

Influencia de los *corpora allata* en el desarrollo de las glándulas sexuales accesorias del macho de *Blatta orientalis*

M. García-Alonso, M. D. Piulachs y X. Bellés*

Unidad de Fisiología de Insectos (Agrobiología)
Centro de Investigación y Desarrollo (C.S.I.C.)
J. Girona, 18
08034 Barcelona (España)

(Recibido el 4 de diciembre de 1991)

M. GARCÍA-ALONSO, M. D. PIULACHS and X. BELLÉS. *Influence of the corpora allata on the Accessory Reproductive Gland Development in Male Blatta orientalis*. Rev. esp. Fisiol., 48 (2), 77-82, 1992.

The volumetric changes of the *corpora allata* (CA) during the first 15 days of imaginal life of *Blatta orientalis* L. (Dictyoptera, Blattidae) are studied in connection with the growth of the accessory reproductive glands (GSAM). Both, the CA and the GSAM, grow in parallel during the first 3-4 days of imaginal life, which suggests a possible functional link between both organs. If the CA are explanted on freshly ecdysed adults, then GSAM protein accumulation is reduced (by 35 %) when checked on day 5, and administration of juvenile hormone (JH) restores normal development. However, when the effects of allatectomy are studied on day 12, no significant differences with respect to the controls are observed. These results suggest that JH is not strictly necessary for protein synthesis in the GSAM of *B. orientalis* although it has a stimulatory effect on this synthesis.

Key words: *Blatta orientalis*, Male accessory reproductive glands, *Corpora allata*, Juvenile hormone.

Las glándulas sexuales accesorias del macho (GSAM) en los insectos se han estudiado desde un punto de vista morfológico (1) y están parcialmente caracterizadas desde un punto de vista funcional (6). En términos generales, las GSAM acumulan secreciones de naturaleza fundamentalmente proteica, cuyas funciones

* A quien debe dirigirse la correspondencia. (Teléfono: 93-204 06 00; Fax: 93-204 59 04)

están relacionadas con la protección del esperma (7) y con la modulación del comportamiento de la hembra (9).

Sin embargo, por lo que se refiere a la regulación endocrina de las GSAM y, más concretamente, al papel atribuible a la hormona juvenil (HJ) producida en los *corpora allata* (CA), la bibliografía disponible denota importantes lagunas y discrepancias. El desarrollo de las GSAM du-

rante la maduración sexual se regula por la HJ en numerosas especies de insectos, mientras que en otras, la ausencia de esta hormona no parece influir en su desarrollo (7).

Discrepancias similares se dan dentro del orden de los dictiópteros. En las especies *Leucophaea maderae* (12) y *Diploptera punctata* (15) las GSAM permanecen activas y siguen secretando proteínas después de extirpar los CA. En cambio, las GSAM de machos alatectomizados de *Periplaneta americana* son de pequeño tamaño y producen menor cantidad de proteínas que la normal (3).

En el presente trabajo abordamos esta cuestión en la especie *Blatta orientalis* L. (Dictyoptera, Blattidae), estudiando el desarrollo de las GSAM y de los CA durante el período de maduración sexual, así como los efectos de la alatectomía, seguida o no de tratamientos de corrección con HJ exógena.

Material y Métodos

Se han utilizado machos adultos y vírgenes de *Blatta orientalis* de edad conocida, procedentes de una colonia mantenida en el laboratorio a 30 ± 1 °C, 60-70 % de humedad relativa y en oscuridad total. Su alimentación ha consistido en galletas de las utilizadas como comida para perro, suministrando al propio tiempo agua *ad libitum*.

Las GSAM de *B. orientalis* han sido ampliamente descritas (5). Para el estudio de su desarrollo se han empleado dos métodos simultáneos: medición de la longitud y la anchura de la masa de túbulos y cálculo de su volumen, asimilándola a un elipsoide, mediante la fórmula (4/3) $\pi [(d_1 + d_2)/4]^3$, siendo d_1 y d_2 la longitud y la anchura medidas. Dicho parámetro permite seguir el incremento dimensional de la glándula a lo largo del proceso de maduración. Después, se ha extirpado toda la glándula para cuantificar las pro-

teínas totales, siguiendo el método de BRADFORD (4).

