlia, Pensilvània i Nova-Jersey. També Kennedy i Anderson (1980), troben les dues races coincidint a Carolina del Nord. Fletcher-Howell *et al.* (1983) van trobar que, a Massachusetts, coincidien les poblacions Z i E, essent necessari l'ús d'ambdues barreges per al seguiment de la plaga. Roelofs *et al.* (1985) també van descobrir l'existència d'ambdues races Z i E a Nova-York.

En les àrees en les que coincideixen les dues races, es poden produir híbrids. A Nova-Jersey i Itàlia, Klun i Maini (1979) van trobar que les femelles F_1 de l'encreuament entre les dues races produeixen una feromona sexual amb una relació 35Z:65E, i els mascles híbrids responen més intensament a aquesta barreja.

Més endavant, Roelofs *et al.* (1985) van trobar que, a Nova-York, existien barreges en relacions diferents a 35Z:65E. Aquestes relacions van atribuir-se a híbrids, i no a poblacions addicionals.

En la Figura 1-3 es mostra la distribució general de les races feromonals d'*O. nubilalis* a Europa i a l'Amèrica del Nord.

Figura 1-3

Aquesta existència de diferents races feromonals fan que en una zona determinada sigui necessari el coneixement de les races existents i la seva distribució, per poder emprar les trampes de feromona per al seguiment de les poblacions. D'aquesta manera a la Vall de l'Ebre s'ha trobat que feromones sintètiques de diverses procedències no han estat eficaces en el seguiment dels vols d'*O. nubilalis* (M. Eizaguirre, comunicació personal), possiblement degut a que la relació d'isòmers no era l'adequada per a les races existents en la zona.

L'objectiu d'aquest capítol és la determinació de la composició específica de la feromona sexual de les poblacions de la plaga existents en el nord-est de la península Ibèrica. L'estudi s'ha portat a terme mitjançant tres tipus de proves: (1) anàlisi cromatogràfica dels components feromonals en les glàndules de les femelles, (2) resposta en EAG de mascles a les barreges corresponents a les tres races descrites i, (3) proves de captures de mascles en camp en trampes esquerades amb les tres barreges.

1.2.- MATERIAL I MÈTODES

1.2.1.- ANÀLISI CROMATOGRÀFICA DELS COMPONENTS DE LES GLÀNDULES DE LES FEMELLES

Aquestes proves es van realitzar amb individus procedents de larves hivernants recollides en camps de blat de moro, a les zones de Lleida, Girona i Osca. Les larves recollides es van mantenir sota fotoperíode 16:8

(llum/foscor) alimentades amb dieta artificial (Eizaguirre, 1989) fins arribar a la pupació. En aquest estadi es van separar els mascles de les femelles.

Les glàndules de la feromona sexual de femelles individuals es van analitzar segons el procediment descrit per Roelofs *et al*. (1985). Les femelles adultes es col·locaven individualment en capses cilíndriques de plàstic (53 mm Ø x 32 mm d'alçària) el dia de l'emergència. Les capses es van mantenir en foscor total a partir de les 16:00 h fins a la dissecció de la seva glàndula feromonal l'endemà al matí. La glàndula feromonal s'obtenia tallant els últims segments abdominals, i es transferia amb una agulla a un petit vial cònic amb 15 μl d'hexà (Fluka qualitat anàlisi de residus). La glàndula s'extreia durant un mínim d'1 hora i la solució sencera s'analitzava per cromatografia de gasos (CGL). L'aparell emprat era un cromatògraf de gasos Carlo Erba (Mega-5160), equipat amb una columna capil·lar Supelcowax-10 (30 m x 0,25 mm d.i.; 0,25 μm espessor de pel·lícula), sistema d'injecció split-splitless, hidrogen com a gas portador i detector d'Ionització de Flama (FID). La temperatura es programava de 80 a 180ºC a 10ºC/min. En aquestes condicions els isòmers E i Z de l'acetat d'11-tetradecenil sortien amb un minut de diferència, aproximadament a 26 i 27 min, respectivament, tal com es va poder determinar per injecció de mostres de referència sintètiques.

Per a cada extracte analitzat es va calcular la proporció relativa dels dos isòmers de l'acetat d'11-tetradecenil, mitjançant comparació de les seves àrees respectives. Es van analitzar 35 femelles de la zona de Lleida, 23 d'Osca i 26 de Girona.

1.2.2.- PROVES D'ELECTROANTENOGRAFIA

Amb aquestes proves es pretenia determinar la proporció de mascles d'*O. nubilalis* que presentaven una resposta superior a cada una de les barreges corresponents a les races feromonals de l'insecte. Els mascles emprats procedien també de larves recollides en camps de blat de moro de les zones de Lleida, Osca i Girona.

La descripció de l'aparell d'electroantenografia emprat es troba en l'apartat ii.3 de MATERIAL I MÈTODES GENERALS. S'han provat les barreges dels isòmers de l'acetat d'11-tetradecenil següents: 97Z:3E, 35Z:65E i 4Z:96E. En les proves es va quantificar la resposta EAG de cadascun dels mascles a una insuflada d'aire que passa per una pipeta Pasteur que conté 10 μg de barreja en un petit paper de filtre. Els assajos es van efectuar amb 35 mascles de Lleida, 30 d'Osca i 32 de Girona. Es van realitzar 5 lectures per mascle per a cada una de les barreges, i es va avaluar la resposta mitjana per a cada barreja. Entre lectures successives es deixava passar uns 40 s, temps suficient per facilitar la recuperació dels receptors.

Amb els resultats, es van calcular les proporcions de mascles que responien més a cada una de les barreges. També, per a cada zona, es va realitzar una anàlisi de variància de les respostes a cada una de les barreges, amb separació de mitjanes mitjançant la prova de l'interval múltiple de Duncan amb $p<0,05$.

1.2.3.- PROVES D'ATRACCIÓ EN CAMP

L'objectiu d'aquestes proves era determinar quina era la barreja dels dos isòmers Z i E de l'acetat d'11-tetradecenil més efectiva en la captura de mascles d'*O. nubilalis* en camp, i per tant, esbrinar la raça feromonal predominant, o la proporció de races en cada zona estudiada.

Aquests assajos d'atracció al camp es van realitzar durant els períodes de vol de l'insecte, a les zones de Lleida (anys 1990, 1991, 1992 i 1993), Girona i Osca (any 1991), en camps cultivats amb blat de moro.

Al 1990 es van assajar a la localitat d'Almacelles (Lleida) les següents barreges: 100Z:0E, 95Z:5E, 80Z:20E, 65Z:35E, 50Z:50E, 35Z:65E, 20Z:80E, 5Z:95E i 0Z:100E. Es van utilitzar vials de polietilè com a difusors, amb una quantitat total d'atraient de 200 μg, i trampes tipus Delta o de pega. El vol es va seguir des del 15 de juny fins al 27 de setembre. Les captures per trampa es van sumar i es van transformar a $(x+0,5)^{1/2}$ per realitzar l'anàlisi de variància amb separació de mitjanes mitjançant la prova de l'interval múltiple de Duncan ($p<0,05$). En els resultats es presenten les mitjanes no transformades.

Al 1991 es van fer assajos a les localitats d'Almacelles (Lleida), Sariñena (Osca) i Mas Badia (Girona), amb les barreges 97Z:3E, 35Z:65E i 4Z:96E. El tipus de dispensador utilitzat va ser septum de cautxú roig (5 x 9 mm)(Aldrich Chemical Company, Inc.), amb una quantitat total d'atraient de 100 μg, i trampes tipus embut o "funnel" (Agrisense Ltd.). Els vols es van seguir des del 31 de maig fins al 6 d'octubre.

Al 1992 es va repetir l'assaig a la localitat d'Almacelles (Lleida), i al 1993 a Almacelles i Poal (Lleida), amb les mateixes condicions que el 1991. Les trampes es van instal·lar l'1 de juny l'any 1992 i el 20 de maig al 1993, i es van seguir fins al 8 d'octubre i 30 de setembre, respectivament.

En tots els assajos, les trampes es van disposar a una altura aproximada d'1,5 m sobre el nivell del sòl, penjades d'un suport de fusta.

Les trampes es van instal·lar a les voreres de camps de blat de moro en un disseny de blocs a l'atzar

lineal amb 3 repeticions i una separació d'uns 30 m entre trampes. Cada setmana es realitzava el conteig dels insectes capturats i es practicava la rotació de les trampes una posició dins del bloc per minimitzar l'efecte en les captures degut a la localització.

1.3.- RESULTATS I DISCUSSIÓ

1.3.1.- ANÀLISI CROMATOGRÀFICA DE GLÀNDULES FEROMONALS

En la Figura 1-4 es mostra un cromatograma corresponent a l'anàlisi per cromatografia de gasos de la glàndula feromonal d'una femella d'*O. nubilalis*.

Figura 1-4

En aquestes anàlisis s'ha observat que la totalitat de les femelles estudiades, procedents de totes les zones estudiades (Lleida, Osca i Girona), contenen una proporció majoritària d'isòmer Z (Figures 1-5, 1-6 i 1-7). Malgrat tot, si bé la majoria de femelles de les zones de Lleida i Osca tenen una proporció d'isòmer E entre 0-5%, en la zona de Girona la major part de les femelles contenen un proporció d'aquest isòmer entre 5-10%. I, fins i tot, s'arriben a trobar, en totes les zones, proporcions d'isòmer E fins al 25% en les glàndules feromonals. Aquest resultat difereix de la relació 97Z:3E de la raça Z d'*O. nubilalis* descrita per Kochanski *et al.* (1975). Aquests resultats són similars als descrits per Roelofs *et al.* (1985), els quals també van trobar proporcions d'isòmer E fins al 25% analitzant glàndules de femelles individuals en poblacions de la raça Z a Nova-York. Aquest elevat percentatge d'isòmer E trobat en algunes de les glàndules de femelles podria ser degut a una isomerització parcial durant el procés d'extracció i manipulació de les glàndules per acció de possibles isomerases en els mateixos teixits. D'aquesta manera, la proporció d'aquest isòmer es veuria incrementada en les anàlisis.

Figura 1-5
Figura 1-6
Figura 1-7

1.3.2.- PROVES EN EAG

Les proves en EAG també s'han realitzat amb mascles d'*O. nubilalis* procedents de tres zones geogràfiques diferents del nord-est de la península Ibèrica: Lleida, Girona i Osca. Les proves han consistit en mesurar la resposta de les antenes dels mascles a les barreges dels acetats de (*Z*)- i *(E)* -tetradecenil corresponents a les tres races feromonals descrites: 97Z:3E, 35Z:65E i 4Z:96E.

Tots els mascles provats de la zona de Lleida han donat una resposta EAG superior amb la barreja 97:3 (Z/E), i no s'ha trobat cap mascle que respongui més intensament a les barreges corresponents a les races E i híbrida (Taula 1-1). A les altres dues zones (Osca i Girona), també pràcticament tots els mascles han mostrat una resposta EAG més elevada a la barreja corresponent a la raça Z; però en aquestes zones s'han detectat dos mascles amb una resposta lleugerament superior a la barreja 35Z:65E. Això és una mica estrany, ja que aquesta barreja correspon a la raça híbrida i, en canvi, no s'ha trobat cap mascle que respongués més activament a la barreja de la raça E. Aquesta raça E seria necessària en les zones per a que es poguessin produir els híbrids amb la raça Z. El fet de no trobar cap individu pertanyent a la raça E, a l'igual que en el cas de l'anàlisi de glàndules de femelles, podria ser degut a un insuficient nombre d'insectes analitzats. Així, si el percentatge de població E és reduït, és possible que no s'arribi a detectar en les mostres.

	LLEIDA	OSCA	GIRONA
97Z:3E	35	28	30
35Z:65E	0	2	2
4Z:96E	0	0	0

Taula 1-1.- Nombre de mascles d'*Ostrinia nubilalis* que responen més activament en EAG a cada una de les barreges dels isòmers de l'acetat d'11-tetradecenil corresponents a les tres races feromonals de l'insecte. Els resultats corresponen a l'estudi de mascles procedents de larves hivernants recollides a les zones de Lleida, Osca i Girona.

En la Figura 1-8 es poden veure les respostes EAG mitjanes de tots els mascles a cada una de les tres barreges i per cada zona. En totes les zones, els mascles han mostrat una resposta molt superior a la barreja 97:3

(Z/E)(raça Z). La segona barreja que ha donat una resposta més alta és la barreja 35:65 (Z/E), corresponent a la raça híbrida. Aquest resultat és lògic, ja que aquesta barreja és la que té, en segon lloc, un percentatge més gran d'isòmer Z. Finalment, la barreja 4:96 (Z/E), corresponent a la raça E, és la que ha donat una resposta EAG més petita, el que indica que les antenes dels mascles tenen poca afinitat per aquesta composició.

Figura 1-8

Tots aquests resultats indiquen que en totes les zones estudiades, pertanyents al nord-est peninsular, la raça d'*O. nubilalis* predominant és la raça Z, amb una relació d'isòmers de l'acetat d'11-tetradecenil en la composició de la seva feromona sexual pròxima a 97:3 (Z/E).

1.3.3.- PROVES DE CAMP

L'any 1990 es fa fer un primer assaig de les barreges Z i E de l'acetat d'11-tetradecenil, utilitzant un total de 9 barreges. L'assaig es va realitzar a la zona de Lleida i es van emprar trampes tipus Delta. El primer que es pot observar (Figura 1-9) és la poca quantitat de captures acumulades realitzades durant tota la campanya. Aquest fet, probablement és degut a la poca eficiència d'aquest tipus de trampa en la captura de mascles d'*O. nubilalis*, aspecte descrit per diversos autors (Webster *et al.*, 1986; Durant *et al.*, 1986; Thompson *et al.*, 1987). En aquesta primera prova també podem veure que la majoria de captures s'han realitzat amb la barreja 95:5 (Z/E), i seguidament amb les barreges 100:0 i 80:20. Això ja fa intuir que la raça feromonal d'aquest insecte predominant en aquesta zona és la raça Z, que té una relació propera a 97:3 (Z/E) en la composició de la seva feromona sexual (Klun *et al.*, 1973). Un altra cosa que es pot observar és que hi ha un cert nombre de captures amb les barreges 50:50 i 35:65, i fins i tot alguna captura en les barreges en que predomina l'isòmer E. Això fa pensar, a falta de posteriors confirmacions, en la possible existència d'una reduïda proporció de les poblacions pertanyents a les races E i híbrida, amb unes relacions d'isòmers 4:96 i 35:65 (Kochanski *et al.*, 1975).

Figura 1-9

Per a tota la resta de proves realitzades es va decidir emprar tan sols les 3 composicions descrites pertanyents a les races Z, E i híbrida, o sigui les relacions d'isòmers Z/E de l'acetat d'11-tetradecenil 97:3, 4:96 i 35:65. També es va canviar el tipus de trampa, utilitzant ara les trampes d'embut (Agrisense Ltd.). Com a esquer es van emprar "septa" de cautxú roig amb 100 μg de barreja feromonal.

Així, tal com es veu en les Figures 1-10,1-15, la major part de les captures de mascles, en totes les zones estudiades i en tots els anys, es realitzen amb la barreja 97Z:3E. Aquest resultat ens permet assegurar que en les tres zones estudiades (Lleida, Girona i Osca) hi predomina la raça feromonal Z.

S'ha de remarcar que malgrat la raça Z és la predominant a totes les zones, es realitzen algunes captures de mascles d'*O. nubilalis* amb les altres dues barreges (35Z:65E i 4Z:96E) pertanyents a les races feromonals E i híbrida d'aquest insecte. Aquest resultat és notòriament clar en l'assaig de Lleida de 1992 (Figura 1-13), en el que es veu un clar vol de les races E i híbrida en el mes de juny, una mica retardat respecte al primer vol corresponent a la raça Z. Això fa pensar que hi pugui haver una reduïda part de la població d'aquest barrinador pertanyent a les races E i híbrida.

Figura 1-10
Figura 1-11
Figura 1-12
Figura 1-13
Figura 1-14
Figura 1-15

El seguiment de la població d'*O. nubilalis* mitjançant la utilització de trampes de feromona ha permès observar 3 vols d'adults de la plaga, amb un primer vol sobre el mes de juny i dos vols solapats durant els mesos d'agost i setembre. Això contrasta amb els dos únics vols descrits per Alfaro (1972) a la vall de l'Ebre.

En tots els assajos amb les formulacions corresponents a les races E i híbrida s'han realitzat un nombre molt reduït de captures. Això permet que, per al seguiment d'aquesta plaga en tota la zona d'estudi, sigui suficient la utilització de la formulació feromonal corresponent a la raça Z (97Z:3E).

Aquest no és el cas d'algunes zones geogràfiques, en les que conviuen de forma significativa les 3 races feromonals d'*O. nubilalis*, i per tant s'aconsella l'ús de feromones de les 3 races per al seguiment de les poblacions. Aquest és el cas d'alguns estats americans de l'est com ara Nova-York (Roelofs *et al.*, 1985), Pensilvània (Cardé *et al.*, 1975, 1978; Klun i cooperadors, 1975), Nova-Jersey (Cardé *et al.*, 1975, 1978; Klun i cooperadors, 1975; Klun i Maini, 1979), Massachusetts (Fletcher-Howell *et al.*, 1983), Carolina del Nord (Kennedy i Anderson, 1980), Carolina del Sud (Durant *et al.*, 1986; Durant i Manley, 1987). També en certes zones d'Europa s'ha trobat que coincidien les 3 races, com ara el Nord d'Itàlia (Klun i Maini, 1979; Anglade *et al.*, 1984), Sud de Suïssa (Anglade *et al.*, 1984; Peña *et al.*, 1988) o Nord d'Alemanya (Welling, 1989). A Israel, Moore *et al.* (1986) també descriuen l'existència de les dues races Z i E.

On coexisteixen geogràficament les races Z i E, hi han evidències d'un aparellament forçament dirigit entre individus de la mateixa raça, però es dóna algun encreuament i es produeixen híbrids viables (Klun i Huettel, 1988). Klun i Maini (1979) van determinar que la relació d'isòmers en la feromona produïda per la femella estava controlada per un únic gen amb dos al·lels. Això, més tard, va ser confirmat i desenvolupat per Roelofs *et al.* (1987), que troben que la resposta de comportament del mascle a la feromona s'hereta per un altre gen lligat al sexe, també amb dos al·lels (en Lepidoptera, el mascle és, en general, el sexe homogamètic). Malgrat tot, el més extraordinari que van descobrir en aquest estudi va ser que mentre el comportament del mascle el determinava un gen lligat al sexe, l'herència dels tipus de receptors antenals sensibles als isòmers Z i E de l'acetat d'11-tetradecenil estava controlada per un gen senzill amb dos al·lels. Löfstedt *et al.* (1989) i Glover *et al.* (1990) van demostrar que el gen responsable de la producció de feromona i el gen responsable de la resposta del mascle no estan lligats, i s'hereten independentment. Segons Bengtsson i Löfstedt (1990) l'aparellament dirigit entre individus de la mateixa raça fa que les proporcions de races en una zona determinada siguin estables.

Fins al moment són molt poques les espècies en les que s'ha trobat una variabilitat feromonal intraespecífica, apart d'*O. nubilalis*. Bailey *et al.* (1986) van trobar poblacions d'*Amorbia cuneana* (Lepidoptera: Tortricidae) a Califòrnia amb diferents proporcions dels dos components feromonals, els acetats de (*E,E)* i (*E,Z*)-10,12-tetradecadienil. Les tres poblacions diferents contenien 37%, 58% i 89% de l'isòmer EZ.

Haynes i Hunt (1990) van descobrir una mutació en el sistema de comunicació feromonal de *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). En una població procedent de Califòrnia, criada durant 15 anys en laboratori sense introducció d'insectes de camp van aïllar una colònia que produïa una feromona anormal. Mentre la feromona normal de l'espècie està constituïda per Z7-12:Ac, 12:Ac, Z5-12:Ac, 11-12:Ac, Z7-14:Ac i Z9-14:Ac (Bjostad *et al.*, 1984), la colònia mutant emetia una feromona amb una reducció del Z7-12:Ac, pràcticament absència del Z5-12:Ac i un increment de quasi 20 vegades del Z9-14:Ac.

Frérot i Foster (1991) també van trobar que poblacions de *Graphania mutans* (Lepidoptera: Noctuidae) de dues zones diferents de Nova-Zelanda tenien una composició de la feromona sexual diferent. Mentre en una zona la feromona estava constituïda per una barreja de Z9-14:OH, Z9-14:Ac, Z7-14:OH i Z7:14:Ac, en l'altra zona la feromona contenia els mateixos quatre components i, a més a més, una elevada quantitat de Z9-14:Ald.

Guerin *et al.* (1984) van descriure dues races de *Zeiraphera diniana* (Lepidoptera: Tortricidae) a Suïssa. Una raça s'alimenta sobre alerç i utilitza E11-14:Ac com a feromona sexual, mentre que l'altra s'alimenta sobre pins i utilitza E9-12:Ac.

1.4.- CONCLUSIONS

1.- Segons totes les proves realitzades (anàlisi de glàndules de femelles, assajos d'EAG i proves de captures en trampes) la raça feromonal d'*O. nubilalis* present en el nord-est de la península Ibèrica de forma majoritària és la raça Z. Aquesta raça es caracteritza per posseir en la seva feromona sexual una proporció majoritària de l'isòmer Z de l'acetat d'11-tetradecenil.

2.- La barreja d'isòmers 97Z:3E de l'acetat d'11-tetradecenil constitueix un atraient efectiu per realitzar el seguiment dels vols de l'espècie en tota la zona d'estudi.

3.- Aquesta barreja ha permès observar tres vols d'*O. nubilalis*, un vol en el mes de juny i dos vols solapats durant els mesos d'agost i setembre.

4.- Segons les dades de captures en trampes col•locades en camp, no es descarta la possibilitat de l'existència d'una petita part de la població pertanyent a les races E i híbrida.

Capítol 2. ESTUDI DE LA FEROMONA SEXUAL DE *S. Nonagrioides*

2.1.- INTRODUCCIÓ

L'especificitat de les feromones sexuals és important de cara a aconseguir l'aïllament sexual entre espècies simpàtriques, sobre tot quan no es donen altres mecanismes d'aïllament com poden ser l'hàbitat o diferències estacionals o diàries en l'aparellament (Tamaki, 1988). L'especificitat de les feromones sexuals de lepidòpters està basada en l'estructura química de components particulars i en les combinacions específiques de components múltiples.

En moltes espècies en les que només es coneix un sol component de la feromona sexual o, fins i tot, en espècies amb sistemes de dos components, les barreges sintètiques són poc actives o bé tenen poca especificitat. En aquestes espècies d'insectes es suggereix la presència de components addicionals (Tamaki, 1988). L'especificitat de la feromona sexual depèn principalment de la barreja de varis components, i aquesta especificitat ve donada tant per la qualitat com per la quantitat de cada component feromonal. A més a més, alguns components particulars de la feromona poden inhibir el comportament d'orientació d'altres espècies simpàtriques i poden donar lloc a una forta especificitat.

D'aquesta manera, els sistemes feromonals multicomponents sembla ser que es donen des del punt de vista de l'especiació. Si suposem una espècie ancestral amb un únic component feromonal, el desenvolupament de feromones multicomponents pot explicar-se per canvis graduals de la feromona per alteració qualitativa i quantitativa de components addicionals a través de l'especiació (Tamaki, 1988).

2.1.1.- LA FEROMONA DE S. *nonagrioides*. PRECEDENTS

La feromona sexual produïda per femelles verges de *S. nonagrioides* va ser descrita per primera vegada per Sreng *et al*. (1985) en França com una barreja de l'acetat de (*Z*)-11-hexacedenil (Z11-16:Ac) i (*Z*)-11-hexadecen-1-ol (Z11-16:OH) en una proporció 90:10. Rotundo *et al.* (1985) van identificar els mateixos components actius com els components de la feromona sexual, en poblacions d'Itàlia. Els mateixos autors afirmen que altres compostos, com l'acetat d'hexadecil (16:Ac) són també presents en els extractes de la glándula de l'insecte, però no tenen activitat feromonal. Mazomenos (1989), treballant amb poblacions de Grècia, va identificar dos components minoritaris addicionals de la feromona, el (*Z*)-11-hexadecenal (Z11-16:Ald) i l'acetat de dodecil (12:Ac), descrivint la feromona sexual de *S. nonagrioides* com una barreja de Z11-16:Ac, Z11-16:OH, Z11-16:Ald i 12:Ac en una relació 69:8:8:15, respectivament.

Aquestes barreges de components feromonals han estat utilitzades per efectuar el seguiment de les poblacions de l'espècie. El problema que s'ha presentat en molts dels casos és la poca especificitat de les barreges. Així resulta corrent capturar en les trampes de feromona altres espècies de noctúids que comparteixen amb *S. nonagrioides* el component majoritari de la feromona sexual (Z11-16:Ac). D'aquesta manera, en experiments preliminars efectuats a la zona de Lleida s'ha vist que la composició de dos components descrita per Sreng *et al*. (1985) i per Rotundo *et al.* (1985) captura un nombre significatiu de mascles de *Mythimna unipuncta*, *Discestra trifolii* i *Mamestra oleracea* (Riba *et al.*, 1992). Segons Mazomenos (1989), la incorporació dels dos components addicionals (Z11-16:Ald i 12:Ac) redueix dràsticament la captura de mascles de *M. unipuncta*. En els experiments realitzats a la zona de Lleida s'ha vist que malgrat que aquesta formulació redueix les captures de *D. trifolii* i *M. oleracea*, les captures de *M. unipuncta* no són inhibides i es continua capturant un nombre significatiu de mascles de *D. trifolii* (Riba *et al.*, 1992).

En aquest capítol s'estudia la composició de la feromona sexual de poblacions *de S. nonagrioides* procedents de Lleida. En primer lloc s'investiga la composició de la feromona sexual en les glàndules de les femelles. Seguidament es realitzen una sèrie d'assajos de resposta de mascles en EAG per tal d'optimitzar la barreja atraient. En experiments de túnel de vent s'avaluen diferents barreges feromonals i el paper de cada un dels components feromonals en la resposta dels mascles. I finalment s'analitza l'especificitat de les barreges atraients mitjançant proves de captures en camp en trampes de feromona.

2.2.- MATERIAL I MÈTODES

2.2.1.- EXTRACCIÓ DE FEROMONA DE GLÀNDULES DE FEMELLES DE S. *Nonagrioides*

Els insectes procedien d'una cria de laboratori (veure MATERIAL I MÈTODES GENERALS, apartat ii.2.2). En estat de pupa es van sexar, i les femelles es van col•locar en caixes de plàstic de 18 cm Ø x 10 cm d'alçària tapades amb una malla, en grups de 15-20, amb una solució de sucre al 10%. Les caixes es van mantenir sota un fotoperíode invertit 16:8 (llum/foscor) a 25°C.

Extracció de les glàndules. A la 5ª hora de la 2ª escotofase, es va seccionar la part final de l'abdomen corresponent a la localització de la glàndula feromonal. Només es van seccionar glàndules de femelles que estaven en posició de crida. Les glàndules s'immergien en un vial cònic d'1 ml amb 100 μl d'hexà (Fluka, qualitat anàlisi de residus) en grups de 10-15. L'extracte es mantenia a temperatura ambient durant 1 hora, i posteriorment es separava de les parts sòlides. Abans de l'anàlisi les mostres es concentraven a uns 5 μl, amb un corrent de nitrogen.

Anàlisi química. L'anàlisi es va realitzar per CG-EM en un cromatògraf Hewlett-Packard 5890 Series II acoblat a un espectròmetre de masses Hewlett-Packard 5989A. Es va utilitzar una columna capil·lar (HP-1 de 12 m x 0,2 mm d.i., 0,33 μm d'espessor de pel·lícula). Es va programar de 60°C (1 min) fins a 250°C a 5°C/min. Es van injectar 2 μl de cada mostra amb injecció splitless (0,75 min). L'espectrometria de masses utilitzava la tècnica d'ionització per impacte electrònic (I.E.; 70 eV). Les identificacions dels components de l'extracte es van realitzar per comparació dels seus temps de retenció i dels espectres amb els de compostos de referència sintètics.

