La Serie Universitaria de la Fundación Juan March presenta resúmenes, realizados por el propio autor, de algunos estudios e investigaciones llevados a cabo por los becarios de la Fundación y aprobados por los Asesores Secretarios de los distintos Departamentos.

El texto íntegro de las Memorias correspondientes se encuentra en la Biblioteca de la Fundación (Castelló, 77. Madrid-6).

La lista completa de los trabajos aprobados se presenta, en forma de fichas, en los Cuadernos Bibliográficos que publica la Fundación Juan March.

Los trabajos publicados en Serie Universitaria abarcan las siguientes especialidades: Arquitectura y Urbanismo; Artes Plásticas; Biología; Ciencias Agrarias; Ciencias Sociales; Comunicación Social; Derecho; Economía; Filosofía; Física; Geología; Historia; Ingeniería; Literatura y Filología; Matemáticas; Medicina, Farmacia y Veterinaria; Música; Química; Teología. A ellas corresponden los colores de la cubierta.

Edición no venal de 300 ejemplares
que se reparte gratuitamente a investigadores,
Bibliotecas y Centros especializados de toda España.

Fundación Juan March

FJM-Uni 169-Mar
Estudio del mecanismo secretor de hor
Martínez Pardo, Rafael.
1031771

Fundación Juan March (Madrid)

169 Estudio del mecanismo secretor de hormona juvenil en oncopeltus fasciatus/Rafael Martínez Pardo

SERIE UNIVERSITARIA

Fundación Juan March

Rafael Martínez Pardo

Estudio del mecanismo secretor de hormona juvenil en oncopeltus fasciatus

FJM
Uni-
169
Mar
169

Fundación Juan March (Madrid)

Fundación Juan March

Serie Universitaria

169

FUNDACION JUAN MARCH
EX-
LIBRIS

Rafael Martínez Pardo

Estudio del mecanismo secretor de hormona juvenil en oncopeltus fasciatus

Fundación Juan March
Castelló, 77. Teléf. 225 44 55
Madrid - 6

Fundación Juan March (Madrid)

Este trabajo fue realizado con una Beca de la Convocatoria de Eapaña, 1979, individual
Departamento de BIOLOGIA.
Centro de trabajo: Cátedra de Fisiologia Animal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Literaria de Valencia.

Los textos publicados en esta Serie Universitaria son elaborados por los propios autores e impresos por reproducción fotostática.

Depósito Legal: M - 41469 - 1981
I.S.B.N. : 84 - 7075 - 221 - 9
Impresión: Gráficas Ibérica. Tarragona, 34, Madrid-7

Fundación Juan March (Madrid)

I N D I C E

	Página
AGRADECIMIENTOS	7
INTRODUCCION	9
Necesidad de los plaguicidas e inconvenientes de su empleo	9
Posibilidades de la hormona juvenil, de sus análogos y de sus antagonistas en el control de plagas	12
Importancia del estudio del mecanismo regulador de la secreción de hormona juvenil en los insectos	15
MATERIAL Y METODOS	16
Insectos	16
Productos químicos	16
Tratamientos	17
Cultivos *in vitro*	17
RESULTADOS	22
DISCUSION	33
BIBLIOGRAFIA	36

Fundación Juan March (Madrid)

Fundación Juan March (Madrid)

AGRADECIMIENTOS

Quiero hacer constar mi mas profundo agradecimiento a la Fundeciión JUAN MARCH, por la concesión de la Beca, que ha hecho posible la realización del presente trabajo.

Al Prof. Dr. D. Antonio Núñez Cachaza, Catedrático Director del Departamento de Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias Biológicas de Valencia, por su constante apoyo, orientaciones y consejos a lo largo del desarrollo de las experiencias, así como por su inapreciable ayuda en la realización del estudio estadístico de los resultados y en la interpretación de los mismos.

Al Prof. Dr. William S. Bowers, de la New York State Agricultural Experiment Station, por la cesión de los insectos con los que se ha realizado el presente trabajo, así como de los productos químicos activos. Su constante interés en la marcha de las experiencias, así como su inestimable colaboración en el contraste de los resultados, han contribuido decisivamente en el desarrollo final del trabajo.

A las Stas. Ldas. D. Teresa Martínez Carrau y D. María Dolores Garcerá Zamorano, por la ayuda prestada en el mantenimiento de la colonia de insectos, y en la preparación de las experiencias.

Fundación Juan March (Madrid)

Fundación Juan March (Madrid)

INTRODUCCION

NECESIDAD DE LOS PLAGUICIDAS E INCONVENIENTES DE SU EMPLEO

Puede afirmarse en términos inequívocos que la Agricultura es una de las principales fuentes de desequilibrio ecológico conocida, ya que el cultivo extensivo de unas pocas especies vegetales útiles, en áreas limitadas, trae aparejada la eclosión de un gran número de consumidores primarios (insectos principalmente), que compiten con el Hombre por el aprovechamiento de tales alimentos (D'Orst, 1965; Molinier et Vignes, 1971).

En los países subdesarrollados el problema es, si cabe, mas acuciante, puesto que a unas prácticas agrícolas rudimentarias en muchos casos, cuyos resultados son siempre inferiores a los conseguidos en países más avanzados, se une la infrautilización de productos fitosanitarios. Todo ello conduce a que las pérdidas estimadas en la producción agraria de estos países atribuibles al ataque de insectos indebidamente controlados ronden el 30% del valor total de sus cosechas (Joly, 1972).

Este problema de pérdidas agrícolas producidas por el ataque de insectos no controlados, es muy antiguo. En el Anuario de la F.A.O. de 1963 ya se recogían cifras llamativas a este respecto: Mientras los países industrializados con Japón a la cabeza conseguían rendimientos agrícolas globales del orden de 5,5 Tm/Ha la India y otros países no industrializados no obtenían más que 0,8 Tm/Ha de productos agrícolas alimenticios. Mientras los primeros habían empleado diversos plaguicidas a una dosis media de 10 Kg/Ha, los segundos sólo habían empleado 0,2 Kg/Ha de dichos productos fitosanitarios.

Estas cifras que tienen casi 20 años de antigüedad hablan por sí mismas, respecto de los rendimientos agrarios que pueden obtenerse con prácticas avanzadas, las cuales suponen el empleo de los productos químicos de control de plagas adecuados. Hay que añadir además que el problema es aún más acuciante en la

Fundación Juan March (Madrid)

actualidad, ya que los desequilibrios tecnológicos son, ahora, mucho más acusados que en 1963.

A las pérdidas agrícolas imputables a la acción de algunas especies de insectos, hay que añadir las pérdidas de vidas humanas como consecuencia de enfermedades cuyo vector de transmisión es un insecto. Paludismo, malaria, elefantiasis, Enfermedad del sueño, etc. son ejemplos que ilustran lo citado. Por ello resulta evidente la necesidad de utilizar todos los medios de defensa que se encuentren al alcance del Hombre en su lucha contra los insectos (Beroza, 1972; Williams, 1976).

Hasta la fecha, los mejores resultados frente a las plagas producidas por insectos han sido los conseguidos mediante el empleo de plaguicidas químicos de síntesis. Sin embargo, su empleo indiscriminado, ó, abusivo, es a veces peligroso y, en muchos casos contraproducente. A sus ventajas indiscutibles, como eficacia, facilidad de uso, economía de producción, facilidad de transporte y distribución, almacenamiento en espacios reducidos, etc., unen una serie no menos importante de inconvenientes, que en determinadas ocasiones pueden superar de modo definitivo a sus indudables ventajas, haciendo desaconsejable, cuando no imposible, su empleo (D'Orst, 1965; Margalef, 1974).

Básicamente, los principales inconvenientes del empleo de plaguicidas químicos pueden resumirse en:

1.- Inducción de razas resistentes, cuya acción perjudicial es mayor
2.- Acción tóxica indiscriminada, y en ocasiones muy grave sobre el medio ambiente en todas sus posibles consideraciones, incluído el Hombre.

La aparición de razas resistentes está ligada a la presión ejercida sobre las poblaciones de insectos que se pretende controlar, por el propio producto utilizado para el control, cuando su empleo es continuado indefinidamente. La resistencia adquirida por la población puede ser general, dependiente de las vías normales de detoxicación propias del metabolismo del animal,

Fundación Juan March (Madrid)

ó puede ser específica, dependiendo esta última del empleo indiscriminado y contínuo de un mismo pesticida, lo que conduce indefectiblemente a la selección de una población de insectos poseedores de una vía específica de detoxicación del citado producto. (Gil-Corell, 1969; Margalef, 1974; Van Emden, 1974).

La resistencia general suele depender de un buen número de genes y su difusión dentro de la especie es lenta, mientras que la resistencia específica suele ir ligada a un número de genes muy reducido, con lo que su difusión dentro de la especie es muy lenta al principio, pero se dispara con gran velocidad inmediatamente, potenciada por el uso del plaguicida como agente específico de selección (Van Emden, 1974).