El desarrollo volumétrico de los CA se ha realizado según el procedimiento descrito anteriormente (2), considerando la media de ambos CA del mismo individuo. Tanto el seguimiento del volumen de los CA como el desarrollo de las GSAM se llevó a cabo a lo largo de los primeros 15 días de vida adulta, con medidas a intervalos de 24 horas.

Para estudiar los efectos de la alatectomía, los CA se extirparon en machos recién emergidos, menos de 12 h después de la muda imaginal (11). Las operaciones simuladas que se realizaron como control se llevaron a cabo retirando el esclerito cervical y las tráqueas adyacentes. En los experimentos de corrección hormonal, la HJ—HJ III, natural de los dictiópteros (13)— se administró en dos dosis de 10 ó 20 μg cada una: una, inmediatamente después de la alatectomía y otra, 48 horas más tarde. La hormona se aplicó tópicamente en disolución acetónica (2 μl) sobre la parte dorsal del abdomen. Los efectos inducidos por la alatectomía, seguida o no de los tratamientos con HJ, se estudiaron los días 5 y 12 de vida adulta. Todas las operaciones y tratamientos se llevaron a cabo bajo anestesia de CO_2 .

Resultados

El desarrollo volumétrico de las GSAM muestra un incremento progresivo desde la emergencia del adulto, en que las GSAM miden unos 4 mm^3 , hasta el día 3 en que miden, aproximadamente, el doble. Después del día 3 los valores medidos oscilan entre 8 y 10 mm^3 (fig. 1). En cuanto a las variaciones del contenido proteico hay un incremento progresivo desde la emergencia del adulto hasta el día 3, y decrece entre los días 4 y 6, se incrementa de nuevo hasta el día 10 y decrece nuevamente hacia el final del período estudiado.

En la figura 2 se representa el desarrollo

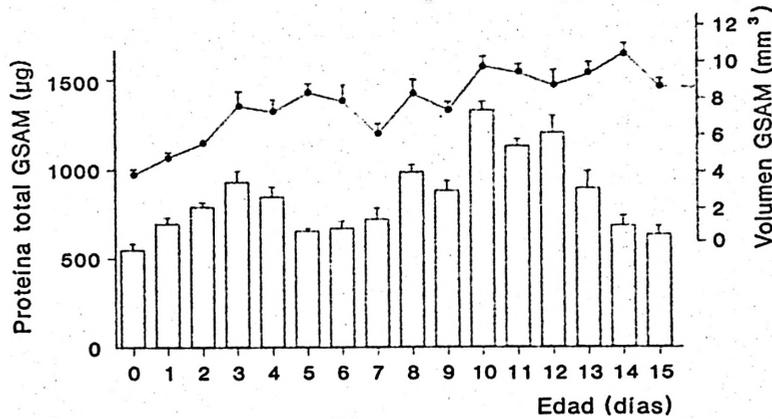


Fig. 1. Desarrollo volumétrico (puntos unidos por una línea continua) y contenido proteico (columnas) de las glándulas sexuales accesorias del macho (GSAM) de *Blatta orientalis*. Cada valor representa la media de 10-15 ejemplares. Los segmentos verticales representan el error típico de la media.

volumétrico de los CA en función de la edad. Se observa un crecimiento progresivo desde la emergencia del adulto hasta el día 7 y, después, los valores se mantienen alrededor de $15 \mu\text{m}^3 \times 10^6$, con una fluctuación aparente, pero no significativa. Por otro lado, la relación volumétrica entre ambos CA del mismo individuo

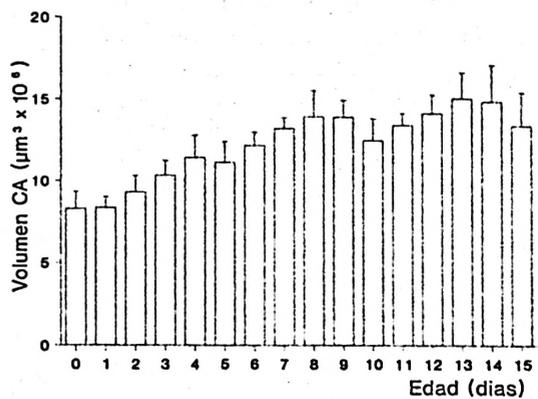


Fig. 2. Desarrollo volumétrico de los corpora allata del macho de *Blatta orientalis*. Cada valor representa la media de 10-15 ejemplares. Los segmentos verticales representan el error típico de la media.

