

Saggi orientativi dell'attività di alcuni fitoecdisoni su vari Artropodi.

PREMESSA.

Nel 1970, nei semi di una pianta esotica appartenente alla famiglia delle Convolvulacee — un'*Ipomoea*, della Sezione *Calonyction* (Choisy) Hallier figlio, prossima alla *turbinata* Lagasca y Segura, quasi sicuramente nuova per la Scienza (Ferrari, 1973) — è stata messa in luce, nei laboratori milanesi della Simes, un'industria che opera in campo farmaceutico, la presenza di un complesso di fitoecdisoni che sono stati successivamente isolati e individuati.

Sul lavoro fatto e sulle ricerche compiute hanno fornito precise notizie Ferrari (1973) e Canonica (1973) nel corso di un Convegno a tavola rotonda tenutosi a Piazzola sul Brenta il 28 maggio 1972.

Intuite le possibilità applicative della scoperta ai fini di un'eventuale lotta contro gli Artropodi dannosi alle piante coltivate, allo scopo di stabilire l'azione delle nuove sostanze attive soprattutto nei confronti degli Insetti, le modalità di azione e le dosi di impiego, sono subito iniziate numerose esperienze di laboratorio affidate all'Istituto da me diretto.

Sui primi risultati ottenuti ha riferito Rota (1973) al predetto Convegno, così come Martelli R. (1973) nella stessa occasione ha fatto conoscere le prove condotte su parcelle sperimentali in campo con una miscela di fitoecdisoni estratti dalla convolvulacea di cui si è detto.

Poiché le informazioni che si hanno sull'attività degli ecdisteroidi sono in complesso piuttosto limitate e scarse e poiché i saggi, sia pure orientativi, compiuti da me e dai miei collaboratori hanno permesso di trarre alcune conclusioni di qualche interesse, ritengo doveroso rendere di pubblica ragione i nostri dati sperimentali che reputo degni di considerazione per un ulteriore sviluppo dei temi di ricerca affrontati.

MATERIALI E METODI

I saggi sono stati condotti con quattro ecdisteroidi — α -ecdisonone (l'ormone isolato nel 1954 da Butenandt e Karlson), β -ecdisonone (= crustecdisonone o ecdisterone; Robbins e altri, 1971), makisterone A, muristerone — diluiti, di volta in volta, in vari solventi quali acqua distillata, glicole e acqua distillata, soluzione fisiologica, alcool oleico e propandiolo, metanolo, acetone.

Quest'ultimo, fra tutti, è sembrato rispondere meglio degli altri alle esigenze della sperimentazione.

Le sostanze attive sono state distribuite, con differenti modalità che saranno via via indicate, su forme postembrionali e su adulti di alcuni Artropodi: in particolare, fra gli Insetti, sul Baco da seta, *Bombyx mori* L. (Lep. Bombycidae), sulla Dorifora della patata, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col. Chrysomelidae), sulla Crisomela dell'olmo, *Galerucella luteola* Müll. (Col. Chrysomelidae), sul cosiddetto « Verme » della farina, *Tenebrio molitor* L. (Col. Tenebrionidae), sulla Mosca domestica, *Musca domestica* L. (Dipt. Muscidae); fra gli Aracnidi sul Ragnetto rosso delle piante erbacee, *Tetranychus urticae* Koch (Acarina Tetranychidae).

Le prove non sono state condotte in maniera uniforme su tutte le specie elencate: gli interventi sono stati condizionati dal numero di individui e dalla quantità di sostanze attive di cui si poteva disporre al momento. I risultati di maggiore attendibilità e interesse sono quelli ottenuti in *Bombyx mori* e in *Leptinotarsa decemlineata*.

Dopo orientativi saggi di inoculazione diretta con microsiringa o di immersione dei soggetti, si è cercato di stabilire come le nuove sostanze manifestassero più spiccatamente la loro attività, vale a dire se per ingestione, per contatto o in ambedue i modi. Per quanto riguarda le dosi, prendendo come base le poche notizie della letteratura e come riferimento quelle indicate da Nakanishi (1969) e da Schneiderman (1972), furono preparate e sperimentate diverse concentrazioni delle sostanze attive a disposizione.

PROVE EFFETTUATE

Per ogni fitoecdizione si riportano i diversi esperimenti compiuti. Ciascun principio attivo, sciolto nei vari solventi (in prevalenza acetone o metanolo), è stato saggiato con varie modalità riportate in ciascuna prova.

α-ecdizione

1. Prova per ingestione

Adulti di *Musca domestica* sono stati alimentati con latte zuccherato al quale erano state aggiunte quantità di principio attivo (p.a.) variabili da μg 2,5 a μg 320. In ogni tesi si è operato con 10 individui a cui è stato offerto ml 1 di soluzione.

Gli insetti non hanno risentito in alcun modo della presenza dell'ecdizione.