La acción sobre el medio ambiente es más difusa, puesto que las distintas comunidades se hallan estrechamente ligadas entre sí, y, salvo casos extremos pueden absorber sin daño aparante agresiones teóricamente muy fuertes. A pesar de ello, en muchos casos el efecto residual de los plaguicidas es mayor, con mucho, que su efecto directo, por lo que el empleo reiterado de los mismos, ó el uso de dosis de choque, pueden llevar a consecuencias catastróficas, como lo demuestra el estudio llevado a cabo en Clear Lake (California), donde como conscuencia de un tratamiento antimosquito efectuado con DDD, a una concentración de 0,007 partes por millón, ocurrió un desastre ecológico, traducido en la muerte de la mayor parte de las aves scuáticas y de la ictiofaunadel lago. En algunas aves acuáticas depredadoras se encontró el plaguicida a concentraciones de hasta 4000 partes por millón, mientras que en los peces estas concentraciones oscilaron entre 500 y 1000 partes por millón. (Gil Corell, 1969; Margalef, 1974).

Fundación Juan March (Madrid)

POSIBILIDADES DE LA HORMONA JUVENIL, DE SUS ANALOGOS Y DE SUS ANTAGONISTAS EN EL CONTROL DE PLAGAS

En el apartado anterior se ha puesto de manifiesto la necesidad del empleo de pesticidas químicos, como armas de choque en la lucha contra los insectos causantes de plagas, ó, vectores de enfermedades. Resulta innegable que prácticas agrícolas más racionales que la agricultura extensiva, podrían reducir el nivel de dependencia de estos productos, a la vez que quedarían minimizados los riesgos de su empleo. Sin embargo, la creciente necesidad mundial de alimentos, hace muy difícil pensar en la sustitución a corto ó medio plazo de los cultivos extensivos de productos alimenticios básicos en la alimentacion (cereales, tubérculos, leguminosas, etc.). Por ello deben investigarse soluciones que ofrezcan una alternativa adecuada al problema. Teniendo en cuenta esta perspectiva, la fisiología de los insectos permite pensar en algunos puntos de ataque (Menn y Beroza, 1972; Bowers, 1980).

El descubrimiento por Slama y Williams (1965) de la juvabiona (Ester metílico del ácido Todomáutico), un compuesto extraído de *Abies balsamea*, y presente en todas las pastas de papel de origen americano, tóxico para los insectos de la especie *Pyrrhocoris apterus*, por su acción agonista de la hormona juvenil, hizo pensar en dicha hormona y en otros productos químicos miméticos o agonistas de la misma, como en una nueva generación de insecticidas (Williams, 1967; Schneiderman, 1972; Wright y otros, 1974a y b).

La hormona juvenil y sus análogos más activos son sustancias de pequeño peso molecular, estructura química relativamente simple y, generalmente no resultan tóxicas para animales que no sean insectos, (Bagley y Bauernfeind, 1972; Sidall y Slade, 1974). Dosis de 1 g/kg de peso corporal administradas por vía intraperitoneal en ratas o intravenosa en conejos resultan inocuas. Esta toxicidad extremadamente baja ha hecho que se hayan sintetizado

Fundación Juan March (Madrid)

cientos de análogos de la hormona juvenil, puesto que su acción alterando la metamorfosis y produciendo intermedios incapaces de sobrevivir, ha resultado un éxito en el control de aquellas plagas que producen sus daños en el estado adulto (Wright, 1972; Wright y otros, 1974a y b; Bowers, 1976; Williams, 1976).

Estos primeros éxitos no han tenido continuación cuando se ha tratado de controlar plagas cuyo perjuicio es producido por las larvas o ninfas, especialmente en los casos en que éstas compiten con el Hombre por el alimento, puesto que cuando el producto consigue controlar la plaga, ya se ha producido el daño (Bowers, 1976; Williams, 1976).

No obstante el descubrimiento por Bowers y colaboradores de dos sustancias (Bowers, 1976; Bowers y otros, 1976) aparentemente antagonistas de la hormona juvenil, en la planta *Ageratum houstonianum*, aporta nuevos datos y esperanzas a la utilización de la hormona juvenil, sus agonistas, ó sus antagonistas en el control de plagas.

Los compuestos descubiertos por Bowers en 1976, al igual que la hormona misma o sus análogos, son productos de pequeño peso molecular y estructura química sencilla. Su actividad a nivel de larva o ninfa se traduce en una metamorfosis precoz, que origina insectos inviables. Por otro lado su efecto sobre los adultos es también muy notable, puesto que produce la esterilidad de las hembras sometidas a tratamiento, por bloqueo de su oogénesis. Por todo ello se puede afirmar que estos antagonistas de la hormona juvenil presentan mejores características para ser utilizados como insecticidas, que los agonistas de la misma.

El estudio de estos compuestos (antiallatotropinas), puso de manifiesto que su actividad se basa en el bloqueo de los *corpora allata*, impidiendo de este modo la secreción de hormona juvenil (Bowers y Martínez Pardo, 1977; Unnithan y otros, 1977, 79; Schooneveld, 1979a y b; Martínez Pardo y otros, 1980).

El interés que presentan estos productos antagonistas de la hormona juvenil, tiene una vertiente teórica y una vertiente prác

Fundación Juan March (Madrid)

tica. El aspecto práctico se deriva de las posibilidades como agentes de control de plagas. Su aspecto fisiológico teórico es también muy importante, por cuanto pueden contribuir decisivamente al conocimiento de la endocrinología de los insectos, en todo lo que se refiere al control endocrino de la reproducción y el desarrollo. A la vez es indudable que los avances en los conocimientos teóricos, pueden aportar nuevas aproximaciones prácticas en el futuro, lo que aumenta a su vez el interés del estudio.

Fundación Juan March (Madrid)

IMPORTANCIA DEL ESTUDIO DEL MECANISMO REGULADOR DE LA SECRECION DE HORMONA JUVENIL EN LOS INSECTOS

Una vez establecida la importancia práctica de la hormona juvenil y sus análogos ó antagonistas en el control de plagas, cabe profundizar en el interés que presenta el estudio de los mecanismos fisiológicos que regulan la secreción de la hormona.

Por un lado, y desde el punto de vista estrictamente científico se esclarece un mecanismo fisiológico, aparentemente simple, que regula la adaptación a través del desarrollo de los insectos a los distintos ambientes que se presentan a lo largo de su vida, obteniendo así el máximo provecho en la explotación de cada uno de ellos (Bowers, 1980).

Por otro lado, el conocimiento y la comprensión de dichos mecanismos permiten desde el punto de vista práctico la obtención de nueva tecnología para el desarrollo de nuevos plaguicidas, más eficaces, e inofensivos para el medio ambiente (menn, 1980).

En la reciente Reunión Internacional sobre Regulación del Desarrollo y el Comportamiento de los Insectos, Celebrada en Karpacz (Polonia, Junio de 1980), se ha puesto de manifiesto que las Antiallatotropinas, Precocenos o Antiallatinas (nombres todos ellos para designar a los antagonistas de la hormona juvenil), bloquean la síntesis de hormona juvenil en los *corpora allata*, produciendo la regresión de los mismos (Bowers, 1980; Nair, 1980; Schooneveld, 1980), aunque no ha podido establecerse de modo definitivo cómo se produce esta interferencia.

El presente trabajo, trata de aportar alguna luz sobre este problema. Parte de los resultados que se reflejan aquí han sido objeto de comunicaciones libres a dos congresos (Martínez Pardo y otros, 1979, 1980) y, el conjunto de los mismos, unido a otros resultados similares obtenidos por el Prof. Dr. W.S. Bowers, será en un próximo futuro objeto de una publicación en la revista Journal of Insect Physiology. Todo ello no indica, sino el interés despertado a todos los niveles por el estudio del mecanismo regulador de la secreción de la hormona juvenil.

Fundación Juan March (Madrid)

MATERIAL Y METODOS

INSECTOS

En todas las experiencias se han utilizado hembras adultas de *Oncopeltus fasciatus* (Dallas), (chinche grande de las Asclepias), obtenidasde una colonia mantenida en laboratorio a 27ºC. de temperatura y 70-80% de humedad relativa, con un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.

En estas condiciones los insectos objeto del presente trabajo alcanzan la madurez sexual hacia el sexto día de su paso al estado adulto, momento en que los *Corpora allata* de las hembras llegan a su tamaño funcional definitivo (Bowers y Martínez Pardo, 1977).

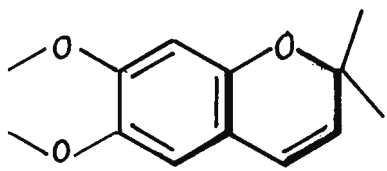
Los insectos fundadores de la colonia utilizada se obtuvieron a partir de una colonia similar, que con fines experimentales mantiene el Prof. Dr. W.S. Bowers, en la New York State Agricultural Experiment Station.

En todas las experiencias se ha considerado como edad 0 de la hembra objeto de estudio, el momento de su ecdisis al estado adulto.