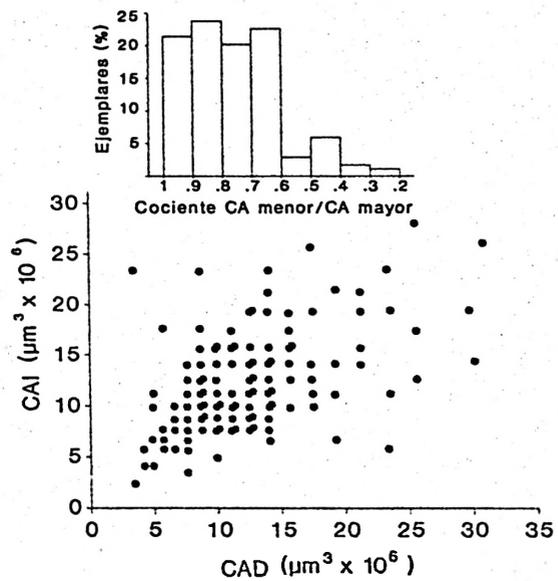


Fig. 3. Relación entre los volúmenes de los corpora allata (derecho: CAD e izquierdo: CAI) del mismo ejemplar en machos de *Blatta orientalis*. En la parte superior se ha representado el porcentaje de ejemplares ($n = 168$) hallados en diferentes grados de asimetría (cociente CA menor / CA mayor).

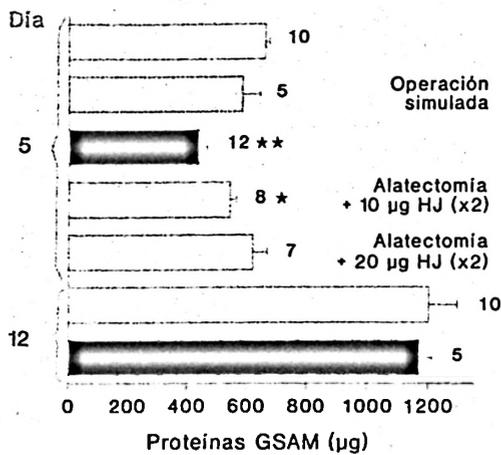


Fig. 4. Efecto de la alatectomía, seguida o no de tratamiento con hormona juvenil III (HJ), sobre el contenido proteico en las glándulas accesorias del macho de *Blatta orientalis*.

Las alatectomías fueron realizadas inmediatamente después de la muda imaginal y los efectos se estudiaron el día 5 y el día 12 de vida adulta. (Alatectomía, ■; control, □). Únicamente se dan diferencias significativas (test t) respecto a los controles respectivos en el caso de los ejemplares alatectomizados (**, $P < 0,0001$) y en el de los ejemplares alatectomizados y tratados con dos dosis de 10 µg de HJ (*, $P < 0,0004$). Se indica el error típico de la media y el número de réplicas.

muestra un notable grado de asimetría (fig. 3), lo cual es también aparente si se calcula el cociente entre el CA menor y el CA mayor del mismo ejemplar.

Cuando los ejemplares alatectomizados se disecan el día 5 de vida adulta, la cantidad de proteína de las GSAM es significativamente inferior a la de los controles (fig. 4). Sin embargo, la administración de HJ corrige esta deficiencia, y los ejemplares tratados con dos dosis de 10 µg de HJ presentan niveles de proteínas aún significativamente inferiores a los controles, pero superiores a los alatectomizados ($p < 0,01$), mientras que en los tratados con dos dosis de 20 µg ya no difieren de los controles (fig. 4). Cuando los ejemplares alatectomizados se disecan el día 12, los ni-

veles de proteínas de las GSAM no son significativamente diferentes de los controles de esa misma edad (fig. 4).