2. Prove per contatto

2.1 Si è operato su larve di varia età di *Leptinotarsa decemlineata*, con pennellatura del p.a. in metanolo, in quantità di circa g 0,20 di soluzione all'1‰ per individuo, sulla regione dorsale del torace e dell'addome.

tanto in alcuni individui, con turbamenti di vario genere (anoressia, intorpidimento). La mortalità, come appare dal grafico n. 1, cresce proporzionalmente con quantità di p.a. comprese fra μg 5 e μg 20, per diminuire in modo sensibile intorno a μg 40; si verifica di nuovo a μg 80 ed aumenta di intensità con le maggiori dosi via via impiegate.

Come sarà detto nel capitolo finale, il p.a. saggiato ad alte dosi viene rifiutato dai soggetti e può esplicare pertanto solo un'azione di contatto.

3.2 Su dischi di foglia di patata (*Solanum tuberosum*) di superficie controllata (cm^2 7), offerti a larve dell'ultima (IV) età di *Leptinotarsa decemlineata*, il p.a. in soluzione di metanolo è stato distribuito con le modalità della prova precedente e in quantità variabili da μg 2,5 a μg 320.

Si è constatato un effetto parziale, con rallentamento di attività limitato ad alcuni individui che cessano di alimentarsi senza però morire.

β -ecdisione

4. Prova di inoculazione diretta del principio attivo

L'ecdisione è stato iniettato, a mezzo di microsiringa, nelle membrane intersegmentali degli ultimi uroterghi dell'addome di larve della II età di *Bombyx mori* alla concentrazione dell'1‰ e in quantità tali da fornire da μg 1 a 40 per individuo. L'inoculazione è stata singola o ripetuta a distanza di 2-3 giorni con la medesima dose.

Si è notato in qualche caso un ritardo nell'incrisolidamento, la morte di alcuni individui a maturità oppure il decesso abbastanza rapido dei soggetti trattati con μg 30-40.

5. Prove per ingestione

5.1 Nessun effetto si è riscontrato con una somministrazione del p.a., in quantità variabili da μg 0,43 a μg 3,44 diluito in ml 4 di della distillata, incorporati in g 10 di un substrato alimentare — costituito da 2/3 di farina di germe di mais e di 1/3 di farina di erba medica disidratata — su cui erano nutrite 5 larve di *Tenebrio molitor* della penultima e dell'ultima età.

5.2 Uova di *Musca domestica* sono state poste su un substrato alimentare composto da crusca (kg 1,475), farina di erba medica (g 793), sospensione di lievito di birra (ml 300), sciroppo di zucchero d'orzo (ml 25) e acqua (ml 5.000). Le uova, in numero di 10, erano poste su g 4 di substrato alimentare a cui si aggiungeva il p.a. in dosi crescenti da μg 0,03 a μg 16 in soluzione di glicole e acqua distillata portata a volume di ml 1 mediante ulteriore aggiunta di acqua.

Si è notato un ritardo di qualche giorno nello sfarfallamento degli adulti sviluppatasi da larve provenienti da dette uova.

5.3 La prova precedente è stata ripetuta distribuendo sul mangime

maggiori dosi di p.a. — μg 10, 100, 200, 300 — in un'unica somministrazione e immettendo larve di II età di *Musca domestica*.

Il p.a. sembra agire, diminuendo il numero degli individui sfarfallati, se distribuito a dose unica in quantità di almeno 3 mg/kg di substrato alimentare.

6. Prove per contatto

6.1 Con pennellature del p.a. e del solvente (acetone), in quantità di circa g 0,2 in soluzione all'1% per individuo, sulla regione dorsale dell'addome di larve di *Leptinotarsa decemlineata* di IV età, si è ottenuto un effetto parziale: gli individui cessano temporaneamente di alimentarsi ma, superato lo « choc », riprendono, sia pure con lentezza, la loro attività.

6.2 Larve di *Tenebrio molitor* della penultima e dell'ultima età, del peso medio di mg 110, sono state immerse, in numero di 5, per 1 min in ml 1 di acqua distillata contenente il p.a. in quantità variabili da μg 0,43 a μg 3,44, sciolto in glicole e acqua distillata.

Non si sono osservate differenze apparentemente apprezzabili con i controlli. La stessa operazione, ripetuta tre volte ad intervallo di 8 giorni, ha determinato in alcuni individui un ritardo nell'impupamento, in altri un prolungarsi del periodo di metamorfosi.

6.3 La stessa prova effettuata con larve di *Musca domestica* dell'ultima età con dosi di p.a. variabili da μg 0,125 a μg 1, ha fornito analoghi risultati, ma prevalentemente un ritardo non omogeneo nell'impupamento da parte degli individui trattati.

7. Prove per ingestione e per contatto

7.1 Il p.a., in soluzione di acetone, è stato irrorato su foglie di gelso (*Morus alba*) di superficie controllata (cm^2 7) su cui sono state alimentate larve di *Bombyx mori* di IV età.