PRODUCTOS QUIMICOS

Se ha utilizado como, producto químico activo, antagonista de la hormona juvenil, el Precoceno II, (Ageratocromeno II), cedido para la realización de las experiencias del presente estudio por el Prof. Dr. W.S. Bowers.

La estructura química del producto, que procede de síntesis orgánica, es la que sigue:



Fundación Juan March (Madrid)

Para todos los ensayos se ha partido de una disolución patrón del producto en acetona, cuya concentración ha sido de 100 mg/ml. Habiéndose empleado siempre acetona Carlo Erba (Reagente puro Erba, ACS) que ya había resultado satisfactoria en experiencias anteriores (Martínez Pardo y otros, 1974).

TRATAMIENTOS

Todos los insectos en todos los ensayos han sido tratados de modo indirecto, según la metodología descrita en trabajos anteriores (Bowers y otros, 1976; Bowers y Martínez Pardo, 1977), exponiendo a los animales a los residuos de producto activo depositados en el fondo de una placa de petri de 10 cm. de diámetro, tras proceder a la evaporación del disolvente. La cantidad estimada de producto presente como residuo ha sido de 1mg por ensayo y placa.

La adición de PrecocenoII al medio de cultivo en los ensayos *in vitro* se ha realizado a partir de la solución patrón, diluyendo la sustancia activa hasta la concentración final de 10 mg/l., es decir 5×10^{-5} Molar.

CULTIVOS *IN VITRO*

Han sido utilizados para estudiar los efectos del Precoceno II, tanto sobre los *Corpora allata* (CA), como sobre la totalidad del Complejo Neurosecretor Retrocerebral (CNR).

Se han realizado dos bloques de experiencias, uno para investigar los efectos del Precoceno sobre los CA en función de la edad del animal tratado, y otro para investigar el comportamiento de todo el CNR, también en función de la edad y del estado de las conexiones nerviosas entre la glándula y el ganglio cerebral.

El primer bloque de experiencias ha constado de siete series cada una de las cuales estaba constituida por diez juegos de tres cultivos, que han sido repetidos tres veces.

Las series realizadas han sido:

1a.- *Corpora allata-Corpora cardiaca* (CA-CC) de hembras vírgenes de 48 h. de edad, tratadas con acetona. Control.

Fundación Juan March (Madrid)

1b.- CA-CC de hembras vírgenes de 120 h. de edad, tratadas con acetona. Control.

1c.- CA-CC de hembras vírgenes de 48 h. de edad, cultivadas en medio adicionado de Precoceno II.

1d.- CA-CC de hembras vírgenes de 120 h. de edad, cultivadas en medio de cultivo adicionado con Precoceno II.

1e.- CA-CC de hembras vírgenes de 48 h. de edad, expuestas al Precoceno cuando tenían entre 0 y 3 h. Realizado el cultivo de las glándulas 45 h. más tarde.

1f.- CA-CC de hembras vírgenes de 120 h. de edad, expuestas al Precoceno cuando tenían entre 0 y 3 h. durante 45 h. y realizado el cultivo tres días después del tratamiento.

1g.- CA-CC de hembras vírgenes de 120 h. de edad, expuestas al Precoceno cuando tenían 96h. y realizafo el cultivo tras 24 h. de exposición al producto.

El segundo bloque de experiencias ha constado de doce series también de diez juegos de tres cultivos repetidos tres veces:

2a.- Complejo Retrocerebral Neurosecretor, CNR, de hembras vírgenes de 48 h. de edad. Conexiones nerviosas entre el ganglio cerebral y las glándulas, intactas. Control.

2b.- CNR de hembras vírgenes de 48h. de edad. Conexiones nerviosas entre el ganglio cerebral y las glándulas cortadas. Control.

2c.- CNR de hembras vírgenes de 48h. de edad. Conexiones intactas. Expuestas al Precoceno durante 45 h.

2d.- CNR de hembras vírgenes de 48h. de edad. Conexiones cortadas. Expuestas al Precoceno durante 45 h.

2e.- CNR de hembras vírgenes de 48h. de edad. Conexiones intactas. Cultivo en medio adicionado con Precoceno.

2f.- CNR de hembras vírgenes de 48h. de edad. Conexiones cortadas. Cultivo en medio adicionado con Precoceno.

2g.- CNR de hembras vírgenes de 120h. de edad. Conexiones intactas. sin tratamiento. Control.

Fundación Juan March (Madrid)

2h.- CNR de hembras vírgenes de 120h. de edad. Conexiones cortadas, sin tratamiento. Control.

2i.- CNR de hembras vírgenes de 120h. de edad. Conexiones intactas. Expuestas al Precoceno durante 45h.

2j.- CNR de hembras vírgenes de 120 h. de edad. Conexiones cortadas. Expuestas al Precoceno durante 45h.

2k.- CNR de hembras vírgenes de 120 h. de edad. Conexiones intactas. Cultivo en medio adicionado con Precoceno.

2l.- CNR de hembras vírgenes de 120 h. de edad. Conexiones cortadas. Cultivo en medio adicionado con Precoceno.

Se han utilizado hembras vírgenes para eliminar en lo posible todas las diferencias que pudieran aparecer, atribuibles al estado del insecto en el momento del tratamiento. Además, según los estudios de Johanssen (1958), lashembras vírgenes comienzan la secreción de hormona juvenil de modo más lento y uniforme que las mantenidas en contacto con machos.

Las disecciones para la obtención de las glándulas y los CNR se han realizado siguiendo las técnicas descritas en trabajos anteriores (Martínez Pardo y otros, 1975; Bowers y Martínez Pardo, 1977).

Además de las glándulas, ó, en su caso, los CNRs, en todos los cultivos se ha añadido un ovario no desarrollado, procedente de una hembra de menos de 48h. de edad, que ha servido como indicador de la actividad secretora de hormona juvenil mostrada por la glándula ó CNR objeto del cultivo.(Martínez Pardo y otros,1975)

Para evaluar las respuestas encontradas en los distintos cultivos se ha tenido en cuenta, tanto el incremento de volumen glandular (Johanssen, 1958), como el crecimiento experimentado por los ovarios indicadores (Bowers y Martínez Pardo, 1977; Martínez Pardo y otros, 1975).

El análisis matemático de los resultados obtenidos se ha llevado a cabo considerando cada serie de cultivos como una población homogénea y aislada. Se ha valorado la significación de las diferencias encontradas mediante la función de distribución t de

Fundación Juan March (Madrid)

Student.

Para la comparación de las distintas series entre sí, se ha seguido el modelo de Cuadrado Latino (todas frente a todas) aunque sólo se han tenido en cuenta para la comparación aquellas series que diferían únicamente en una variante. El desarrollo del modelo se refleja en el cuadro adjunto (fig. 1), donde aparecen debidamente caracterizadas las series objeto de comparación.

Fundación Juan March (Madrid)

FIGURA 1.- CUADRO DE COMPARACION DE LAS DISTINTAS SERIES ESTUDIADAS.

Se indica la significación de las diferencias. Los espacios en blanco corresponden a series cuya comparación no es posible por disentir en más de una variable. †††, ††, †, indican diferencias significativas. NS indica diferencias no significativas.

		Ser b	Ser f	Ser d	Ser 2g	Ser 2i	Ser 2k	Ser 2h	Ser 2j	Ser 2l
Ser a	ΔCA	†††	†††	†††	†††			N S		
	ΔOV	†††	†††	†††	†††			†††		
Ser e	ΔCA	N S	†††	N S		N S			N S	
	ΔOV	N S	†††	†††		†††			†††	
Ser c	ΔCA	†††	†††	†††			N S			N S
	ΔOV	†††	†††	N S			†			†††
Ser 2a	ΔCA	†††			N S	N S	N S	†††		
	ΔOV	†††			†††	†††	N S	†††		
Ser 2c	ΔCA		†††		†††	†††	N S		N S	
	ΔOV		†††		N S	N S	†††		N S	
Ser 2e	ΔCA			†††	†††	N S	†††			N S
	ΔOV			†††	†††	†††	†††			†††
Ser 2b	ΔCA	N S			†††			†††	†††	†††
	ΔOV	N S			†††			††	†††	†††
Ser 2d	ΔCA		N S			†††		N S	†††	N S
	ΔOV		N S			†††		N S	†††	†††
Ser 2f	ΔCA			†††			††	†††	†††	†††
	ΔOV			N S			†††	†††	††	†††

ΔCA e ΔOV corresponden respectivamente a los incrementos experimentados durante el cultivo por los *corpora allata* y los ovarios indicadores.

Las series situadas en la cabecera del cuadro corresponden a los animales de 120 horas de edad en el momento del cultivo. Las situadas en la vertical a los animales de 48 horas. Se ha alterado el orden de las series para que quedasen agrupadas de tres en tres, según los tratamientos, la presencia o no del ganglio cerebral, y la integridad de las conexiones nerviosas entre ganglio y glándulas.

Fundación Juan March (Madrid)

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en todas las experiencias se han representado gráficamente mediante diagramas de barras en las figuras 2, 3 y 4.