Discusión

El desarrollo de las GSAM de *B. orientalis*, tanto volumétrico como en contenido proteico (fig. 1), muestra un incremento progresivo desde el día de la muda imaginal hasta el día 3 de vida adulta. Después, se observan diversas fluctuaciones alrededor de un valor medio entre 8 y 10 mm³, por lo que se refiere al volumen, y en torno a 900 µg, en cuanto al contenido proteico. Las fluctuaciones son más aparentes en el perfil proteico, destacándose el decremento que se produce entre los días 5 y 6, el incremento marcado por el máximo del día 10 y el nuevo decremento que se observa hacia el final del período estudiado. Estas fluctuaciones no tienen precedente en otros dictiópteros estudiados en este sentido, como *P. americana* (3) o *D. punctata* (15), en los que el perfil del crecimiento de las GSAM, estimado como incremento en peso seco de las mismas, adopta una forma aproximadamente logarítmica. La interpretación de estos decrementos merece una cierta atención. No parece que puedan explicarse por una expulsión de proteínas al exterior, dado que ello comporta, normalmente, la formación del espermatóforo y sólo se produce durante la cópula, al menos en la especie *Blattella germanica* (8). Tampoco parece deberse a una liberación de proteínas de la glándula al hemocele, por cuanto el estudio histológico de las GSAM (1) no sugiere que pueda darse una liberación a través de los túbulos hacia el exterior. Así, una explicación posible a las fluctuaciones observadas sería la de una autorregulación del contenido proteico óptimo mediante procesos de reabsorción proteica y nueva síntesis en el interior de los túbulos.

Por lo que se refiere al desarrollo volumétrico de los CA, se observa también

un incremento inicial sostenido en los 4 primeros días de vida adulta. Sin embargo, el volumen sigue creciendo hasta el día 8, para mantenerse con alguna oscilación en el valor máximo alcanzado ese día. Por otro lado, los dos CA del mismo ejemplar muestran un considerable grado de asimetría. Solamente alrededor de un 20 % de los ejemplares estudiados dieron un cociente CA menor/CA mayor de entre 1,0 y 0,9. En CA de hembras de *B. germanica* se ha descrito (2) un grado de asimetría similar, mientras que en *D. punctata*, un 50 % de los ejemplares estudiados (14) dieron un cociente CA menor/CA mayor, de entre 1,0 y 0,9.

Si se comparan los valores del contenido proteico de las GSAM y los del volumen de los CA, se observa un incremento paralelo los tres primeros días de vida adulta, lo cual puede sugerir una cierta relación funcional entre la HJ producida en los CA y la síntesis de las proteínas en las GSAM. Los resultados obtenidos en los experimentos de alatectomía sugieren también esta relación, dado que la extirpación de los CA produce reducción significativa de los niveles de proteínas de las GSAM el día 5 de vida adulta, mientras que la administración de HJ reestablece el desarrollo normal. Sin embargo, cuando los efectos de la alatectomía se estudian el día 12, las diferencias respecto a los controles no son ya significativas. Ello indica que la HJ, si bien tiene un efecto estimulador sobre la síntesis de proteínas en las GSAM, no es estrictamente necesaria para que se lleve a cabo dicha síntesis.

Estos resultados se asemejan a los descritos en *P. americana*, por cuanto la actividad secretora de las GSAM de dicha especie es estimulada por la HJ (3). Por el contrario, en *L. maderae* (12) y en *D. punctata* (15) la HJ no parece ejercer ningún efecto aparente sobre el desarrollo de las GSAM. Sin embargo, al menos en esta última especie, en la que se realizaron estudios cuantitativos, el desarrollo de las GSAM de los ejemplares alatectomizados

resultó ligera, pero significativamente inferior respecto de los controles.