Le dosi e le modalità della prova sono quelle indicate al punto 3.1 e sono riportate, unitamente ai risultati, nella tabella II e nel grafico n. 1.

L'azione del fitoecdisono in complesso appare blanda. La diminuzione di mortalità avviene fra μg 5 e μg 10, con una lenta ripresa a partire da μg 20.

7.2 Analogamente si è proceduto su larve di *Leptinotarsa decemlineata* di IV età alimentate con dischi di foglia di patata (*Solanum tuberosum*) aventi superficie di cm^2 7.

Il p.a., in soluzione acetonica, non ha dimostrato particolare effetto sugli individui, un numero modesto dei quali però non sopravvive.

7.3 Nessun risultato degno di nota è stato rilevato irrorando il p.a., in quantità variabili da μg 10 a μg 80, in soluzione acetonica diluita in 1 ml di acqua distillata, su dischi di foglia di fagiolo (*Phaseolus* sp.) di super-

TABELLA II. — Prove con β -ecdisione su *Bombyx mori* L.

Organismo test: larve di IV età di *B. mori* del peso medio di g 2.

Numero (N) di larve per ciascuna dose saggiata: 15.

Somministrazione: unica su disco di foglia di gelso di cm² 7.

Solvente: acetone.

Numero (n) di individui morti nelle diverse fasi di allevamento o sopravvissuti.

Fase	Punteggio (x)	Dose di principio attivo in $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 7 di foglia								Testimone	
		2,5	5	10	20	40	80	160	320	Sol- vente	Con- troll.
Larve morte durante i gg 1°-2° di allevamento	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Larve morte durante i gg 3°-10° di allevamento	4	—	—	—	1	1	1	1	2	—	—
Larve morte all'inizio della filatura del bozzolo	2	1	1	—	1	—	—	1	—	—	—
Larve morte a bozzolo completato	1	1	1	1	1	1	1	5	4	—	—
Adulti starfallati	0	13	13	14	12	13	13	8	9	—	—
	Totale	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	$\frac{\sum n \cdot x}{N}$	0.20	0.20	0.07	0.47	0.33	0.33	0.73	0.80		

ficie controllata (cm² 7) su cui era insediata una popolazione mista (forme giovanili e adulti) di *Tetranychus urticae*.

Makisterone A

8. Prova di inoculazione diretta del principio attivo

Per mezzo di microsiringa il p.a., alla concentrazione dell'1‰, è stato iniettato nell'addome di larve di *Bombyx mori* della penultima età in quantità tale da fornire da μg 1 a μg 40 per individuo. L'inoculazione è stata singola o ripetuta a distanza di 2-3 giorni con la medesima dose.

Si è notato un ritardo nell'incrisalidamento, la morte di alcuni individui a maturità oppure il decesso abbastanza rapido dei soggetti trattati con le dosi più elevate.

9. Prove per ingestione

9.1 L'ecdisteroide è stato aggiunto, a concentrazioni variabili da μg 2,5 a μg 320, nell'alimento (latte zuccherato) offerto ad adulti di *Musca dome-*

stica. In ogni tesi si è operato su 10 soggetti a cui è stato offerto ml 1 di soluzione.

Non si è verificato alcun fatto degno di nota.

9.2 Il p.a., in un'unica dose iniziale o in dosi ripetute, è stato incorporato nel substrato alimentare (di composizione identica a quella riportata al punto 5.1) su cui sono state alimentate larve di *Tenebrio molitor*. Le quantità di makisterone A impiegate variavano da μg 0,43 a μg 3,44.

Si è notato un ritardo nell'impupamento delle larve oppure, nel caso che la quantità di p.a. usata fosse superiore a 3 mg/kg di substrato alimentare, un'azione tossica abbastanza evidente con morte di alcuni individui.

9.3 Uova di *Musca domestica* sono state allevate con le stesse modalità indicate al punto 5.2 e con lo stesso substrato alimentare a cui era stato aggiunto 1 ml di liquido contenente da μg 0,03 a μg 16 di p.a..

Si è notato un ritardo nell'impupamento delle larve e la comparsa di alcuni adulti con sviluppo somatico visibilmente ridotto.

9.4 La prova precedente è stata ripetuta distribuendo sul mangime

TABELLA III. - Prove con makisterone A su *Bombyx mori* L.

Organismo test: larve di IV età di *B. mori* del peso medio di g 2.

Numero (N) di larve per ciascuna dose saggiata: 15.

Somministrazione: unica su disco di foglia di gelso di cm^2 7.

Solvente: acetone.

Numero (n) di individui morti nelle diverse fasi di allevamento o sopravvissuti.