1.- Influencia de la edad y tiempo de tratamiento

Tal como puede apreciarse en los valores de la fig. 2 la respuesta de los insectos a los tratamientos con precoceno varía en función de su edad, lo que podría relacionarse a su vez con una mayor actividad secretora de las glándulas.

Mientras que en los animales de 48 horas de edad predomina el desarrollo glandular durante los cultivos (fig. 2 series a y e) en los animales de 120 horas predomina la actividad secretora (fig. 2, serie b). La observación de los histogramas de la fig. 2 es sumamente ilustrativa al respecto, puesto que permite apreciar como se invierten los porcentajes de crecimiento glandular y los de desarrollo inducido en los ovarios indicadores.

La adición de precoceno II al medio de cultivo inhibe por completo el desarrollo de las glándulas maduras (más de 120 horas de edad), reduciendo a su vez, notablemente, su capacidad para inducir el desarrollo del ovario indicador (fig. 2, serie d). Por contra, este mismo tratamiento, aunque reduce significativamente el desarrollo de las glándulas de animales inmaduros (48 horas de edad), todavía permite el crecimiento del volumen glandular (fig. 2, serie c) y mantiene una capacidad para inducir el desarrollo del ovario indicador similar a la de las glándulas maduras sometidas a idéntico tratamiento.

Las diferencias en cuanto a la respuesta al tratamiento con precoceno en función de la edad, son más acusadas en los tratamientos de contacto con residuos del producto activo. Así, mientras las glándulas de hembras de 120 horas no crecen en el cultivo y además pierden su capacidad de promover el desarrollo del ovario indicador, cuando han sido tratadas con precoceno a las 24 horas (fig. 2, serie f) las de hembras de la misma edad tratadas 24 horas antes (fig. 2, serie g) presentan una regresión durante

Fundación Juan March (Madrid)

el cultivo, muy acusada, y sólo promueven un desarrollo vestigial del ovario indicador.

2.- Influencia de la presencia del ganglio cerebral

Cuando se consideran los efectos del ganglio cerebral en los cultivos, llama la atención, en principio, que es necesario tener en cuenta la integridad de las conexiones nerviosas entre el ganglio y las glándulas, además de la edad de los insectos objeto de estudio.

Así, mientras en animales de 120 horas de edad sólo se produce crecimiento glandular cuando se cultiva el CNR con las conexiones nerviosas cortadas (fig. 4) en los animales jóvenes (48 horas) se produce desarrollo de las glándulas tanto en el control sin tratamiento, como en el caso de animales tratados a las 24 horas y cuyos CNRs han sido cultivados al día siguiente (siempre con las conexiones nerviosas cortadas) (fig. 3, series 2b y 2d).

Si se mantienen intactas las conexiones nerviosas entre el ganglio cerebral y el complejo glandular, cualquiera que sea el tratamiento con precoceno II, se produce una regresión del volumen glandular, tanto en hembras de 120 horas como en hembras de 48 horas (fig. 3, series 2c y 2e; fig. 4, series 2i y 2k). En estos casos se aprecia también un cierto grado, más o menos acusado de regresión del ovario indicador.

Si se adiciona precoceno al medio de cultivo, y las conexiones nerviosas entre el ganglio cerebral y el complejo glandular están seccionadas, se da regresión del volumen glandular, y, también como en el caso anterior, un cierto grado de regresión del ovario indicador, independientemente de la edad del insecto. (fig. 3, y fig. 4, series 2f y 2l).

3.- Significacion de las diferencias encontradas

-En función de la edad

En las tablas 1, 2 y 3, puede apreciarse el grado de significación de las diferencias encontradas, al comparar las respuestas obtenidas considerando la variable "edad del animal", para un mis

Fundación Juan March (Madrid)

TABLA 1.- Comparación de los resultados obtenidos en los cultivos de glándulas solas de 48 horas, frente a las de 120 horas.

	Control ST		Trat. 24 hrs.		Trat. ad. PII.	
	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV
Xmed. 48 hrs.	41.57%	6.70%	39.06%	6.24%	15.27%	2.79%
s 48 hrs.	±5.10	±1.59	±5.16	±0.93	±8.17	±1.07
Xmed. 120 hrs.	17.66%	16.26%	0.0	-6.62%	0.0	2.43%
s 120 hrs.	±7.53	±2.70	± -	±1.45	± -	±0.64
Valor de *t*	8.31	9.64	23.28	6.75	5.27	0.91
Significación	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	-

TABLA 2.- Comparación de los resultados obtenidos en los cultivos de CNR, con las conexiones nerviosas intactas. 48 frente a 120 horas.

	Control ST		Trat. 24 hrs.		Trat. ad. PII.	
	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV
Xmed. 48 hrs.	0.0	-9.54%	-24.22%	-11.09%	-23.07%	-2.84%
s 48 hrs.	-	±1.04	±8.34	±3.09	±7.24	±1.03
Xmed. 120 hrs.	0.0	1.99%	0.0	-12.07	0.0	1.90%
s 120 hrs.	-	±0.31	-	±2.35	-	±0.24
Valor de *t*	-	33.22	9.19	0.81	10.08	14.13
Significación	-	P<0.001	P<0.001	-	P<0.001	P<0.001

TABLA 3.- Comparación de los resultados obtenidos en los cultivos de CNR con las conexiones nerviosas cortadas. 48 frente a 120 horas.

	Control ST		Trat. 24 hrs.		Trat. ad. PII.	
	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV
Xmed. 48 hrs.	44.73%	7.31%	38.13%	5.28%	-15.12%	2.95%
s 48 hrs.	±4.44	±2.20	±10.21	±1.67	±2.87	±1.19
Xmed. 120 hrs.	19.20%	9.49%	0.0	-12.28%	0.0	6.71%
s 120 hrs.	±6.40	±0.89	-	±2.22	-	±0.39
Valor de *t*	10.36	2.9	11.81	19.97	16.66	9.48
Significación	P<0.001	P<0.01	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001

Δ CA e Δ OV, representan los incrementos experimentados en volumen glandular y longitud del ovario, respectivamente.

Fundación Juan March (Madrid)

mo tratamiento.

La tabla 1 permite apreciar que existen diferencias significativas en la respuesta de glándulas cultivadas en solitario a los distintos tratamientos, según se trate de animales de 48 ó de 120 horas. La única excepción la constituye la capacidad para inducir desarrollo del ovario indicador en presencia de precoceno en el medio de cultivo.

La tabla 2, muestra las diferencias encontradas en el caso de cultivos de CNR con las conexiones intactas. En este caso no se produce crecimiento glandular en ausencia de tratamiento cualquiera que sea la edad del animal (figs. 3 y 4), sin embargo, las diferencias son muy significativas en lo que se refiere a la capacidad para inducir desarrollo del ovario indicador, puesto que en el caso de hembras de 120 horas se produce un ligero crecimiento (fig. 4, serie 2g), mientras que en el caso de hembras de 48 horas se produce una regresión bastante acusada del ovario indicador (fig. 3, serie 2a).

Si se considera el tratamiento del animal a las 24 horas, se aprecian diferencias significativas en cuanto al desarrollo experimentado por las glándulas, pero no en cuanto a la capacidad para inducir crecimiento del ovario indicador (fig. 3, serie 2c; fig. 4, serie 2i), ya que en ambos casos se produce una regresión del mismo.

El tratamiento por adición de precoceno II al medio de cultivo, permite apreciar diferencias significativas en las respuestas obtenidas. Las glándulas de hembras maduras no sufren ninguna modificación del volumen inicial (fig. 4, series 2k y 2l), promoviendo un ligero desarrollo del ovario indicador. Por el contrario, las glándulas de hembras inmaduras presentan una notable regresión de volumen, siendo a la vez incapaces de inducir desarrollo en el ovario indicador (fig. 3, serie 2e).

Por último la tabla 3 permite la comparación entre los resultados obtenidos cuando las conexiones nerviosas entre el ganglio cerebral y las glándulas están cortadas. Las diferencias son sig-

Fundación Juan March (Madrid)

TABLA 4.- Comparación de los resultados obtenidos con glándulas solas de 48 horas en función de los tratamientos aplicados.

COMP.	Δ CA	Δ OV	COMP.	Δ CA	Δ OV	COMP.	Δ CA	Δ OV
Xm ST	41.57%	6.70%	Xm ST	41.57%	6.70%	XmT24h	39.06%	6.24%
s ST	±5.10	±1.59	s ST	±5.10	±1.59	s T24h	±5.16	±0.93
XmT24h	39.06%	6.27%	XmT24h	15.27%	2.79%	XmTPII	15.27%	2.79%
s T24h	±5.16	±0.93	s T24h	±8.17	±1.07	s TPII	±8.17	±1.07
Val.*t*	1.10	0.74	Val.*t*	8.63	6.45	Val.*t*	7.77	7.76
Signf.	-	-	Signf.	P<0.001	P<0.001	Signf.	P<0.001	P<0.001

TABLA 5.- Comparación de los resultados obtenidos con glándulas solas de 48 horas frente a los de CNRs de la misma edad con las conexiones nerviosas intactas.