2.2.2.- ESTUDI DE LA FEROMONA SEXUAL DE S. *nonagrioides*: PROVES EN EAG

a) OPTIMITZACIÓ DE LA BARREJA FEROMONAL

L'objectiu d'aquest estudi era optimitzar la composició de la feromona sexual de *S. nonagrioides* a partir dels 4 components descrits per Mazomenos (1989) mitjançant proves d'EAG. La descripció de l'aparell d'electroantenografia utilitzat es troba en MATERIAL I MÈTODES GENERALS, apartat ii.3 i els insectes també procedien de la cria de laboratori (apartat ii.2.2).

Primer es van estudiar les respostes EAG dels 4 components individualment. Aquestes proves es van realitzar amb 8 mascles diferents. Seguidament es va procedir a l'optimització dels components minoritaris de forma seqüencial.

Així, es va començar estudiant la proporció de Z11-16:OH amb el component majoritari (Z11-16:Ac). Les proporcions estudiades van ser 0, 5, 10, 15, 20 i 25%. Una vegada trobada la proporció òptima del Z11-16:OH, mantenint aquesta relació, es van estudiar diferents proporcions de Z11-16:Ald (0, 5, 10, 15, 20 i 25%). Finalment, amb la relació òptima dels 3 primers components, es van estudiar diferents proporcions del 12:Ac (0, 5, 10, 15, 20 i 25%).

En tots els casos la quantitat total dels components utilitzats en la barreja insuflada era de 10 μg.

Dins de cada una de les seqüències d'optimització, totes les diferents proporcions eren insuflades de forma aleatòria sobre cada una de les antenes provades, mentre aquestes no perdessin una bona activitat (1-4 vegades). Per a cada seqüència es van provar 5-10 mascles.

Les dades obtingudes es van analitzar estadísticament amb una anàlisi de variància agafant com a font de variació la barreja i el mascle, i posterior separació de mitjanes pel mètode de la mínima diferència significativa (MDS). També es va efectuar l'anàlisi de tendències amb coeficients ortogonals polinòmics, calculant el màxim grau polinòmic amb millora significativa de l'ajust respecte al grau inferior ($p<0,05$).

Aquest estudi també es va realitzar amb mascles de *S. nonagrioides* procedents de Galícia. Aquests procedien directament de larves recollides en camp. La metodologia emprada va ser la mateixa, si bé, en cada seqüència només es van provar les proporcions 0, 5, 10, 15 i 20%.

b) ESTUDI DE LA CORBA DOSI-RESPOSTA AMB DUES FORMULACIONS

La formulació dels quatre components que es va trobar com la més activa en la resposta EAG de mascles de *S. nonagrioides* es va comparar amb la formulació prèviament descrita per Mazomenos (1989), mitjançant un estudi de dosi-resposta en EAG.

Les dosis emprades estaven entre l'interval de 0,001-200 μg per a ambdues barreges. El patró utilitzat per obtenir la resposta relativa (resposta problema/resposta patró) va ser el Z11-16:Ac (10 μg), que s'anava insuflant de manera alternada cada dues dosis i/o barreges. Cada dosi es va provar sis vegades en cada un dels 6 insectes utilitzats.

Els resultats obtinguts es van ajustar a una funció logística de resposta EAG relativa en funció de les concentracions de feromona dissenyada per Van Giessen *et al.* (1993) per quantificar la resposta electroantenogràfica de l'espècie *Acyrthosiphon pisum* Harris (Homoptera: Aphididae) a diferents alcohols i aldehids.

La funció logística utilitzada per descriure la relació entre el logaritme de la dosi de feromona i la resposta EAG relativa és la següent:

$$R(C) = \frac{\alpha}{1 + e^{-b(C-\gamma)}} \qquad (1)$$

En aquesta equació, R (C) és la resposta EAG relativa dels mascles al ln de la dosi (C) de la barreja i, α, β i γ són constants experimentals. De l'equació 1 poden derivar-se cinc paràmetres que descriuen les característiques de la corba. Les representacions visuals d'aquests paràmetres es poden veure en la Figura 2-1.

Figura 2-1

Un dels paràmetres és α, que representa la resposta EAG relativa màxima (R_s) (saturació), calculant-se com:

$$R_s = \lim_{C\to\infty} R(C) = \alpha \qquad (2)$$

L'equació 1 pot rescriure's expressant C com funció de R, de forma que es poden determinar els paràmetres que descriuen les característiques relacionats al ln de les dosis:

$$C(R) = \gamma - \frac{1}{\beta} \ln [\alpha/R - 1] \qquad (3)$$

Un segon paràmetre útil, el ln de la dosi que dóna una resposta EAG relativa *(R)* igual a $1/2R_s$ (=1/2a) es deriva d'aquesta equació. Aquest paràmetre, CR_{50} és igual a γ.

L'interval del ln de la dosi en el que la resposta EAG relativa d'una barreja determinada s'incrementa des de quasi zero fins quasi R_s en proporció aproximadament lineal s'anomena interval d'estímul-resposta (SR_P). Aquest tercer paràmetre es calcula a través de:

$$SR_p = \frac{2}{\beta} \ln [1 + P/1 - P] \qquad (4)$$

on P és la fracció sobre la que la resposta EAG relativa oscil·la entre $1/2(1-P)R_s$ i $1/2(1+P)R_s$, simètricament al voltant de $R = 1/2R_s$. P es va agafar arbitràriament com 0,9, resultant:

$$SR_{0,g} = \frac{2}{\beta} \ln (19) \qquad (5)$$

Un quart paràmetre important és el llindar del ln de la dosi, o ln de la dosi que proporciona una resposta EAG mínima. En el nostre cas s'ha definit arbitràriament com el ln de la dosi que proporciona una resposta EAG relativa de 0,1 (R = 0,1). Aquest paràmetre ($CR_{0,1}$), es calcula a partir de l'equació 3:

$$CR_{0,1} = \gamma - \frac{1}{\beta} \ln (10\alpha - 1) \qquad (6)$$

β

Finalment, el cinquè i últim paràmetre considerat és l'àrea sota la corba ajustada entre el ln de la dosi de menys infinit i el ln de la dosi de 10. Aquesta àrea està definida per l'integral de l'equació 1:

$$A_R = \int_{\rightarrow\infty}^{10} R(C)\, dC = \frac{\alpha}{\beta} \ln\left(1 + e^{\beta(10-\gamma)}\right) \qquad (7)$$

A_R marca l'àrea de la resposta EAG i combina els efectes additius de α,β i γ.

2.2.3.- PROVES DE TÚNEL DE VENT

El primer objectiu d'aquestes proves era determinar la dosi idònia de producte en l'esquer. En aquesta prova es va utilitzar la proporció dels components feromonals descrita per Mazomenos (1989), 69:8:8:15 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac). Les dosis provades van ser 0,1, 1, 10, 50 i 100 μg. Com a font de feromona es va emprar una silueta de femella construïda amb cartolina de color marró.

Un segon objectiu dels assajos de túnel de vent va ser la comparació d'activitat de la barreja feromonal descrita per Mazomenos (1989), 69:8:8:15 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac) amb la barreja que va donar més activitat en els estudis d'EAG: 77:8:10:5 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac). Com a font de feromona també es va emprar una silueta de femella construïda amb cartolina de color marró, i es va utilitzar la dosi d'1 μg en la font.

Un altre dels objectius era determinar la influència de cada un dels components de la feromona sexual en l'atracció dels mascles. Per això, es van comparar amb la barreja quaternària (feromona completa), barreges ternàries, binàries i els components individuals. Sempre es va utilitzar una silueta de femella de cartolina com a font, i la relació dels components utilitzats era 77:8:10:5 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac). La dosi total de cada barreja era d'1 μg, que va ser la dosi òptima trobada.

El quart dels objectius era determinar si la visió podia tenir alguna influència en la conclusió de tota la seqüència d'aparellament mitjançant la comparació d'una silueta de cartolina marró amb un cotó com a font de feromona. Aquesta prova es va realitzar amb la barreja 77:8:10:5 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac) i utilitzant 1 μg com a dosi d'atraient en la font.

Les característiques del túnel de vent emprat, així com la metodologia general de les proves estan descrits en el capítol de MATERIAL I MÈTODES GENERALS (apartat ii.4). Els insectes també procedien de la cria de laboratori (apartat ii.2.2)

En cada una de les proves es van utilitzar un mínim de 20 insectes per a cada tractament. Els resultats es van analitzar estadísticament mitjançant una prova d'independència amb una taula de contingència 2 x 2 χ^2 amb $p<0,05$ utilitzant el nombre real d'insectes i estan presentats com a percentatges de resposta.

2.2.4.- PROVES DE CAMP

La relació de components de la feromona sexual de *S. nonagrioides* 77:8:10:5 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac) que s'havia trobat com la més activa en els estudis d'EAG i de túnel de vent, també es va provar en camp. L'objectiu d'aquestes proves era determinar l'eficàcia relativa d'aquesta proporció en la captura de mascles de *S. nonagrioides* amb la descrita per Mazomenos (1989)(69:8:8:15), amb la barreja de dos components (Z11-16:Ac i Z11-16:OH) descrita per Sreng *et al*. (1985) i per Rotundo *et al*. (1985)(90:10:0:0), i amb el component principal sol (Z11-16:Ac)(100:0:0:0).

L'experiment es va realitzar en un camp de blat de moro de la localitat d'Almacelles (Lleida) durant el període comprès entre el 27 de juliol i el 27 de setembre de 1994. Es van utilitzar trampes embut (Agrisense Ltd.) esquerades amb un vial de politilè que contenia un total de 200 µg de barreja. Les trampes es van disposar en les voreres del camp penjades en un suport de fusta en un disseny lineal de blocs a l'atzar amb tres repeticions per formulació. Dins del bloc, les trampes estaven separades per una distancia d'uns 30m. Setmanalment es realitzava el recompte de mascles capturats i s'efectuava una rotació de les trampes una posició dins del bloc.

També es van seguir les captures d'altres espècies de noctúids a efectes d'avaluar l'especificitat de les formulacions en la captura de mascles de *S. nonagrioides*.

Les captures per trampa es van sumar i es van transformar a $(x+0,5)^{1/2}$ per realitzar l'anàlisi de variància amb separació de mitjanes mitjançant la prova de l'interval múltiple de Duncan ($p<0,05$). En els resultats es

presenten les mitjanes no transformades.

BIBLIOTECA VIRTUAL
MIGUEL DE CERVANTES

2.3.- RESULTATS I DISCUSSIÓ

2.3.1.- ANÀLISIS DE LES GLÀNDULES DE S. *nonagrioides*

En els extractes realitzats en aquest treball i analitzats per cromatografia de gasos acoblada a espectrometria de masses (CG-EM), s'han pogut identificar els mateixos components actius que els descrits per Sreng *et al.* (1985) i per Rotundo *et al.* (1985). També s'ha identificat en els extractes realitzats el 16:Ac.

En la Figura 2-2 s'hi mostra un cromatograma corresponent a l'anàlisi d'un dels extractes de glàndules feromonals de femelles. S'han identificat en els extractes el component principal de la feromona (Z11-16:Ac)(A), el Z11-16:OH (B) i el 16:Ac (C). Els temps de retenció i els espectres de masses dels tres productes coincideixen perfectament amb els de compostos de referència sintètics. Els espectres de masses d'aquests tres pics de l'extracte identificats són els següents:

Z11-16:Ac: [m/z (intensitat relativa)] 222 (M-60, 14), 194 (2), 166 (4), 152 (3), 138 (8), 124 (14), 110 (20), 96 (52), 82 (68), 67 (56), 55 (97), 43 (100).

Z11-16:OH: [m/z (intensitat relativa)] 222 (M-18, 5), 166 (2), 152 (2), 138 (5), 124 (9), 110 (16), 96 (53), 82 (78), 67 (53), 55 (100), 41 (58).

16:Ac: [m/z (intensitat relativa)] 224 (M-60, 4), 196 (3), 139 (4), 125 (9), 111 (18), 97 (33), 83 (37), 69 (38), 61 (37), 55 (54), 43 (100).

Figura 2-2

També s'han arribat a identificar en els extractes diversos hidrocarburs, així com alguns àcids grassos, però no s'han arribat a detectar ni el Z11-16:Ald ni el 12:Ac, components descrits per Mazomenos (1989). Segons aquest autor la proporció dels components en la feromona és 69:8:8:15 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac). El Z11-16:Ald forma part de la feromona en un 12% respecte al component principal. Ara bé, pot ser que aquest producte s'arribi a degradar durant el procés d'extracció i anàlisi, a conseqüència de la reduïda estabilitat química dels aldehids, i per tant, no s'arriba a detectar.

En canvi, el 12:Ac forma part de la feromona descrita per Mazomenos (1989) en una proporció doble (15%) que la del Z11-16:Ald (8%), i per tant sembla difícil no arribar a detectar aquesta quantitat. La possible degradació del producte durant la manipulació és molt menys factible. D'aquesta manera, s'ha pensat que el 12:Ac no forma part de la feromona sexual en les poblacions del noctúid d'aquesta zona, o bé, la seva proporció és molt més petita.

En vista dels resultats obtinguts en l'anàlisi dels extractes de glàndules de femelles verges, s'ha decidit investigar l'efecte dels components minoritaris en la resposta dels mascles a la feromona. Primerament s'ha estudiat la resposta de mascles en EAG, seguidament s'han realitzat proves en túnel de vent, i finalment s'han dut a terme assajos de captures en camp.

2.3.2.- PROVES D'EAG EN S. *nonagrioides*

a) OPTIMITZACIÓ DE LA BARREJA FEROMONAL

En l'optimització de la barreja dels quatre components de la feromona sexual de *S. nonagrioides* mitjançant la utilització de l'EAG, prèviament es va estudiar l'activitat de cadascun dels components sobre les antenes de mascles per separat. Com era de preveure el Z11-16:Ac va ser el que va donar una resposta més elevada (Figura 2-3). Dels components minoritaris, el Z11-16:Ald va estar el que va presentar més activitat sobre els mascles (72% de resposta respecte al Z11-16:Ac). El Z11-16:OH i el 12:Ac van donar una resposta més reduïda (57% i 44%, respectivament).

Figura 2-3

Per optimitzar la barreja feromonal de *S. nonagrioides* mitjançant el seu estudi en EAG es va començar estudiant barreges del component principal (Z11-16:Ac) amb el Z11-16:OH. En la Figura 2-4 es veu que un 10% de Z11-16:OH és la proporció que dóna una resposta més alta sobre les antenes dels mascles, si bé no hi ha diferències significatives en tot l'interval de 5-25%. On si que es veuen diferències és amb el Z11-16:Ac sol. Ara bé, l'anàlisi de tendències amb coeficients ortogonals polinòmics dóna un ajust significatiu a una corba quadràtica (F=10,74, g.l.=1, p=0,002), encara que l'ajust millora moderadament amb el polinomi de 3er grau (F=2,13, g.l.=1, p=0,150). D'aquesta manera, com la corba de respostes tenia el màxim en el 10%, es va utilitzar aquesta proporció per al següent pas. Sreng *et al.* (1985) ja havien descrit la feromona d'aquest insecte com un 90% de Z11-16:Ac i un 10% de Z11-16:OH. També en la barreja descrita per Mazomenos (1989) aquests dos components mantenen la relació 90:10.

Figura 2-4

El següent pas per a l'optimització de la barreja feromonal va ser l'addició del tercer component (Z11-16:Ald) en diferents proporcions. La relació de Z11-16:Ac i de Z11-16:OH es va mantenir en 90:10, que va ser la barreja que va donar la resposta òptima en el pas anterior. En la Figura 2-5 es veu que un 10% de Z11-16:Ald és el que dóna una resposta més alta, si bé, i com en el cas anterior tampoc hi han diferències significatives en tot l'interval 5-25%, i si diferències respecte a l'absència d'aquest component. De totes maneres, l'anàlisi de tendències amb coeficients ortogonals polinòmics també s'ajusta a una corba quadràtica significativament (F=10,98, g.l.=1, p=0,002), i la corba cúbica també millora l'ajust (F=3,75, g.l.=1, p=0,057). Així, es va utilitzar la proporció del 10% per al següent pas. Aquesta relació d'aquests 3 components trobada com a òptima és pràcticament la mateixa que la descrita per Mazomenos (1989).

Figura 2-5

Finalment, a la relació òptima dels 3 components s'hi va afegir diferents proporcions del quart component (12:Ac). En aquest cas, com es veu en la Figura 2-6, el 5% de 12:Ac és el que dóna la resposta més alta, si bé no hi han diferències significatives amb el 10%, però sí amb totes les altres proporcions. L'anàlisi de tendències amb coeficients ortogonals polinòmics s'ajusta significativament a una corba quàrtica (F=5,92, g.l.=1, p=0,012). Per tant, la relació dels 4 components que ha donat una resposta més alta en aquests estudis en EAG és 77:8:10:5 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac). Aquesta barreja es diferencia de la descrita per Mazomenos (1989) bàsicament en la relació del quart component (12:Ac), que segons aquest autor representa el 15%, en front del 5% trobat en aquestes proves en EAG. Els altres 3 components, pràcticament mantenen la mateixa relació.

Figura 2-6

Aquests estudis en EAG de la barreja feromonal òptima, es van repetir amb mascles procedents d'una altra zona geogràfica, en concret, de Galícia. La metodologia emprada va ser la mateixa, si bé, i com ja es tenien els resultats de les proves anteriors, tan sols es van provar en cada una de les seqüències les concentracions 0, 5, 10, 15 i 20%. Els resultats obtinguts van ser pràcticament els mateixos.

Figura 2-7

Quan es va provar diferents proporcions de Z11-16:Ac i Z11-16:OH (Figura 2-7), el 10% de Z11-16:OH va ser la proporció que va donar la resposta EAG més elevada i significativament diferent de totes les altres. L'anàlisi de tendències es va ajustar quadràticament (F=70,51, g.l.=1, p=0,0001).

En l'optimització de la proporció del Z11-16:Ald (Figura 2-8), la resposta EAG màxima es va assolir també amb un 10% de Z11-16:Ald (ajust cúbic: F=4,66, g.l.=1, p=0,034).

Figura 2-8

Figura 2-9

Pel que fa als dos components anteriors (Z11-16:OH i Z11-16:Ald) els mascles de *S. nonagrioides* procedents de Galícia es van comportar de la mateixa manera que els mascles de Lleida. En canvi, en l'optimització de la proporció del 12:Ac en la barreja, la resposta EAG va experimentar un comportament bimodal (Figura 2-9). El màxim de resposta es va assolir també amb un 5% de 12:Ac (com els de Lleida), però es va produir un altre màxim amb el 15% de 12:Ac. Quan es va realitzar l'anàlisi de tendències amb coeficients ortogonals polinòmics es va obtenir un ajust significatiu a una corba quàrtica (F=22,42, g.l.=1, p=0,0001). De totes maneres, el màxim del 15% representa una resposta inferior al 0% de 12:Ac, però no deixa de ser sorprenent la reduïda resposta obtinguda amb el 10% d'aquest component.

b) ESTUDI DE LA CORBA DOSI-RESPOSTA EAG

La proporció dels quatre components de la feromona sexual que va donar una resposta EAG màxima en l'apartat anterior (77:8:10:5)(Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac) es va comparar amb la proporció descrita prèviament per Mazomenos (1989)(69:8:8:15), mitjançant un estudi de les corbes dosi-resposta EAG. Per ajustar una corba a les dades (resposta EAG relativa) es va utilitzar l'equació logística dissenyada per Van Giessen *et al.* (1993). En la Figura 2-10 es poden veure les corbes ajustades per a les dues formulacions dels components de la feromona sexual de *S. nonagrioides.* En la Taula 2-1 es mostren els valors dels diferents paràmetres i la funció obtinguts de l'ajust a la funció logística, segons la resposta EAG relativa obtinguda a diferents dosis de les dues barreges feromonals provades.

Figura 2-10

	BARREJA	
	69:8:8:15	77:8:10:5
α β γ $SR^{0,9}$ $CR^{0,1}$ *AR*	1,52 0,40 0,58 14,72 -6,05 14,41	1,76 0,37 0,76 15,92 -6,83 16,42
Funció	$R(C) = \frac{1,52}{1 + e^{-0,40(C-0,58)}}$ R2=0, 9938	$R(C) = \frac{1,76}{1 + e^{-0,37(c-0,76)}}$ R2=0,9938

Taula 2-1.- Paràmetes obtinguts en l'ajust de les respostes EAG relatives mitjanes de 6 mascles de *Sesamia nonagrioiaes* al ln de la dosi per a les dues barreges dels components de la feromona sexual segons el model proposat per Van Giessen *et al.* (1993).

Comparant els paràmetres obtinguts en l'ajust de les respostes EAG obtingudes per a les dues barreges feromonals s'observa que la barreja 77:8:10:5 presenta un valor de saturació o resposta relativa màxima (*R*s o α) més alt que la barreja 69:8:8:15 (1,76 i 1,52, respectivament). Aquesta resposta de saturació (o màxima) és una mesura de la selectivitat dels receptors olfactoris a un determinat estímul (Van Giessen *et al.*, 1993). Per tant, podem dir que la barreja 77:8:10:5 és més selectiva per als receptors de l'antena dels mascles de *S. nonagrioides*, que la barreja 69:8:8:15. La saturació de la resposta es produeix per a ambdues barreges quan es treballa a dosis superiors a 100 μg. En tot l'interval de dosis provades (entre 0,001 i 200 μg) la resposta relativa obtinguda per a una mateixa dosi ha estat sempre més elevada per a la barreja 77:8:10:5, pel que la seva funció logística presenta un major pendent (Figura 2-10).

El segon paràmetre considerat és la dosi que dóna la meitat de la resposta EAG màxima (*CR*50 o γ). Aquest assoleix un valor de 0,58 per a la barreja 69:8:8:15 i de 0,76 per a la barreja 77:8:10:5. Aquest paràmetre representa una mesura de la sensibilitat del receptor (Van Giessen *et al.*, 1993).

El tercer paràmetre és l'interval de dosis en el que la resposta EAG s'incrementa des de quasi zero fins a quasi la resposta màxima (*SRP*), i en ell pot considerar-se que la resposta és aproximadament lineal a les dosis d'estímul aplicades (ln *C*). Agafant el valor de *P* =0,9, o sigui, l'interval des del 5% fins al 95% de la resposta màxima (*R* s), el paràmetre *SR* 0,9 té un valor de 14,72 per a la barreja 69:8:8:15 i de 15,92 per a la barreja 77:8:10:5. Un interval estímul-resposta (*SRP*) més ample facilita a l'insecte a percebre tan canvis grans com subtils de la concentració de la barreja a l'aire des de la seva font i ajuda a l'orientació de l'insecte cap a la font d'olor en anar atansant-se a ella (Seabrook, 1978).

El quart paràmetre és la dosi que proporciona una resposta mínima (*CR* 0,1). En el nostre cas s'ha agafat arbitràriament un valor de resposta de 0,1. El paràmetre pren una valor de -6,05 per a la barreja 69:8:8:15 i de -6,83 per a la barreja 77:8:10:5. Aquest paràmetre també mesura la sensibilitat del receptor (Van Giessen *et al.*, 1993). Un *CR* 0,1 més baix significa que l'estímul pot ser detectat a dosis més baixes. Per tant, això també indicaria que els receptors de les antenes són més sensibles a la barreja 77:8:10:5.

Finalment, l'últim paràmetre a considerar és l'àrea de la corba de resposta EAG (*AR*). Aquest paràmetre és més elevat per a la barreja 77:8:10:5 (*AR* = 16,42) que per a la barreja 69:8:8:15 (*AR* = 14,41). El valor d'aquest paràmetre permet combinar l'efecte dels tres coeficients, α, β i γ, i per tant, actua com una mesura tant de sensibilitat com de selectivitat (Van Giessen *et al.*, 1993). Així, *AR* pot ser el millor indicador de la resposta total de les antenes als estímuls volàtils.

Considerant tots els paràmetres, pot treure's la conclusió de que la barreja 77:8:10:5 presenta un major grau de selectivitat i de sensibilitat sobre els receptors de les antenes dels mascles de *S. nonagrioides* que la barreja 69:8:8:15.

2.3.3.- PROVES EN TÚNEL DE VENT

Respecte a les seqüències de comportament enregistrades en els assajos de túnel de vent (sense resposta, activació o moviment ràpid d'antenes, inici del vol, vol fins la meitat del túnel, vol d'orientació cap a la font i contacte amb la font) per als resultats es va decidir incloure exclusivament l'activació o moviment ràpid d'antenes, el vol d'orientació cap a la font i el contacte amb la font. El nombre d'insectes que iniciaven el vol,

pràcticament coincidia amb els que exhibien un moviment ràpid d'antenes previ, i per tant, aquests dos resultats representaven quasi una repetició. El vol fins a la meitat del túnel era una dada molt poc significativa, i en general, intermèdia entre el moviment d'antenes i el vol d'orientació; per tant, tampoc es reflexa en els resultats.

En la Figura 2-11 es veu la resposta dels mascles de *S. nonagrioides* en els assajos de túnel de vent a diferents dosis de feromona. Com es pot veure, la dosi d'1 μg dóna una resposta significativament superior. Quan la dosi era més alta, els insectes seguien un vol molt irregular, potser degut a un excés de feromona en el corrent d'aire, el que podia provocar un efecte de confusió en els mascles. A la dosi més petita (0,1 μg) els insectes mostraven una resposta molt baixa a l'estímul. D'aquesta manera es va decidir emprar per a la resta de proves la dosi d'1 μg, que va ser la dosi que mostrava una resposta màxima.

Figura 2-11

Una altra cosa que es volia estudiar en el túnel de vent era si la barreja 77:8:10:5, que havia estat la barreja òptima trobada en les estudis d'EAG, donava una resposta de comportament superior a la barreja 69:8:8:15, que és la barreja feromonal que havia estat descrita per Mazomenos (1989). En la Figura 2-12 es veu que la barreja 77:8:10:5 va donar una resposta superior, si bé no significativament, a la barreja 69:8:8:15.

Figura 2-12

El tercer dels objectius dels estudis en túnel de vent, era estudiar l'efecte de cadascun dels components minoritaris de la barreja feromonal en el comportament dels mascles. Aquests resultats apareixen en les Figures 2-13, 2-14 i 2-15. Amb la barreja dels 4 components hi ha un 84% de mascles que fan contacte amb la font. Quan en la barreja hi manca qualsevol dels components minoritaris la resposta dels mascles disminueix dràsticament, sobre tot en les darreres seqüències (vol d'orientació i contacte amb la font).

En la Figura 2-13 es pot veure que els components individuals de la feromona i la barreja ternària dels 3 minoritaris tenen molt poca activitat. Tan sols provoquen en un 50-60% d'insectes la primera seqüència de comportament (moviment d'antenes). El component majoritari **1** (Z11-16:Ac) és l'únic que arriba a provocar en un 3% d'insectes les darreres seqüències (vol d'orientació i contacte amb la font).

Figura 2-13

Pel que fa a les barreges binàries del component principal **1** (Z11-16:Ac) amb els 3 minoritaris, en la Figura 2-14 es veu que s'incrementa notablement la primera seqüència (moviment d'antenes) fins a un 80-90% d'insectes, i fins i tot, alguns mascles arriben a orientar-se (23% amb barreges **1**:**2** i **1**:**3** i 5% amb barreja **1**:**4**). Respecte a la conclusió de la seqüència, tan sols la barreja amb el component **2** (Z11-16:OH) exhibeix una certa activitat (17% de contactes amb la font), mentre que amb barreges amb els altres dos components **3** i **4** (Z11-16:Ald i 12:Ac) no hi ha cap mascle que arriba a fer contacte amb la font.