Fase	Punteggio (x)	Dose di principio attivo in $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 7 di foglia								Testimone	
		2,5	5	10	20	40	80	160	320	Sol- vente	Con- trol.
Larve morte durante i gg 1°-2° di allevamento	8	—	—	—	—	—	—	—	12	—	—
Larve morte durante i gg 3°-10° di allevamento	4	9	4	6	—	3	5	3	—	—	—
Larve morte all'inizio della filatura del bozzolo	2	—	—	—	1	1	1	3	—	—	—
Larve morte a bozzolo completato	1	5	2	2	9	8	7	9	3	—	—
Adulti sfarfallati	0	1	9	7	5	3	2	—	—	—	—
	Totale	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	$\frac{\sum n \cdot x}{N}$	2.73	1.20	1.93	0.73	1.47	1.93	1.80	6.60		

maggiori dosi di p.a. — μg 10, 100, 200, 300 — in un'unica somministrazione; sul « pabulum », sono state allevate larve di II età di *Musca domestica*.

Il makisterone A sembra manifestare un'azione negativa sullo sviluppo dell'insetto purché in quantità superiore ai 3 mg/kg di substrato alimentare.

10. Prove per contatto

10.1 Nessun risultato è stato ottenuto con applicazione topica, mediante pennellatura, del p.a. e dei solventi (metanolo; alcool oleico e propandiolo), in quantità di circa g 0,2 in soluzione all'1‰ per individuo, sulla regione dorsale dell'addome di larve di *Leptinotarsa decemlineata* di IV età.

10.2 In acqua distillata, a cui erano state aggiunte quantità variabili da μg 0,43 a μg 3,44 di makisterone A, sono state immerse per 1 min larve di *Tenebrio molitor*. L'operazione è stata ripetuta ogni 8 giorni per 3 volte (triplicazione dei dosaggi). Si è notato un modesto ritardo nell'impupamento.

11. Prove per ingestione e per contatto

11.1 Larve di IV età di *Bombyx mori* sono state alimentate con foglie di gelso (*Morus alba*) di superficie controllata (cm^2 7), sulle quali il makisterone A, in soluzione di acetone, è stato distribuito in quantità crescenti, raddoppiate a partire da μg 2,5 fino a μg 320 in analogia a quanto è stato fatto nella prova 3.1. Dosi del p.a. e risultati dell'esperienza risultano in dettaglio nella tabella III e nel grafico n. 1.

L'attività del p.a. si manifesta prevalentemente a distanza dal trattamento, vale a dire dopo 3-10 giorni. L'effetto del fitoecdisone è irregolare fra μg 2,5 e μg 20, dose alla quale si osserva la più bassa mortalità; il fenomeno riprende intorno a μg 40 per aumentare progressivamente con dosi più alte, soprattutto a partire da μg 160.

Negli individui colpiti appare evidente una riduzione più o meno spiccata delle ghiandole sericipare e la formazione di abbondanti strati adiposi sottotegumentali con distacco irregolare del tegumento talvolta molto evidente; se le larve raggiungono la maturità non sono comunque in grado di tessere il bozzolo.

11.2 Analogo esperimento è stato fatto alimentando larve di *Leptinotarsa decemlineata* su foglie di patata (*Solanum tuberosum*) di superficie controllata (cm^2 7) trattate con dosi crescenti, raddoppiate di p.a. a partire da μg 2,5 fino a μg 320.

Come appare dalla tabella IV e dal grafico n. 1, l'azione del fitoecdisone risulta dapprima piuttosto blanda e cessa con μg 40, si evidenzia di nuovo a partire da μg 80, per manifestarsi decisamente da μg 160 a μg 320.

11.3 Larve dell'ultima età di *Musca domestica* sono state immerse per min 1 in formulati con il p.a. a dosi crescenti — μg 2,5, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 — ciascuna delle quali diluita in ml 1,5 di acqua distillata.

Dopo l'operazione, tanto la soluzione quanto le larve sono state poste

TABELLA IV. — Prove con *makisterone A* su *Leptinotarsa decemlineata* (Say).

Organismo test: larve di IV età di *L. decemlineata* del peso medio di g 0,15.

Numero (*N*) di larve per ciascuna dose saggiata: 10.

Somministrazione: unica su disco di foglia di patata di cm² 7.

Solvente: acetone.

Numero (*n*) di individui morti nelle diverse fasi di allevamento o sopravvissuti.

Fase	Punteggio (<i>x</i>)	Dose di principio attivo in µg/cm ² 7 di foglia								Testimone	
		2,5	5	10	20	40	80	160	320	Sol- vente	Con- trol.
Larve morte durante i gg 1 ^o -2 ^o di allevamento	8	—	—	—	—	—	—	3	6	—	—
Larve morte durante i gg 3 ^o -10 ^o di allevamento	4	1	1	1	1	—	2	—	1	3	2
Larve mature morte	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Pupe morte	1	—	—	1	1	—	2	—	—	—	—
Adulti sfarfallati	0	9	9	8	8	10	6	7	3	7	7
	Totale	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	$\frac{\sum n \cdot x}{N}$	0.40	0.40	0.50	0.50	0.00	1.00	2.40	5.20		

nel substrato alimentare (di composizione identica a quella indicata al punto 5.2) allo scopo di controllare l'azione abbinata di contatto e di ingestione.