	Control ST		Trat. 24 hrs.		Trat. ad. PII.	
	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV
Xmed. Gland. Sol.	41.57%	6.70%	39.06%	6.27%	15.27%	2.79%
s Gland. Sol.	±5.10	±1.59	±5.16	±0.93	±8.17	±1.07
Xmed. CNR C. Int.	0.0	1.99%	-24.22%	-11.09%	-23.07%	-2.84%
s CNR C. Int.	-	±0.31	±8.34	±3.09	±7.24	±1.03
Valor de *t*	25.80	8.17	20.39	17.03	11.11	11.96
Significación	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001

TABLA 6.- Comparación de los resultados obtenidos con glándulas solas de 48 horas, frente a los de CNRs de la misma edad con las conexiones nerviosas cortadas.

	Control ST		Trat. 24 hrs.		Trat. ad. PII.	
	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV
Xmed. Gland. Sol.	41.57%	6.70%	39.06%	6.27%	15.27%	2.79%
s Gland. Sol.	±5.10	±1.59	±5.16	±0.93	±8.17	±1.07
Xmed. CNR C. Cor.	44.73%	7.31%	38.13%	5.28%	-15.12%	2.95%
s CNR C. Cor.	±4.44	±2.20	±10.21	±1.67	±2.87	±1.19
Valor de *t*	1.48	0.71	0.25	1.64	11.09	0.32
Significación	-	-	-	-	P<0.001	-

Δ CA e Δ OV, representan los incrementos experimentados en volumen glandular y longitud del ovario respectivamente.

Gland. Sol.: Glándulas solas. CNR C. Cor., y CNR C. Int.: Complejo Neurosecretor Retrocerebral con las conexiones nerviosas cortadas o intactas, respectivamente.

Fundación Juan March (Madrid)

nificativas en todos los casos (figs. 3 y 4; series 2f y 21).

-En función de los tratamientos en hembras de 48 horas

La tabla 4 muestra que no existen diferencias significativas al comparar los resultados de cultivos de glándulas solas de hembras sin tratamiento, con los de hembras tratadas a las 24 horas. Por el contrario, existen diferencias muy significativas si se comparan los resultados obtenidos por adición de precoceno II al medio de cultivo, y los otros dos casos (fig. 2, series a, c y e)

La tabla 5 permite apreciar que las diferencias encontradas al comparar los resultados de glándulas solas frente a los de CNRs, son significativas para todos los tratamientos, si las conexiones nerviosas entre el ganglio cerebral y las glándulas se mantienen intactas.

Por el contrario, si se comparan los resultados obtenidos con glándulas solas frente a los de CNRs, en los que las conexiones nerviosas entre el ganglio y las glándulas han sido cortadas, no existen diferencias significativas, salvo en el caso de desarrollo glandular en presencia de precoceno (tabla 6).

Cuando se estudia el comportamiento de los CNRs, en cuanto al desarrollo glandular, con las conexiones nerviosas intactas, la tabla 7 permite apreciar diferencias significativas entre el control y los dos tratamientos. Entre los dos tratamientos las diferencias carecen de significación. En cambio, si se estudia la capacidad para inducir desarrollo del ovario indicador, las diferencias entre el tratamiento por adición de precoceno al medio y los otros dos, son significativas, no siéndolo entre el control y el tratamiento a las 24 horas (fig. 3, series 2a, 2c y 2e).

La tabla 8 muestra la existencia de diferencias significativas en todos los casos, cuando se comparan los resultados obtenidos con los CNRs, si la variable considerada es "integridad de las conexiones nerviosas".

Por último la tabla 9 muestra que no existen diferencias significativas entre el tratamiento a las 24 horas y el control en hembras de 48 horas, cuando las conexiones nerviosas están corta-

Fundación Juan March (Madrid)

TABLA 7.- Comparación de los resultados obtenidos con CNRs de 48 horas de los tratamientos entre sí, y frente al control. Con. intactas

COMP.	Δ CA	Δ OV	COMP.	Δ CA	Δ OV	COMP.	Δ CA	Δ OV
Xm ST	0.0	-9.54%	Xm ST	0.0	-9.54%	XmT24h	-24.22%	-11.09%
s ST	-	±1.04	s ST	-	±1.04	s T24h	±8.34	±3.09
XmT24h	-24.22%	-11.09%	XmTPII	-23.07%	-2.84%	XmTPII	-23.07%	-2.84%
s T24h	±8.34	±3.09	s TPII	±7.24	±1.03	s TPII	±7.24	±1.03
Val. *t*	9.19	1.50	Val. *t*	10.08	14.43	Val. *t*	0.33	8.01
Signf.	P<0.001	-	Signf.	P<0.001	P<0.001	Signf.	-	P<0.001

TABLA 8.-Comparación de los resultados obtenidos con CNRs de 48 horas, conexiones nerviosas intactas, frente a cortadas.

	Control ST		Trat. 24 hrs.		Trat. ad. PII.	
	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV
Xmed. CNR C. Int.	0.0	-9.54%	-24.22%	-11.09%	-23.07%	-2.84%
s CNR C. Int.	-	±1.04	±8.34	±3.09	±7.24	±1.03
Xmed. CNR C. Cor.	44.73%	7.31%	38.13%	5.28%	-15.12%	2.95%
s CNR C. Cor.	±4.44	±2.20	±10.21	±1.67	±2.87	±1.19
Valor de *t*	31.86	21.24	14.96	14.74	3.23	11.61
Significación	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.005	P<0.001

TABLA 9.- Comparación de los resultados obtenidos con CNRs de 48 horas de los tratamientos entre sí, y frente al control. Con. cortadas.

COMP.	Δ CA	Δ OV	COMP.	Δ CA	Δ OV	COMP.	Δ CA	Δ OV
Xm ST	44.73%	7.31%	Xm ST	44.73%	7.31%	XmT24h	38.13%	5.28%
s ST	±4.44	±2.20	s ST	±4.44	±2.20	s T24h	±10.21	±1.67
XmT24h	38.13%	5.28%	XmTPII	-15.12%	2.95%	XmTPII	-15.12%	2.95%
s T24h	±10.21	±1.67	s TPII	±2.87	±1.19	s TPII	±2.87	±1.19
Val. *t*	1.87	2.32	Val. *t*	35.80	5.50	Val. *t*	15.88	3.59
Signf.	P>0.05	P<0.025	Signf.	P<0.001	P<0.001	signf.	P<0.001	P<0.001

ΔCA e ΔOV representan los incrementos experimentados en volumen glandular, y longitud del ovario indicador , respectivamente.

Fundación Juan March (Madrid)

das, pero que las diferencias sí son significativas entre el tratamiento por adición de precoceno II y los otros dos.

-En función de los tratamientos en hembras de 120 horas

Tal como se aprecia en la tabla 10, tanto el tratamiento a las 24 horas, como la adición de precoceno II al medio de cultivo producen diferencias significativas respecto al control. En ninguno de los dos casos se produce incremento del volumen glandular, por lo que los resultados no pueden ser objeto de comparación, pero, sin embargo, hay diferencias significativas en cuanto a su capacidad para inducir crecimiento del ovario indicador, que es mucho mayor en el caso de glándulas incubadas con precoceno en el medio.

La tabla 11 permite apreciar diferencias significativas, al comparar los resultados obtenidos al cultivar CNRs frente a los de glándulas solas, en cuanto a la capacidad para inducir desarrollo del ovario indicador, cuando las conexiones nerviosas de los CNRs se mantienen intactas. También son significativas las diferencias encontradas entre los desarrollos glandulares de los controles. No se pueden comparar los crecimientos glandulares en el caso de tratamiento, puesto que son nulos ambos.

La tabla 12 muestra que cuando las glándulas se cultivan conjuntamente con el ganglio cerebral, pero con las conexiones nerviosas cortadas, no existen diferencias significativas en cuanto al crecimiento experimentado por las glándulas. Estas diferencias existen, y son significativas, en lo que se refiere a la capacidad de las glándulas para promover el desarrollo del ovario indicador, capacidad significativamente reducida en los casos de tratamiento a las 24 horas y control, y significativamente mayor en el caso de adición de precoceno al medio de cultivo.

El estudio de la tabla 13 permite apreciar la ausencia de diferencias significativas entre el control y el tratamiento por adición de precoceno al medio, en cuanto a la capacidad para promover desarrollo en el ovario indicador. A este respecto las diferencias son significativas para los otros dos casos. Para el desa

Fundación Juan March (Madrid)

TABLA 10.- Comparación de los resultados obtenidos con glándulas solas de 120 horas, en función de los tratamientos aplicados.