Figura 2-14

Per últim, en les barreges ternàries (Figura 2-15) es veu que les dues barreges amb el component minoritari **2** (Z11-16:OH) tenen una activitat superior a la tercera en les darreres seqüències de comportament (vol d'orientació i contacte amb la font). Malgrat tot, cap de les barreges ternàries assoleix l'activitat de la barreja completa en cap de les seqüències. Aquesta última provoca un 100% de resposta dels mascles en les seqüències de moviment d'antenes i vol d'orientació, i un 84% en el contacte amb la font. La manca de qualsevol dels components minoritaris redueix significativament l'activitat en cada un dels passos. Així, la manca del 12:Ac (barreja **1**:**2**:**3**:-) redueix el moviment d'antenes, vol d'orientació i contacte amb la font a un 86%, 43% i 29%, respectivament. Quan en la barreja és el Z11-16:Ald el que hi manca (barreja **1**:**2**:-:**4**) el mateix comportament disminueix fins a un 68%, 29% i 15%, respectivament. I finalment, quan és el Z11-16:OH l'absent (barreja **1**:-:**3**:**4**), la resposta de comportament dels mascles queda restringida a un 75%, 13% i 3%, respectivament.

Figura 2-15

Per finalitzar amb els estudis en túnel de vent es va voler determinar si la visió influïa en la resposta dels mascles. Això es va realitzar comparant una silueta de femella construïda amb cartolina marró amb un cotó com a font de feromona. Com es veu en la Figura 2-16 la silueta incrementa significativament el nombre de mascles que fan contacte amb la font. Per tant, sembla ser que la visió pot tenir influència en les darreres seqüències de l'acoblament.

Figura 2-16

Segons Roelofs i Cardé (1977), en les feromones sexuals multicomponents es distingeixen els components primaris i els secundaris. Els components primaris serien els que provoquen una resposta a llarga distància (>1 m) i són obligatoris per capturar insectes en camp. En algunes espècies poden provocar la seqüència de comportament completa fins la copulació. Els components secundaris no serien essencials per provocar anemotaxi, però en combinació amb els primaris, evoquen altres aspectes de la seqüència d'aparellament: en general, respostes a curta distància. Aquestes respostes es donen després de l'efecte inicial dels components primaris.

En el cas de *S. nonagrioides*, no es veu clara aquesta diferència entre components primaris i secundaris, sinó que sembla, segons els resultats, que la barreja dels quatre components actua sinèrgicament per promoure

en els mascles una resposta positiva tant a llarga com a curta distància. Per tant, més que un component sigui responsable de l'execució d'un únic comportament, la seva inclusió en la barreja és requerida per maximitzar la seqüència completa d'aparellament. Aquest aspecte ja ha estat discutit àmpliament per Tumlinson i Teal (1987), Linn *et al*. (1987) i Linn i Roelofs (1989).

El procés de *S. nonagrioides* és similar al d'altres espècies amb feromones multicomponents, en les que els components minoritaris incrementen la resposta dels mascles tant a llarga com a curta distància. Aquest és el cas dels noctúids *Trichoplusia ni* (Linn i Gaston, 1981; Linn *et al*., 1984; Dunkelblum i Mazor, 1993), *Heliothis virescens* (Teel *et al*., 1986) i *Chrysodeixis chalcites* (Dunkelblum i Mazor, 1993), els tortrícids *Cydia molesta* (Baker i Cardé, 1979; Baker *et al*., 1981; Linn i Roelofs, 1983), *Argyrotaenia velutinana* (Linn i Roelofs, 1989), *Choristoneura occidentalis* (Sweeney *et al*., 1990) i *Cacoecimorpha pronubana* (Witzgall, 1990), o el piràlid *Chrysoteuchia topiaria* (Kamm *et al*., 1989).

En canvi, hi han d'altres espècies en les que el component majoritari és suficient per provocar la resposta de comportament d'aparellament a llarga distància, actuant els components minoritaris solament en les darreres seqüències de l'aparellament. Aquest és el cas del noctúid *Cornutiplusia circumflexa* (Dunkelblum i Mazor, 1993), o dels piràlids *Apomyelois ceratoniae* (Baker *et al*., 1991) i *Cadra cautella* (Quartey i Coaker, 1993).

Finalment, hi han algunes espècies en les que, fins i tot, el component principal sol és capaç de provocar tota la seqüència d'aparellament, tenint els components minoritaris una funció molt restringida sobre la resposta dels mascles de la mateixa espècie. Aquest seria el cas dels noctúids *Autographa gamma* (Dunkelblum i Mazor, 1993) i *Spodoptera littoralis* (Quero i Guerrero, 1993).

2.3.4.- PROVES DE CAMP

Com s'observa en la Figura 2-17, la barreja 77:8:10:5 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac) ha resultat ser la més efectiva en la captura de mascles de *S. nonagrioides*: 12,3 mascles/setmana/trampa respecte als 7,5 mascles/setmana/trampa de la barreja 69:8:8:15 de Mazomenos (1989). La barreja de dos components (90:10:0:0) i el component principal sol (100:0:0:0) han resultat ser molt menys efectius en la captura de mascles (3,9 i 2,9 mascles/setmana/trampa, respectivament).

Aquest resultat és totalment congruent amb els resultats obtinguts amb els estudis d'EAG i de túnel de vent, en els que la barreja 77:8:10:5 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac), també s'havia mostrat com la més activa.

Figura 2-17

En molts lepidòpters, i en particular en espècies properes s'ha trobat un solapament dels components de la feromona sexual de la femella (Cardé i Baker, 1984). Moltes de les espècies de la família Noctuidae es caracteritzen per tenir el Z11-16:Ac com a component principal (Arn *et al*., 1986). D'aquesta manera, no és estrany capturar en trampes de feromona d'una espècie individus d'altres espècies, que comparteixen components feromonals. Les captures d'espècies no desitjades pot incrementar el temps de recompte i complicar la identificació de la plaga (Adams *et al*., 1989). Les espècies no desitjades, en nombre elevat, també poden degradar la qualitat dels individus capturats, i possiblement disminuir les captures de l'espècie a seguir (Weber i Ferro, 1991). Per aquesta raó, és interessant optimitzar els components de les feromones sexuals, tant des del punt de vista qualitatiu com quantitatiu, a efectes d'assolir un grau òptim d'especificitat.

En les trampes de feromona de *S. nonagrioides* és habitual capturar altres espècies de noctúids que contenen en la seva feromona sexual el mateix component principal (Z11-16:Ac), el que dificulta moltes vegades el recompte dels mascles capturats. Així, en aquest estudi també s'han seguit les captures d'altres espècies, per tal d'avaluar les diferències d'especificitat de les diferents barreges.

Una d'aquestes espècies és *M. unipuncta*, la feromona de la qual té com a component principal el Z11-16:Ac (Hill i Roelofs, 1980). McDonough *et al*. (1980) van trobar en extractes de femelles Z11-16:Ac, Z11-16:OH, 16:Ac i Z9-16:Ac en relació 100:13:15:2, respectivament, però els components minoritaris, en camp, no incrementaven les captures de mascles a Oregon (EUA). Posteriorment, Steck *et al*. (1982), en assajos de camp a Canadà, van trobar que l'atraient sexual més efectiu estava format per Z11-16:Ac, Z11-16:OH, Z11-16:Ald i Z9-14:Ac en una relació 10000:20:5:1. En les nostres proves, com pot observar-se en la Figura 2-18, la barreja 77:8:10:5 ha estat menys específica que la barreja 69:8:8:15 (4,9 mascles/setmana/trampa contra 1,8 mascles/setmana/trampa, respectivament). Molt més efectiu en la captura de mascles d'aquesta espècie ha resultat el component principal sol (8,8 mascles/setmana/trampa). La barreja de dos components (90:10:0:0) ha estat la menys activa en la captura de mascles de *M. unipuncta*. Possiblement, els majors percentatges de components minoritaris en les barreges provades actuïn reduint les captures respecte al component principal sol.

Figura 2-18

Una altra espècie freqüentment capturada en les trampes de feromona sexual de *S. nonagrioides*, és *D.*

trifolii, la feromona de la qual va estar descrita per Struble i Swailes (1975) i per Underhill *et al.* (1976) com una barreja de Z11-16:Ac i Z11-16:OH en relació 9:1. En aquestes proves, com s'observa en la Figura 2-19, la barreja 77:8:10:5 ha resultat ser la menys efectiva en la captura de mascles d'aquesta espècie (0,6 mascles/setmana/trampa), el que resulta interessant per caçar selectivament mascles de *S. nonagrioides*. Una altra vegada el component principal sol també ha estat el més efectiu per capturar *D. trifolii* (10,5 mascles/setmana/trampa). Aquest resultat no deixa de ser sorprenent tenint en compte que la barreja 90:10:0:0 és la que conté la relació de components descrita en la literatura i, en canvi, el Z11-16:Ac sol captura un nombre d'insectes molt més elevat. També sembla, segons els resultats, que en aquesta espècie els components Z11-16:Ald i/o 12:Ac tinguin un efecte inhibidor sobre les captures de mascles.

Figura 2-19

La feromona sexual de *M. oleracea* va estar descrita per Descoins *et al.* (1978) i per Kovalev *et al.* (1979) com una barreja de Z11-16:Ac i Z11-16:OH en relació 1:1. En aquestes proves (Figura 2-20), tan sols la barreja de dos components (90:10:0:0) ha resultat efectiva en la captura de mascles d'aquesta espècie (3,7 mascles/setmana/trampa). Les altres tres formulacions han resultat del tot ineficients. D'aquesta manera qualsevol de les barreges de quatre components resulta selectiva, respecte a aquesta espècie per capturar mascles de *S. nonagrioides*. En aquest cas es veu clarament que el Z11-16:OH és totalment necessari per capturar mascles de *M. oleracea*, i que l'addició del Z11-16:Ald i del 12:Ac provoca un extraordinari efecte inhibidor de l'atracció dels mateixos.

Figura 2-20

La darrera espècie que s'ha seguit en aquestes proves és *M. brassicae*, en la que el Z11-16:Ac ha esta descrit com el component principal de la seva feromona sexual (Bestmann *et al.*, 1978; Descoins *et al.*, 1978). En aquest cas (Figura 2-21), tan sols aquest component sol és efectiu en la captura de mascles d'aquesta espècie (2,3 mascles/setmana/trampa). Aquest resultat és totalment congruent amb els de Struble *et al.* (1980), els quals descriuen al Z11-16:OH com un potent inhibidor de l'atracció dels mascles d'aquesta espècie, component present en les altres tres barreges assajades.

Figura 2-21

Resumint, podem dir que la barreja 77:8:10:5 ha resultat tenir una eficiència molt bona en la captura de mascles de *S. nonagrioides*. D'altra banda, aquesta formulació també ha aconseguit una especificitat quasi completa respecte a les espècies *D. trifolii*, *M. oleracea* i *M. brassicae*. No passa el mateix amb *M. unipuncta*, espècie en la que s'incrementen les captures amb aquesta formulació, respecte a la barreja 69:8:8:15. Cal remarcar que aquesta espècie és l'única que comparteix amb *S. nonagrioides* tres dels seus components feromonals (Z11-16:Ac, Z11-16:OH i Z11-16:Ald). A més a més, Albajes *et al.* (1985) i Rotundo *et al.* (1993) assenyalen que trampes esquerades amb femelles verges de *S. nonagrioides* capturen un nombre significatiu de mascles de *M. unipuncta*, el que indica una possible atracció creuada entre les dues espècies.

2.4.- CONCLUSIONS

1.- La barreja dels components de la feromona de *S. nonagrioides* 77:8:10:5 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac) ha estat la més activa sobre les antenes dels mascles de l'espècie en els estudis d'EAG.

2.- Aquesta barreja ha mostrat una activitat més gran que la barreja 69:8:8:15 prèviament descrita per Mazomenos (1989) en els estudis d'EAG, de túnel de vent i en les proves de camp sobre els mascles de *S. nonagrioides*. L'estudi de la corba dosi-resposta EAG demostra que els receptors de les antenes dels mascles mostren més selectivitat i més sensibilitat per la barreja 77:8:10:5 que per la barreja 69:8:8:15.

3.- Segons els estudis en túnel de vent, tots els quatre components de la feromona sexual actuen com a una unitat, de forma que la manca de qualsevol d'ells redueix sensiblement l'activitat de la barreja, tant a llarga com a curta distància.

4.- En la finalització de la seqüència d'acoblament, sembla que hi intervé la visió, segons els resultats de la comparació d'una silueta simulant una femella amb un cotó, com a font de feromona, en les proves de túnel de vent.

5.- La barreja 77:8:10:5 mostra una selectivitat en les captures en trampes més gran respecte a *D. trifolii* que la barreja 69:8:8:15, però no respecte a *M. unipuncta*. Qualsevol d'aquestes dues barreges mostra una selectivitat pràcticament completa respecte a altres noctúids com *M. oleracea* i *M. brassicae*.

Capítol 3. ASSAJOS DE CONFUSIÓ SEXUAL PER AL CONTROL DE *S. nonagrioides*

3.1.- INTRODUCCIÓ

Entre els lepidòpters el sistema principal per a la localització dels dos sexes per realitzar l'aparellament és el vol del mascle atret per la feromona sexual emesa per la femella. Des de fa molts anys, s'ha reconegut el potencial d'utilitzar còpies sintètiques d'aquests missatgers per interferir en l'encontre dels sexes per a l'aparellament (Beroza, 1960). La capacitat d'interferir en l'acoblament mitjançant feromona sexual sintètica ha estat demostrada amb moltes espècies de lepidòpters. De forma pràctica, aquesta interferència ha donat lloc a l'aplicació en control de plagues de la confusió sexual.

Els mecanismes de la confusió sexual poden ser varis (Bartell, 1982; Arn, 1992; Cardé i Minks, 1995):

- Disminució de la resposta a causa d'adaptació sensorial dels receptors perifèrics de l'antena o d'habituació a nivell del sistema central.

- Detenció del vol. En algunes espècies el vol del mascle es pot veure inhibit a concentracions massa elevades de feromona.

- Canvi del ritme de resposta. La presència de feromona de forma continua en l'ambient pot fer que els mascles responguin a la feromona sintètica abans que cridi la femella. Aquesta activitat precoç del mascle pot contribuir a disminuir la resposta quan comencen a cridar les femelles.

- Pertorbació de l'estructura de la ploma natural de feromona.

- Camuflament de la feromona alliberada per la femella. En un ambient carregat de feromona sintètica, la feromona emesa per la femella pot resultar imperceptible.

- Competició entre femelles i fonts de feromona sintètica.

Ara bé, en la majoria dels casos no es coneixen quins d'aquests possibles mecanismes de confusió són els que actuen, a la vegada que resulta summament difícil la seva determinació.

A més a més, la tècnica de confusió sexual per al control d'una plaga té una sèrie de restriccions. Entre aquestes tenim:

- Dinàmica de poblacions de l'espècie.

Per que la confusió sexual tingui èxit és important que la migració de femelles aparellades sigui poc significativa. Aquesta tècnica no protegeix contra la immigració de femelles aparellades des de fora de l'àrea tractada. Uns programes de control de grans àrees o de parcel•les aïllades poden mitigar aquest problema. Un segon aspecte a tenir en compte és la relació entre densitat de població i eficàcia. Com més elevada sigui la població, els individus es trobaran més a prop, i per tant sembla lògic que l'eficàcia del mètode serà menor, en augmentar la probabilitat de que el mascle trobi a la femella.

- Sistema d'acoblament.

En algunes espècies, el mascle atrau a la femella. Per tant, és possible que la simple confusió del mascle no previngui l'acoblament. Les estratègies de crida per part de la femella també poden afectar a l'eficàcia. Per exemple, si la femella crida en la part més elevada del fullatge, pot generar plomes de feromona en una atmosfera lliure de feromona. També influiran en la confusió la quantitat de feromona emesa per la femella i el llindar de resposta per part del mascle, les condicions ambientals com la naturalesa del fullatge i el vent, si l'espècie és activa durant el dia o durant la nit, o l'existència d'altres mecanismes de localització com la visió o el so.

Entre les espècies en les que la confusió sexual com a mètode de control ha tingut més èxit tenim els gelèquids *Pectinophora gossypiella* (Brooks *et al.*, 1979), plaga important del cotó a la major part de les regions del món on es cultiva, i *Keiferia lycopersicella* (Jenkins *et al*., 1990), plaga del tomàquet en zones d'Amèrica del Nord; els tortrícids *Cydia molesta* (Audemard *et al.*, 1989), plaga àmpliament distribuïda en totes les àrees de cultiu de fruiters de pinyol, *Epiphyas postvittana* (Suckling *et al*., 1990), plaga de pomera a Austràlia i Nova-Zelanda, *Polychrosis viteana* (Dennehy *et al.*, 1990), plaga del raïm als Estats Units i Canadà i *Cydia pomonella* (Charmillot i Bloesch, 1987), plaga de diversos fruiters a gran part del món; el sèsid *Synanthedon tipuliformis* (Thomas i Burnip, 1990), important plaga de groseller negre a Nova-Zelanda; el coquílid *Eupoecilia ambiguella* (Charmillot *et* al., 1987) i el tortrícid *Lobesia botrana* (Stockel *et al*., 1992), plagues del raïm a Europa; diversos tortrícids rosegadors de la pell de fruiters de llavor, *Adoxophyes orana, Archips podanus, Pandemis heparana, Archips rosanus*, etc...(Charmillot, 1989).

Com ja s'ha comentat anteriorment, el control de *S. nonagrioides* mitjançant l'aplicació de tractaments insecticides resulta problemàtic, degut a la seva condició de barrinador. Aquesta característica ha fet pensar en la possibilitat de controlar la plaga mitjançant la tècnica de confusió sexual. En aquest capítol es descriuen una sèrie d'experiències realitzades en diferents anys a efectes d'avaluar el mètode de confusió sexual per al control

de *S. nonagrioides* en parcel•les comercials de blat de moro.

3.2.- MATERIAL I MÈTODES

3.2.1.- ASSAIG DE L'ANY 1990

L'any 1990 es va fer un primer assaig en la localitat d'Almacelles (Lleida), en una parcel·la comercial de 4,5 ha. Com a testimoni es va agafar una parcel·la de 7 ha separada de l'anterior per un canal de reg, i situada en posició est, respecte a la de confusió. Les dues parcel·les havien estat sembrades el dia 28 d'abril amb la varietat Pioneer 3183 (cicle FAO 800), i el tipus de reg era superficial.

Es van efectuar dues aplicacions de feromona de 49 g/ha cadascuna, i es van utilitzar difusors de PVC plastificat (200 mm x 50 mm x 1 mm) fabricats per Agrisense Ltd. carregats amb 700 mg de feromona (4% en pes). D'aquesta manera es van repartir 70 difusors/ha separats per una distància de 12 x 12 m. En assajos preliminars realitzats l'any 1989, amb el mateix tipus de difusors, s'havia comprovat que s'obtenia una inhibició de captures de mascles de *S. nonagrioides* en trampes de feromona superior al 90% quan la separació màxima entre difusors era de 12 m amb una dosi mínima d'uns 30 g/ha (Perdiguer *et al.*, 1992).

La primera aplicació es va realitzar el 14 de juny col·locant els difusors sobre canyes a una altura d'aproximadament 1 m. El 14 d'agost es van reposar els difusors, col·locant-los directament sobre la canya del blat de moro a l'altura de la panotxa. La feromona dels difusors contenia la proporció de components descrita per Mazomenos (1989), o sigui 69:8:8:15 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac). Es van realitzar controls de larves el 30 d'agost i el 3 d'octubre.

3.2.2.- ASSAIG DE L'ANY 1992

L'any 1992 es va fer un segon assaig en la localitat d'Almacelles en una parcel·la comercial de 3,4 ha. Com a testimoni es va prendre una altra parcel·la de 3,5 ha, separada de l'anterior aproximadament 500 m i situada en posició sud-oest. Les dues parcel·les havien estat sembrades el dia 7 de maig amb la varietat Sandek (cicle FAO 600), i el reg en ambdues era superficial.

Aquest assaig es va plantejar per controlar la 1ª i la 2ª generació de la plaga. Es van efectuar 2 aplicacions de feromona de 40 g/ha cadascuna, i es van emprar difusors de PVC plastificat (100 mm x 58 mm x 2 mm) fabricats per SEDEQ carregats amb 400 mg de feromona (4% en pes). D'aquesta manera es van repartir 100 difusors/ha separats per una distància de 10 x 10 m. La primera aplicació es va realitzar el 18 de maig i la segona el 30 de juliol. Es van col·locar de la mateixa forma que en l'assaig de 1990. La proporció dels components de la feromona en els difusors també era la mateixa. Els mostrejos de larves es van efectuar el 13 de juliol, el 6 de setembre i el 2 d'octubre. En el control de difusors es va seguir l'evolució dels 4 components de la feromona.

3.2.3.- ASSAJOS DE L'ANY 1993

L'any 1993 es van realitzar dos assajos. Un a la localitat d'Almacelles i l'altre a la localitat de Poal. En Almacelles la parcel·la de confusió tenia una superfície de 6 ha i la parcel·la testimoni 10 ha. Aquestes parcel·les estaven separades uns 8 Km, i les condicions de cultiu eren diferents; a la parcel·la de confusió s'havia aplicat sembra directa i a la parcel·la testimoni sembra normal. No obstant, ambdues parcel·les s'havien sembrat amb la varietat Juanita (cicle FAO 700-800) en dates similars (19 d'abril la parcel·la testimoni i 27 d'abril la de confusió) i el reg era superficial en les dues.

A Poal la parcel·la de confusió tenia 2,5 ha i la parcel·la testimoni 3 ha. Aquestes estaven separades uns 150 m. Les dues parcel·les tenien unes condicions de cultiu pràcticament idèntiques; s'havien sembrat amb la mateixa varietat (Juanita), i en les dues s'aplicava reg superficial. La parcel·la de confusió es va sembrar el dia 13 d'abril i la testimoni el 17 d'abril.

En aquests assajos també es va intentar controlar les dues primeres generacions, realitzant dues aplicacions de feromona. Es van aplicar 80 g/ha en cada aplicació. Els difusors també eren de PVC plastificat (100 mm x 58 mm x 2 mm) i fabricats per SEDEQ, però aquest any estaven carregats amb 800 mg de feromona (8% en pes). La forma d'aplicació va ser idèntica a la de l'any anterior. La primera aplicació es va realitzar el 20 de maig, i la segona el 19 de juliol. Els controls de larves es van efectuar el 14 de juliol, el 7 de setembre i el 7 d'octubre.

3.2.4.- ASSAJOS DE L'ANY 1994

L'any 1994 es va aplicar confusió sexual en tres parcel·les. Dues d'aquestes estaven situades a la localitat d'Alguaire i tenien una superfície de 4,6 i 5,4 ha, i estaven separades uns 150 m i molt aïllades d'altres camps de blat de moro. L'altra parcel·la estava situada a Almenar i tenia 12 ha. Com a testimonis es van agafar 3 parcel·les relativament aïllades de les anteriors (una separació mínima de 200 m). Tots els camps havien tingut l'any anterior un cultiu diferent del blat de moro. A la Taula 3-1 apareixen les característiques de les parcel·les utilitzades.

PARCEL·LA	VARIETAT	SEMBRA	REG	SUPERFÍCIE
Alguaire-1	Juanita	4 Abril	Superficial	5,4 ha
Alguaire-2	Juanita	27 Abril	Superficial	4,6 ha
Almenar	Juanita	22 Abril	Aspersió	12 ha
Testimoni-l	Juanita	16 Maig	Pivot	40 ha
Testimoni-2	Juanita	12 Maig	Superficial	8 ha
Testimoni-3	Juanita	16 Maig	Aspersió	6 ha

Taula 3-1.- Característiques de les parcel·les utilitzades en l'assaig de confusió sexual de *Sesamia nonagrioides* en 1994.

En experiències paral·leles realitzades en l'Àrea de Protecció de Conreus del Centre UdL-IRTA s'havia comprovat que l'aparellament de les femelles de 1ª generació tenia lloc en els camps d'origen, o sigui, en els camps que havien tingut blat de moro l'any anterior. Per aquesta raó, el control es va dirigir exclusivament a la 2ª generació, ja que es va suposar que les femelles de 1ª generació que tenien que colonitzar el camp ja arribaven fecundades. Es van emprar els mateixos tipus de difusors que el 1993 i la mateixa dosi de feromona per ha. L'aplicació es va realitzar el 13 de juliol en les parcel·les d'Alguaire i el 20 de juliol en la parcel·la d'Almenar. Els difusors es van disposar sobre la canya de blat de moro a l'altura de la panotxa. Els mostrejos de larves es van efectuar el 29 d'agost i a primers d'octubre.

3.2.5.- MÈTODES D'AVALUACIÓ DE L'EFICÀCIA

Per a l'avaluació de l'eficàcia de la confusió es van emprar tres mètodes:

1.- Control d'inhibició de captures en trampes de feromona. Es van col·locar 3 trampes d'embut en cadascuna de les parcel·les esquerades amb 200 μg de barreja feromonal, i es va efectuar el recompte de captures setmanalment. L'eficàcia de la confusió es va avaluar segons la fórmula:

$$\text{Eficàcia}(\%) = \frac{(\text{Captures testimoni})-(\text{Captures confusió})}{(\text{Captures testimoni})} \times 100$$

2.- Control de larves en les canyes. Van realitzar-se diferents mostrejos de larves per quantificar l'atac de la plaga. En cadascun d'ells van avaluar-se 180 plantes/parcel·la distribuïdes en 9 repeticions de 20 plantes. Va comptabilitzar-se el nombre de larves/planta i el percentatge de plantes atacades. Van comptar-se també les larves d'*O. nubilalis*, per si hi pogués haver algun efecte sobre aquesta plaga. Les dades es van sotmetre a una anàlisi de variància amb separació de mitjanes mitjançant la prova de l'interval múltiple de Duncan ($p<0,05$). Per realitzar l'anàlisi del percentatge de plantes atacades els percentatges es van transformar a arcsin $[(x/199)^{1/2}]$.

3.- Control de pèrdua de feromona en els difusors. Es van recollir difusors cada cert període de temps, i es va seguir la pèrdua dels components de la feromona mitjançant extracció amb hexà destil·lat (3 x 30 ml) i anàlisi per cromatografía de gasos en columna farcida amb 10% OV-101 sobre Chromosorb X (2m x 2mm d.i.). Per a la quantificació del producte es va utilitzar un patró extern. Amb les dades obtingudes es va calcular la difusió mitjana de feromona en mg/ha/h.

3.3.- RESULTATS I DISCUSSIÓ

3.3.1.- RESULTATS DE L'ASSAIG DE 1990

En la Figura 3-1 es mostren les captures de mascles de *S. nonagrioides* en trampes de feromona en la parcel·la testimoni i en la parcel·la de confusió al llarg de la campanya del 1990, així com les dates de col·locació de difusors i de mostrejos. En aquest assaig no es va capturar cap mascle de *S. nonagrioides* en les trampes de seguiment de la parcel·la de confusió. En canvi, en la parcel·la testimoni es van capturar durant tota

la campanya 307 mascles/trampa (Taula 3-2). D'aquesta manera, l'eficàcia de la confusió mesurada com la inhibició de captures en les trampes de seguiment va ser del 100%. També la inhibició de captures d'altres espècies de noctúids, habitualment capturats en les trampes de *S. nonagrioides* (principalment *M. unipuncta* i *D. trifolii*) va assolir un valor del 95%. Aquests resultats semblen indicar que la feromona aplicada és capaç de saturar l'atmosfera i, per tant, de confondre els mascles respecte a les trampes de feromona col·locades en l'interior de les parcel·les. Això suggereix que la separació de difusors i la dosi de feromona aplicada era adequada.