Soltanto con la dose maggiore — µg 320 — è stato constatato un visibile effetto, vale a dire un'inibizione dello sfarfallamento degli adulti dalle pupe pari al 60% degli individui rispetto ai controlli.

11.4 Si è operato su foglie di faiuolo (*Phaseolus* sp.) infestate da popolazioni miste (forme giovanili e adulti) di *Tetranychus urticae*. Il p.a. è stato somministrato su dischi di foglia di superficie controllata (cm² 7) in dosi variabili da µg 10 a µg 80, in soluzione tanto di metanolo quanto di alcool oleico e propandiolo, successivamente diluita in ml 1 di acqua distillata.

Si sono ottenute risposte diverse a seconda del solvente usato: con metanolo nessuna mortalità, con alcool oleico e propandiolo mortalità pressoché totale. Quest'ultima miscela, come si è osservato in questa e in altre prove, si è dimostrata altamente tossica per l'acaro.

Muristerone

12. Prova per ingestione

Adulti di *Musca domestica* sono stati nutriti con latte zuccherato al quale era stato aggiunto muristerone a concentrazioni variabili da μg 2,5 a μg 320. In ogni tesi si è operato con 10 individui a cui è stato offerto ml 1 di soluzione. Non si sono manifestati fenomeni degni di nota.

13. Prove per contatto

13.1 Un'applicazione topica mediante pennellatura del p.a. e dei solventi — acetone oppure alcool oleico e propandiolo —, in quantità di circa g 0,2 di soluzione all'1‰ per individuo, sulla regione dorsale dell'addome di larve di *Leptinotarsa decemlineata* di IV età ha manifestato un effetto letale limitatamente alle larve mature.

13.2 Larve mature di *Galerucella luteola* sono state immerse per 2-3 minuti secondi, in un'emulsione del p.a. in alcool oleico e propandiolo, diluita in ml 1,5 di acqua distillata. Si è osservato un effetto letale per il 71% della popolazione soltanto con l'impiego di alte dosi di p.a. (μg 320).

14. Prove per ingestione e per contatto

14.1 Il p.a., in soluzione di acetone e a dosi da μg 2,5 a μg 5, è stato distribuito su foglie di gelso (*Morus alba*) di superficie controllata (cm^2 7) che sono state fornite come cibo a larve di II e III età di *Bombyx mori*.

Per la maggior parte degli individui sottoposti ad esperimento, al momento della muta si sono verificate alterazioni di carattere fisiologico che ne hanno impedito il completamento: le manifestazioni più evidenti sono, nell'ordine, desquamazione della cuticola, coartazione del corpo e morte dei soggetti.

14.2 La metodologia riferita al punto precedente è stata applicata a larve di IV età di *Bombyx mori*.

Dosi d'impiego e risultati ottenuti figurano nella tabella V e nel grafico n. 1.

L'effetto tossico risulta evidente nel giro di poche ore e appare palese con disturbi notevolmente diversi nei differenti individui: anoressia, feci a corona di rosario e di alterata composizione, pigmentazioni abnormi (di colore giallo-ocraceo) sulle membrane intersegmentali e sulle zampe addominali, disidratazione, coartazione del corpo, che si aggravano sino alla morte. I pochi individui che sopravvivono si inerisolidano senza fabbricare il bozzolo, spesso in modo teratologico e incompleto con la formazione di « pseudo-crisalidi ».

A differenza degli altri p.a. saggiati, l'attività del muristerone appare netta anche a breve termine (1-2 giorni) e a dosi basse (μg 2,5). Fra μg 5 e μg 10 si ha un rapido e notevole aumento della mortalità che rimane in pratica costante anche a dosi maggiori.

TABELLA V. — Prove con *muristerone* su *Bombyx mori* L.

Organismo test: larve di IV età di *B. mori* del peso medio di g 2.

Numero (*N*) di larve per ciascuna dose saggiata: 15.

Somministrazione: unica su disco di foglia di gelso di cm² 7.

Solvente: acetone.

Numero (*n*) di individui morti nelle diverse fasi di allevamento o sopravvissuti.

Fase	Punteggio (<i>x</i>)	Dose di principio attivo in µg/cm ² 7 di foglia								Testimone	
		2,5	5	10	20	40	80	160	320	Sol-	Con-
Larve morte durante i gg 1°-2° di allevamento	8	—	—	14	15	15	15	15	15	—	—
Larve morte durante i gg 3°-10° di allevamento	4	13	14	—	—	—	—	—	—	—	—
Larve morte all'inizio della filatura del bozzolo	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Larve morte a bozzolo completato	1	1	1	1	—	—	—	—	—	—	—
Adulti sfarfallati	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Totale		15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	$\frac{\sum n \cdot x}{N}$	3.53	3.80	7.53	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00		

14.3 Identica prova è stata eseguita su foglie di patata (*Solanum tuberosum*) di superficie controllata (cm² 7) attaccate da larve di *Leptinotarsa decemlineata* della IV età.