COMP.	Δ CA	Δ OV	COMP.	Δ CA	Δ OV	COMP.	Δ CA	Δ OV
Xm ST	17.66%	16.26%	Xm ST	16.66%	16.26%	XmT24h	0.0	-6.62%
s ST	±7.53	±2.70	s ST	±7.53	±2.70	s T24h	-	±1.45
XmT24h	0.0	-6.62%	XmTPII	0.0	2.43%	XmTPII	0.0	2.43%
s T24h	-	±1.45	s TPII	-	±0.64	s TPII	-	±0.64
Val. *t*	7.41	23.21	Val. *t*	7.41	15.73	Val. *t*	-	17.28
Signf.	P<0.001	P<0.001	Signf.	P<0.001	P<0.001	Signf.	-	P<0.001

TABLA 11.- Comparación de los resultados obtenidos con glándulas solas de 120 horas, frente a los de CNRs de igual edad, con las conexiones nerviosas intactas.

	Control ST		Trat. 24 hrs.		Trat. ad. PII.	
	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV
Xmed. Gland. Sol.	17.66%	16.26%	0.0	-6.62%	0.0	2.43%
s Gland. Sol.	±7.53	±2.70	-	±1.45	-	±0.64
Xmed. CNR C. Int.	0.0	1.99%	0.0	-12.07%	0.0	1.90%
s CNR C. Int.	-	±0.31	-	±2.35	-	±0.24
Valor de *t*	7.41	16.58	-	6.16	-	2.52
Significación	P<0.001	P<0.001	-	P<0.001	-	P<0.025

TABLA 12.- Comparación de los resultados obtenidos con glándulas solas de 120 horas, frente a los de CNRs de igual edad, con las conexiones nerviosas cortadas.

	Control ST		Trat. 24 hrs.		Trat. ad. PII.	
	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV	Δ CA	Δ OV
Xmed. Gland. Sol.	17.66%	16.26%	0.0	-6.62%	0.0	2.43%
s Gland. Sol.	±7.53	±2.70	-	±1.45	-	±0.64
Xmed. CNR C. Cor.	19.20%	9.49%	0.0	-12.28%	0.0	6.71%
s CNR C. Cor.	±6.40	±0.89	-	±2.22	-	±0.39
Valor de *t*	0.49	7.52	-	5.92	-	17.94
Significación	P>0.5	P<0.001	-	P<0.001	-	P<0.001

ΔCA, ΔOV, representan los incrementos experimentados en volumen glandular, y longitud del ovario indicador, respectivamente.

Fundación Juan March (Madrid)

rrollo glandular las diferencias carecen de significación en los tres casos.

Si se estudia la variable "integridad de las conexiones nerviosas", tal como muestra la tabla 14, aparecen diferencias significativas al comparar ambos controles. Sólo existen diferencias significativas, en el caso de tratamiento por adición de precoceno, al considerar la capacidad para inducir desarrollo en el ovario indicador, y no existen diferencias significativas en los resultados del tratamiento a las 24 horas.

Al comparar entre sí los resultados obtenidos en el cultivo de CNRs, con las conexiones cortadas, la tabla 15 permite apreciar diferencias significativas entre los dos tratamientos y el control, así como entre los dos tratamientos entre sí, en lo referente a la capacidad de inducción del desarrollo del ovario indicador. También existen diferencias significativas entre el desarrollo glandular mostrado por el control, y el de ambos tratamientos. No existen diferencias entre el crecimiento glandular de los dos tratamientos.

Fundación Juan March (Madrid)

TABLA 13.- Comparación de los resultados obtenidos con CNRs de 120 horas, en función de los tratamientos aplicados, Con. intactas

COMP.	Δ CA	Δ OV	COMP.	Δ CA	Δ OV	COMP.	Δ CA	Δ OV
Xm ST	0.0	1.99%	Xm ST	0.0	1.99%	XmT24h	0.0	-12.07%
s ST	-	±0.31	s ST	-	±0.31	s T24h	-	±2.35
XmT24h	0.0	-12.07%	XmTPII	0.0	1.90%	XmTPII	0.0	1.90%
s T24h	-	±2.35	s TPII	-	±0.24	s TPII	-	±0.24
Val. *t*	-	18.78	Val. *t*	-	0.80	Val. *t*	-	18.73
Signf.	-	P<0.001	Signf.	-	P>0.5	Signf.	-	P<0.001

TABLA 14.-Comparación de los resultados obtenidos con CNRs de 120 horas, conexiones nerviosas intactas, frente a cortadas.

	Control ST		Trat. 24 hrs.		Trat. ad. PII.	
	CA	OV	CA	OV	CA	OV
Xmed. CNR. C Int.	0.0	1.99	0.0	-12.07%	0.0	1.90%
s CNR. C Int.	-	±0.31	-	±2.35	-	±0.24
Xmed. CNR. C Cor.	19.20%	9.49	0.0	-12.28	0.0	6.71
s CNR. C Cor.	±6.40	±0.89	-	±2.22	-	±0.39
Valor de *t*	9.48	25.55	-	0.21	-	18.77
Significación	P<0.001	P<0.001	-	P>0.5	-	P<0.001

TABLA 15.-Comparación de los resultados obtenidos con CNRs de 120 horas, en función de los tratamientos aplicados. Con. cortadas.

COMP.	CA	OV	COMP.	CA	OV	COMP.	CA	OV
Xm ST	19.20%	9.49%	Xm ST	19.20%	9.49%	XmT24h	0.0	-12.28%
s ST	±6.40	±0.89	s ST	±6.40	±0.89	s T24h	-	±2.22
XmT24h	0.0	-12.28%	XmTPII	0.0	6.71%	XmTPII	0.0	6.71%
s T24h	-	±2.22	s TPII	-	±0.39	s TPII	-	±0.39
Val. *t*	9.48	28.76	Val. *t*	9.48	9.03	Val. *t*	-	26.22
Signf.	P<0.001	P<0.001	Signf.	P<0.001	P<0.001	Signf.	-	P<0.001

ΔCA,ΔOV, representan los incrementos experimentados en volumen glandular, y longitud del ovario indicador, respectivamente.

Fundación Juan March (Madrid)

DISCUSION

Del análisis de los resultados obtenidos, se desprende que las tendencias en cuanto al desarrollo glandular y capacidad para inducir el crecimiento del ovario indicador, so distintas en función de la edad del animal objeto de estudio (fig. 2, series a y b). Estos resultados concuerdan a su vez con los obtenidos por Johansson (1958), en el sentido de que los primeros días del desarrollo de las glándulas, éstas producen muy poca hormona juvenil, hasta que se alcanza su tamaño fisiológico, lo que ocurre a los 5 días. De este modo, podría relacionarse la capacidad para inducir desarrollo en el ovario indicador, con la capacidad de la glándula objeto de estudio para segregar hormona juvenil (Bowers y Martínez Pardo, 1977).

Al comparar los resultados obtenidos en los cultivos de glándulas procedentes de animales jóvenes con los de animales maduros, se observa que la tendencia a incrementar el volumen glandular, y la capacidad para inducir crecimiento en el overio indicador se encuentran invertidas (fig. 2, series a y b).

Si interpretamos por lo tanto, que la capacidad para inducir crecimiento en el ovario indicador es un índice de la actividad secretora de la glándula objeto de estudio, el tratamiento con precoceno afecta directamente a dicha capacidad, independientemente que el tratamiento se efectúe *in vivo* ó *in vitro*. (fig. 2) La observación de los histogramas de la figura 2, es ilustrativa a este respecto, ya que si se exceptúa la serie c, cuyo comportamiento es similar al de la serie a, en todos los demás casos se aprecian claramente los efectos del tratamiento con precoceno, tanto por reducción del desarrollo glandular como por pérdida de la capacidad para inducir el crecimiento del ovario indicador.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores sobre *Oncopeltus fasciatus*, *in vivo* (Bowers y Martínez Pardo, 1977; Unnithan y otros, 1977; Unnithan y Nair, 1979) ó bién sobre otros insectos sensibles (Brooks y otros, 1979; Schooneveld, 1979a y b).

Fundación Juan March (Madrid)

Conviene destacar así mismo que para conseguir el bloqueo de la glándula cuando ésta no se halla segregando hormona juvenil de forma activa, se requiere una exposición muy prolongada al producto en un tratamiento *in vivo* (fig. 2, serie f.), mientras que un tratamiento idéntico, cuando el animal segrega activamente la hormona resulta mucho más eficaz (fig. 2, serie g.).

Dada la concordancia de resultados a que se hace referencia, puede concluirse que sobre *O. fasciatus*, el efecto de los tratamientos con precoceno II se produce sobre las glándulas del animal cuando las glándulas se hallan segregando activamente la hormona, tal como se ha sugerido por diversos autores (Brooks y cols 1979; Pratt y Weaver, 1978; Schooneveld, 1979a y b; Unnithan y otros, 1977; Unnithan y Nair, 1979.).

Los resultados obtenidos en las experiencias en que se cultivaron CNRs, confirman y refuerzan lo ya expuesto (figs. 3 y 4), es decir, el producto resulta tanto mas activo, cuanto mas activamente se halle el animal segregando hormona juvenil, en el momento del tratamiento. Sin olvidar la importancia de que las conexiones nerviosas entre las glándulas y el ganglio cerebral esten intactas ó no.