Figura 3-1

Assaig 1990	*S. nonagrioides*		Altres noctúids	
PARCEL·LA	Captures totals per trampa	Eficacia de la confusió (%)	Captures totals per trampa	Eficacia de la confusió (%)
CONFUSIÓ TESTIMONI	0 ± 0 307 ± 214	100%	12 ± 6 245 ± 174	95%

Taula 3-2.- Captures totals per trampa de mascles de *Sesamia nonagrioiaes* i d'altres noctúids (± DE) i eficàcia de la confusió en trampes embut esquerades amb 200 µg de feromona en la parcel·la de confusió i en el testimoni en l'assaig de l'any 1990. Els resultats representen la mitjana de tres trampes per parcel·la.

Malgrat tot, en els controls de larves, solament es va trobar una reducció significativa de l'atac en la parcel·la de confusió en el primer mostreig de larves dut a terme després del segon vol (Taula 3-3). En el segon mostreig de larves, no es van trobar diferències entre la parcel·la de confusió i la testimoni.

La manca d'efectivitat del mètode va ser atribuïda a la proximitat de les dues parcel·les, ja que tan sols estaven separades per un petit canal de reg. Per tant, es podia pensar que les femelles aparellades del camp testimoni es desplaçaven al camp de confusió. També s'ha de tenir en compte que els vols de *S. nonagrioides* durant aquest any van ser molt elevats (307 mascles/trampa en el testimoni)(Tabla 3-2).

1990		*S. nonagrioides*		*O. nubilalis*	
MOSTREIG	CAMP	LARVES/ PLANTA	%PLANTES ATACADES	LARVES/ PLANTA	%PLANTES ATACADES
SETEMBRE	CONFUSIÓ TESTIMONI	1,5 ± 1,3 b 3,5 ± 3,2 a	38 ± 17 b 54 ± 27 a	0,6 ± 0,5 b 1,9 ± 1,0 a	38 ± 19 b 75 ± 17 a
OCTUBRE	CONFUSIÓ TESTIMONI	1,9 ± 0,6 a 2,0 ± 0,8 a	76 ± 17 a 73 ± 18 a	0,6 ± 0,4 b 0,9 ± 0,5 a	38 ± 13 a 47 ± 19 a

Taula 3-3.- Nombre mitjà de larves per planta (± DE) i percentatge de plantes atacades (± DE) per *Sesamia nonagrioides* i *Ostrinia nubilalis* en el camp tractat amb confusió i en el testimoni, en l'assaig de 1990. En cada columna i per cada mostreig, les mitjanes seguides de la rnateixa lletra no són significativament diferents segons la prova de l'interval múltiple de Duncan ($p<0,05$).

Pel que fa a la pèrdua de feromona en els difusors, en la Figura 3-2 es pot veure que hi ha una difusió de feromona elevada fins al 30 de juliol, arribant en aquesta data a un 44% de producte principal inicial, el que representa una difusió mitjana de 21 mg/ha/h de Z11-16:Ac. A partir d'aquesta data, els difusors perden molt poca feromona, amb una difusió mitjana de 6 mg/ha/h. Tenint en compte que la segona instal·lació de difusors es va realitzar el 14 d'agost, podem considerar que durant aquest interval de 15 dies (30 juliol a 14 d'agost) el camp podria haver quedat desprotegit de feromona, i aquest període correspon a les dates en que es produeix el segon vol d'adults (Figura 3-1). Encara que, fins i tot, en aquest període no es va capturar cap mascle en les trampes situades en la parcel·la de confusió, aquesta podria ser una altra de les causes per la que la confusió no hauria estat eficaç.

Figura 3-2

3.3.2.- RESULTATS DE L'ASSAIG DE 1992

L'any 1992 es van emprar difusors fabricats per SEDEQ, emprant una dosi de feromona similar (40 g/ha). Aquest any es va intentar controlar també la primera i segona generacions de larves. Per tant, la primera aplicació de feromona es va efectuar el 18 de maig. També es va utilitzar una parcel·la de confusió més aïllada. El camp de blat de moro més proper era el camp testimoni, que estava situat a uns 500 m.

En la Figura 3-3 es mostren les captures de mascles de *S. nonagrioides* en trampes de feromona en les parcel•les de confusió i testimoni, així com les dates de col·locació de difusors i dels mostrejos. L'eficàcia de la confusió mesurada com la inhibició de captures en trampes de feromona va arribar al 96% per a *S. nonagrioides*

i al 90% per a les altres espècies de noctúids (Taula 3-4).

Figura 3-3

Assaig 1992	*S. nonagrioides*		Altres noctúids	
CAMP	Captures totals per trampa	Eficàcia de la confusió (%)	Captures totals per trampa	Eficàcia de la confusió (%)
CONFUSIÓ TESTIMONI	1 ± 1 26 ± 8	96%	19 ± 18 190 ± 22	90%

Taula 3-4.- Captures totals per trampa de mascles de Sesamia nonagrioiaes i d'altres noctúids (± DE) i eficàcia de la confusió en trampes embut esquerades amb 200 µg de feromona en el camp de confusió i en el testimoni en l'assaig de l'any 1992. Els resultats representen la mitjana de tres trampes per camp.

En canvi, en els controls de larves, solament en el primer mostreig (corresponent a larves de primera generació) es va trobar una reducció significativa de l'atac en el camp de confusió respecte al testimoni. En els altres mostrejos no hi van haver diferències, i fins i tot, en el tercer mostreig el camp de confusió tenia un nombre més elevat de larves/planta que el testimoni (Taula 3-5). La manca d'efectivitat podia ser atribuïda per una part a una insuficient dosi de feromona, com ho demostra la reducció d'inhibició de captures respecte l'any anterior. Per altra banda, també s'ha de considerar que la superfície de la parcel·la de confusió era molt petita (3,4 ha), i per tant l'efecte de les voreres podia ser molt marcat, tant pel que fa a la immigració de femelles aparellades, com a l'aparellament fora del camp.

1992		*S nonagrioides*	
MOSTREIG	CAMP	LARVES/ PLANTA	% PLANTES ATACADES
JULIOL	CONFUSIÓ TESTIMONI	0,0 ± 0,0 b 0,1 ± 0,1 a	1 ± 1 b 6 ± 6 a
SETEMBRE	CONFUSIÓ TESTIMONI	0,9 ± 0,8 a 0,7 ± 0,7 a	28 ± 9 a 24 ± 21 a
OCTUBRE	CONFUSIÓ TESTIMONI	1,6 ± 0,7 a 1,0 ± 0,5 b	66 ± 17 a 52 ± 15 a

Taula 3-5.- Nombre mitjà de larves per planta (± DE) i percentatge de plantes atacades (± DE) per *Sesamia nonagrioides* en el camp tractat amb confusió i en el testimoni, en l'assaig de 1992. En cada columna i per cada mostreig, les mitjanes seguides de la mateixa lletra no són significativament diferents segons la prova de l'interval múltiple de Duncan ($p<0,05$).

Pel que fa a la difusió de la feromona dels difusors, en la Figura 3-4 es pot veure que la difusió és bastant constant al llarg de tot el període. La velocitat mitjana calculada fins a la reposició del difusors (18 de maig a 30 de juliol) és de 9 mg/ha/h per al producte principal (Z11-16:Ac). Aquesta velocitat és sensiblement inferior a l'assolida el 1990 durant el període inicial (que va ser de 21 mg/ha/h). Això seria degut a la poca càrrega inicial dels difusors (400 mg) i a una velocitat més regular al llarg de tota la campanya. Una altra consideració que es pot fer a partir de les dades de la Figura 3-4, és que, com era d'esperar, no tots els components de la feromona es difonen amb la mateixa velocitat. Així, el Z11-16:Ac i el Z11-16:OH es difonen amb una velocitat similar. Durant el període inicial (18 maig-30 juliol) es produeix una pèrdua del 54% del Z11-16:Ac i del 46% del Z11-16:OH. En canvi, el Z11-16:Ald, component més poc persistent, i el 12:Ac, component més volàtil, es difonen amb una velocitat molt més ràpida que els dos anteriors. En el mateix període, la pèrdua del Z11-16:Ald és del 70% i la del 12:Ac del 83%.

Figura 3-4

3.3.3.- RESULTATS DELS ASSAJOS DE 1993

En vista dels resultats obtinguts l'any 1992, el 1993 es va decidir augmentar la dosi de feromona fins a 80 g/ha, i realitzar dues experiències en dues parcel·les diferents. Així es va aplicar confusió en una parcel·la a Almacelles de 6 ha, i una parcel·la a Poal de 2,5 ha.

En la Figura 3-5 es mostren les captures de mascles de *S. nonagrioides* en trampes de feromona en les parcel·les testimoni i de confusió, així com les dates de col·locació de difusors i dels mostrejos. Una altra vegada, la inhibició

de captures de *S. nonagrioides* en les trampes de seguiment dels camps de confusió va ser del 100%,

superior a l'obtinguda el 1992 (Taula 3-6). La inhibició de captures d'altres noctúids va ser del 93% a Almacelles i del 91% a Poal. Aquests resultats semblen indicar que l'increment de la dosi de feromona de 40 a 80 g/ha ha millorat l'eficàcia de la confusió respecte a l'any 1992.

Figura 3-5

Assaig 1993		*S. nonagrioides*		Altres noctúids	
CAMP	TRACT.	Captures totals per trampa	Eficacia de la confusió (%)	Captures totals per trampa	Eficacia de la confusió (%)
Almacelles	CONFUSIÓ	0 ± 0	100%	18 ± 7	93%
	TESTIMONI	11 ± 2		268 ± 184	
Poal	CONFUSIÓ	0 ± 0	100%	47 ± 17	91%
	TESTIMONI	78 ± 18		514 ± 134	

Taula 3-6.- Captures totals per trampa de mascles de Sesamia nonagrioides i d'altres noctúids (± DE) i eficàcia de la confusió en trampes embut esquerades amb 200 µg de feromona en els camps de confusió i en els testimonis en els assajos de l'any 1993. Els resultats representen la mitjana de tres trampes per camp.

Pel que fa als mostrejos de larves, en l'assaig d'Almacelles en el 1er mostreig, realitzat a primers de setembre, l'atac per larves de *S. nonagrioides* en el camp testimoni és significativament més elevat que en el camp de confusió. Aquesta reducció de l'atac en el camp de confusió es manté en el mostreig d'octubre, tant pel que fa al nombre de larves per planta com en el percentatge de plantes atacades (Tabla 3-7).

En canvi, en l'assaig realitzat a Poal, en cap dels mostrejos es troben diferències significatives en l'atac de *S. nonagrioides* entre el camp de confusió i el testimoni (Taula 3-7).

El nombre de larves/planta i el percentatge de plantes atacades semblen indicar que la confusió ha donat bons resultats a Almacelles i no tan bons a Poal, i que la dosi de feromona aplicada (80 g/ha) és més adequada que la de l'any anterior (40 g/ha). La reduïda eficàcia obtinguda en l'assaig de Poal pot ser atribuïda a diversos factors. Un d'ells podria ser la immigració de femelles fecundades de camps veïns molt pròxims al de confusió, que era, per altra part molt petit (2,5 ha). En l'assaig d'Almacelles el camp era bastant més gran (6 ha) i estava molt més aïllat d'altres camps de blat de moro.

ALMACELLES 1993		*S. nonagrioides*		*O. nubilalis*	
MOSTREIG	CAMP	LARVES/ PLANTA	% PLANTES ATACADES	LARVES/ PLANTA	% PLANTES ATACADES
SETEMBRE	CONFUSIÓ	0,1 ± 0,1 b	9 ± 9b	0,3 ± 0,8 b	22 ± 15 b
	TESTIMONI	1,1 ± 0,9 a	38 ± 17 a	1,8 ± 1,7 a	74 ± 24 a
OCTUBRE	CONFUSIÓ	0,7 ± 0,8 b	38 ± 30 b	0,2 ± 0,5 b	18 ± 15 b
	TESTIMONI	1,9 ± 0,9 a	76 ± 17 a	1,6 ± 1,7 a	70 ± 22 a

POAL 1993		*S. nonagrioides*		*O. nubilalis*	
MOSTREIG	CAMP	LARVES/ PLANTA	% PLANTES ATACADES	LARVES/ PLANTA	% PLANTES ATACADES
SETEMBRE	CONFUSIÓ	0,8 ± 1,1 a	24 ± 14 a	1,2 ± 1,2 b	68 ± 13 a
	TESTIMONI	1,1 ± 1,1 a	33 ± 14 a	3,0 ± 2,1 a	88 ± 10 a
OCTUBRE	CONFUSIÓ	1,1 ± 0,7 a	52 ± 25 a	1,6 ± 1,5 b	72 ± 12 b
	TESTIMONI	1,0 ± 0,7 a	46 ± 22 a	3,3 ± 2,1 a	93± 8 a

Taula 3-7.- Nombre mitjà de larves per planta (± DE) i percentatge de plantes atacades (± DE) per *Sesamia nonagrioides* i *Ostrinia nubilalis* en els camps tractats amb confusió i en els testimonis, en els assajos de 1993. En cada columna i per cada mostreig, les mitjanes seguides de la mateixa lletra no són significativament diferents segons la prova de l'interval múltiple de Duncan ($p<0,05$).

Quan es va analitzar la pèrdua de feromona en els difusors (Figura 3-6), es va veure que la difusió va ser molt ràpida inicialment (20 de maig a 1 de juliol), amb una velocitat de difusió mitjana del Z11-16:Ac de 41 mg/ha/h. Això seria degut a que en el moment de col·locar els primers difusors, les plantes de blat de moro eren molt petites, i per tant els difusors estaven molt exposats al sol i al vent, factors que lògicament han de fer incrementar la velocitat de difusió. A partir d'aquesta data, i fins la reposició dels difusors el 30 de juliol, pràcticament no es va alliberar feromona a l'atmosfera (2 mg/ha/h de producte principal). Amb la reposició dels difusors, la difusió es va tornar a incrementar fins a 30 mg/ha/h. Així, es troba un període en que els camp de confusió haurien quedat desprotegits de feromona, encara que en aquest interval no es va detectar vol d'adults en

les trampes de feromona (Figura 3-5).Per tant, aquest fet sembla que no tindria que haver afectat a l'eficàcia de la confusió.

Figura 3-6

3.3.4.- RESULTATS DELS ASSAJOS DE 1994

En vista dels resultats obtinguts el 1993, l'any 1994 es va aplicar confusió en camps molt més grans, i més aïllats. Així es va prendre un camp a Almenar de 12 ha i dos camps a Alguaire de 4,6 i 5,4 ha molt pròxims i molt aïllats d'altres camps de blat de moro. Solament es va efectuar una aplicació de feromona, dirigint el control per confusió sexual a la 2ª generació d'adults, ja que en experiències paral·leles realitzades al Centre UdL-IRTA s'havia vist que les femelles de 1ª generació que colonitzaven el camp ja arribaven aparellades des del camp d'origen.

En la Figura 3-7 es mostren les captures de mascles de *S. nonagrioides* en trampes de feromona en les parcel·les de confusió i testimoni, així com les dates de col·locació de difusors i dels mostrejos. Quan es va avaluar la confusió com la inhibició de captures de mascles de *S. nonagrioides* en trampes de feromona es va veure que no va resultar tan eficaç com en 1993 (100% d'inhibició el 1993 i 87-98% el 1994)(Taula 3.8). En canvi, la inhibició de captures d'altres espècies de noctúids va ser superior (94-98% el 1994 i 91-93% el 1993). Un aspecte a tenir en compte, és que els vols d'adults de 1ª i 2ª generació de l'any 1994 van ser molt més alts que en anys anteriors.

Figura 3-7

Assajos 1994		*S nonagrioides*		Altres noctúids	
PARCEL·LA	TRACT.	Captures totals per trampa	Eficàcia de la confusió (%)	Captures totals per trampa	Eficàcia de la confusió (%)
ALGUAIRE-1	CONFUSIÓ	13 ± 7	87%	7 ± 3	94%
ALGUAIRE-2	CONFUSIÓ	2 ± 1	98%	2 ± 1	98%
ALMENAR	CONFUSIÓ	8 ± 3	92%	5 ± 5	
T-1	TESTIMONI	98 ± 22		108 ± 59	

Taula 3-8.- Captures totals per trampa de mascles de *Sesamia nonagrioides* i d'altres noctúids (± DE) i eficàcia de la confusió en trampes embut esquerades amb 200 µg de feromona en els camps de confusió i en un testimoni en els assajos de l'any 1994. Els resultats representen la mitjana de tres trampes per camp.

Pel que fa a l'avaluació de la confusió mitjançant els mostrejos de larves, dels tres camps en els que s'ha aplicat confusió sexual, en dos (Almenar i Alguaire-2) es pot veure que l'atac de *S. nonagrioides* ha sigut bastant més petit que en els testimonis (Taula 3-9), i per tant, la confusió hauria estat eficaç. En el tercer camp (Alguaire-1), l'eficàcia de la confusió, segons els mostrejos de larves, no ha sigut molt bona. L'única diferència apreciable d'aquest camp és la data de sembra, que va ser molt més primerenca (4 d'abril) que en la resta de camps (finals d'abril-primers de maig). Això podia haver influït en un atac més elevat de la primera generació, en resultar aquest camp més apetible per les femelles de 1ª generació. Conseqüentment, la 2ª generació també seria més elevada. La varietat i el cultiu no justifiquen les diferències, ja que el camp Alguaire-1 estava separat tan sols 150 m del camp Alguaire-2, estava cultivat amb la mateixa varietat (Juanita) i s'emprava el mateix tipus de reg (superficial). De totes maneres, en el camp Alguaire-1 la població era molt elevada en el mostreig d'agost (2,5 larves/planta), però pràcticament no va créixer en el d'octubre (2,4 larves/planta). En canvi, la població mitjana dels testimonis es va incrementar notablement des d'agost (1,5 larves/planta) a octubre (2,4 larves/planta). Això sembla indicar que, fins i tot, en aquest camp (Alguaire-1), amb una població molt elevada en principi, la confusió sexual també hauria estat eficaç, frenant l'increment de la població del barrinador.

ANY 1994 MOSTREIG 30 AGOST		*S. nonagrioides*		*O. nubilalis*	
CAMP	TRACT.	LARVES/ PLANTA	% PLANTES ATACADES	LARVES/ PLANTA	% PLANTES ATACADES
ALGUAIRE -1	CONFUSIÓ	2,5 ± 1,4 a	60 ± 24 a	0,9 ± 0,8 b	42 ± 29 ab
ALGUAIRE -2	CONFUSIÓ	0,5 ± 0,8 c	27 ± 27 c	0,4 ± 0,4 c	27 ± 21 bc
ALMENAR	CONFUSIÓ	0,9 ± 0,6 bc	33 ± 11 bc	0,2 ± 0,3 c	19 ± 22 c
T-1	TESTIMONI	2,0 ± 0,8 ab	50 ± 16 ab	1,4 ± 0,8 a	62 ± 19 a
T-2	TESTIMONI	1,6 ± 1,2 abc	58 ± 21 a	0,8 ± 0,5 b	42 ± 17 ab
T-3	TESTIMONI	1,0 ± 1,3 bc	21 ± 16 c	0,9 ± 0,4 b	46 ± 16 ab
MITJANA	CONFUSIÓ	1,2 ± 1,2 a	39 ± 23 a	0,5 ± 0,5 b	28 ± 24 b
MITJANA	TESTIMONI	1,5 ± 1,2 a	39 ± 24 a	1,0 ± 0,6 a	49 ± 18 a
1994 MOSTREIG OCTUBRE		*S. nonagrioides*		*O. nubilalis*	
CAMP	TRACT.	LARVES/ PLANTA	% PLANTES ATACADES	LARVES/ PLANTA	% PLANTES ATACADES
ALGUAIRE -1	CONFUSIÓ	2,4 ± 0,5 b	94 ± 6 a	0,9 ± 0,3 c	60 ± 12 ab
ALGUAIRE -2	CONFUSIÓ	0,9 ± 0,9 c	43 ± 32 b	0,6 ± 0,5 cd	50 ± 11 b
T-1	TESTIMONI	3,1 ± 2,0 a	88 ± 25 a	1,7 ± 0,5 a	72 ± 10 a
T-2	TESTIMONI	1,7 ± 0,8 c	80 ± 21 a	1,5 ± 0,6 ab	66 ± 21ab
T-3	TESTIMONI	2,5 ± 1,9 b	82 ± 17 a	1,3 ± 1,1 b	70 ± 27 a
MITJANA	CONFUSIÓ	1,5 ± 1,5 a	58 ± 31 a	0,5 ± 0,4 b	35 ± 26 b
MITJANA	CONFUSIÓ	2,4 ± 1,7 b	83 ± 21 b	1,5 ± 0,7 a	69 ± 20 a

Taula 3-9.- Nombre mitjà de larves per planta (± DE) i percentatge de plantes atacades (± DE) per *Sesamia nonagrioides* i *Ostrinia nubilalis* en els camps tractats amb confusió i en els testimonis, en els assajos de 1994. En cada columna i per cada mostreig, les mitjanes seguides de la mateixa lletra no són significativament diferents segons la prova de l'interval múltiple de Duncan ($p<0,05$).

En quant a la difusió de feromona en els difusors (Figura 3-8), es pot veure que la pèrdua de feromona en els difusors ha estat bastant regular durant tota la campanya. La velocitat és molt ràpida durant els primers 10 dies, amb un valor mitjà de 58 mg/ha/h per al producte principal. A partir d'aquesta data la velocitat de difusió s'alenteix. Així la velocitat entre els dies 10 i 30 és de 18 mg/ha/h, i entre els dies 30 i 60 de 14 mg/ha/h.

Figura 3-8

3.4.- DISCUSSIÓ

Resumint, es pot dir que la confusió sexual com a mètode de control de *S. nonagrioides* no ha estat concloent. S'ha trobat en moltes de les experiències realitzades una manca d'efectivitat. L'explicació no és immediata. Per una part es pot considerar que les femelles aparellades tenen una gran capacitat de dispersió, tal com apunta Larue (1984) per a la primera generació d'adults. Aquesta gran capacitat de dispersió tindria com a conseqüència que els camps en els que s'aplica confusió serien infestats per femelles aparellades en altres camps propers. Aquest és un problema descrit en experiències de confusió sexual en moltes plagues, com ara en *Choristoneura fumiferana* (Dimond *et al.*, 1984), *C. pomonella* i *A. orana* (Charmillot, 1987), *E. ambiguella* (Charmillot, 1992), *L. botrana* (Stockel *et al*, 1992) o *P. viteana* (Trimble, 1993).

El problema de la immigració de femelles fecundades procedents d'altres camps pot ser reduït aplicant la confusió en camps més grans o més aïllats. Per Charmillot (1987) la tècnica de confusió sexual per al control de *C. pomonella* i *A. orana* no està recomanada en finques de menys de 3 ha o quan les poblacions de les plagues són elevades. Stockel *et al*. (1992) recomanen una superfície mínima de 10 ha per *L. botrana*. Malgrat tot, s'ha de considerar que en *S. nonagrioides*, el primer vol d'adults és l'encarregat de colonitzar els camps de blat de moro i, per tant, es justifiquen llargs desplaçaments, el que no és el cas de vols successius, en els que la plaga ja està establerta en un camp i les femelles ja tenen a la seva disposició plantes de blat de moro per

efectuar la posta.

Per altra part, s'hauria de considerar la possibilitat de que quan les poblacions superen una certa densitat, altres mecanismes diferents de la localització a llarga distància per feromones permetin a mascles i femelles localitzar-se i aparellar-se. Per aquesta raó, està àmpliament acceptat que, per què la tècnica de confusió sexual tingui èxit, les poblacions de la plaga no han de ser massa elevades. Així per exemple, en *C. pomonella* i *C. molesta*, en les que el control per confusió ha donat bons resultats, altes concentracions de feromona no impedeixen l'aparellament de mascles i femelles que es troben molt pròxims (Cardé *et al.*, 1977). La femella de *C. pomonella* manifesta un comportament activament inductor de l'aparellament en el mascle (Castrovillo i Cardé, 1980) i *Helicoverpa zea* utilitza la visió en la localització de femelles a distàncies inferiors a 22 cm (Carpenter i Sparks, 1982). També Palaniswamy *et al.* (1986) descriuen que en el geomètrid *Alsophila pometaria* els mascles tendeixen a orientar-se inicialment cap als arbres i després busquen les femelles sobre el tronc de l'arbre i sobre el terra al voltant del tronc. Comportaments d'aquest estil redueixen l'àrea en la que els mascles cerquen les femelles i, per tant, la possibilitat de trobar-les és més elevada. Els autors atribueixen a aquest comportament i a l'elevada relació de mascles/femelles la manca d'eficàcia de la confusió sexual.

Una altra cosa a tenir en compte és que la densitat de difusors (100 difusors/ha) sigui massa petita, de forma que no es produeixi un nivell suficient de confusió en la parcel·la, sobre tot en les zones més allunyades dels difusors. Dunkelblum *et al.* (1987) troben bons resultats en *Spodoptera littoralis* amb 500 punts de difusió per ha, però no amb els difusors situats cada 25 m. En la majoria de plagues en les que la confusió sexual ha assolit una eficàcia clara se solen utilitzar aplicacions de 500-1000 difusors/ha o de microencapsulats per polvorització (Cardé i Minks, 1995). En aquests tipus d'aplicacions, s'assoleix una uniformitat molt més elevada del tractament i, la possibilitat de deixar zones desprotegides dins de la parcel·la és menor. També podria ser que la dosi de feromona encara no fos prou alta per assolir una bona confusió dels mascles. En una sèrie d'assajos entre 1981-86 en *A. orana*, Charmillot (1989) troba que l'èxit de la confusió s'incrementa notablement en augmentar la quantitat d'atraient de 50 a 200 g/ha.

Un altre factor a tenir en compte, és que en totes les experiències s'ha utilitzat la barreja feromonal descrita per Mazomenos (1989) amb una composició 68:8:8:15 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac). Però en el Capítol 2 s'ha vist que la barreja 77:8:10:5 dels mateixos components té més activitat sobre els mascles de *S. nonagrioides*. Això podria donar lloc a que la barreja 69:8:8:15 no fos prou efectiva per provocar confusió sexual, essent capaços els mascles de localitzar a les femelles en aquesta atmosfera. A més, s'ha de tenir en compte que aquesta relació de components és la inicial en els difusors, però ja s'ha vist que no tots els components es difonen amb la mateixa velocitat. Això fa que la relació de components en l'atmosfera i en els difusors vagi variant amb el temps, de manera que la relació inicial no es manté. També és possible que la feromona natural emesa per les femelles contingui algun altre producte minoritari no detectat fins al moment, i que permeti als mascles localitzar a les femelles.

També pot ser que l'elevada concentració de feromona en els camps de confusió actuï atraient a mascles de camps més o menys llunyans. D'aquesta manera, el nombre més elevat de mascles en el camp faria augmentar la probabilitat de que les femelles fossin trobades per un mascle. Aquests mecanismes explicarien els resultats obtinguts en algunes de les experiències.

A més a més de tots aquests factors esmentats, que podrien afectar a l'eficàcia del mètode de confusió sexual, s'ha de tenir en compte la gran variabilitat en les poblacions de *S. nonagrioides*, no sols entre anys, sinó també entre camps. El cas més clar és el de l'any 1994, en que les poblacions larvals en els tres testimonis utilitzats van ser força diferents (Tabla 3-9). Això permet dir que l'atac del barrinador en un camp depèn de tota una sèrie de factors. Entre aquests factors s'hi podrien incloure la varietat, data de sembra, condicions microclimàtiques, sistema de cultiu, etc...

En realitzar els mostrejos de larves també es va quantificar l'atac d'*O. nubilalis*, espècie que pràcticament comparteix nínxol amb *S. nonagrioides*. D'aquesta manera es volia valorar la influència que podia tenir l'aplicació de confusió sexual en una finca en les poblacions del piràlid. Per una part es pot pensar que si es reduïen les poblacions de *S. nonagrioides* en una parcel·la, es podrien augmentar les d'*O. nubilalis*.

Quan es van analitzar els resultats de l'atac del piràlid, es va trobar que l'atac era sempre més baix en les finques de confusió sexual, tant en nombre de larves/planta com en percentatge de plantes atacades (Taules 3-3, 3-7 i 3-9).