I dati sperimentali, le dosi di impiego e i risultati appaiono nella tabella VI e nel grafico n. 1.

Anche dosi modeste di sostanza attiva determinano morte immediata o inappetenza seguita, a qualche giorno di distanza, dalla morte. Nel corso della sperimentazione si sono notate flessioni di mortalità, sia pure trascurabili, con dosi di µg 10 e di µg 80.

14.4 Con larve dell'ultima età di *Musca domestica* e con formulati contenenti il p.a. è stata effettuata una prova identica a quella riportata al punto 11.3.

Anche in questo caso, soltanto con µg 320 si è potuto constatare che il p.a. inibisce notevolmente lo sfarfallamento degli adulti dalle pupe, ma in misura leggermente inferiore — circa il 50% rispetto ai controlli — di quanto osservato con il makisterone A.

TABELLA VI. — Prove con *muristerone* su *Leptinotarsa decemlineata* (Say).

Organismo test: larve di IV età di *L. decemlineata* del peso medio di g 0,15.

Numero (*N*) di larve per ciascuna dose saggiata: 10.

Somministrazione: unica su disco di foglia di patata di cm² 7.

Solvente: acetone.

Numero (*n*) di individui morti nelle diverse fasi di allevamento o sopravvissuti.

Fase	Pun- teggio (<i>x</i>)	Dose di principio attivo in µg/cm ² 7 di foglia								Testimone	
		2,5	5	10	20	40	80	160	320	Sol- Con- vente	trol.
Larve morte durante i gg 1 ^o -2 ^o di allevamento	8	2	1	—	3	4	4	4	7	—	—
Larve morte durante i gg 3 ^o -10 ^o di allevamento	4	1	1	3	—	3	1	4	—	—	—
Larve mature morte	2	—	2	—	—	1	—	—	—	—	—
Pupe morte	1	—	1	—	1	—	2	—	—	—	—
Adulti sfarfallati	0	7	5	7	6	2	3	2	3	—	—
	Totale	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	$\frac{\sum n \cdot x}{N}$	2.00	1.70	1.20	2.90	4.60	3.80	4.80	5.60		

14.5 Il p.a. è stato irrorato a concentrazioni variabili da µg 10 a µg 80, in soluzione tanto di acetone quanto di alcool oleico e propandiolo diluita in 1 ml di acqua distillata, su dischi di foglia di fagiolo (*Phaseolus* sp.) di superficie controllata (cm² 7) su cui era stata trasferita una popolazione mista (forme giovanili e adulti) di *Tetranychus urticae*.

Analogamente a quanto è stato riferito a proposito del makisterone A, si è avuta conferma dell'assoluta intolleranza dell'acaro al solvente alcool oleico e propandiolo. In presenza di tale miscela si è avuta mortalità completa degli individui, cosa che non si è verificata in presenza di acetone. Il muristerone non ha dimostrato attività degna di nota nei confronti del *Tetranychus urticae*.

DISCUSSIONE DEI RISULTATI SPERIMENTALI

Per meglio valutare l'attività dei fitoecdisoni e per rendere comparabili i risultati della sperimentazione è stato fatto un più approfondito esame dei risultati delle prove condotte in maniera più ampia e più completa sulle larve di IV età di *Bombyx mori* L. e di *Leptinotarsa decemlineata* (Say). In

particolare sono state stabilite cinque classi di risposta al trattamento e precisamente quelle indicate nelle tabelle I-VI come fasi di allevamento durante le quali si verifica mortalità. È stato poi attribuito a ogni classe un punteggio numerico che va da 0 (assenza di risposta) a 1, 2, 4, 8 onde pervenire a una misura quantitativa, sia pure molto elementare, dell'attività delle sostanze usate alle diverse dosi. Tale misura viene espressa come sommatoria dei prodotti del numero (n) di organismi-test appartenenti a ciascuna classe per il rispettivo punteggio (x), divisa per il numero totale degli organismi-test (N) per dose saggiata.