El tratamiento cuando el animal tiene menos de 24 horas, seguido de cultivo cuando tiene 48 permite observar que, si se mantienen intactas las mencionadas conexiones, se produce una regresión del volumen glandular, que va unida a la pérdida de la capacidad para inducir desarrollo del ovario indicador. Este hecho concuerda con la capacidad inhibitoria del ganglio cerebral, a través de las conexiones nerviosas, puesta de manifiesto por diversos autores (Granger y Sehnal, 1974; Hodkova, 1976).

Por el contrario, la presencia del ganglio cerebral en el cultivo, con las conexiones nerviosas cortadas parece estimular el desarrollo glandular, y no afecta a su capacidad para inducir el desarrollo del ovario indicador, lo que a su vez concuerda también con los hallazgos de los autores citados (Granger y Sehnal, 1974; Hodkova, 1976; Fig. 3).

Fundación Juan March (Madrid)

Todas estas consideraciones son validas también, en lo referenta al estudio de los insectos maduros (fig. 4). En este caso conviene destacar el bloqueo producido sobre el desarrollo glandular, cualquiera que sea el tratamiento estudiado. Lo que refuerza la concordancia con los resulatdos de otros autores (Pratt y Weaver, 1978; Schooneveld, 1979a y b), en el sentido de que a mayor actividad sintética de las glándulas en el momento del tratamiento, mayor es su sensibilidad a la acción del precoceno II.

Puede concluirse por tanto que, la acción del precoceno II sobre *O. fasciatus* tiene lugar a nivel glandular, que el insecto resulta tanto más sensible cuanto mayor es su actividad sintética de hormona juvenil, que la presencia del precoceno en los cultivos potencia y refuerza la acción restrictiva del ganglio cerebral a través de las conexiones nerviosas ó vicecersa, cuando éstas están intactas, y que con las conexiones nerviosas cortadas la presencia d31 ganglio cerebral apenas modifica la respuesta de las glándulas al precoceno.

Fundación Juan March (Madrid)

BIBLIOGRAFIA

BAGLEY, R.W. y J.C. BAUERNFEIND. 1972. Field experiences with Juvenile Hormone mimics. En "Insect Juvenile Hormones: Chemistry and Action". (J. J. Menn and M. Beroza, Eds.) Academic Press. London and New York.

BEROZA, M. 1972. "Juvenile Hoemones: Chemistry and Action". Prólogo. Academic Press. New York and London.

BOWERS, W.S. 1976. Discovery of Insect Antiallatotropins. En "The Juvenile Hormones" (L.I. Gilbert, Ed.). Plenum Press. New York.

BOWERS, W.S. 1981. Controlling insect pests with natural products. "Control of insect development and behaviour" (F. Sehnal, A. Zabza, J.J. Menn, B. Cymborowski. Eds.) Wroclaw Technical University Press.

BOWERS, W.S. y R. MARTINEZ PARDO. 1977. Antiallatotropins: Inhibition of Corpus Allatum development. *Science*, 197, 1369-71.

BOWERS, W.S., T. OHTA, J.S. CLEERE, P. MARSELLA. 1976. Discovery of Insect Anti-Juvenile Hormones in plants. *Science*, 193, 542-47.

D'ORST, A. 1964. "Avans que nature meure". Delachaux et Niestlé S.A. Neuchâtel.

F.A.O. 1964. Anuario de la Producción Agrícola Mundial. Roma.

GIL CORELL, M. 1969. Lucha Biológica y Equilibrio Biológico. U.T.F.E. Folletos de educación sanitaria. Valencia.

GRANGER, N.E. y F. SEHNAL. 1974. Regulation of larval corpora allata in *Galleria melonella*. *Nature*, 251, 415-417.

HODKOVA, M. 1976. Nervous inhibition of Juvenile Hormone in *Pyrrhocoris apterus*. *Nature*, 263, 521-23

JOHANSSON, A.S. 1958. Relation of Nutrition to Endocrine-Reproductive functions in the Milweed-Bug. *Nitt. Mag. Zool.* 7, 1-114.

JOLY, P. 1972. Les Hormones des Insectes. *La Recherche*, 2, 213-16

MARGALEF, R. 1974. "ECOLOGIA". Ed. Omega. Barcelona.

MARTINEZ PARDO, R. y J. RIBO. 1975. Efectos de algunos hormonomiméticos en la metamorfosis y reproducción de *Blattella germanica*. *Rev. Agroquim.*

Fundación Juan March (Madrid)

Tecnol. Aliment. 15, 423-33.

MARTINEZ PARDO, R., T. MARTINEZ CARRAU, J.V. PUIG CISCAR, A. NUÑEZ CACHAZA. 1979. Efecto del ganglio cerebral sobre la actividad *in vitro* de los corpora allata de *O. fasciatus* tratados con antiallatotropinas. XVIII Congreso de la S.E.C.F. Valencia.

MARTINEZ PARDO, R., T.MARTINEZ CARRAU, M.D. GARCERA ZAMORANO, y A. NUÑEZ CACHAZA. 1980. Modificaciones de la respuesta secretora *in vitro* de Corpora Allata de *O. fasciatus* en función de la edad y del tratamiento con precocenoII. Actas del XIV Congreso de la S.F.M.L. En prensa

MENN, J.J. 1981. New perspectives in controlling insect pests."Regulation of Insect Development and Behaviour" (F. Sehnal, A. Zabza, J.J. Menn y B. Cymborowski, Eds.) Wroclaw Tecnical University Press.

MOLINIER, R. y P. VIGNES. 1971. "Ecologie et biocenotique". Delachaux et Niestlé. Neuchâtel.

NAIR, K.K. 1981. Cytochemistry of Corpora Allata, Fat Body, and Follicle cells of Precocene treated nymphs of *Schistocerca gregaria*."Regulation of Insect Development and Behaviour". (F. Sehnal, A.Zabza, J.J.Menn,B. Cymborowski, Eds.) Wroclaw Technical University Press.

SCHNEIDERMAN, H.A. 1972. Insect hormones and Insect control."Insect Juvenile Hormones: Chemistry and Action" (J.J.Menn y M.Beroza, Eds.) Academic Press. New York and London.

SCHOONEVELD, H. 1979a. Precocene induced collapse and resorption of Corpora allata in nymphs of *Locusta migratoria*. *Experientia*, 35, 363-4.

SCHOONEVELD, H. 1979b. Precocene induced necrosis and Haemocyte mediated breakdown of Corpora allata of nymphs of the locust *Locusta migratoria*. *Cell. Tissue Res.* 203, 25-33.

SCHOONEVELD, H. 1981. Effects of Precocene on Corpora allata of *Locusta migratoria*, *in vivo* and *in vitro*. "Regulation of Insect Development and Behaviour" (F.Sehnal, A.Zabza, J.J.Menn, B.Cymborowski, Eds.) Wroclaw Technical University Press.

SIDDALL, J.B. y M. SLADE. 1974. Tests for toxicity of Juvenile hormones and analogues in mammalian systems."Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophylly"(W.J. Burdette, ed.) Springer Verlag. Berlin. N.Y.

Fundación Juan March (Madrid)

SLAMA, K. y C.M. WILLIAMS. 1965. Juvenile Hormone activity for the bug *Pyrrhocoris apterus*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 54, 411-14.

UNNITHAN, G.C. y K.K. NAIR. 1979. The influence of Corpus Allatum activity on the susceptibility of *O. fasciatus* to Precocene. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 72, 38-40.

UNNITHAN, G.C., K.K. NAIR, W.S. BOWERS. 1977. Precocene induced degeneration of the Corpus Allatum of adult females of the bug *Oncopeltus fasciatus*. *J. Insect Physiol.* 23, 1081-94.

VAN EMDEN, H.F. 1974. Control de plagas y su ecología. Cuadernos de Biología. Ed. Omega. Barcelona.

WILLIAMS, C.M. 1967. Third generation Pesticides. *Sci. Amer.* 217, 13-19.

WILLIAMS, C.M. 1976. The Juvenile Hormones. In Retrospect and in Prospect. "The Juvenile Hormones"(L.I. Gilbert, Ed.) Plenum Press. New York.

WRIGHT, J.E. 1972. Hormones for control of livestock arthropods: Development of an assay to select candidates with Juvenile Hormone activity against the Stable Fly. *J. Econ. Entomol.* 63, 878-83.

WRIGHT, J.E., J.B. CAMPBELL, D.D. OEHLER. 1974.a. I.G.R.s Large plot field trials against the Stable fly in cattle feed lots. *J. Econ Entomol.* 67, 459-60.

WRIGHT, J.E., T.P. MCGOVERN, R. SARMIENTO, M. BEROZA. 1974.b. Juvenile Hormone Activity of substituted Aryl-3,7-dimethyl-6-octenyl ethers in the Stable fly and House fly. *J. Insect. Physiol.* 20, 423-7.