Aquests resultats són el contrari del que es podria esperar en un principi. Sembla ser, doncs, que la feromona sexual de *S. nonagrioides*, té algun efecte sobre les poblacions d'*O. nubilalis*. S'ha de tenir en compte que en una parcel·la de confusió hi ha una atmosfera extraordinàriament carregada de feromona d'una espècie, respecte al que ho estaria en condicions naturals. Aquesta feromona podria tenir algun efecte de confusió sobre els mascles d'una altra espècie, sobre tot en aquest cas, ja que el component principal de la feromona sexual d'*O. nubilalis* (Z11-14:Ac) tan sols es diferencia del component principal de la feromona de *S. nonagrioides* (Z11-16:Ac) en la longitud del grup alquil terminal de la molècula, essent la resta completament idèntica. D'aquesta

manera seria possible que la feromona de *S. nonagrioides* pogués interaccionar més o menys eficientment amb els receptors de les antenes dels mascles d'*O. nubilalis* provocant un efecte d'inhibició de resposta a la pròpia feromona per bloqueig dels receptors.

Una altra de les possibilitats és que la feromona tingués un efecte al·leloquímic sobre les femelles d'*O. nubilalis* com un inhibidor d'oviposició, provocant en aquestes un comportament de recerca d'altres camps amb més possibilitats de recursos alimentaris, el que faria que abandonessin el camp de confusió per realitzar la posta.

3.5.- CONCLUSIONS

1.- L'aplicació de confusió sexual és eficaç per inhibir les captures de *S. nonagrioides* en trampes de feromona.

2.- També, l'aplicació de confusió sexual és eficaç per inhibir les captures d'altres espècies de noctúids en trampes de feromona.

3.- El control d'inhibició de captures en trampes de feromona no resulta ser un sistema eficaç per a l'avaluació de la confusió sexual com a mètode de control de *S. nonagrioides*. En algunes de les experiències s'ha assolit un 100% d'inhibició de captures, però posteriorment no s'ha observat una reducció de l'atac.

4.- En el desenvolupament de les poblacions de *S. nonagrioides* en un camp hi intervenen tota una sèrie de factors que fan difícil el prendre testimonis fiables. Entre aquests factors hi podrien estar la varietat, data de sembra, condicions microclimàtiques, sistema de cultiu, etc... S'han trobat variacions importants en l'atac del barrinador en camps testimonis de difícil explicació.

5.- L'aplicació de feromona sexual de *S. nonagrioides* en un camp sembla que redueix les poblacions larvals de l'altre barrinador *O. nubilalis*. En tots els assajos en que s'ha quantificat l'atac d'aquest darrer, les poblacions sempre han estat més reduïdes en els camps de confusió que en els testimonis.

MIGUEL DE CERVANTES
BIBLIOTECA VIRTUAL

Capítol 4. ESTUDI D'ANÀLEGS ESTRUCTURALS

4.1.- INTRODUCCIÓ

Els receptors olfactius dels insectes estan associats amb les *sensilla* localitzades generalment a les antenes. La morfologia de les *sensilla* és variable i, així, es troben, entre d'altres, les *sensilla trichodea* (pèls fins a 300 μm de longitud) o les *sensilla basiconica* (pèls fins a 10 μm). Un aspecte de la funció d'aquestes *sensilla*, quan la concentració de l'odorant és baixa, és adsorbir el màxim de molècules presents a l'aire (Kaissling, 1971).

Les *sensilla* olfactives comprenen una estructura cuticular que rodeja una limfa que conté una o més branques dendrítiques. La cutícula està penetrada per nombrosos porus d'almenys 10-15 nm de diàmetre (en les *sensilla trichodea* i *basiconica*)(Kaissling, 1971). El paper d'aquests porus és permetre l'accés de les molècules d'odorant a la dendrita interior.

Sobre la dendrita s'hi troben els receptors olfactius, que són estructures proteíniques tridimensionals. Segons Kaissling (1974), els odorants arriben als receptors via el sistema de porus i s'uneixen amb el receptor produint un increment de la conductància elèctrica de la membrana, el que provoca el procés de transducció sensorial i la resposta de l'insecte. Posteriorment, les molècules estimulants són inactivades. Segons el model de Vogt i Riddiford (1986), desenvolupat a partir d'estudis amb el satúrnid *Antheraea polyphemus*, les molècules de feromona (acetat de (*E*, Z)-6,11-hexadecadienil) penetren dins la limfa de la *sensilla* a través del sistema de porus. En aquesta limfa s'hi troba una proteïna transportadora (*pheromone binding protein*) en una concentració extremadament alta (20 mM). A més a més, en la limfa hi ha una altra proteïna (esterasa) en una concentració micromolar, molt agressiva degradant la feromona (Vogt *et al.*, 1985). La proteïna transportadora té les funcions de solubilitzar, transportar i protegir a la feromona. Així, les molècules de feromona s'unirien mitjançant equilibris cinètics amb la proteïna transportadora o amb els receptors, mentre que l'esterasa seria l'encarregada de degradar la feromona, evitant la seva acumulació i la saturació dels receptors.

Per comprendre la base molecular d'aquesta percepció feromonal es requereix un coneixement detallat de les macromolècules *sensilla* -específiques que enllacen i degraden les molècules de feromona. Per tal de caracteritzar aquestes proteïnes, una aproximació és l'ús de feromones radio-marcades i d'anàlegs feromonals per aïllar i caracteritzar tant les macromolècules com els metabòlits de la feromona (Prestwich, 1987).

Per altra banda, els anàlegs estructurals de les molècules de feromona es poden emprar per modificar les respostes de comportament i/o electrofisiològiques d'insectes per diferents mecanismes d'acció. Poden funcionar com antagonistes, bloquejant l'accés de la feromona al receptor. També poden actuar com agonistes, mimetitzant l'acció de la feromona, però produint una resposta modificada. Finalment, un anàleg estructural pot ser actiu inhibint l'activitat catabòlica de les esterases de les *sensilla*. Des d'aquest punt de vista, un inhibidor podria ser un compost d'estructura molt relacionada amb la de la feromona, amb idèntica capacitat d'accés i interacció amb alguna de les proteïnes de les *sensilla*. El problema es presentaria en no poder donar-se el mecanisme de degradació posterior, amb el que tindríem el centre de recepció completament i permanentment bloquejat i, d'aquesta forma, l'insecte seria incapaç d'orientar-se cap a la font emissora de feromona (Prestwich, 1987).

També a partir de les activitats en el comportament o electrofisiològiques d'una sèrie d'anàlegs estructurals de la feromona comparades amb l'activitat d'aquesta es pot deduir l'especificitat del receptor (Evershed, 1988).

Finalment, els anàlegs estructurals també són prometedors candidats en experiències de confusió sexual, especialment quan la feromona és inestable, com és el cas dels aldehids (Tamaki, 1988).

Els tipus d'anàlegs utilitzats més correntment en els estudis d'estructura-activitat o com possibles inhibidors de la percepció feromonal són els següents:

- Variacions en el grup funcional, incloent canvis d'heteroàtoms
- Enantiòmers
- Isòmers geomètrics
- Homòlegs
- Isòmers posicionals

Un tipus interessant d'anàlegs estructurals són les trifluorometil cetones, que formalment procedeixen de les substitucions isostèriques d'un àtom d'oxigen i un grup metil de l'acetat de la feromona per un grup metilè i un trifluorometil, respectivament. Les trifluorometil cetones són molt bons inhibidors d'esterases i proteases (Prestwich, 1987; Gelb *et al.*, 1985), degut a l'elevada electronegativitat del fluor, que estabilitza l'hidrat o hemicetal format quan aquestes cetones estan en contacte amb solucions aquoses (Liang i Abeles, 1987), tal com es mostra en la Figura 4-1. En inhibir les esterases de les sensilles de l'antena s'ha d'esperar una inactivació de l'activitat catabòlica de les molècules de feromona i, conseqüentment, una concentració superior d'aquestes

molècules en els receptors, afectant per tant l'electrofisiologia i el comportament de l'insecte.

Figura 4-1

En aquest capítol s'estudia l'activitat de diferents anàlegs de la feromona d'*O. nubilalis* i *S. nonagrioides* sobre els mascles de les dues espècies mitjançant assajos electrofisiològics (inhibició de la resposta EAG) i de comportament (inhibició de captures en trampes i de resposta en túnel de vent).

4.2.- MATERIAL I MÈTODES

Aquí es descriuen els efectes produïts per diferents anàlegs, incloses les trifluorometil cetones, en la percepció de la feromona de *S. nonagrioides* i *O. nubilalis*, avaluant la resposta EAG feromonal relativa de mascles que s'havien mantingut en contacte amb vàries dosis dels productes en comparació amb les d'insectes no tractats. En camp, l'efecte inhibidor es va assolir per la disminució relativa de les captures obtingudes en trampes esquerades amb barreges de l'inhibidor i la feromona natural en comparació amb les obtingudes amb la feromona sola. En túnel de vent, l'activitat inhibidora es va determinar per la disminució relativa de la resposta dels mascles a una barreja de feromona i anàleg en comparació a la feromona sola.

4.2.1.- ESTUDI DELS ANÀLEGS EN O. *nubilalis*

Els anàlegs assajats són els que apareixen en la Figura 4-2.

Figura 4-2

Com es pot veure en la Figura 4-2, els anàlegs assajats consisteixen en diferents tipus de variacions estructurals en la molècula del component principal de la feromona natural (Z11-14:Ac). Aquestes modificacions són les següents:

- modificació del grup funcional principal: Z11-14:OH i Z11-14:Ald.
- eliminació del doble enllaç (anàlegs saturats): 14:Ac, 14:OH i 14:Ald.
- modificació de la posició del doble enllaç: Z9-14:Ac, Z9-14:OH, Z9-14:Ald i Z9-14:F3Ac.
- eliminació del grup etil terminal: 11-12:Ac, 11-12:OH i 11-12:Ald.
- substitució d'hidrògens del grup metil de l'acetat per fluors per obtenir diferents fluoroacetats: Z11-14:FAc, Z11-14:F2Ac i Z11-14:F3Ac.
- substitució doble del grup metil i de l'oxigen de l'acetat per un grup trifluorometil i un metilè, respectivament, per obtenir la trifluorometil cetona anàloga: Z11-14:TFP.

S'han realitzat dos tipus de proves per avaluar el poder inhibidor de la resposta de mascles d'*O. nubilalis*: bioassajos d'inhibició de la resposta EAG en laboratori i proves d'inhibició de captures en camp.

a) BIOASSAJOS DE LABORATORI EN EAG

Per realitzar aquests assajos es van emprar mascles d'*O. nubilalis* procedents de cria de laboratori (veure MATERIAL I MÈTODES GENERALS, apartat ii.2.1). La descripció de l'aparell d'electroantenografia emprat es troba en l'apartat ii.3 de MATERIAL I MÈTODES GENERALS.

L'activitat intrínseca dels anàlegs es va determinar en relació a la barreja feromonal corresponent a la raça Z de l'insecte 97:3 (Z11-14:Ac/E11-14:Ac)(Klun *et al.*, 1973). Es van aplicar 5 insuflades de 10 μg dels anàlegs a intervals de 40 s sobre les antenes de 7 mascles d'1-2 dies d'edat, de manera alternada als estímuls produïts per la feromona.

Per realitzar els bioassajos d'inhibició els receptors de l'antena es van pre-saturar col•locant mascles d'1-2 dies d'edat en càpsules Petri de 10 cm d.i. x 2 cm d'altura en presència de diferents quantitats dels compostos a provar (10, 100 i 1000 μg). Només es va col·locar un insecte per cápsula Petri. Els productes es van dissoldre en 100 μl d'hexà i es van dipositar sobre peces de paper de filtre de 2 x 2 cm. El dissolvent es va evaporar i es va utilitzar com a control una peça similar de paper tractada amb hexà sol. Els insectes es van exposar als vapors dels compostos durant 2 h, i es va tenir compte de que els mascles no estiguessin en contacte amb els papers. Després d'aquest període, els insectes es van traslladar a una altra capsa neta i, després de 5 min de condicionament a la llum, se'ls va amputar les antenes i es va determinar l'activitat electroantenogràfica. Les deflecions EAG es van mesurar aplicant, a través d'una pipeta Pasteur, 10 insuflades de 10 μg del complex feromonal sobre l'antena a intervals de 40 s, per assegurar la recuperació total dels receptors de l'antena. La barreja feromonal utilitzada va ser també la 97Z:3E dels acetats d'11-tetradecenil. Per a cada concentració d'inhibidors es van utilitzar 6 insectes, i els valors d'inhibició es van calcular com el percentatge de la disminució relativa de la resposta EAG mitjana de mascles tractats en relació al valor mitjà exhibit pels insectes control. Els resultats es van analitzar estadísticament segons el test de Student ($p<0,05$).

b) ASSAIG DELS ANÀLEGS EN CAMP

Els experiments es van portar a terme en un camp de panís de la localitat d'Almacelles (Lleida). Els esquers es van preparar agregant 0,1 mg de complex feromonal 97:3 (Z11-14:Ac/E11-14:Ac) i 1 mg dels compostos a provar dissolts en hexà a un septum de cautxú de color roig (9 x 5 mm)(Aldrich Chemical Company Inc.). El dissolvent es va evaporar, i els septa es van utilitzar com a dispensadors.

L'any 1993 es van provar des del 27 de juliol al 27 de setembre (durant la 2ª i 3ª generació d'adults) els productes anàlegs següents:

14:Ac	Z9-14:Ac
14:OH	Z9-14:OH
14:Ald	Z9-14:Ald
11-12:Ac	Z9-14:F3Ac
11-12:OH	Z11-14:OH
11-12:Ald	Z11-14:Ald

Finalment l'experiment amb els productes fluorats anàlegs de la feromona es va dur a terme l'any 1994 entre el 16 de juliol i el 10 d'octubre (també durant la 2ª i 3ª generació d'adults). Aquests eren els següents:

Z11-14:FAc
Z11-14:F2Ac
Z11-14:F3Ac
Z11-14:TFP

En les proves de l'any 1993 es van utilitzar trampes d'aigua, i en les proves del 1994 es van emprar trampes embut (Agrisense Ltd.). Aquestes es van penjar a una altura d'uns 1,5 m al voltant del camp i separades uns 30 m entre elles. Es van col·locar en un disseny lineal de blocs a l'atzar i revisades i rotades cada setmana. Per a cada formulació es van utilitzar 3 trampes i el nombre de captures totals es va transformar a $(x+0,5)^{1/2}$ i es va analitzar estadísticament segons el test de Student ($p<0,05$). L'activitat inhibidora dels compostos es va calcular per la disminució relativa de les captures en comparació a la feromona sola.

4.2.2.- ESTUDI DELS ANÀLEGS EN *S. nonagrioides*

Els anàlegs assajats són els que apareixen en la Figura 4-3.

Figura 4-3

Com es pot veure en la Figura 4-3 els anàlegs estudiats consistiesen en la Figra 4-3 els anàlegs estudiats cionsisteixen en la substitució d'àtoms d'hidrogen per halògens (F, Cl, Br) en el grup acetat de la molécula del component principal de la feromona, formant diferents haloacetats. També s'ha inclòs la trifluorometil cetona análoga.

S'han realitzat tres tipus de proves per avaluar el poder inhibidor de la resposta de mascles de *S. nonagrioides*: bioassajos d'inhibició de la resposta EAG en laboratori, proves d'inhibició de captures en camp i proves en túnel de vent.

a) BIOASSAJOS DE LABORATORI EN EAG

Igual que en les proves realitzades amb *O. nubilalis*, l'activitat EAG intrínseca dels haloacetats i de la trifluorometil cetona es va determinar en relació al component principal de la feromona (Z11-16:Ac) i al complex feromonal. En aquest cas es va utilitzar la barreja feromonal descrita per Mazomenos (1989), 69:8:8:15 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac). Es van aplicar 5 insuflades de 10 μg dels anàlegs a intervals de 40 s sobre les antenes de 5 mascles d'1-2 dies edat, procedents de la cria de laboratori (veure MATERIAL I MÈTODES GENERALS, apartat ii.2.2) de manera alternada als estímuls produïts pel component principal i la barreja feromonal.

La pre-saturació dels receptors de l'antena es va fer col•locant mascles d'1-2 dies d'edat en càpsules Petri de 10 cm d.i. x 2 cm d'altura en presència de diferents quantitats dels compostos a provar (1, 10, 100 i 1000 μg). Les defleccions EAG es van mesurar aplicant, a través d'una pipeta Pasteur, 10 insuflades de 10 μg del complex feromonal sobre l'antena a intervals de 40 s. Per a cada concentració d'inhibidors es van utilitzar 8 insectes, i els valors d'inhibició es van calcular com el percentatge de la disminució relativa de la resposta EAG mitjana de mascles tractats en relació al valor mitjà exhibit pels insectes control. Els resultats es van analitzar estadísticament segons el test de Student ($p<0,05$).

b) ASSAIG DELS ANÀLEGS EN CAMP

Els anàlegs també van ser provats en camp com a disruptors de l'acció de la feromona, avaluant la disminució relativa de les captures en trampes mostrada per una formulació específica, comparada amb l'activitat de la feromona sola. El objectiu de les proves era doble. Primer, buscar inhibidors de l'activitat atraient de la feromona natural i, segon, estudiar els efectes produïts pels inhibidors potencials sobre altres espècies de noctúids, com són *Mythimna unipuncta* i *Discestra trifolii*, per trobar formulacions més específiques per capturar solament mascles de *S. nonagrioides*.

Els experiments es van portar a terme entre el 27 de juliol i el 27 d'octubre de 1992 en un camp de blat de moro de la localitat d'Almacelles (Lleida). Els esquers es van preparar dissolent 0,2 mg de feromona i 2 mg dels compostos a provar en 1 ml d'hexà i transferint-ho a un vial de polietilè (3 x 1,1 cm d.i.). El dissolvent es va evaporar, i els vials tancats es van utilitzar com a dispensadors. Les trampes, del tipus ampolla d'aigua, es van penjar a una altura d'uns 1,5 m al voltant del camp i separades uns 30 m entre elles. Es van col·locar en un disseny lineal de blocs a l'atzar i revisades i rotades cada setmana. Per a cada formulació es van utilitzar 3 trampes i el nombre de captures es va analitzar estadísticament segons el test de Student ($p<0,05$). L'activitat inhibidora dels compostos es va calcular per la disminució relativa de les captures en comparació a la feromona sola.

c) PROVES EN TÚNEL DE VENT

Els anàlegs halogentas més interessants en les proves d'EAG I de camp es van avaluar com a inhibidors de la resposta de mascles de *S. nonagrioides* en assajos de túnel de vent. Aquestos anàlegs provats van ser els 3 fluoroacetats (Z11-16:FAc, Z11-16:F_2Ac, Z11-16:F_3Ac) i la trifluorometil cetona (Z11-16:TFP).

Les característiques del túnel de vent i les condicions dels assajos estan descrites en el capítol de MATERIAL I MÈTODES GENERALS (apartat ii.4).La velocitat del vent es va mantenir a 28 cm/s i es va donar una il·luminació de color vermell de 4 lux en el fons del túnel.

Els assajos d'inhibició es van portar a terme exposant als mascles a 1 μg de feromona juntament amb 10 μg d'anàleg. Els compostos es van aplicar a una silueta simulant una femella feta de cartolina de color marró, i aquesta es va col·locar en un clip penjada a una altura de 20 cm del sostre i a 30 cm de la part anterior de túnel.

Es van avaluar 6 categories de resposta: sense resposta, moviment d'antenes, inici de vol, vol fins la meitat del túnel, vol d'orientació i contacte amb la font. No obstant, i a efectes pràctics, en els resultats només s'han considerat les categories de sense resposta, moviment d'antenes, vol d'orientació i contacte amb la font. Cada mascle només va ser utilitzat en un experiment.

Per a cada anàleg es van utilitzar 39-41 mascles. El percentatge d'inhibició es va calcular per la disminució relativa de resposta en comparació a la feromona sola. Els resultats es van analitzar estadísticament per a cada categoria de resposta mitjançant una taula de contingència 2 x 2 χ^2 amb $p<0,05$ utilitzant el nombre real d'insectes amb resposta i sense resposta. Els resultats estan donats en percentatges d'inhibició de resposta.

4.3.- RESULTATS I DISCUSSIÓ

4.3.1.- ESTUDI DELS ANÀLEGS DE LA FEROMONA EN O. *Nubilalis*

a) ESTUDI EN LABORATORI (EAG)

En avaluar l'activitat intrínseca dels anàlegs en relació a la del complex feromonal 97:3 (Z11-14:Ac/E11-14:Ac)(Figura 4-4), tots els anàlegs van mostrar menor activitat electrofisiològica (com a màxim un 50% de resposta EAG comparat amb la feromona). Entre els anàlegs de 14C saturats és de remarcar l'alta activitat mostrada pel 14:OH (47%) en relació al 14:Ac (22%) i al 14:Ald (28%). Els anàlegs de 12C amb el doble enllaç en la mateixa posició-11 van mostrar una activitat mitjana (35-44%). Els anàlegs de la feromona amb diferent grup funcional també van exhibir una activitat EAG mitjana (28% pel Z11-14:OH i 32% pel Z11-14:Ald). Els anàlegs amb diferent posició del doble enllaç (posició-9) també van mostrar una resposta mitjana (28-39%). Pel que fa als fluoroacetats anàlegs és de destacar l'elevada activitat exhibida pel monofluoro- (Z11-14:FAc) i pel difluoroacetat (Z11-14:F_2Ac)(49% i 50%, respectivament) comparat amb la reduïda activitat del trifluoroacetat (16%). En relació a la trifluorometil cetona (Z11-14:TFP)(TFP és l'abreviatura d'1,1,1-trifluoropropanona), aquesta també va mostrar una activitat mitjana (35%).

Figura 4-4

Aquests resultats demostren que totes les parts de la cadena de la molècula de feromona juguen un paper important en la interacció feromona-receptor. Per una part és important el doble enllaç, com ho demostra la disminució dràstica d'activitat mostrada pel anàleg saturat (14:Ac). A més, també és molt important la posició d'aquest doble enllaç, demostrat per l'activitat del Z9-14:Ac (39%). El grup alquil terminal també es requerit per exhibir respostes EAG comparables, demostrat per l'activitat de l'11-12:Ac. Finalment, la variació del grup funcional també comporta una reducció important de l'activitat (Z11-14:OH i Z11-14:Ald).

Pel que fa a la substitució d'hidrògens per fluors en el grup acetat, això també comporta una disminució d'activitat. La substitució d'1 o 2 hidrògens (Z11-14:FAc i Z11-14:F_2Ac) dóna anàlegs amb considerable activitat electrofisiològica. En canvi, quan són 3 els hidrògens substituïts (Z11-14:F_3Ac) l'activitat decreix dràsticament. Sembla ser, doncs, que l'anàleg difluorat suposa la mida estèrica màxima tolerada per exhibir activitats electrofisiològiques elevades. Finalment la trifluorometil cetona (Z11-14:TFP), que suposa la substitució d'un àtom d'oxigen i un grup metil de la feromona per un grup metilè i un grup trifluorometil, respectivament, mostra una resposta moderada.

Els estudis d'inhibició es van dur a terme avaluant la resposta EAG mitjana a la feromona després de pre-saturar els receptors de l'antena amb vapors dels compostos, en comparació a mascles no tractats. Les dosis emprades estaven en l'interval 10-1000 μg, i les dosis més elevades han estat sempre les més efectives. Es van provar 6 insectes per a cada combinació de producte i dosi.

Alguns dels anàlegs assajats ja van estar estudiats com a inhibidors de la feromona d'*O. nubilalis* per Schwarz *et al.* (1990) i per Klun *et al.* (1991). Aquests autors havien realitzat els estudis mitjançant assajos de túnel de vent. Aquí es descriuen proves d'inhibició realitzades en EAG (inhibició de la resposta) i en camp (inhibició de captures en trampes de feromona). En un estudi realitzat per Wu *et al.* (1993) amb anàlegs fluorats de la feromona d'*Agrotis segetum* (Lepidoptera: Noctuidae), els autors troben que les proves de camp suposen una major discriminació entre els anàlegs feromonals per determinar la seva activitat que els assajos de túnel de vent.

Els anàlegs saturats de 14C (14:Ac, 14:OH i 14:Ald) han mostrat una relació dosi-efecte lineal, essent l'activitat inhibidora més gran en augmentar les dosis. Els 3 compostos han presentat una bona activitat d'inhibició a la dosi més alta (1000 μg)(Figura 4-5), amb valors del 77%, 44% i 66% d'inhibició, respectivament. A la dosi mitjana (100 μg), solament el 14:OH ha resultat tenir un efecte inhibidor significatiu (38% d'inhibició), i a la dosi més petita, cap dels 3 compostos ha mostrat un efecte inhibidor de la resposta de la feromona.

Figura 4-5

Els compostos de 12C amb doble enllaç en posició-11 (11-12:Ac, 11-12:OH i 11-12:Ald)(Figura 4-6) s'han comportat de manera similar als compostos de 14C saturats. També es produeix un efecte inhibidor creixent amb la dosi. A la dosi de 1000 μg els 3 productes mostren una elevada activitat inhibidora (70-80%). En canvi, a la dosi de 100 μg, tan sols l'11-12:Ac presenta un valor significatiu d'inhibició (37%), i a la dosi de 10 μg cap d'ells mostra activitat d'inhibició. És remarcable la nul·la activitat de l'11-12:OH a les dosis més petites, i en canvi un bon valor d'inhibició a la dosi de 1000 μg.

Figura 4-6

Figura 4-7

Els anàlegs de 14C amb el doble enllaç en la posició 9 (Figura 4-7) també presenten un efecte creixent amb la dosi, si bé amb uns valors d'inhibició, en general, menors que els compostos anteriors. Tan sols el Z9-14:Ald presenta una activitat inhibidora significativa a les dosis més altes: 50% d'inhibició a la dosi de 100 μg i 60% d'inhibició a la dosi de 1000 μg. Els altres dos compostos (Z9-14:Ac i Z9-14:OH) no presenten activitat d'inhibició significativa en cap de les dosis provades.

Els anàlegs en els que s'ha substituït el grup acetat de la feromona per un grup alcohol o aldehid (Z11-14:OH i Z11-14:Ald)(Figura 4-8), també presenten l'efecte inhibidor creixent amb la dosi. Mentre que l'alcohol no mostra inhibició significativa en cap de les dosis, l'aldehid presenta una forta activitat inhibidora a la dosi de 1000 μg (82%), i una molt menor activitat a les dues dosis petites.

El Z9-14:F_3Ac, anàleg amb dues variacions estructurals importants: desplaçament del doble enllaç de la posició-11 a la posició-9, i substitució dels 3 àtoms d'hidrogen del grup acetat per fluors, presenta valors d'inhibició significatius a les dosis de 100 i 1000 μg (37% i 54% d'inhibició, respectivament).

Figura 4-8

Els fluoroacetats anàlegs de la feromona presenten tots ells una forta activitat inhibidora de la resposta EAG a la dosi de 1000 μg (Figura 4-9). És remarcable la forta activitat del monofluoro- i difluoroacetat (92% i 96% d'inhibició, respectivament). A la dosi de 100 μg, solament el difluoroacetat mostra una inhibició significativa (40% d'inhibició).

Pel que fa a la trifluorometil cetona anàloga de la feromona, solament presenta una certa inhibició a la dosi de 1000 μg (41%)(Figura 4-9), mentre que a les dues dosis més petites l'activitat inhibidora és insignificant.

Figura 4-9

b) PROVES D'INHIBICIÓ EN CAMP

Els anàlegs també van ser provats en camp com a inhibidors de l'acció de la feromona, avaluant les captures en trampes esquerades amb barreges d'anàleg i feromona en relació 10:1, comparades amb les captures de la feromona sola. Com a feromona es va utilitzar la barreja d'isòmers 97:3 (Z/E) de l'acetat d'11-tetradecenil, que correspon a la raça feromonal Z d'*O. nubilalis*, i que és la predominant a la zona.