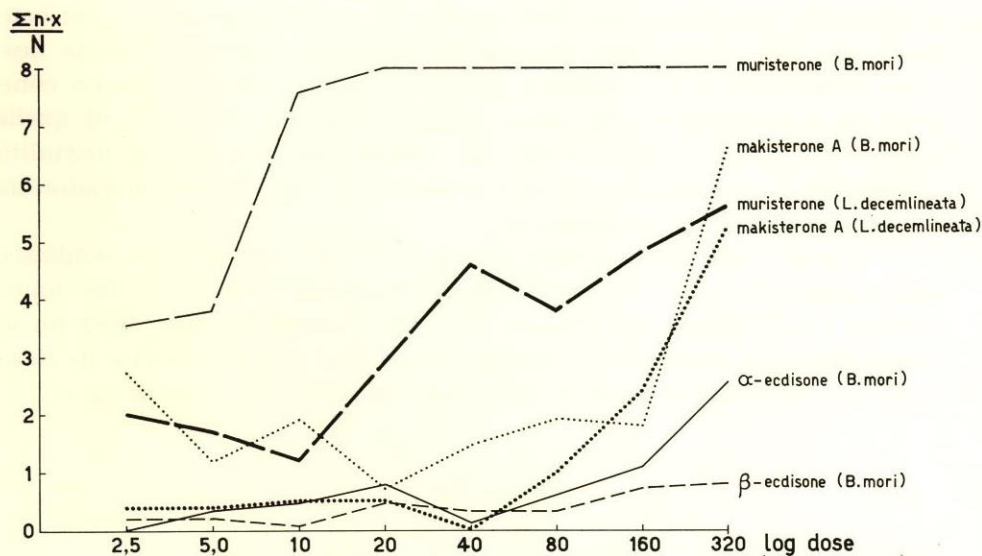


GRAFICO N. 1.

Attività esplicata in laboratorio da alcuni fitoecdisoni — α -ecdisoni, β -ecdisoni, makisterone A, muristerone — su larve di IV età di *Bombyx mori* L. e di *Leptinotarsa decemlineata* (Say).

Dall'esame dei dati riportati nelle tabelle e nel grafico n. 1, appare con una certa evidenza una quasi generale diminuzione iniziale di attività con un minimo che si verifica fra le dosi di μg 10 e μg 40. Questa flessione sembra separare due distinte fasi dell'andamento della mortalità in funzione della dose. Nella prima fase è prevalente l'assunzione del principio attivo per via orale, assunzione che decresce fino a raggiungere il valore minimo per l'azione fagoinibitrice via via crescente con l'aumento della dose somministrata. A questo punto inizia la seconda fase in cui progressivamente prevale l'azione di contatto.

In particolare:

— α -ecdisoni manifesta il minimo di attività intorno a μg 40. La sintoma-

- tologia più evidente che si riscontra nei pochi individui colpiti nella prima fase consiste in turbamenti di vario genere che si manifestano dapprima con anoressia e intorpidimento e quindi con la morte;
- β -ecdisione si dimostra scarsamente efficace con un minimo di attività intorno a μg 10;
 - makisterone A, mostra il minimo di attività fra μg 20 in *Bombyx mori* e μg 40 in *Leptinotarsa decemlineata*. Da notare che nel Baco da seta determina il più delle volte una spiccata ipotrofia delle ghiandole sericiple e la formazione negli spazi periviscerali sottotegumentali di uno spesso e abnorme strato adiposo che provoca una mortalità fortemente crescente con la dose;
 - muristerone, manifesta, alle dosi impiegate, un'efficacia diversa nei confronti dei due insetti-test: mentre in *Leptinotarsa decemlineata* la flessione di attività si ha intorno a μg 10, in *Bombyx mori* essa non compare ma è presumibile che possa verificarsi a dosi più basse di quelle saggiate ($< 2,5$). A conferma di tale ipotesi va detto che la mortalità a maggiore distanza dalla nascita è preceduta in *Leptinotarsa decemlineata* da evidenti fenomeni di anoressia;
 - fra i fitoecdisonici sperimentati, makisterone A e muristerone sembrano nettamente più attivi di α -ecdisione e β -ecdisione. Dei primi due muristerone è nettamente più efficace anche se si è notata una diversità di comportamento nei confronti dei due insetti-test e in particolare di *Bombyx mori* nel quale si osserva la totale mortalità alla dose di μg 20.

CONCLUSIONI

Concludendo, dalle esperienze effettuate si può presumere che:

1) i fitoecdisoni saggiati manifestino una migliore e più appariscente azione per contatto che non per ingestione. A questo riguardo si può pensare che il reperimento di nuovi solventi capaci di far penetrare meglio i principi attivi nel corpo degli insetti potrà consentire più appariscenti risultati anche di ordine pratico;

2) i fitoecdisoni abbiano una buona selettività nei confronti delle diverse specie di Artropodi prese in esame. In base alle esperienze condotte si può dire che alcune appaiono molto sensibili all'azione di principi attivi sperimentali e a quella del muristerone in particolare (es. *Bombyx mori*, *Leptinotarsa decemlineata*), altre che lo sono in misura minore (es. *Galerucella luteola*, *Musca domestica*), altri infine che non lo sono affatto (*Tetranychus urticae*);

3) il muristerone sia il più valido fra i fitoecdisoni saggiati.

Ringraziamenti

Desidero esternare la mia più viva gratitudine al Dr Giorgio Valli

del nostro Istituto, validissimo e insostituibile collaboratore che ha materialmente condotto con precisione e scrupolo le prove di cui si è riferito, e al Dr Gianfranco Lapietra dell'Istituto Sperimentale per la Pioppicoltura di Casale Monferrato, i cui preziosi consigli in campo statistico hanno consentito una migliore interpretazione dei dati scaturiti dalla sperimentazione. Un particolare ringraziamento anche alla Cardioterapica Simes che ha largamente contribuito nelle ricerche mettendo a disposizione del nostro Istituto le sostanze necessarie alla sperimentazione.