Los resultados sugieren que las diferencias, más cuantitativas que cualitativas, pueden ser de naturaleza específica y no debidas a las diferentes metodologías empleadas. Existe una concordancia filogenética: las especies *B. orientalis* y *P. americana*, en las cuales el efecto de la HJ es similar, pertenecen a la familia Blattidae, la más primitiva y cuyas especies exhiben una estrategia reproductiva oportunista, típicamente ovípara (10); *L. maderae* y *D. punctata*, en las que la HJ ejerce un efecto leve o nulo, pertenecen a la familia Blaberidae cuyos miembros son los más modificados entre los dictiópteros y muestran estrategias reproductivas especializadas, típicamente pseudovivíparas (10). Por otro lado, los datos disponibles sobre la composición proteica de las GSAM de insectos indican que existe una especificidad muy acusada en este sentido (6), por lo que las diferencias sobre el efecto de la alatectomía y de la HJ en las especies mencionadas podrían ser debidas a propiedades bioquímicas específicas.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido financiado por la DGICYT (proyecto PB89-0003, «Estudios sobre la biología de la reproducción de cucarachas»).

Resumen

Se estudia el desarrollo de las glándulas accesorias del macho (GSAM) y de los *corpora allata* (CA) de *Blatta orientalis* L. (Dictyoptera, Blattidae), durante los primeros 15 días de vida adulta. Tanto las GSAM como los CA crecen en paralelo durante los 3 primeros días de vida adulta, lo cual sugiere una posible relación funcional entre ambos órganos. La extirpación de los CA en el adulto recién emergido provoca una reducción significativa (35 % aproximadamente) del contenido proteico de las GSAM medido el día 5, y la administración de hor-

mona juvenil (HJ) reestablece el desarrollo normal. Si las medidas se realizan el día 12, las diferencias entre alatectomizados y controles no resultan significativas. Estos resultados sugieren que la HJ no es estrictamente necesaria para la síntesis de proteínas de las GSAM, aunque ejerce un efecto estimulador sobre dicha síntesis.

Palabras clave: *Blatta orientalis*, Glándulas sexuales accesorias del macho, *corpora allata*, Hormona juvenil.

Bibliografía

1. Adiyodi, K. G. y Adiyodi, R. G.: *Int. Rev. Cytology*, 43, 353-398, 1975.
2. Bellés X. y Piulachs M. D.: *Rev. esp. Fisiol.*, 39, 149-154, 1983.
3. Blaine, W. D. y Dixon, S. E.: *Can. Entomol.*, 105, 1275-1280, 1973.
4. Bradford, M. M.: *Ann. Biochem.*, 72, 248-254, 1976.
5. Cornwell, P. B.: En «The Cockroach. A Laboratory insect and an Industrial Pest». The Rentokil Library, Hutchinson, London, 1968, pp. 178-197.
6. Chen, P. S.: *Ann. Rev. Entomol.*, 29, 233-255, 1984.
7. Happ, G. M.: En «Insect ultrastructure II» (King, R. C. y Akai, H., eds.). Plenum Publ. Corp., Nueva York, 1984, pp. 365-396.
8. Khalifa, A.: *Proc. R. ent. Soc. London*, 25, 53-61, 1950.
9. Leopold, R. A.: *Ann. Rev. Entomol.*, 21, 199-221, 1976.
10. McKittrick, F. A.: *Cornell Univ. Agric. Exp. Station*, 389, 1-198, 1964.
11. Piulachs, M. D.: *Misc. Zool.*, 12, 121-124, 1988.
12. Scharer, B.: *Endocrinology*, 38, 46-55, 1946.
13. Schooley, D. A. y Baker, F. C.: En «Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology» (Kerkut, G. A. y Gilbert, L. I., eds.). Pergamon Press, Oxford, 1985, vol. 7, pp. 363-389.
14. Szibbo, C. M. y Tobe, S. S.: *J. Insect Physiol.*, 27, 655-665, 1981.
15. Tobe, S. S., Musters, A. y Stay, B.: *Physiol. Entomol.*, 4, 79-86, 1979.
16. Weaver, R. J.: *Can. J. Zool.*, 57, 343-345, 1979.