En l'assaig realitzat el 1993, amb els anàlegs estructurals (Figura 4-10), els compostos amb més poder inhibidor van ser el 14:OH, l'11-12:Ac, el Z9-14:Ac i el Z9-14:F_3Ac. És de destacar el 100% d'inhibició de captures mostrat per l'11-12:Ac i pel Z9-14:Ac. La resta de compostos no van mostrar cap efecte significatiu com a inhibidors o sinèrgics de l'acció de la feromona. S'ha de remarcar en aquestes proves les reduïdes captures assolides amb totes les formulacions. Això podria ser degut a que el tipus de trampa fos poc eficient (es va emprar trampes d'aigua), o a que el nivell poblacional en el camp fos baix.

Figura 4-10

En les proves realitzades el 1994 amb els anàlegs fluorats, mono-, di- i trifluoroacetat i trifluorometil cetona, tots ells van mostrar activitat inhibidora de la feromona significativa (Figura 4-11). Els fluoroacetats anàlegs (Z11-14:FAc, Z11-14:F_2Ac i Z11-14:F_3Ac) es van comportar de forma molt similar en quant al seu poder inhibidor. La trifluorometil cetona anàloga (Z11-14:TFP), tot i mostrar un efecte inhibidor significatiu, aquest va ser menor que el mostrat pels fluoroacetats.

Figura 4-11

Dels compostos saturats de 14C (14:Ac, 14:OH i 14:Ald) tots ells mostren poder inhibidor en EAG a la dosi de 1000 μg, mentre que a 100 μg, tan sols el 14:OH actua com a inhibidor. En les proves de camp, tan sols també el 14:OH actua com a inhibidor de captures. Schwarz *et al*. (1990) en estudis d'inhibició amb anàlegs en túnel de vent descriuen com a inhibidor al 14:Ald, i sense efecte significatiu al 14:Ac.

Dels compostos insaturats de 12C (11-12:Ac, 11-12:OH i 11-12:Ald) tots ells mostren poder inhibidor en EAG a la dosi de 1000 μg, mentre que a 100 μg, tan sols l'11-12:Ac actua com a inhibidor. En les proves de camp, tan sols també l'11-12:Ac actua com a un potent inhibidor (100% d'inhibició), i l'11-12:Ald tot i mostrar una reducció de captures, aquesta no és significativa. Schwarz *et al*. (1990) descriuen als tres compostos com a inhibidors de comportament en túnel de vent.

Dels compostos insaturats de 14C amb doble enllaç en Z9 (Z9-14:Ac, Z9-14:OH i Z9-14:Ald), tan sols el Z9-14:Ald mostra poder inhibidor significatiu en EAG a les dosis de 100 i 1000 μg. En les proves de camp, en canvi, el Z9-14:Ac és l'únic que actua inhibint dràsticament les captures de mascles (100% d'inhibició). El Z9-14:Ac ja va ser descrit per Struble *et al*. (1987) com a un potent inhibidor de les captures en trampes de la raça feromonal Z d'*O. nubilalis*. Glover *et al*. (1989) i Schwarz *et al*. (1990) també el descriuen com a inhibidor en túnel de vent. El trifluoroacetat anàleg d'aquest compost (Z9-14:F_3Ac), continua mantenint el seu poder inhibidor en els assajos d'EAG a les dosis de 100 i 1000 μg i en les proves de camp.

Pel que fa a l'alcohol i aldehid anàlegs de la feromona (Z11-14:OH i Z11-14:Ald), tan sols el segon es mostra com un potent inhibidor de la resposta EAG a la dosi de 1000 μg. En les proves de camp, cap dels dos compostos mostra inhibició de les captures de mascles en trampes. En canvi, Schwarz *et al*. (1990) descriuen als dos productes com a potents inhibidors del comportament en túnel de vent.

Els fluoroacetats anàlegs (Z11-14:FAc, Z11-14:F_2Ac i Z11-14:F_3Ac) mostren un marcat efecte inhibidor en els assajos d'EAG a la dosi de 1000 μg, mentre que a 100 μg sols mostra inhibició significativa el difluoroacetat. En les proves de camp, els tres fluoroacetats han mostrat un potent poder inhibidor de les captures de mascles. En canvi, Schwarz *et al*. (1990), descriuen al mono- i trifluoroacetat com a inhibidors significatius en túnel de vent, però no al difluoroacetat.

La trifluorometil cetona anàloga (Z11-14:TFP) tan sols mostra un moderat efecte inhibidor de la resposta EAG a la dosi més alta i en les proves de camp. També, Klun *et al*. (1991) descriuen a aquest compost com un moderat inhibidor de l'activitat de les esterases de l'antena en un estudi *in vivo*, però en proves en túnel de vent no actua com a inhibidor.

4.3.2.- ESTUDI DELS ANÀLEGS EN S. *nonagrioides*

a) BIOASSAJOS DE LABORATORI EN EAG

L'activitat EAG intrínseca dels haloacetats i de la trifluorometil cetona es va determinar en relació a la del component principal (Z11-16:Ac) i al complex feromonal. Els valors de deflecció mitjana apareixen en la

Figura 4-12. Entre els compostos provats i, tal com era d'esperar, l'acetat era el més potent (56% d'activitat en relació amb la barreja), seguit pel monofluoro- i trifluoroacetat (43% i 41%, respectivament). Els anàlegs fluorats mostraven respostes clarament superiors als corresponents derivats clorats, els quals solament eren moderadament actius. El bromoacetat mostrava una activitat anàloga als mono- i dicloroacetat, mentre que la trifluorometil cetona es comportava de forma similar al tricloroacetat.

Figura 4-12

Aquests resultats estan d'acord amb els descrits per Camps *et al*. (1990) en *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) i per Prestwich i Streinz (1988) en *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae), essent remarcable l'alta activitat mostrada pel mono- i trifluoroacetat en comparació a l'acetat no fluorat. Aquest resultat reflexa que en la interacció feromona-receptor i, per tant, en la resposta EAG influeix més el volum estèric del grup ester que el moment dipolar, tal com estava descrit anteriorment (Prestwich i Streinz, 1988; Camps *et al*., 1990), i que el canvi d'hidrogen per un àtom de volum similar com fluor (Allinger, 1976), dóna anàlegs amb elevada activitat electrofisiològica.

Aquest és el cas en *S. nonagrioides* i en el tortrícid *Cydia medicaginis* (Svatos *et al*., 1990), on l'activitat dels monofluoroanàlegs respecte al compost no fluorat són 77% i 73%, respectivament. En *P. xylostella* aquest activitat és del 55% i en *O. nubilalis* del 49%. En canvi, en *T. pityocampa* el corresponent anàleg solament mostra el 20% d'activitat de la feromona. En les proves de camp, malauradament, cap dels anàlegs mimetitzava l'acció de la molècula de feromona. Probablement, en aquest últim cas un major nombre de cèl·lules que en els casos anteriors, han de ser sintonitzades per la molècula de feromona, que és l'única estructura trobada fins ara en la glàndula feromonal (Guerrero *et al*., 1981). Els anàlegs fluorats es deuen fixar solament o preferentment sobre cèl·lules no específiques a la feromona per produir certa resposta EAG, però són incapaços d'induir el senyal de transducció per provocar el comportament d'atracció. En *S. nonagrioides* i *P. xylostella*, les feromones sexuals són sistemes multicomponents, que requereixen varis tipus de cèl•lules sensorials, on els anàlegs fluorats poden competir amb altres components de la feromona i, d'aquesta manera, mostrant respostes EAG superiors, tal com ha estat descrit per al noctúid *Heliothis virescens* (Morgan i Mandava, 1988). En *O. nubilalis*, que la feromona tan sols té dos components, aquesta resposta és intermèdia.

En els estudis d'inhibició portats a terme avaluant la resposta EAG mitjana a la barreja feromonal després de pre-saturar els receptors de l'antena amb vapors dels compostos, amb diferents dosis, es va observar que les dosis superiors, generalment, eren les més efectives.

Figura 4-13

Els anàlegs fluorats, excepte el monofluorat (Z11-16:FAc) a 1 μg, mostraven un efecte creixent amb la dosi, essent l'activitat inhibitòria més gran en augmentar les dosis. En general, els valors d'inhibició eren de moderats a bons, variant del 20% al 70%, i la majoria d'ells eren diferents estadísticament del control (Figura 4-13). És especialment notable el 58% d'activitat inhibitòria del monofluoroacetat a la dosi d'1 μg.

Figura 4-14

Els compostos clorats mostraven un efecte d'inhibició marcadament inferior que els corresponents anàlegs fluorats, essent important remarcar l'activitat del dicloro- i tricloroacetat (Z11-16:Cl2Ac i Z11-16:Cl3Ac) a la dosi d'1 μg en relació a les respostes EAG obtingudes a la dosi més alta (1000 μg)(Figura 4-14). És sorprenent la molt baixa activitat dels derivats clorats a la dosi de 10 μg, mentre que a 100 i 1000 μg els valors d'inhibició eren solament modests, malgrat que estadísticament significatius.

Quan es va provar el bromoacetat (Z11-16:BrAc), un altre cop es va obtenir una inhibició moderada (35-45%), però superior que el corresponent monoclorat (Z11-16:ClAc) a les dosis d'1 i 10 μg (Figura 4-15). Aparentment, la concentració no tenia efecte en l'activitat. De totes maneres, els resultats són consistents amb la grandària molecular relativa de l'anàleg, malgrat que la capacitat moderada del dicloro-, tricloro- i bromoderivat, tenint en compte els seus volums atòmics, per bloquejar els receptors de l'antena a algunes concentracions és una mica sorprenent.

Figura 4-15

La trifluorometil cetona va ser el compost provat menys actiu, inhibint la resposta feromonal només a 100 μg (Figura 4-15). Aparentment, en aquest cas, la substitució d'hidrogen per fluor és detrimental per a l'activitat del compost resultant, malgrat que s'ha de considerar que per a aquest anàleg fluorat han tingut lloc dues modificacions estructurals en la molècula de feromona: oxigen per un grup metilè i hidrogen per fluor, i que els efectes derivats no tenen per què ser necessàriament additius.

b) PROVES DE CAMP

Quan es van barrejar els anàlegs amb la barreja feromonal en una relació 10:1, es va obtenir una prominent activitat inhibitòria amb el monofluoroacetat (74% d'inhibició), mentre que el trifluoroacetat i el monobromoacetat eren inhibidors menys potents. La resta de compostos no tenien activitat, excepte la

trifluorometil cetona, la qual es comportava com un bon sinèrgic de la feromona, incrementant el nivell de captures un 68% respecte a la feromona sola (Figura 4-16).

Figura 4-16

L'acetat (Z11-16:Ac) i el corresponent alcohol (Z11-16:OH) són components molt comuns en les feromones de lepidòpters (Arn *et al*., 1986). Així, no és estrany capturar altres noctúids en el seguiment de *S. nonagrioides*, particularment *M. unipuncta* i *D. trifolii*. La feromona sexual de *M. unipuncta* va ser identificada com una barreja de Z11-16:Ac (Hill i Roelofs, 1980), Z11-16:OH (McDonough *et al*., 1980) i Z11-16:Ald (Steck *et al*., 1982), encara que les barreges dels dos darrers components amb el component majoritari no incrementen les captures de mascles. Z11-16:Ac i Z11-16:OH també han estat descrits com els constituents de la feromona sexual de *D. trifolii* (Underhill *et al*., 1976), i la formulació atraient òptima es va obtenir amb barreges dels dos components en una relació 9:1, d'acord amb altres resultats (Struble i Swailes, 1975).

En experiments preliminars portats a terme a Almacelles (Lleida), ja es va trobar que les trampes esquerades amb 0,5 mg de la composició de Mazomenos (1989), no solament es capturava *S. nonagrioides*, sinó també un elevat nombre de *M. unipuncta* i també de *D. trifolii* (Riba *et al*., 1992).

D'acord amb aquests resultats previs, la feromona capturava també mascles de *M. unipuncta* i *D. trifolii*. Malgrat tot, mentre les captures de *M. unipuncta* es van disminuir clarament amb barreges amb els compostos trifluorometil cetona (73% d'inhibició), difluoroacetat i tricloroacetat, *D. trifolii* era molt menys atret per esquers que contenien tots els anàlegs provats excepte el monofluoroacetat. És important remarcar la inhibició de captures quasi completa d'aquest últim mostrada pel trifluoroacetat i pel tricloroacetat (97% i 99% d'inhibició, respectivament). Per altra part, es va mostrar una activitat sinèrgica moderada però significativa pel trifluoroacetat en *M. unipuncta*, mentre que el monofluoroacetat va exhibir un efecte molt més marcat sobre les captures de *D. trifolii*, el qual incrementava quasi 4 vegades el nombre de mascles capturats per trampa en comparació amb l'esquer de feromona sola (Figures 4-17 i 4-18).

Figura 4-17

Figura 4-18

D'aquesta manera, la trifluorometil cetona s'ha comportat, no solament com un bon sinèrgic de la feromona en *S. nonagrioides*, sinó també com un notable inhibidor de l'activitat atraient de la feromona sobre *M. unipuncta* i *D. trifolii*. Així, trampes amb barreges de trifluorometil cetona i feromona en una relació 10:1 han mostrat una selectivitat remarcable capturant *S. nonagrioides* (24,0 mascles per trampa de mitjana), en relació a *M. unipuncta* (3,3 mascles) i *D. trifolii* (1,7 mascles). La feromona sola va capturar, de mitjana, 14,3, 12,3 i 20,7 mascles per trampa de les 3 espècies, respectivament. El monofluoroacetat, per contra, ha resultat ser un bon additiu per a la feromona per incrementar selectivament les captures de mascles de *D. trifolii* (95,3 mascles) comparat amb *S. nonagrioides* (3,7 mascles) i *M. unipuncta* (8,0 mascles).

Aquests resultats demostren que, malgrat les tres espècies comparteixen el component principal de la feromona sexual, la conformació dels receptors i/o els mecanismes degradatius funcionen de forma molt diferent.

c) PROVES EN TÚNEL DE VENT

A la Taula 4-1 apareixen els percentatges d'inhibició de resposta en túnel de vent de mascles de *S. nonagrioides* mostrada pels anàlegs fluorats del component principal de la feromona sexual. La feromona sola (1 μg) va exhibir uns percentatges bastants alts de resposta. Aquests van ser del 100% en moviment d'antenes, 85% en vol d'orientació i del 77% en el contacte amb la font.

Quan es va afegir a la feromona 10 μg dels diferents anàlegs es van trobar diferències segons els productes. L'addició del monofluoroacetat (Z11-16:FAc) va provocar una inhibició moderada en la primera seqüència de resposta (14%), mentre que la inhibició va ser elevada en les darreres seqüències (vol d'orientació i contacte amb la font). El difluoroacetat (Z11-16:F_2Ac) no va mostrar cap activitat inhibidora en tota la seqüència. El trifluoroacetat (Z11-16:F_3Ac) no va actuar com a inhibidor en el moviment d'antenes, però en canvi, si que es va mostrar com a bastant bon inhibidor del vol d'orientació i del contacte amb la font. Finalment, la trifluorometil cetona (Z11-16:TFP) va mostrar una activitat inhibidora moderada en el moviment d'antenes i en el vol d'orientació i una activitat inhibidora mitja en el contacte amb la font.

		INHIBICIÓ DE RESPOSTA (%)[b]		
PRODUCTEa	Insectes provats	Moviment d'antenes	Vol d'orientació	Contacte amb la font
Feromona sola	48	0	0	0
Z 11-16:FAc	44	14**	52**	79**
Z11-16:F_2Ac	41	2	2	8
Z11-16:F_3Ac	39	5	46**	53**
Z11-16:TFP	39	18**	25*	47**

Taula 4-1.- Inhibició de la resposta de rnascles de *Sesamia nonagrioides* en assajos en túnel de vent per exposició simultánia a la feromona i a análegs fluorats

aEn cada prova es va emprar 1 µg de feromona + 10 µg d'análeg. La feromona emprada mantenia la relació 77:8:10:5 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac).

bSignificació estadística $p<0,05$ (*) i $p<0,01$ (**) segons taula de contingència 2 x 2 χ^2.

Segons aquests resultats, el Z11-16:FAc s'ha mostrat com el millor inhibidor de resposta a la feromona en els assajos de túnel de vent, igual com s'havia exhibit en les proves de camp. El Z11-16:F_2Ac també s'ha comportat de la mateixa manera que en les proves de camp, o sigui, no ha mostrat cap tipus d'efecte en la resposta dels mascles. El Z11-16:F_3Ac ha exhibit una activitat inhibidora bastant bona en aquests assajos de túnel de vent, igual que en les proves de camp. Finalment, la trifluorometil cetona, que en les proves de camp havia mostrat una activitat sinèrgica de la feromona en relació 10:1, en túnel de vent ha exhibit una activitat inhibitòria. Probablement, en túnel de vent la concentració del producte és molt més crítica a l'hora de mostrar el seu efecte. És possible que en els assajos de túnel de vent la concentració de trifluorometil cetona sigui massa elevada, i això provoqui en l'insecte un efecte de confusió. Ja s'havia vist en les proves d'optimització de la resposta en túnel de vent amb la feromona (Capítol 2), que l'increment de dosi de feromona en la font provocava un efecte de disminució de resposta en els mascles.

Un aspecte a notar és que la inhibició mostrada per tots els anàlegs creix a mesura que avança la seqüència cap a la font. Probablement a llarga distància, on la ploma d'olor s'eixampla i, per tant, la concentració a l'atmosfera és menor, l'insecte és capaç de detectar la feromona, provocant-li els primers comportaments. En anar atansant-se cap a la font, la concentració del producte creix en l'atmosfera, de forma que pot competir eficientment amb la feromona en els receptors i, provocar, en aquest cas un major efecte d'inhibició.

Els anàlegs halogenats de la feromona sexual de *P. xylostella* ja havien estat prèviament estudiats en estudis electrofisiològics i bioquímics. Els compostos, particularment fluoroacetats, van mostrar una potent activitat EAG i ser uns bons inhibidors competitius de la hidròlisi del Z11-16:Ac al corresponent alcohol Z11-16:OH per les esterases de l'antena (Prestwich i Streinz, 1988).

En el mateix context, els fluoroacetats anàlegs de la feromona sexual d'*O. nubilalis* també havien estat provats com a inhibidors de la resposta de mascles del tipus E i Z en bioassajos de túnel de vent (Schwarz *et al.*, 1990). Els autors troben que aquests anàlegs mostren una activitat feromonal diferencial, mentre els compostos tenien una activitat feromonal de moderada a feble en el tipus Z, en el tipus E solament el monofluoroacetat era altament actiu. En l'apartat anterior s'ha vist que els tres fluoroacetats tenen una forta activitat inhibitòria de la resposta EAG i d'inhibició de captures en camp sobre la raça Z d'*O. nubilalis* present en aquesta zona.

Altres anàlegs halogenats del Z11-16:Ald, el component majoritari de la feromona sexual d'*H. virescens*, han mostrat una activitat inhibitòria reversible en laboratori i en camp. L'efecte s'ha postulat que ocorria a través d'un mecanisme associatiu-desassociatiu de l'anti-feromona i els receptors de l'antena (Morgan i Mandava, 1988). En la processionària del pi *T. pityocampa* també s'ha descrit que mentre els anàlegs fluorats eren moderadament actius, els corresponents anàlegs clorats mostraven una dèbil o nul·la activitat (Camps *et al.*, 1990). Els compostos també van ser provats com a inhibidors de la resposta feromonal en laboratori i en camp, essent els compostos fluorats notablement millors antagonistes de l'acció de la feromona que els corresponents no fluorats.

Pel que fa a les trifluorometil cetones anàlogues provades, en cap de les dues espècies han mostrat una forta activitat inhibidora de la resposta dels mascles. Fins i tot, en *S. nonagrioides*, s'ha observat un efecte sinèrgic en les captures de mascles en camp. Respecte a aquest tipus de compostos, en la literatura es troben resultats diferents segons les espècies. Així, Albans *et al.* (1984) descriuen a la metil cetona anàloga de la feromona d'*H. virescens*, *(Z)* -12-heptadecen-2-ona, com un inhibidor de la resposta a la feromona en túnel de vent. En *Antheraea polyphemus* l'1,1,1-trifluoro-2-tetradecanona resulta ser un potent inhibidor de l'activitat de les esterases (Vogt *et al.*, 1985). En *Trichoplusia ni*, aquest mateix compost i la *(Z)* -1,1,1-trifluoro-10-pentadecen-2-ona són també potents inhibidors de les esterases, però aquesta última no inhibeix les captures en

camp (Hammock *et al.*, comunicació personal a Prestwich, 1987). En canvi, en *P. xylostella* i *O. nubilalis*, les trifluorometil cetones anàlogues solament actuen com moderats inhibidors de l'esterasa (Prestwich i Streinz, 1988; Klun *et al.*, 1991). En *T. pityocampa*, les trifluorometil cetones anàlogues de la feromona no mostren activitat inhibidora de la resposta EAG, però sí d'inhibició de captures en camp en barrejar-les amb la feromona (Parrilla, 1993).

En conseqüència, es pot dir que l'activitat d'un determinat tipus d'anàleg no és extrapolable d'una espècie a una altra, sinó que s'ha d'estudiar cada cas en concret. Això demostra que les proteïnes relacionades amb la percepció de la feromona i el seu funcionament poden diferir notablement entre espècies. Aquest fenomen és notòriament clar en *S. nonagrioides*, *M. unipuncta* i *D. trifolii*, que malgrat ser espècies que comparteixen els components principals de la feromona sexual, la seva resposta a determinats anàlegs halogenats ha resultat ser completament diferent.

4.4.- CONCLUSIONS

1.- Els estudis en EAG dels anàlegs de la feromona sexual d'*O. nubilalis* demostren la forta especificitat de la molècula de feromona. Qualsevol canvi estructural en aquesta molècula suposa una reducció important de l'activitat electrofisiològica.

2.- Els anàlegs amb poques variacions estructurals, com els tres fluoroacetats, l'11-12:Ac i el Z9-14:Ac han mostrat una elevada capacitat d'inhibició sobre els mascles d'*O. nubilalis.*

3.- Els estudis electrofisiològics dels anàlegs de la feromona sexual de *S. nonagrioides* han mostrat que els fluoroacetats activen eficientment els receptors feromonals, donant despolaritzacions EAG més grans que els corresponents cloroderivats i bromoderivat, d'acord amb treballs previs.

4.- Els resultats confirmen que el volum estèric de la funció ester en els anàlegs juga un paper important produint interacció amb els receptors de l'antena. En els assajos de laboratori els derivats fluorats van ser millors inhibidors que els corresponents derivats clorats i bromat.

5.- Els millors inhibidors per a *S. nonagrioides* han resultat ser els anàlegs monofluoro- i trifluoroacetat en els tres tipus de proves (EAG, camp i túnel de vent).

6.- Les trifluorometil cetones s'han mostrat, en les dues espècies, com moderats inhibidors de la feromona, contrastant amb alguns dels resultats prèviament descrits en la literatura. Fins i tot, en *S. nonagrioides* ha mostrat un efecte sinèrgic en l'atracció de mascles en camp.

7.- En camp, l'efecte sinèrgic mostrat per la trifluorometil cetona, quan es barreja amb la feromona amb una relació 10:1, representa una formulació interessant per capturar mascles de *S. nonagrioides* selectivament, evitant les captures d'altres espècies com *M. unipuncta* i *D. trifolii*.

8.- També, l'efecte sinèrgic del monofluoroacetat amb la feromona sobre les captures de *D. trifolii* representa una formulació interessant per capturar selectivament mascles d'aquesta espècie. De la mateixa manera, el trifluoroacetat resulta ser un bon additiu per capturar selectivament mascles de *M. unipuncta*.

CONCLUSIONS GENERALS

1.- Pel que fa a l'estudi de la feromona sexual d'*O. nubilalis*, segons totes les proves realitzades, la raça feromonal present en el nord-est de la península Ibèrica de forma majoritària és la raça Z. Aquesta raça es caracteritza per posseir en la seva feromona sexual una proporció majoritària de l'isòmer Z de l'acetat d'11-tetradecenil.

2.- La barreja d'isòmers 97Z:3E de l'acetat d'11-tetradecenil constitueix un atraient efectiu per realitzar el seguiment dels vols d'*O. nubilalis* en tota la zona d'estudi.

3.- Aquesta barreja ha permès observar tres vols d'*O. nubilalis*, un vol en el mes de juny i dos vols solapats durant els mesos d'agost i setembre. El seguiment dels vols amb aquesta barreja pot permetre l'optimització del moment de l'aplicació de tractaments químics o de l'alliberament de parasitoides per al control de la plaga.

4.- Pel que fa a l'estudi de la feromona sexual de *S. nonagrioides*, la barreja dels components de la feromona 77:8:10:5 (Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11-16:Ald/12:Ac) ha estat la més activa sobre les antenes dels mascles de l'espècie en els estudis d'EAG.

5.- Aquesta barreja ha mostrat una activitat més gran que la barreja 69:8:8:15 prèviament descrita per Mazomenos (1989) en els estudis d'EAG, de túnel de vent i en les proves de camp sobre els mascles de *S. nonagrioides*. L'estudi de la corba dosi-resposta EAG demostra que els receptors de les antenes dels mascles mostren més selectivitat i més sensibilitat per la barreja 77:8:10:5 que per la barreja 69:8:8:15.

6.- Segons els estudis en túnel de vent, tots els quatre components de la feromona sexual de *S. nonagrioides* actuen com una unitat, de forma que la manca de qualsevol d'ells redueix sensiblement l'activitat de la barreja, tant a llarga com a curta distància.

7.- En la finalització de seqüència d'acoblament en *S. nonagrioides*, sembla que hi intervé la visió, segons els resultats de la comparació d'una silueta simulant una femella amb un cotó, com a font de feromona, en les proves de túnel de vent.

8.- La barreja 77:8:10:5 mostra una selectivitat en les captures de mascles de *S. nonagrioides* en trampes més gran respecte a *D. trifolii* que la barreja 69:8:8:15, però no respecte a *M. unipuncta*. Qualsevol d'aquestes dues barreges mostra una selectivitat pràcticament completa respecte a altres noctúids com *M. oleracea* i *M. brassicae*.

9.- L'aplicació de confusió sexual com a mètode de control de *S. nonagrioides* és eficaç per inhibir les captures de mascles de l'espècie i d'altres espècies de noctúids en trampes de feromona. Malgrat tot, el control d'inhibició de captures en trampes de feromona no resulta ser un sistema eficaç per a l'avaluació de la confusió sexual com a mètode de control. En algunes de les experiències s'ha assolit un 100% d'inhibició de captures, però posteriorment no s'ha observat una reducció de l'atac.

10.- En el desenvolupament de les poblacions de *S. nonagrioides* en un camp hi intervenen tota una sèrie de factors que fan difícil el prendre testimonis fiables de la confusió sexual. Entre aquests factors hi podrien estar la varietat, data de sembra, condicions microclimàtiques, sistema de cultiu, etc... S'han trobat variacions importants en l'atac del barrinador en camps testimonis de difícil explicació.

11.- L'aplicació de feromona sexual de *S. nonagrioides* en un camp sembla que redueix les poblacions larvals de l'altre barrinador *O. nubilalis*. En tots els assajos en que s'ha quantificat l'atac d'aquest darrer, les poblacions sempre han estat més reduïdes en els camps tractats amb confusió sexual que en els testimonis.

12.- Els estudis en EAG dels anàlegs de la feromona sexual d'*O. nubilalis* demostren la forta especificitat de la molècula de feromona. Qualsevol canvi estructural en aquesta molècula suposa una reducció important de l'activitat electrofisiològica.

13.- Els estudis electrofisiològics dels anàlegs de la feromona sexual de *S. nonagrioides* han mostrat que els fluoroacetats activen eficientment els receptors feromonals, donant despolaritzacions EAG més grans que els corresponents cloroderivats i bromoderivat, d'acord amb treballs previs.