RIASSUNTO

Viene riferita un'ampia sperimentazione condotta in laboratorio con alcuni ecdisteroidei — α -ecdisona, β -ecdisona, makisterone A, muristerone — su forme postembrionali e su adulti di diversi Artropodi: *Bombyx mori* L., *Leptinotarsa decemlineata* (Say), *Galerucella luteola* Müll., *Tenebrio molitor* L., *Musca domestica* L. e *Tetranychus urticae* Koch.

Alcuni soggetti, in relazione all'età e al momento dello sviluppo in cui si trovano, non danno segni di reazione a contatto delle sostanze attive sperimentate, altri invece accusano turbamenti di vario genere.

I dati più interessanti si sono ottenuti nelle prove su larve di *Bombyx mori* e di *Leptinotarsa decemlineata*.

La loro interpretazione statistica ha consentito di pervenire a una misura quantitativa, sia pure elementare, dell'attività delle sostanze attive usate alle diverse dosi.

In linea di massima in tutti i fitoecdisoni saggianti appare con una certa evidenza una quasi generale diminuzione iniziale di attività con un minimo che si verifica fra le dosi di μg 10 e μg 40. Questa flessione sembra separare due distinte fasi dell'andamento della mortalità in funzione della dose. Nella prima fase è prevalente l'assunzione del principio attivo per via orale, assunzione che decresce fino a raggiungere il valore minimo per l'azione fagoinibitrice via via crescente con l'aumento della dose somministrata. A questo punto inizia la seconda fase in cui progressivamente prevale l'azione di contatto.

In conclusione, i fitoecdisoni saggianti sembrano esplicitare una prevalente azione di contatto anziché di ingestione e una buona selettività nei confronti delle diverse specie di Artropodi prese in esame. Fra tutti, il muristerone ha dimostrato un'evidente azione che potrebbe far intravedere applicazioni pratiche contro gli Artropodi dannosi.

Orientative trials with some phytoecdysones against some Arthropoda

SUMMARY

An account is given on a large experimentation carried out in the laboratory on the effects of some ecdysteroids (α -ecdysone, β -ecdysone, makisterone A, muristerone) on postembryonic stages and adults of *Bombyx mori* L., *Leptinotarsa decemlineata* (Say), *Galerucella luteola* Müll., *Tenebrio molitor* L., *Musca domestica* L., *Tetranychus urticae* Koch.

Some of the animals mentioned, in relation to their age and their stage of development, were not affected by the steroids. The most interesting data were obtained testing on the larvae of *B. mori* and *L. decemlineata*. The statistical analysis of the data has permitted to assess a rough quantitative measure of the degree of activity for the various dosages of the phytoecdysones.

As a general all the phytoecdysones examined show at first a decline in their activity with a minimum between μg 10 and 40 per cm^2 of leaf. This seems to separate two different phases of the mortality level as a function of the dosage. In the first phase the effect caused by the ingestion of the active ingredient prevails but it decreases toward the minimum as the antifeeding effect grows with the dosage. At this point a second phase starts with a prevailing effect by contact.

As a conclusion the tested phytoecdysones seem to act mainly by contact rather than by feeding and show a fair selectivity for some of the Arthropods taken into consideration. Muristerone gave the best results allowing to forecast a promising practical use for the control of dangerous Arthropods.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- BUTENANDT A., KARLSON P., 1954. — Über die Isolierung eines Metamorphose-Hormons der Insekten in kristallisierter Form. - *Z. Naturforsch.*, 9b: 389-391.
- CANONICA L., 1973. — Struttura, biogenesi e chimica degli ormoni della muta. - *Inftore fitopatol.*, Bologna, XXIII (1-2): 11-14.
- FERRARI G., 1973. — I fitoecdisoni: scoperta e sorgenti. Nuove acquisizioni. - *Inftore fitopatol.*, Bologna, XXIII (1-2): 15-24.
- MARTELLI R., 1973. — Saggi sull'attività insetticida dei fitoecdisoni. - *Inftore fitopatol.*, Bologna, XXIII (1-2): 27-32.
- NAKANISHI K., 1969. — Ponasterones, compounds with moulting hormone activity. - *Bull. Soc. chim. Fr.*, 10: 3475-3485.
- ROBBINS W. E., KAPLANIS J. N., SVOBODA J. A., THOMPSON M. J., 1971. — Steroid metabolism in insects. - *A. Rev. Ent.*, 16: 53-72.
- ROTA P., 1973. — Esperienze di laboratorio sugli insetti con i fitoecdisoni. - *Inftore fitopatol.*, Bologna, XXIII (1-2): 25-26.
- SCHNEIDERMAN H. A., 1972. — Insect hormones and insect control. - In: MENN J. J., BEROZA M., *Insect Juvenile Hormones*: xv+341 pp., Academic Press, New York-London.