Fundación Juan March (Madrid)

FUNDACION JUAN MARCH
SERIE UNIVERSITARIA

TITULOS PUBLICADOS — **Serie Verde**

(Matemáticas, Física, Química, Biología, Medicina)

2 Mulet, A.:
Estudio del control y regulación, mediante un calculador numérico, de una operación de rectificación discontinua.

4 Santluste, J. M.:
Combustión de compuestos oxigenados.

5 Vicent López, J. L.:
Películas ferromagnéticas a baja temperatura.

7 Salvá Lacombe, J. A.:
Mantenimiento del hígado dador in vitro en cirugía experimental.

8 Plá Carrera, J.:
Estructuras algebraicas de los sistemas lógicos deductivos.

11 Drake Moyano, J. M.:
Simulación electrónica del aparato vestibular.

19 Purroy Unanua, A.:
Estudios sobre la hormona Natriurética.

20 Serrano Molina, J. S.:
Análisis de acciones miocárdicas de bloqueantes Beta-adrenérgicos.

22 Pascual Acosta, A.:
Algunos tópicos sobre teoría de la información.

25 I Semana de Biología:
Neurobiología.

26 I Semana de Biología:
Genética.

27 I Semana de Biología:
Genética.

28 Zugasti Arbizu, V.:
Analizador diferencial digital para control en tiempo real.

29 Alonso, J. A.:
Transferencia de carga en aleaciones binarias.

30 Sebastián Franco, J. L.:
Estabilidad de osciladores no sinusoidales en el rango de microondas.

39 Blasco Olcina, J. L.:
Compacidad numerable y pseudocompacidad del producto de dos espacios topológicos.

44 Sánchez Rodríguez, L.:
Estudio de mutantes de saccharomyces cerevisiae.

45 Acha Catalina, J. I.:
Sistema automático para la exploración del campo visual.

47 García-Sancho Martín, F. J.:
Uso del ácido salicílico para la medida del pH intracelular.

48 García García, A.:
Relación entre iones calcio, fármacos ionóforos y liberación de noradrenalina.

49 Trillas, E., y Alsina C.:
Introducción a los espacios métricos generalizados.

50 Pando Ramos, E.:
Síntesis de antibióticos aminoglicosídicos modificados.

51 Orozco, F., y López-Fanjul, C.:
Utilización óptima de las diferencias genéticas entre razas en la mejora.

Fundación Juan March (Madrid)

52 Gallego Fernández, A.:
Adaptación visual.

55 Castellet Solanas, M.:
Una contribución al estudio de las teorías de cohomología generalizadas.

56 Sánchez Lazo, P.:
Fructosa 1,6 Bisfosfatasa de hígado de conejo: modificación por proteasas lisosomales.

57 Carrasco Llamas, L.:
Estudios sobre la expresión genética de virus animales.

59 Afonso Rodríguez, C. N.:
Efectos magneto-ópticos de simetría par en metales ferromagnéticos.

63 Vidal Costa, F.:
A la escucha de los sonidos cerca de Tλ en el 4_{He} líquido.

65 Andréu Morales, J. M.:
Una proteína asociada a membrana y sus subunidades.

66 Blázquez Fernández, E.:
Desarrollo ontogénico de los receptores de membrana para insulina y glucagón.

69 Vallejo Vicente, M.:
Razas vacunas autóctonas en vías de extinción.

76 Martín Pérez, R. C.:
Estudio de la susceptibilidad magnetoeléctrica en el Cr_2O_3 policristalino.

80 Guerra Suárez, M.ª D.:
Reacción de Amidas con compuestos organoalumínicos.

82 Lamas de León, L.:
Mecanismo de las reacciones de iodación y acoplamiento en el tiroides.

84 Repollés Moliner, J.:
Nitrosación de aminas secundarias como factor de carcinogénesis ambiental.

86 II Semana de Biología:
Flora y fauna acuáticas.

87 II Semana de Biología:
Botánica.

88 II Semana de Biología:
Zoología.

89 II Semana de Biología:
Zoología.

91 Viéitez Martín, J. M.:
Ecología comparada de dos playas de las Rías de Pontevedra y Vigo.

92 Cortijo Mérida, M., y García Blanco, F.:
Estudios estructurales de la glucógeno fosforilasa b.

93 Aguilar Benítez de Lugo, E.:
Regulación de la secreción de LH y prolactina en cuadros anovulatorios experimentales.

95 Bueno de las Heras, J. L.:
Empleo de polielectrolitos para la floculación de suspensiones de partículas de carbón.

96 Núñez Alvarez, C., y Ballester Pérez, A.:
Lixiviación del cinabrio mediante el empleo de agentes complejantes.

101 Fernández de Heredia, C.:
Regulación de la expresión genética a nivel de transcripción durante la diferenciación de Artemia salina.

103 Guix Pericas, M.:
Estudio morfométrico, óptico y ultraestructural de los inmunocitos en la enfermedad celíaca.

105 Llobera i Sande, M.:
Gluconeogénesis «in vivo» en ratas sometidas a distintos estados tiroideos.

106 Usón Finkenzeller, J. M.:
Estudio clásico de las correcciones radiactivas en el átomo de hidrógeno.

107 Galián Jiménez, R.:
Teoría de la dimensión.

111 Obregón Perea, J. M.ª:
Detección precoz del hipotiroidismo congénito.

Fundación Juan March (Madrid)

115 Cacicedo Egües, L.:
Mecanismos moleculares de acción de hormonas tiroideas sobre la regulación de la hormona tirótropa.

121 Rodríguez García, R.:
Caracterización de lisozimas de diferentes especies.

122 Carravedo Fantova, M.:
Introducción a las Orquídeas Españolas.

125 Martínez-Almoyna Rullán, C.:
Contribución al estudio de la Manometría Ano-rectal en niños normales y con alteraciones de la continencia anal.

127 Marro, J.:
Dinámica de transiciones de fase: Teoría y simulación numérica de la evolución temporal de aleaciones metálicas enfriadas rápidamente.

129 Gracia García, M.:
Estudio de cerámicas de interés arqueológico por espectroscopia Mössbauer.

131 García Sevilla, J. A.:
Receptores opiáceos, endorfinas y regulación de la síntesis de monoaminas en el sistema nervioso central.

132 Rodríguez de Bodas, A.:
Aplicación de la espectroscopía de RPE al estudio conformacional del ribosoma y el tRNA.

136 Aragón Reyes, J. J.:
Interacción del Ciclo de los Purín Nucleótidos con el Ciclo del Acido Cítrico en Músculo Esquelético de Rata durante el Ejerciclo.

139 Genís Gálvez, J. M.:
Estudio citológico de la retina del camaleón.

140 Segura Cámara, P. M.:
Las sales de tiazolio ancladas a soporte polimérico insoluble como catalizadores en química orgánica.

141 Vicent López, J. L.:
Efectos anómalos de transporte eléctrico en conductores a baja temperatura.

143 Nieto Vesperinas, M.:
Técnicas de prolongación analítica en el problema de reconstrucción del objeto en óptica.

145 Arias Pérez, J.:
Encefalopatía portosistémica experimental.

147 Palanca Soler, A.:
Aspectos Faunísticos y Ecológicos de Carábidos Altoaragoneses.

150 Vioque Cubero, B.:
Estudio de procesos bioquímicos implicados en la abscisión de la aceituna.

151 González López, J.:
La verdadera morfología y fisiología de Azotobacter: células germinales.

152 Calle García, C.:
Papel modulador de los glucocorticoides en la población de receptores para insulina y glucagón.

154 Alberdi Alonso, M.ª T.:
Paleoecología del yacimiento del Neógeno continental de Los Valles de Fuentidueña (Segovia).

156 Gella Tomás, F. J.:
Estudio de la fosforilasa kinasa de hígado y leucocitos: purificación, características y regulación de su actividad.

157 Margalef Mir, R.:
Distribución de los macrofitos de las aguas dulces y salobres del E. y NE. de España y dependencia de la composición química del medio.

158 Alvarez Fernández-Represa, J.:
Reimplantación experimental de la extremidad posterior en perros.

161 Tomás Ferré, J. M.ª:
Secreción y reutilización de trifosfato de adenosina (ATP) por sinaptosomas colinérgicos.

163 Ferrándiz Leal, J. M.:
Estudio analítico del movimiento de rotación lunar.

Fundación Juan March (Madrid)

164 Rubió Lois, M.; Uriz Lespe, M.ª J., y Bibiloni Rotger, M.ª A.:
Contribución a la fauna de esponjas del litoral catalán. Esponjas córneas.

165 Velasco Rodríguez, V. R.:
Propiedades dinámicas y termodinámicas de superficies de sólidos.

166 Moreno Castillo, I.:
Ciclo anual del zooplancton costero de Gijón.

168 Durán García, S.:
Receptores insulínicos en hipotálamo de rata: localización subcelular y mecanismo (s) de regulación.

Fundación Juan March (Madrid)

Fundación Juan March (Madrid)

Fundación Juan March (Madrid)

Fundación Juan March (Madrid)