14.- Els resultats dels estudis d'anàlegs estructurals en *S. nonagrioides* confirmen que el volum estèric de la funció ester juga un paper important produint interacció amb els receptors de l'antena. En els assajos de laboratori els derivats fluorats van ser millors inhibidors que els corresponents derivats clorats i bromat.

15.- S'han trobat anàlegs feromonals en les dues espècies amb una elevada capacitat d'inhibició sobre la percepció de la feromona per part dels mascles. Per *O. nubilalis*, els anàlegs amb poques variacions estructurals, com els tres fluoroacetats, l'11-12:Ac i el Z9-14:Ac han estat els millors inhibidors. Per a *S. nonagrioides*, els millors inhibidors han resultat ser els anàlegs monofluoro- i trifluoroacetat. Aquests productes poden tenir un futur interessant en experiències de confusió sexual com a mètode de control.

16.- Les trifluorometil cetones anàlogues de la feromona s'han mostrat, en les dues espècies, com moderats inhibidors de la feromona, contrastant amb alguns dels resultats prèviament descrits en la literatura. Fins i tot, en *S. nonagrioides* ha mostrat un efecte sinèrgic en l'atracció de mascles en camp.

17.- En camp, l'efecte sinèrgic mostrat per la trifluorometil cetona anàloga de la feromona sexual de *S. nonagrioides*, quan es barreja amb la feromona en una relació 10:1, representa una formulació interessant per capturar mascles de *S. nonagrioides* selectivament, evitant les captures d'altres espècies com *M. unipuncta* i *D. trifolii*. Igualment, el monofluoroacetat resulta ser un bon additiu de la feromona per capturar selectivament mascles de *D. trifolii*, i el trifluoroacetat per capturar selectivament mascles de *M. unipuncta*.

BIBLIOTECA VIRTUAL
MIGUEL DE CERVANTES

BIBLIOGRAFÍA

ADAMS, R.G., MURRAY, K.D. i LOS, L.M. (1989). Effectiveness and selectivity of sex pheromone lures and traps for monitoring fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) adults in Connecticut sweet corn. *J. Econ. Entomol.* **82**, 285-290.

ALBAJES, R., CANELA, R., EIZAGUIRRE, M., RIBA, M. i GUERRERO, A. (1985). (Z)-9-Tetradecen-1-ol, an attractant for *Athetis hospes* Freyer. *Colloq. INRA* **46**, 55-58.

ALBANS, K.R., BAKER, R., JONES, O.T., JUTSUM, A.R. i TURNBULL, M.D. (1984). Inhibition of response of *Heliothis virescens* to its natural pheromone by antipheromones. *Crop Prot.* **3**, 501-506.

ALFARO, A. (1972). Notas sobre *Ostrinia nubilalis* (Hub.) i *Sesamia nonagrioides* (Lef.). *Ann. I.N.I.A. Serie: Prot. Veg.* **2**, 145-170.

ALFARO, A. i HERNÁNDEZ, P. (1973). Cadencia de aparición de los "barrenadores" del maíz, a partir de cañas mantenidas durante el invierno en evoluecionario. *Bol. Inf. Plagas* **104**, 5-9.

ALLINGER, N.L. (1976). Calculation of molecular structure and energy by field-force methods. *Adv. Phys. Org. Chem.* **13**, 1-82.

ALVARADO, M., DURAN, J.M., ALAMEDA, A., CABEZAS, J., BARBA, L., ARANDA, E. i DE LA ROSA, A. (1986). Acaros-taladros en el maíz de la vega del Guadalquivir (Sevilla-Córdoba). IV Jornadas Técnicas sobre el Maíz, Lleida. Ponencias y Comunicaciones. Plagas, 63-81.

ANGLADE, P. (1962). Orientation des recherches français sur la resistance du maïs à la pyrale et à la Sésamie. Rapport de la deuxième réunion de la section "Maïs et Sorgho". Eucarpia p. 65, Roma.

ANGLADE, P. (1972). Les Sesamia. A "Entomologie appliquée à l'agriculture" (A.S. Balachowski, ed.). Tome II. Lépidoptères (2n volume). Masson et Cie., Paris.

ANGLADE, P. i BERGON, J. (1960). La protection du maïs contre la Sésamie (*Sesamia nonagrioides* Lef.). *Rev. Zool. Agric.* **59** (10-12), 121-127.

ANGLADE, P. i MOLOT, P.M. (1967). Facteurs biochimiques de résistance du maïs commune a certains insectes et cryptogames paphogènes. *Med. Fac. Landbow., Rijksuniv. Gent* **32**, 253-1061.

ANGLADE, P., STOCKEL, J. i IWGO CO-OPERATORS (1984). Intraspecific sex-pheromone variability in the European corn borer *Ostrinia nubilalis* Hbn. (Lepidoptera: Pyralidae). *Agronomie* **4**, 183-187.

ARN, H. (1992). Mating disruption on its way to perfection: some thoughts. *Bull. OILB-SROP* **15** (5), 3-5.

ARN, H., TOTH, M. i PRIESNER, E. (1986). List of sex pheromones of Lepidoptera and related attractants. OILB-SROP, Paris.

ARIAS, A. i ALVEZ, C. (1973). Ciclos biológicos de los taladros del maíz *(Sesamia nonagrioides* Lef. y *Pyrausta nubilalis* Hb.) durante 1971 en las Vegas del Guadiana (Badajoz). *Bol. Inf. Plagas* **103**, 9-87.

ATTYGALLE, A.B., HERRIG, M., VOSTROWSKY, O i BESTMANN, H.J. (1987). Technique for injecting intact glands for analysis of sex pheromones of Lepidoptera by capillary gas chromatography: reinvestigation of pheromone complex of *M. brassicae. J. Chem. Ecol.* **13**, 1299-1311.

AUDEMARD, H., LEBLON, C., NEUMANN, U. i MARBOUTIE, G. (1989). Bilan de sept années d'essais de lutte contre la Tordeuse orientale du pêcher *Cydia molesta* Busck (Lep., Tortricidae) par confusion sexuelle des mâles. *J. Appl. Entomol.* **108**, 191-207.

BABILIS, N.A. i MAZOMENOS, B.E. (1992a). Mating behaviour of the corn stalk borer *Sesamia nonagrioides. Entomol. Exp. Appl.* **65**, 199-204.

BABILIS, N.A. i MAZOMENOS, B.E. (1992b). Pheromone production in *Sesamia nonagrioides*: diel periodicity and effect of age and mating. *J. Insect. Physiol.* **38**, 561-564.

BADCOCK, K.W. (1927). The European corn borer, *Pyrausta nubilalis* HÜBN. II. A discussion of its seasonal history in relation to various climates. *Ecology* **8**, 177-193. A Guennelon (1972).

BAKER, T.C. i CARDÉ, R.T. (1979). Analysis of pheromone-mediated behaviors in male *Grapholita molesta*, the Oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Environ. Entomol.* **8**, 956-968.

BAKER, T.C. i LINN, Jr. (1984). Wind tunnels in pheromone research. A "Techniques in Pheromone Research" (H.E. Hummel i T.A. Miller, eds.) pp. 75-110. Springer-Verlag, New York.

BAKER, T.C., MEYER, W.R. i ROELOFS, W.L. (1981). Sex pheromone dosages and blend specificity of response by Oriental fruit moths. *Entomol. Exp. Appl.* **30**, 269-279.

BAKER, T.C., FRANCKE, W., MILLAR, J.G., LÖFSTEDT, C., HANSSON, B., DU, J.-W., PHELAN, P.L., VETTER, R.S., YOUNGMAN, R. i TODD, J.L. (1991). Identification and bioassay of sex pheromone components of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller). *J. Chem. Ecol.* **17**, 1973-1988.

BAKKE, A. (1982). Mass trapping of the spruce bark beetle *Ips typographus* in Norway as a part of an integrated control program. A "Insect Suppression with Controlled Release Pheromone Systems. Vol. II" (A.F. Kydonieus i M. Beroza, eds.) pp. 17-26. CRC Press, Boca Raton, Florida.

BAKKE, A. i RIEGE, L. (1982). The pheromone of the spruce bark beetle *Ips typographus* and its potential use

in the suppression of beetle populations. A "Insect Suppression with Controlled Release Pheromone Systems. Vol. II" (A.F. Kydonieus i M. Beroza, eds.) pp. 3-15. CRC Press, Boca Raton, Florida.

BAILEY, J.B., McDONOUGH, L.M. i HOFFMAN, M.P. (1986). Western avocado leaf-roller, *Amorbia cuneana* (Walsingham)(Lepidoptera: Tortricidae): Discovery of populations utilizing different ratios of sex pheromone components. *J. Chem. Ecol.* **12**, 1239-1245.

BARTELL, R.J. (1982). Mechanisms of communication disruption by pheromone in the control of Lepidoptera: a review. *Physiol. Entomol.* **7**, 353. A Tamaki (1988).

BECK, S.D. (1987). Developmental and seasonal biology of *Ostrinia nubilalis. Agric. Zool. Rev.* **2**, 59-97.

BENGTSSON, B.O. i LÖFSTEDT, C. (1990). No evidence for selection in a pheromonally polymorphic population. *Am. Naturalist* **136**, 722-726.

BEROZA, M. (1960). Insect attractants are taking hold. *Agric. Chem.* **15**, 37. A Tamaki (1988).

BEROZA, M. (1970). Chemicals controlling insect behavior. Academic Press, New York and London.

BERRY, E.C., GUTHRIE, W.D. i CAMPBELL, J.E. (1978). European corn borer: relationship between leaf-feeding damage and yield losses in inbred and single-cross corn. *Iowa State J. Research* **53**, 137-145. A Hudon *et al.* (1989).

BESTMANN, H.J., VOSTROWSKI, O., KOSCHATZKY, K.H., PLATZ, H., SZYMANSKA, A. i KNAUF, W. (1978). (Z)-11-hexadecenyl-acetat, ein Sexuallockstoff des Pheromonsystems der Kohleule *Mamestra brassicae. Tetrahedron Lett.* **19**, 605-608.

BJOSTAD, L.B., LINN, C.E., DU, J.W. i ROELOFS, W.L. (1984). Identification of new sex pheromone components in *Trichoplusia ni*, predicted from biosynthetic precursors. *J. Chem. Ecol.* **10**, 1309-1323.

BOECKH, J. (1962). Electrophysiologische untersuchungen an einzelnem geruchs-rezeptoren auf den antennen des totengräbers (Necrophorus: Coleoptera). *J. Vergl. Physiol.* **46**, 212-248. A Evershed (1988).

BORDEN, J.H. (1992). Two tree baiting tactics for the management of bark beetles with semiochemicals. *J. Appl. Entomol.* **114**, 201-207.

BOSELLI, F. (1959). Un nuovo importante parassita del riso la Sardegna: la perforatrice del culmi, *Sesamia nonagrioides* (Lef.) Tams (Lep. Noctuidae). *Ann. Sper. Agr.* **13**, 48-49. (RAE Ser. A. 50 p. 82). A Eizaguirre (1989).

BROOKS, T.W., DOANE, C.C., STATEN, R.T. (1979). Experience with the first commercial pheromone communication disruptive for suppression of an agricultural pest. A "Chemical Ecology: Odour Communication in Animals" (F.J. Ritter, ed.) pp. 375-388. Elsevier/North Holland Biomedical, Amsterdam.

BUTENANDT, A., BECKMANN, R., STAMM, D. i HECKER, E. (1959). Über den Sexual-Lockstoff des Seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und Konstitution. *Z. Naturforsch.* **14**, 283-284. A Tumlinson i Teal (1987).

C.A.B. (1979). Commonwealth Institute of Entomology. Distribution maps of pests: *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera: Noctuidae). Serie A. Map nº 399.

CAMPION, D.G. (1987). Survey of pheromone uses in pest control. A "Techniques in Pheromone Research" (H.E. Hummel i T.A. Miller, eds.) pp. 405-449. Springer-Verlag, New York.

CAMPS, F., GASOL, V. i GUERRERO, A. (1990). Inhibition of the processionary moth sex pheromone by some haloacetate analogues. *Pestic. Sci.* **29**, 123-134.

CANTELO, W.W. i JACOBSON, M. (1979). Corn silk volatiles attract many pest species of moths. *J. Environ. Sci. Health* **A14**, 695-707. A Hudon *et al.* (1989).

CARDÉ, R.T. i BAKER, T.C. (1984). Sexual communication with pheromones. A "Chemical Ecology of Insects" (W.J. Bell i R.T. Cardé, eds.) pp. 355-383. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.

CARDÉ, R.T i ELKINTON, J.S. (1984). Field trapping with attractants: Methods and interpretation. A "Techniques in Pheromone Research" (H.E. Hummel i T.A. Miller, eds.) pp. 111-129. Springer-Verlag, New York.

CARDÉ, R.T. i MINKS, A.K. (1995). Control of moths pests by mating disruption: successes and constraints. *Annu. Rev. Entomol.* **40**, 559-585.

CARDÉ, R.T., KOCHANSKI, J., STIMMEL, J.F., WHEELER, A.G.Jr. i ROELOFS, W.L. (1975). Sex pheromone of the European corn borer *(Ostrinia nubilalis*): cis- and trans-responding males in Pennsylvania. *Environ. Entomol.* **4**, 413-414.

CARDÉ, R.T., BAKER, T.C. i CASTROVILLO, P.J. (1977). Disruption of sexual communication in *Laspeyresia pomonella* (Codling moth), *Grapholita molesta* (Oriental fruit moth) and *G. prunivora* (Lesser appleworm) with hollow fiber attractant sources. *Entomol. Exp. Appl.* **22**, 280-288.

CARDÉ, R.T., ROELOFS, W.L., HARRISON, R.G., VAWTER, A.T., BRUSSARD, P.F., MUTUURA, A. i MUNROE, E. (1978). European corn borer: pheromone polymorphism or sibling species?. *Science* **199**, 555-556.

CARPENTER, J.E. i SPARKS, A.N. (1982). Effects of vision on mating behavior of the male Corn earworm. *J. Econ. Entomol.* **75**, 248-250.

CASTAÑERA, P. (1986). Plagas del maíz, IV Jornadas Técnicas sobre el maíz, Lleida. Plagas 1-24. MAPA, Madrid.

CASTROVILLO, P.J. i CARDÉ, R.T. (1980). Male Codling moth *(Laspeyresia pomonella*) orientation to visual cues in the presence of pheromone and sequences of courtship behaviors. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **73**, 100-105.

CHARMILLOT, P.J. (1987). Some considerations on mating disruption of codling moth *Cydia pomonella* and summerfruit tortrix moth *Adoxophyes orana* in apple orchards. *Bull. OILB-SROP* **10** (3), 11-16.

CHARMILLOT, P.J. (1989). Technique de confusion contre la tordeuse de la pelure *Adoxophyes orana* F.v.R.: étude du comportement des papillons et éssais de lutte. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* **21**, 337-346.

CHARMILLOT, P.J. (1992). Mating disruption technique to control grape and wine moths: general considerations. *Bull. OILB-SROP* **15** (5), 113-116.

CHARMILLOT, P.J. i BLOESCH, B. (1987). La technique de confusion sexuelle: un moyen spécifique de lutte contre le carpocapse, *Cydia pomonella* L. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* **19**, 129-138.

CHARMILLOT, P.J., BLOESCH, B., SCHMID, A. i NEUMANN, U. (1987). Lutte contre cochylis de la vigne *Eupoecilia ambiguella* Hb. par la technique de confusion sexuelle. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* **19**, 155-164.

CIAMPOLINI, M. i ZANGHERI, S. (1975). *Sesamia nonagrioides* Lef. e *Peridroma saucia* Hb. (Lep., Noctuidae) dannose a colture floricole. *Boll. Zool. Agric. Bachic. Ser. II* **13**, 37-47. A Rotundo *et al.* (1985).

DE LEÓN, A. (1995). El sector maicero en España. *AGPME-INFO* **5**, 28-31.

DELGADO, D. (1929). Las orugas del maíz. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agric.* **4**, 1-20.

DENNEHY, T.J., ROELOFS, W.L., TASCHENBERG, E.F. i TAFT, T.N. (1990). Mating disruption for control of grape berry moth in New York vineyards. A "Behavior-Modifying Chemicals for Pest Management: Applications of Pheromone and Other Attractants" (R.L. Ridgway, R.M. Silverstein i M.N. Inscoe, eds.) pp. 223-240. Marcel Dekker, New York.

DeROZARI, M.B., SHOWERS, W.B. i SHAW, R.H. (1977). Environmental and the sexual activity of the European corn borer. *Environ. Entomol.* **6**, 657-665. A Hudon *et al.* (1989).

DESCOINS, C., PRIESNER, E., GALLOIS, M., ARN, H. i MARTIN, G. (1978). Physiologie des Insectes. Sur la sécrétion phéromonale des femelles vierges de *M. brassicae* et de *M. oleracea* (Hadeninae, Noct.). *C. R. Acad. Sci. Ser. D.* **286**, 77-80.

DICKE, F.F. (1932). Studies on the host plants of the European corn borer *Pyrausta nubilalis* Hübner in southeastern Michigan. *J. Econ. Entomol.* **25**, 868-878. A Hudon *et al.* (1989).

DIMOND, J.B., MOTT, D.G., KEMP, W.P. i KRALL, J.H. (1984). A field test of mating-suppression using the spruce budworm sex pheromone. *Tech. Bull. Agric. Exp. Stn. Univ. Maine No. 113, 21 pp.*

DITTRICK, L.E., JONES, R.L. i CHIANG, H.C. (1983). An oviposition deterrent for the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) extracted from larval frass. *J. Insect Physiol.* **29**, 119-121. A Hudon *et al.* (1989).

DUNKELBLUM, E. i MAZOR, M. (1993). Chemical characterization and species specificity of sex pheromones of Plusiinae moths in Israel. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* **22**, 413-424.

DUNKELBLUM, E., KEHAT, M. i GOTHILF, S. (1987). Mating disruption of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*, monitored by direct night observations. *Bull. OILB-SROP* **10** (3), 27-29.

DURANT, J.A. i MANLEY, D.G. (1987). Relative efficiencies of two European corn borer sex pheromone blends in South Carolina. *J. Agric. Entomol.* **4**, 82-86.

DURANT, J.A., MANLEY, D.G. i CARDÉ, R.T. (1986). Monitoring of the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) in South Carolina using pheromone traps. *J. Econ. Entomol.* **79**, 1539-1543.

ECKENRODE, C.J., ROBBINS, P.S., i ANDALORO, J.T. (1983). Variation in flight patterns of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) in New York. *Environ. Entomol.* **12**, 393-396. A Hudon *et al.* (1989).

EIZAGUIRRE, M. (1989). Inducción de la diapausa en *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera, Noctuidae) y su papel en el ciclo biológico de las comarcas de Lérida. Tesis Doctoral, ETSEA.

ELLIOT, W.M., RICHARDSON, J.D. i FOUNK, J. (1982). The age of female European corn borer moths *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in the field and tests of its use in forecasting damage to green peppers. *Can. Entomol.* **114**, 769-774. A Hudon *et al.* (1989).

EVERSHED, R.P. (1988). Insect olfaction and molecular structure. A "Handbook of Natural Pesticides. Vol. IV" (E.D. Morgan i N.B. Mandava, eds.) pp. 1-34. CRC Press. Boca Raton, Florida.

FAO (1973). Outbreaks and new records plant protection. *Bull. FAO* **21**, 64-67.

FEYTAUD, J. (1923). Les insectes du maïs. La noctuelle ou Sésamie *(Sesamia nonagrioides* Lef.). *Rev. Zool.*

Agric. Appl. **22**, 218-223. A Eizaguirre (1989).
FLETCHER-HOWELL, G., FERRO, D.N. i BUTKEWICH, S. (1983). Pheromone and blacklight trap monitoring of adult European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) in western Massachusetts. *Environ. Entomol.* **12**, 531-534. A Hudon *et al.* (1989).
FRÉROT, B. i FOSTER, S.P. (1991). Sex pheromone evidence for two distinct taxa within *Graphania mutans* (Walker). *J. Chem. Ecol.* **17**, 2077-2093.
GALICHET, P.F. (1982). Hivernation de una population de *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lep., Noctuidae) en France Méridional. *Agronomie* **2**, 561-566.
GANJIAN, I., PETTEI, M.J., NAKANISHI, K. i KAISSLINJ, K.E. (1978). A protoaffinity-labelled insect sex pheromone for the moth *Antheraea polyphemus. Nature* **271**, 157.
GELB, M.H., SVAREN, J.P. i ABELES, R.H. (1985). Fluoro ketone inhibitors of hydrolytic enzymes. *Biochemistry* **24**, 1813-1821.
GHIDIU, G.M., BERRY, E.C. i DUBOSE, P. (1979). Relationship between entrance holes and stalk cavities caused by 1st-, and 2nd-generation European corn borer in field corn. *J. Econ. Entomol.* **72**, 85-86. A Hudon *et al.* (1989).
GLOVER, T.J., PEREZ, N. i ROELOFS, W.L. (1989). Comparative analysis of sex-pheromone-response antagonists in three races of European corn borer. *J. Chem. Ecol.* **15**, 863-873.
GLOVER, T.J., CAMPBELL, M., ROBBINS, P.S. i ROELOFS, W.L. (1990). Sex-linked control of sex pheromone behavioral responses in European corn borer moths (*Ostrinia nubilalis*) confirmed with TPI marker gene. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* **15**, 67-77.
GUENNELON, G. (1972). La Pyrale du maïs. A "Entomologie Appliqueé a l'Agriculture" (A.S. Balachowski, ed.). Tome II Lépidoptères (2n volume). Masson et Cie., Paris.
GUENNELON, G. i AUDEMARD, H. (1960). La Pyrale du Maïs (*Ostrinia nubilalis* Hbn.)(Lépidoptères, Pyralidae) dans la basse vallée du Rhône: observations écologiques, incidences économiques. *Ann. Épipht.* **11**, 337-395. A Guennelon (1972).
GUERIN, P.M., BALTRENSWEILER, W., ARN, H. i BUSER, H.-R. (1984). Host race pheromone polymorphism in the larch budmoth. *Experientia* **40**, 892-894.
GUERRERO, A., CAMPS, F., COLL, J., RIBA, M., EINHORN, J., DESCOINS, C. i LALLEMAND, J.Y. (1981). Identification of a potential sex pheromone of the processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae). *Tetrahedron Lett.* **22**, 2013.
GUERRERO, A., MURGO, R. i MARTORELL, X. (1986). An improved electroantennogram apparatus with a new automatic sample injection system. *Physiol. Entomol.* **11**, 273-277.
GUTHRIE, W.D., TSENG, C.T., RUSSELL, W.A., COATS, J.R., ROBBINS, J.C. i TOLLEFSON, J.J. (1986). DIMBOA content at seven stages of plant development in a maize synthetic cultivar. *J. Kansas Entomol. Soc.* **59**, 356-360. A Hudon *et al.* (1989).
GUTIERREZ, C. i CASTAÑERA, P. (1986). Efecto de los tejidos del maíz con alto y bajo contenido en DIMBOA sobre la biologia del taladro *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera, Noctuidae). *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* **1**, 109-119.
HARBORNE, J.B. (1982). Introduction to ecological biochemistry. 2nd Ed., Academic Press, London.
HARDEE, D.D. (1982). Mass trapping and trap cropping of the boll weevil, *Anthonomus grandis* Boheman. A "Insect Suppression with Controlled Release Pheromone Systems. Vol. II" (A.F. Kydonieus i M. Beroza, eds.) pp. 65-71. CRC Press, Boca Raton, Florida.
HAYNES, K.F. i HUNT, R.E. (1990). A mutation in pheromonal communication system of cabbage looper moth, *Trichoplusia ni. J. Chem. Ecol.* **16**, 1249-1257.
HEATH, R.R. i TUMLINSON, J.H. (1984). Techniques for purifying, analyzing and identifying pheromones. A "Techniques in Pheromone Research" (H.E. Hummel i T.A. Miller, eds.) pp. 287-322. Springer-Verlag, New York.
HILL, A.S. i ROELOFS, W.L. (1980). A female-produced sex pheromone component and attractant for males in the armyworm moth, *Pseudaletia unipuncta. Environ. Entomol.* **9**, 408-411.
HODGSON, B.E. (1928). The host plants of the European corn borer in New England. *U.S. Dep. Agric. Tech. Bull. No. 77.* A Hudon *et al.* (1989).
HÜBNER, J. (1796). Sammlung europäischer Schmetterlinge. Pyralidae. *XIV Sechste Horde* **24**, 14. Augsburg. A Hudon *et al.* (1989).
HUDON, M. i LeROUX, E.J. (1986a). Biology and population dynamics of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) with special reference to sweet corn in Québec. I. Systematics, morphology, geographical distribution, host range economic importance. *Phytoprotection* **67**, 39-54.
HUDON, M. i LeROUX, E.J. (1986b). Biology and population dynamics of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) with special reference to sweet corn in Québec. II. Bionomics. *Phytoprotection* **67**, 81-92.

HUDON, M., LeROUX, E.J. i HARCOURT, D.G. (1989). Seventy years of European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) research in North America. A "Biology and Population Dynamics of Invertebrate Crop Pests" (G.E. Russell, ed.) pp. 1-44. Intercept, Andover, Hamshire.

JACOBSON, M. (1972). Insect sex pheromones. Academic Press, New York.

JENKINS, J.W., DOANE, C.C., SCHUSTER, D.J. i JIMENEZ, M.J. (1990). Development and commercial application of sex pheromone for control of the tomato pinworm. A "Behavior-Modifying Chemicals for Pest Management: Applications of Pheromone and Other Attractants" (R.L. Ridgway, R.M. Silverstein i M.N. Inscoe, eds.) pp. 269-280. Marcel Dekker, New York.

KAISSLING, K.E. (1971). Insect olfaction. A "Handbook of Sensory Physiology" (L.M. Beidler, ed.), Vol. 4, pp. 351-431. Springer-Verlag, Berlin. A Vogt (1987).

KAISSLING, K.E. (1974). Sensory transduction in insect olfactory receptors. A "Biochemistry of Sensory Functions" (L. Jaenicke, ed.), pp. 243-273. Springer-Verlag, Berlin. A Vogt (1987).

KAISSLING, K.E. i THORSON, J. (1980). Insect olfactory sensilla: Structural, chemical and electrical aspects of the functional organization. A "Receptors for Neurotransmitters, Hormones and Pheromones in Insects" (D.B. Sattelle, L.M. Hall i J.G. Hildebrand, eds.). Elsevier/North Holland Biomedical Press, New York. A Vogt (1987).

KAMM, J.A., McDONOUGH, L.M. i ROWE, K.E. (1989). Effect of dosage and ratio of sex pheromone components on behavior of *Chrysoteuchia topiaria* (Zeller)(Lepidoptera: Pyralidae). *Environ. Entomol.* **18**, 368-372.

KENNEDY, G.G. i ANDERSON, T.E. (1980). European corn borer trapping in North Caroline with various sex pheromone component blends. *J. Econ. Entomol.* **73**, 642-646. A Hudon *et al*. (1989).

KLUN, J.A. (1968). Isolation of a sex pheromone of European corn borer. *J. Econ. Entomol.* **61**, 484-487. A Klun i Brindley (1970).

KLUN, J.A. i BRINDLEY, T.A. (1970). Cis-11-tetradecenyl acetate, a sex stimulant of the European corn borer. *J. Econ. Entomol.* **63**, 779-780.

KLUN, J.A. i COOPERADORS (1975). Insect sex pheromones: intraspecific pheromonal variability of *Ostrinia nubilalis* in North America and Europe. *Environ. Entomol.* **4**, 891-894.

KLUN, J.A. i HUETTEL (1988). Genetic regulation of sex pheromone production and response: interaction of sympatric pheromonal types of European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Chem. Ecol.* **14**, 2047-2061.

KLUN, J.A. i MAINI, S. (1979). Generic basis of an insect chemical communication system: the European corn borer. *Environ. Entomol.* **8**, 423-426.

