

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica
Departamento de Bioquímica. Madrid
(Director. Prof. A. Santos-Ruiz)

Hormonas en *Thaumetopoea pityocampa*

por

M.^a D. Stamm

(Recibido para publicar el 10 de enero de 1964)

Continuando nuestros trabajos sobre hormonas de insectos (2, 3, 4, y 5), en la actualidad se han estudiado en las larvas del lepidóptero *Thaumetopoea pityocampa* (procesionaria del pino).

En el curso de nuestras experiencias hemos podido comprobar que existen en la larva de procesionaria sustancias que, valoradas mediante el test *Calliphora* utilizado para valorar los hormonas de metamorfosis de insectos, presentan actividad hormonal. En algunos casos no es idéntica a la de las dos hormonas citadas, α y β -ecdisona. Las larvas inyectadas con algunos de los extractos obtenidos de la *Thaumetopoea pityocampa* pigmentan su cutícula en el mismo tono que el obtenido por la inyección de α y β -ecdisona, luego debe haber formación de pigmento xantomatina, el cual ha sido aislado de la cutícula de las pupas de *Calliphora*, pero falta por completo el endurecimiento que aparece cuando la inyección se hace con aquéllas. Además, algunas de las sustancias citadas deben de tener una acción citolítica, pues, al día siguiente de la inyección, las larvas que han respondido positivamente a la sustancia inyectada

quedan reducidas casi a su cutícula externa; luego, ha habido una destrucción de los tejidos internos del insecto.

En otros casos producen una pigmentación muy oscura, casi negra, que revela formación de melaninas. Las dosis altas ejercen una acción inhibitoria, puesto que la actividad decrece al aumentar la dosis, dentro de ciertos límites.

Material y métodos

El material utilizado fueron 100 larvas de *Thaumetopoea pityocampa*, procedentes de El Pardo (Madrid), que pesaron 17,4 gr. (material seco).

La técnica utilizada en la extracción y purificación es semejante a la empleada en trabajos anteriores (2-5).

Para la caracterización de las hormonas se utilizó la cromatografía de papel monodimensional, con papel Whatman número 1, en el sistema agua saturada de butanol/agua.

En la valoración de actividad se utilizaron larvas de *Calliphora*, preparadas como se indica en (1), las cuales fueron inyectadas con las soluciones problema.

Los cálculos se realizaron también como se indica en el trabajo citado (1).

Resultados

En la cromatografía de papel de los eluatos se obtuvieron tres manchas cuyos Rf en dos de ellas correspondieron a los de las hormonas α y β -ecdisona (0,71 y 0,80, respectivamente); el Rf de la tercera fue 0,12.

En los cuadros 1, 2, 3, 4 y 5 se representa la actividad biológica de las fracciones obtenidas durante el proceso de purificación, después de cromatografiar sobre columna de óxido aluminico o de distribuir a contracorriente los eluatos.

En la primera cromatografía fraccionada se recogieron 12 fracciones, de las cuales las cinco primeras fueron eluidas con butanol-acetato de etilo (1:3); las tres siguientes con metanol-acetato de etilo (1:4) y las restantes con metanol-acetato de etilo (1:1). La actividad biológica de algunas de ellas se indica en el cuadro I.

TABLA I

Fracción	Dosis en Y	% de actividad
1	1	21 (1)
4	1	7 (1)
4	0,1	100 (2)
4	0,01	100 (1)
4	0,001	22
7	1	23
11	1	10
11	0,1	40 (3)

(1) Pigmentación sin endurecimiento de la cutícula.

(2) Pigmentación sin endurecimiento de cutícula y las larvas se deshacen al tocarlas.

(3) Pigmentación más oscura de lo normal.

El eluato metanólico se distribuyó en contracorriente en el sistema ciclohexano-butanol-agua (6:4:10) utilizando 24

elementos y una relación de volúmenes entre ambas fases superior e inferior de 1/1. La actividad de algunas de las fracciones obtenidas en esta distribución se representa en el cuadro II.

TABLA II

Fracción	Dosis en Y	% de actividad
3	1	41
13	2,14	65 (1)
13	0,88	30
14	0,1	25

(1) En los 2/3 de las larvas la pigmentación es más oscura de lo normal.

Las fracciones 12-14 de esta distribución se cromatografiaron también como anteriormente recogiendo con el primer eluyente las fracciones 1-7, con el segundo las 8-14 y con el tercero las 15-24. En el cuadro III se representa la actividad biológica de las fracciones 9 y 17.

TABLA III

Fracción	Dosis en Y	% de actividad
9	10	5
9	1	25
9	0,1	0
17	10	30 (2)
17	1	40 (1)
17	0,1	33
17	0,01	22 (1)

(1) Pigmentación más oscura de lo normal.

(2) Pigmentación más oscura de lo normal y falta el endurecimiento de la cutícula.

Las fracciones 2-4 de la 1.^a cromatografía fraccionada se distribuyeron también en contracorriente en el mismo sistema empleado anteriormente (2.^a DCC). La actividad de sus fracciones se indica en el cuadro IV.

TABLA IV

Fracción	Dosis en Y	% de actividad
1	1	38 (1)
1	0,1	6
7	1	22
14	0,1	16
19	1	40 (2)
23	0,1	18

- (1) Pigmentación más oscura de lo normal.
 (2) No hay endurecimiento de la cutícula.

Con las fracciones 18-23 de la 2.^a DCC se efectuó la 3.^a, la cual se realizó en 45 etapas. La actividad de las fracciones 14 y 42 de esta última distribución figura en la tabla V.

TABLA V

Fracción	Dosis en Y	% de actividad
14	10	0
14	1	0
14	0,1	3
14	0,01	9
14	0,001	2
42	0,1	10
42	0,01	21
42	0,001	3

Resumen

En las larvas de *Thaumetopoea pityocampa* se identifican por cromatografía de papel las dos hormonas de metamorfosis α y β -ecdisona. Al valorar la actividad biológica de los

extractos obtenidos se comprueba que, en algunos casos, no es idéntica a la de las hormonas citadas, ya que las larvas inyectadas con algunos de éstos pigmentan su cutícula en el mismo tono que el obtenido por inyección de edisonas, pero falta por completo el característico endurecimiento cuticular.

Summary

Hormones in *Thaumetopoea pityocampa*

In the larvae of *Thaumetopoea pityocampa* the two metamorphosis hormones α and β -ecdisonone are identified by means of paper chromatography. In evaluating the biological activity of the extracts obtained, it is shown that, in some cases, it is not identical with that of the hormones mentioned, as the larvae injected with some of these, pigment their cuticle in the same tone as that obtained by injection of ecdisonones, but there is a total absence of the characteristic cuticular hardening.

Bibliografía

- (1) KARLSON P. y G. HANSER: *Z. Naturforsch.*, **7b**, 80, 1952.
- (2) KARLSON, P. y M.^a D. STAMM-MENÉNDEZ: *Hoppe-Seyler's Physiol. Chem.*, **306**, 109, 1950.
- (3) STAMM-MENÉNDEZ, M.^a D.: *R. esp. Fisiol.*, **14**, 263, 1958.
- (4) STAMM-MENÉNDEZ, M.^a D.: *R. esp. Fisiol.*, **18**, 39, 1962.
- (5) STAMM-MENÉNDEZ, M.^a D.: *Anal. R. Acad. Farmacia*, **3**, 205, 1962.