KLUN, J.A. i ROBINSON, J.F. (1971). European corn borer moth: sex attractant and sex attraction inhibitors. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **64**, 1083-1086.

KLUN, J.A., TIPTON, J.L. i BRINDLEY, T.A. (1967). 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA), an active agent in the resistance of maize to the European corn borer. *J. Econ. Entomol.* **60**, 1529-1533. A Hudon *et al*. (1989).

KLUN, J.A., CHAPMAN, O.L., MATTES, K.C. WOJTKOWSKI, P.W., BEROZA, M. i SONNET, P.E. (1973). Insect sex pheromones: minor amount of opposite geometrical isomer critical to attraction. *Science* **181**, 661-663.

KLUN, J.A., CHAPMAN, O.L., MATTES, K.C. i BEROZA, M. (1975). European corn borer and red-banded leafroller: disruption of reproduction behavior. *Environ. Entomol.* **4**, 871-876. A Hudon *et al*. (1989).

KLUN, J.A., SCHWARZ, M. i UEBEL, E.C. (1991). European corn borer: pheromonal catabolism and behavioral response to sex pheromone. *J. Chem. Ecol.* **17**, 317-334.

KNIPLING, E.F. i McGUIRE, J.U.Jr. (1966). Population models to test theoretical effects of sex attractants used for insect control. *U.S. Dep. Agric. Inf. Bull.* **308**, 20. A Campion (1987).

KOCHANSKI, J., CARDE, R.T., LIEBHERR, J. i ROELOFS, W.L. (1975). Sex pheromone of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in New York. *J. Chem. Ecol.* **1**, 225-231.

KOVALEV, B.G., NEDOPEKINA, S.F. i KOST, A.N. (1979). Identifikatsiya polovogo feromona samok ogorodnoi sovki, *Mamestra oleracea* L. (Lepidoptera: Noctuidae). *Dokl. Akad. Nauk USSR* **249**, 370.

KYDONIEUS, A.F. i BEROZA, M. (1982). Pheromones and their use. A "Insect Suppression with Controlled Release Pheromone Systems. Vol. I" (A.F. Kydonieus i M. Beroza, eds.) pp. 3-12. CRC Press, Boca Raton, Florida.

LANIER, G.N., SILVERSTEIN, R.M. i PEACOCK, J.W. (1979). Attractant pheromone of the European elm bark bettle (*Scolytus mulistriatus*): Isolation, identification, synthesis, and utilization studies. A "Perspectives in Forest Entomology" (J.R. Anderson i H.K. Kaya, eds.) chap. 12. Academic Press, New York. A Webb (1982).

LARUE, P. (1984). La Sésamie du maïs (*Sesamia nonagrioides* Lef.). Dégâts et actualisation de la lutte. *La*

Défense des Vegetaux **227**, 163-181.
LEE, D.A. (1988). Moth density and oviposition patterns of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in Alberta. *Environ. Entomol.* **17**, 220-224.
LEE, D.A. i SPENCE, J.R. (1987). Reproductive patterns of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) in Alberta. *Can. J. Zool.* **65**, 1733-1740.
LESPES, L. i JOURDAN, M.L. (1940). Observations sur la biologie de la Sesamie du maïs (*Sesamia vuteria* Stoll.) au Maroc. *Rev. Zool. Agric.* **39**, 49-58. A Eizaguirre (1989).
LEWIS, L.C. (1975). Natural regulation of crop pests in their indigenous ecosystems and in Iowa agroecosystems: bioregulation of economic insect pests. *Iowa State J. Research* **49**, 435-445. A Hudon *et al*. (1989).
LIANG, T.L. i ABELES, R.H. (1987). *Biochemistry* **26**, 7603-7608.
LINN, C.E.Jr. i GASTON, L.K. (1981). Behavioral function of the components and the blend of the sex pheromone of the cabbage looper, *Trichoplusia ni. Environ. Entomol.* **10**, 751-755.
LINN, C.E.Jr. i ROELOFS, W.L. (1983). The effect of varying proportions of the alcohol component on sex pheromone blend discrimination in male Oriental fruit moths. *Physiol. Entomol.* **8**, 291-306.
LINN, C.E.Jr. i ROELOFS, W.L. (1989). Response specificity of male moths to multicomponent pheromones. *Chem. Senses* **14**, 421-437.
LINN, C.E.Jr., BJOSTAD, L.B. DU, J.-W. i ROELOFS, W.L. (1984). Redundancy in a chemical signal: behavioral responses of male *Trichoplusia ni* to a 6-component sex pheromone blend. *J. Chem. Ecol.* **10**, 1635-1658.
LINN, C.E.Jr., CAMPBELL, M.G. i ROELOFS, W.L. (1987). Pheromone components and active spaces: what do moths smell and where do they smell it?. *Science* **237**, 650-652.
LODOS, N. (1982). Maize pest and their importance in Turkey. *Bull. Organisation Européenne et Méditerranée pour la Protection des Plantes* **11**, 87-89.
LÖFSTEDT, C., HANSSON, B.S., ROELOFS, W.L. i BENGTSSON, B.O. (1989). No linkage between genes controlling female pheromone production and male pheromone response in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). *Genetics* **123**, 553-556.
LOUGHNER, G.E. (1971). Precopulatory behaviour and mating success of the European corn borer under controlled conditions. *Iowa State J. Sci.* **46**, 1-5.
LOUGHNER, G.E. i BRINDLEY, T.A. (1971). Mating success of European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, as influenced by environmental factors. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **64**, 1091-1094.
MAZOMENOS, B.E. (1984). A sex attractant of the corn stalk borer, *Sesamia nonagrioides* (Lef.). Partial chemical purification and its biological activity under laboratory conditions. *Med. Fac. Landbouw. Rijksuniv. Gent.* **49** (3a), 675-681. MAZOMENOS, B.E. (1989). Sex pheromone components of corn stalk borer, *Sesamia nonagrioides* (Lef.). Isolation, identification and field tests. *J. Chem. Ecol.* **11**, 1241-1247.
McDONOUGH, L.M., KAMM, J.A. i BIERL-LEONHARDT, B.A. (1980). Sex pheromone of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Haworth)(Lepidoptera: Noctuidae). *J. Chem. Ecol.* **6**, 565-572.
MELAMED-MADJAR, V. i RACCAH, B. (1979). The tranestadial and vertical transmission of granulosis virus from the corn borer *Sesamia nonagrioides*. *J. Invertebr. Pathol.* **33**, 259-264.
MENDES, C. (1913). Lepidopteros mais daninhos a agricultura nos arredores de S. Fiel. Broteria, Salamanca. *Ser. Zool.* **11**, 40-44. (RAE Ser. A 1, 213).
MEEUSEN, R.L. i WARREN, G. (1989). Insect control with genetically engineered crops. *Annu. Rev. Entomol.* **34**, 373-381.
MIÉGE, E. (1921). Sur une invasion des cereales au Maroc par la *Sesamia nonagrioides*. *Bull. Soc. Pathol. Veg. France, Paris* **8**, 145-147. (RAE Ser. A 10, 265).
MONTEAGUDO, A. (1962). Breeding for corn borer resistance in Spain. Rapport de la deuxiéme réunion de la section "Maïs et Sorgho". Eucarpia, Roma. A Eizaguirre (1989).
MOORE, I., MELAMED-MADJAR, V., MUSZKAT, L. i MELAMED, V. (1986). Antennal responses of an Israeli population of *Ostrinia nubilalis* Hbn. (Lepid. Pyralidae) males to their female sex pheromone components: magnification of EAG amplitudes with antenna-head preparations connected in series. *Agronomie* **6**, 517-522.
MOORE, R.H. (1928). Odorous constituents of the corn plant in their relation to the European corn borer. *Proc. Okla. Acad. Sci.* **8**, 16-18. A Hudon *et al.* (1989).
MORGAN, E.D. i MANDAVA, N.B. (1988). CRC Handbook of Natural Pesticides. Vol IV, Pheromones, Part A. CRC Press, Boca Raton, Florida.
MORRADI, B., DANIALI, M. i BANIABBASI, N. (1979). Mites as natural enemies of Pentodon and Sesamia pests of sugar cane. *Entomol. New Soc. Sugarcane Technology* **6**, 16-17.

NAGAI, T., STARRATT, A.N., McLEOD, D.G.R. i DRISCOLL, G.R. (1977). Electroantennogram responses of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, to (Z)-and (E)-11-tetradecenyl acetates. *J. Insect Physiol.* **23**, 591-597.

NAÏBO, (1984). La Sésamie. *Phytoma. Défense des Cultures***.** Julliet-Août, 20-21.

NEISES, B. i STEGLICH, W. (1978). A simple procedure for preparation of carboxylic esters. *Angew. Chem. Int. De. Engl.* **17**, 522-523.

NEPVEU, P. (1953). Observations sur la morphologie et la biologie des Sésamies du maïs et du sorgho en France (*Sesamia nonagrioides* Lef. et *S. cretica* Led.). *Ann. Epiphyt.* **4**, 445-457. A Eizaguirre (1989).

NORLUND, D.A., JONES, R.L. i LEWIS, W.J. (1981). Semiochemicals. Their role in pest control. John Wiley & Sons, New York.

NUCIFORA, A. (1966). Appunti sulla biologia di *Sesamia nonagrioides* (Lef.) in Sicilia. *Tec. Agr.* **18**, 395-419.

PALANISWAMY, P., UNDERHILL, E.W., GILLOT, C. i WONG, J.W. (1986). Synthetic sex pheromone components disrupt orientation, but not mating, in the fall cankerworm, *Alsophila pometaria* (Lepidoptera: Geometridae). *Environ. Entomol.* **15**, 943-950.

PARRILLA, A. (1993). Estudios sobre mediadores químicos con actividad sobre el comportamiento de insectos. Tesis Doctoral. Universitat de Barcelona.

PEÑA, A., ARN, H., BUSER, H.-R., RAUSCHER, S., BIGLER, F., BRUNETTI, R., MAINI, S. i TÓTH, M. (1988). Sex pheromone of European corn borer, *Ostrinia nubilalis*: polymorphism in various laboratory and field strains. *J. Chem. Ecol.* **14**, 1359-1366.

PERDIGUER, A., GIMENO, F., AGUILAR, L., EIZAGUIRRE, M., RIBA, M. i SANS, A. (1992). Ensayos de confusión sexual en *Sesamia nonagrioides*. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* **7**, 253-260.

PERSOONS, C.J., VOERMAN, S., VERWIEL, P.E.J., RITTER, F.J., NOOYEN, W.J. i MINKS, A.K. (1976). Sex pheromone of the potato tuberworm moth, *Phthorimaea operculella*: Isolation, identification and field evaluation. *Entomol. Exp. Appl.* **20**, 289-300.

PRESTWICH, G.D. (1987). Chemical studies of pheromone reception and catabolism. A "Pheromone Biochemistry" (G.D. Prestwich i G.J. Blomquist, eds.) pp. 473-527. Academic Press, Orlando, Florida.

PRESTWICH, G.D. i STREINZ, L. (1988). Haloacetate analogs of pheromones: effects on catabolism and electrophysiology in *Plutella xylostella*. *J. Chem. Ecol.* **14**, 1003-1021.

PROTA, R. (1965). Osservazioni sull'etologia di *Sesamia nonagrioides* (Lef.) in Sardegna. *Studi Sass. Ann. Fac. Agr. Sassari* **13**, 336-360. A Rotundo *et al.* (1985).

PROTA, R. i CAVALLORO, R. (1974). Osservacioni sul comportamento di *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera, Noctuidae) allo scopo di condurre allevamenti massivi in laboratorio. *Studi Sassaresi III* **21**, 407-426. A Eizaguirre (1989).

PROTA, R. i DEL RIO, G. (1968). Efficacia de una trappola luminosa sulla sanità e produttività del granoturco. *T.C. Fasc.* **1**, 293-307. A Eizaguirre (1989).

PUENA, D. (1984). Etude du comportement sexuel et action d'irradiations aux rayonnements Gamma chez *Sesamia nonagrioides* Lef., Lepidoptera, Noctuidae; effects des doses substérilisantes sur la descendence. Ph.D. These. Universite de Droit, d'Economie et des Sciences d'Aix-Marseille.

QUARTEY, G.K. i COAKER, T.H. (1993). Role of sex pheromone components in the orientation behaviour of *Ephestia cautella*. *Entomol. Exp. Appl.* **66**, 237-245.

QUERO, C. i GUERRERO, A. (1993). Behavioural effects induced by the sex pheromone components of the Egyptian armyworm *Spodoptera littoralis*. *Bull. OILB-SROP* **16** (10), 320-323.

RAYNAUD, B. i CROUZET, B. (1985). La lutte contre la Pyrale par les Trichogrammes. *Phytoma. Défense des Cultures* **366**, 17-18.

RIBA, M., SANS, A., EIZAGUIRRE, M., PERDIGUER, A., GIMENO, F. i AGUILAR, L. (1992). Optimización de la composición del atrayente sexual de *Sesamia nonagrioides* Lef. *Bol. San. Veg. Plagas* **18** (1), 193-200.

ROELOFS, W.L. (1984). Electroantennogram assays: Rapid and convenient screening procedures for pheromones. A "Techniques in Pheromone Research" (H.E. Hummel i T.A. Miller, eds.) pp. 131-159. Springer-Verlag, New York.

ROELOFS, W.L. i CARDÉ, R.T. (1977). Responses of Lepidoptera to synthetic sex pheromone chemicals and their analogues. *Annu. Rev. Entomol.* **22**, 377-405.

ROELOFS, W.L. i COMEAU, A. (1971). Sex pheromone perception: electroantennogram responses of the red-banded leaf roller moth. *J. Insect Physiol.* **17**, 1969.

ROELOFS, W.L., COMEAU, A.; HILL, A. i MILLICEVIC, G. (1971a). Sex attractant of the Codling moth: Characterization with electroantennogram technique. *Science* **174**, 297-299.

ROELOFS, W.L., CARDÉ, R.T., BENZ, G. i SALIS, G. (1971b). Sex attractant of the larch bud moth found by electroantennogramm method. *Experientia* **27**, 1438.

ROELOFS, W.L., CARDÉ, R.T., BARTELL, R.J. i TIERNEY, P.G. (1972). Sex attractant trapping of the European corn borer in New York. *Environ. Entomol.* **1**, 606-608.

ROELOFS, W.L., DU, J.-W., TANG, X.-H., ROBBINS, P.S. i ECKENRODE, C.J. (1985). Three European corn borer populations in New York based on sex pheromones and voltinism. *J. Chem. Ecol.* **11**, 829-836.

ROELOFS, W.L., GLOVER, T., TANG, X.-H., SRENG, I., ROBBINS, P.S., ECKENRODE, C., LÖFSTEDT, C., HANSSON, B.S. i BENGTSSON, B.O. (1987). Sex pheromone production and perception in European corn borer moths is determined by both autosomal and sex-linked genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 7585-7589.

ROSSI, R. (1978). Insect pheromones. II. Synthesis of chiral components of insect pheromones. *Synthesis*, pp. 413.

ROTUNDO, G., TONINI, C., CAPIZZI, A. i MAINI, S. (1985). Il feromone sessuali di *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera: Noctuidae). *Boll. Lab. Ent. Agr. Filippo Silvestri* **42**, 191-206.

ROTUNDO, G., DE CRISTOFARO, A. i CALECA, V. (1993). Field evaluation of the sex pheromone components of corn stalk borer, *Sesamia nonagrioides* (Lef.)(Lepidoptera: Noctuidae). *Bull. OILB-SROP* **16** (10), 177.

SAPPINGTON, T.W. i SHOWERS, W.B. (1983). Effects of precipitation and wind on populations of adult European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Environ. Entomol.* **12**, 1193-1196. A Hudon *et al.* (1989).

SAVINELLI, C.E., BACHELER, J.S. i BRADLEY, J.R.Jr. (1986). Nature and distribution of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) larval feeding damage to cotton in North Carolina. *Environ. Entomol.* **15**, 399-402. A Hudon *et al.* (1989).

SCHMUTLERER, H., PIRES, A. i KLEIN KOCH, C. (1978). Zur Schädlingafauna der Kapverdischen Inseln. *Zur. Ang. Entomol.* **86**, 320-336. A Eizaguirre (1989).

SCHNEIDER, D. (1957). Elektrophysiologische untersuchungen von chemo- und mechanorezeptoren der antenne des seidenspinners *Bombyx mori* L. *Z. Vergl. Physiol.* **40**, 8. A Roelofs (1984).

SCHNEIDER, D. (1962). Electrophysiological investigation on the olfactory specificity of sexual attracting substances in different species of moths. *J. Insect Physiol.* **8**, 15. A Roelofs (1984).

SCHULTZ, P.B. i COFFELT, M.A. (1986). Comparative susceptibility of chrysanthemum cultivars to European corn borer. *J. Entomol. Sci.* **21**, 361-366. A Hudon *et al.* (1989).

SCHURR, K.M. i HOLDAWAY, F.G. (1965). The relation between plant injury in maize and ovipositional preference of *Ostrinia nubilalis* (Hbn.)(European corn borer). *Proc. 12th International Congress of Entomology, London, 1964*, pp. 607-608. A Hudon *et al.* (1989).

SCHURR, K.M. i HOLDAWAY, F.G. (1970). Olfactory responses of female *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyraustinae). *Entomol. Exp. Appl.* **13**, 455-461. A Hudon *et al.* (1989).

SCHWARZ, M., KLUN, J.A. i UEBEL, E.C. (1990). European corn borer sex pheromone inhibition and elicitation of behavioral response by analogs. *J. Chem. Ecol.* **16**, 1591-1604.

SEABROOK, W.D. (1978). Neurobiological contributions to understanding insect pheromone systems. *Annu. Rev. Entomol.* **23**, 471-485.

SHAW, D.A. i TUOMINEN, T.C. (1985). An efficient synthesis of 3-hydroxy-3-trifluoromethyl phthalide. *Synth. Commun.* **15**, 1291-1297.

SHOWERS, W.B., REED, G.L. i OLOUMI-SADEGHI, H. (1974). European corn borer: attraction of males to synthetic lure and to females of different strains. *Environ. Entomol.* **3**, 51-58. A Hudon *et al.* (1989).

SHOWERS, W.B., REED, G.L., ROBINSON, J.F. i DeROZARI, M.B. (1976). Flight and sexual activity of the European corn borer. *Environ. Entomol.* **5**, 1099-1104. A Hudon *et al.* (1989).

SHOWERS, W.B., DeROZARI, M.B., REED, G.L. i SHAW, R.H. (1978). Temperature-related climatic effects on survivorship of the European corn borer. *Environ. Entomol.* **7**, 717-723. A Hudon *et al.* (1989).

SHOWERS, W.B., BERRY, E.C. i VON KASTER, L. (1980). Management of 2nd-generation European corn borer by controlling moths outside the cornfield. *J. Econ. Entomol.* **73**, 88-91. A Hudon *et al.* (1989).

SOURCOUT, J. (1912). Note sur deux insectes parasites des cultures en Algérie. *Insecta* **2**, 331-333. (RAE Ser. A 2).

SRENG, I. i SRENG, L. (1988). Fine structure of the female sex pheromone-producing glands in *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera: Noctuidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* **17**, 345-357.

SRENG, I.; MAUME, B. i FREROT, B. (1985). Analyse de la sécrétion phéromonale produite par les femelles vierges de *Sesamia nonagrioides* (Lef.)(Lépidoptére, Noctuidae). *C.R. Acad. Sc. Paris*, t. 301, Série III, nº 9.

STECK, W.F., UNDERHILL, E.W., BAILEY, B.K. i CHISHOLM, M.D. (1982). A 4-component sex attractant for male moths of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta*. *Entomol. Exp. Appl.* **32**, 302.

STEINBRECHT, R.A. i SCHNEIDER, D. (1980). Pheromone communication in moths sensory physiology and behavior. A "Insect Biology in the Future" (M. Locke i D.S. Smith, eds.). Academic Press, New York. A Roelofs (1984).

STOCKEL, J.P., SCHMITZ, V., LECHARPENTIER, P., ROEHRICH, R., NEUMANN, U. i TORRES-VILA, M. (1992). Three years experience in the control of the grape moth, *Lobesia botrana* using mating disruption in a Bordeaux vineyard. *Bull. OILB-SROP* **15** (5), 117-120.

STRAUB, R.W., WEIRES, R.W. i ECKENRODE, C.J. (1986). Damage to apple cultivars by races of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* **79**, 359-363. A Hudon *et al*. (1989).

STRUBLE, D.L. i SWAILES, G.E. (1975). A sex attractant for the clover cutworm, *Scotogramma trifolii* (Rottenberg), a mixture of Z-11-hexadecen-1-ol acetate and Z-11-hexadecen-1-ol. *Environ. Entomol.* **4**, 632.

STRUBLE, D.L., ARN, H., BUSER, H.R., STÄDLER, E. i FREULER, J. (1980). Identification of four sex pheromone components isolated from calling females of *Mamestra brassicae*. *Z. Naturforsch.* **35c**, 45-48.

STRUBLE, D.L., BYERS, J.R., McLEOD, D.G.R. i AYRE, G.L. (1987). Sex pheromone components of an Alberta population of European corn borer *Ostrinia nubilalis* (Hbn.)(Lepidoptera: Pyralidae). *Can. Entomol.* **119**, 291-299.

SUCKLING, D.M., SHAW, P.W., KHOO, J.G.I. i CRUICKSHANK, V. (1990). Management of resistance in the lightbrown apple moth *Epiphyas postvittana* (Lepidoptera: Tortricidae) using mating disruption. *N. Z. J. Crop Hortic. Sci.* **18**, 89-98.

SVATOS, A., KALINOVA, B., BOREK, V. i VRKOC, J. (1990). *Cydia medicaginis* (Lepidoptera, Tortricidae) response to halogenated analogues of (E8, E10)-dodecadien-1-yl acetate. *Acta-Entomol. Bohemosl.* **87**, 393-395.

SWEENEY, J.D., McLEAN, J.A. i FRISKIE, L.M. (1990). Roles of minor components in pheromone-mediated behavior of western spruce budworm male moths. *J. Chem. Ecol.* **16**, 1517-1530.

TAMAKI, Y. (1988). Pheromones of the Lepidoptera. A "Handbook of Natural Pesticides. Vol. IV" (E.D. Morgan i N.B. Mandava, eds.) pp. 35-94. CRC Press, Boca Raton, Florida.

TEAL, P.E., TUMLINSON, J.H. i HEATH, R.R. (1986). Chemical and behavioral analyses of volatile sex pheromone components released by calling *Heliothis virescens* (F.) females (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Chem. Ecol.* **12**, 107-126.

TEDDERS, W.L., YONCE, C.E. i GENTRY, C.R. (1981). Feeding by European corn borer on peach trees. *J. Georgia Entomol. Soc.* **16**, 64-67. A Hudon *et al.* (1989).

THOMAS, W.P. i BURNIP, G.M. (1990). Mating disruption of currant clearwing, *Synanthedon tipuliformis. Proc. N. Z. Weed Pest Control Conf., 44th*. pp. 242-247.

THOMPSON, D.C., CAPINERA, J.L. i PILCHER, S.D. (1987). Comparison of an aerial water-pan pheromone trap with traditional trapping techniques for the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Environ. Entomol.* **16**, 154-158.

THOMPSON, W.R. i PARKER, H.L. (1928). The European corn borer and its controlling factors in Europe. *U.S. Dep. Agric. Tech. Bull.* **59**, 62 p. A Guennelon (1972).

TRIMBLE, R.M. (1993). Efficacy of mating disruption for controlling the grape berry moth, *Endopiza viteana* (Clemens)(Lepidoptera: Tortricidae), a case study over three consecutive growing seasons. *Can. Entomol.* **125**, 1-9.

TUMLINSON, J.H. i TEAL, P.E.A. (1987). Relationship of structure and function to biochemistry in insect pheromone systems. A "Pheromone Biochemistry" (G.D. Prestwich i G.J. Blomquist, eds.) pp. 3-26. Academic Press, Orlando, Florida.

UNDERHILL, E.W., STECK, W.F. i CHISHOLM, M.D. (1976). Sex pheromone of the clover cutworm moth, *Scotogramma trifolii*: isolation, identification, and field studies. *Environ. Entomol.* **5**, 307.

URQUIJO, P. (1939). Investigaciones sobre orugas minadoras del maíz en Galicia. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agric.* 8 pp. 87-98. A Eizaguirre (1989).

VAECK, M., REYNAERTS, A., HOFTE, H., JANSENS, S., DE BEUKELEER, *et al*. (1987). Transgenic plants protected from insect attack. *Nature* **328**, 33-37. A Meeusen i Warren (1989).

VAN GIESSEN, W.A., FESCEMYER, H.W., BURROWS, P.M., PETERSON, J.K. i BARNETT, O.W. (1993). Quantification of electroantennogram responses of the primaria rhinaria of *Acyrthosiphon pisum* (Harris) to C4-C8 primary alcohols and aldehides. *J. Chem. Ecol.* **20**, 909-927.

VILLUENDAS, I., PARRILLA, A. i GUERRERO, A. (1994). An efficient and expeditious synthesis of functionalized trifluoromethyl ketones through lithium-iodine exchange reaction. *Tetrahedron* **50**, 12673-12684.

VINAL, S.C. (1917). The European corn borer *Pyrausta nubilalis* Hübner, a recently established pest in

Massachusetts. *Massachusetts Agric. Exp. Stn. Bull.* **178**, 147-152. A Hudon *et al*. (1989).
VISSER, J.H. (1986). Host odor perception in phytophagous insects. *Annu. Rev. Entomol.* **31**, 121-144.
VOGT, R.G. (1987). The molecular basis of pheromone perception: its influence on behavior. A "Pheromone Biochemistry" (G.D. Prestwich, G.J. Blomquist, eds.), pp. 385-431. Academic Press, Orlando, Florida.
VOGT, R.G. i RIDDIFORD, L.M. (1986). Pheromone reception: A kinetic equilibrium. A "Mechanisms in Insect Olfaction" (T.L. Payne, M.C. Birch, C.E.J. Kennedy, eds.), pp. 201-208. Oxforf Univ. Press (Clarendon), London and New York. A Vogt (1987).
VOGT, R.G., RIDDIFORD, L.M. i PRESTWICH, G.D. (1985). Kinetic properties of a pheromone degrading enzyme: The sensillar esterase of *Antheraea polyphemus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 8827-8831. A Vogt (1987).
WEBB, R.E. (1982). Mass trapping of the gypsy moth. A "Insect Suppression with Controlled Release Pheromone Systems. Vol. II" (A.F. Kydonieus i M. Beroza, eds.) pp. 27-56. CRC Press, Boca Raton, Florida.
WEBER, D.C. i FERRO, D.N. (1991). Nontarget noctuids complicate integrated pest management monitoring of sweet corn with pheromone traps in Massachusetts. *J. Econ. Entomol.* **84**, 1364-1369.
WEBSTER, R.P. i CARDÉ, R.T. (1982). Influence of relative humidity on calling behaviour of the female European corn borer moth (*Ostrinia nubilalis*). *Entomol. Exp. Appl.* **32**, 181-185. A Hudon *et al*. (1989).
WEBSTER, R.P., CHARLTON, R.E., SCHAL, C. i CARDÉ, R.T. (1986). High efficiency pheromone trap for the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* **79**, 1139-1142.
WELLING, M. (1989). The appearance of different strains of the European corn borer in Germany. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* **24**, 225-229.
WITZGALL, P. (1990). Attraction of *Cacoecimorpha pronubana* male moths to synthetic sex pheromone blends in the wind tunnel. *J. Chem. Ecol.* **16**, 1507-1515.
WU, W., BENGTSSON, M., HANSSON, B.S., LILJEFORS, T., LÖFSTEDT, C., PRESTWICH, G.D., SUN, W.-C. i SVENSSON, M. (1993). Electrophysiological and behavioral responses of turnip moth males, *Agrotis segetum* to fluorinated pheromone analogs. *J. Chem. Ecol.* **19**, 143-157.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES