

Efectos de la hormona juvenil y el precoceno II sobre la tasa metabólica del tubo digestivo, cuerpo graso y ovarios del insecto *Oncopeltus fasciatus*

M. D. Garcerá*, P. Ibáñez, R. Martínez y P. Cuñat**

Departamento de Biología Animal, Biología Celular, Genética y Parasitología
Unidad de Fisiología Animal
Universidad de Valencia
46100 Burjassot, Valencia (España)

(Recibido el 28 de abril de 1989)

M. D. GARCERA, P. IBÁÑEZ, R. MARTÍNEZ and P. CUÑAT. *Juvenile Hormone and Precocene II Effects on the Metabolic Rate of Midgut, Fat Body and Ovaries of the Insect Oncopeltus fasciatus*. Rev. esp. Fisiol., 45 (4), 357-362, 1989.

The metabolic rate of midgut, fat body and ovaries from *Oncopeltus fasciatus* adult female has been studied, comparing the results with that from juvenile hormone or precocene II treated insects. Neither juvenile hormone nor precocene II had any effect on midgut and fat body. Precocene II treatment increased the oxygen consumption rate of ovaries, which in turn remained undeveloped. Juvenile hormone had no detectable effects on the metabolic rate of ovaries, other than accelerate their development.

Key words: Juvenile hormone, Precocene II, Insect, Metabolic rate, *Oncopeltus fasciatus*.

El tratamiento de insectos con hormona juvenil (HJ) provoca, en ocasiones, incrementos drásticos en su tasa metabólica (20, 21), por lo que se ha propuesto el uso de este tipo de respuesta como un nuevo tipo de bioensayo para la HJ y sus análogos (13, 14). Por otro lado, el precoceno II (PII) actúa como un agente antialatrotópico (1) interfiriendo la síntesis de HJ y el desarrollo de los *corpora allata*, llegando en ocasiones a producir una auténtica alatectomía química (7, 25).

Existen muchos trabajos que estudian el metabolismo total de los insectos durante su desarrollo embrionario y su metamorfosis. Sin embargo, pocos autores han centrado sus estudios sobre la respiración de órganos aislados (8, 15, 18), y ninguno de ellos considera los efectos hormonales sobre la tasa metabólica de dichos órganos.

El objetivo del presente estudio ha sido investigar los efectos de la HJ y del PII sobre la tasa de consumo de oxígeno de tres órganos diferentes de insectos, con el fin de adquirir algún conocimiento acerca de la actividad específica de la hormona sobre el metabolismo de esos tejidos. Se

* A quien debe dirigirse la correspondencia.

** Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. CSIC. 46010 Valencia. (España).

han escogido los ovarios y el cuerpo graso por ser órganos diana de la HJ (10) y el tubo digestivo porque algunos insectos poseen células de tipo endocrino en dicho órgano (4-6), que podrían verse afectadas por tratamientos con HJ y PII.

Material y Métodos

Se han utilizado hembras adultas de *Oncopeltus fasciatus* procedentes de una colonia criada en laboratorio a $27 \pm 2^\circ \text{C}$, $65 \pm 10\%$ de humedad relativa y fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad. Se han alimentado con una mezcla de semillas de *Asclepias* y de girasol, suministrándoseles agua *ad libitum*.

Los tratamientos se han realizado con HJ de 18 átomos de carbono (10, 11-epoxi-3, 11-dimetil-7-etil-2, 6-tridecadienoato de metilo) y PII (6, 7-dimetoxi, 2, 2-dimetil cromeno), disueltos en acetona a una concentración de 100 mg/ml, aplicándose tópicamente sobre la parte ventral del abdomen 1 μl de uno u otro de ellos. Los controles se tratan únicamente con acetona. En el momento del tratamiento las hembras tienen una edad comprendida entre las 36 y 40 horas desde su ecdisis al estado adulto. Las disecciones se realizan 72 horas después del tratamiento.

La determinación del consumo de oxígeno se ha realizado con un respirómetro diferencial Gilson a presión constante, a una temperatura de $27,0 \pm 0,1^\circ \text{C}$, absorbiéndose el CO_2 con KOH al 20 %. Las medidas del consumo de oxígeno se han realizado a las dos horas de iniciarse el experimento, tras un período de 15 minutos de aclimatación.

Los resultados de la tasa de consumo de oxígeno se han expresado en μl de O_2/mg peso fresco o seco del órgano objeto de estudio/hora.

Tubo digestivo. — Las disecciones se han realizado con suero salino de MITSUHASHI y MARAMOROSCH (17). Una vez

extraídos los órganos y limpios de tráqueas, se lavan en suero salino y se limpian internamente dos veces, una con suero salino y otra con medio de cultivo (17). Una vez limpio se cultiva *in vitro* durante $12 \pm 2 \text{ h}$ a $28 \pm 2^\circ \text{C}$. A continuación se pesa el órgano y se coloca en el matraz del respirómetro con 1,5 ml de medio estéril. Las medidas se han realizado colocando 2 órganos por matraz, y el número de medidas ha sido de 10 por tratamiento. Se ha procedido al mantenimiento *in vitro* durante 12 horas para equilibrar posibles divergencias, debidas a las diferencias de tiempo entre el momento de la disección y el de la última ingestión de alimento, por parte de los insectos ensayados.

Cuerpo graso. — Las disecciones se realizan con suero salino de EPHRUSSI y BEADLE (15). Tras la disección se colocan los órganos en los matraces del respirómetro, con 1 ml de suero, y se procede a la medida del consumo de oxígeno. Los órganos se desecan en estufa hasta obtener un peso constante, por lo que sus tasas metabólicas se expresan como μl de $\text{O}_2/\text{mg p.s.}/\text{h}$. En cada uno de los matraces se coloca el cuerpo graso de dos o tres animales, con un total de 10 medidas. Los cuerpos grasos se han clasificado según el grado de desarrollo de los ovarios del insecto de procedencia.

Ovarios. — Las disecciones se han realizado en suero salino de MITSUHASHI y MARAMOROSCH (17), e inmediatamente después de ser extraídos se pesan y se colocan en los matraces del respirómetro con 1,5 ml de suero, para proceder a la medida de su consumo de oxígeno.

Se han establecido cinco estadios de desarrollo de los ovarios, de acuerdo con la clasificación de KELLY y DAVENPORT (12). El número de ovarios por matraz depende de su grado de desarrollo, siendo esencial colocar una cantidad mínima, para asegurar que se ha sobrepasado el límite de detección del respirómetro. Cada experi-

mento se repite 20 veces para cada uno de los grados de desarrollo considerados, y por cada tipo de tratamiento.

Análisis estadístico. — Los resultados se evalúan estadísticamente aplicando un análisis de la varianza. Si dicho análisis resulta significativo se emplea el test de comparación de Tukey. El nivel de confianza se fija en el 95 %.

Resultados

Tubo digestivo. — La figura 1 muestra las tasas metabólicas del tubo digestivo de hembras de *Oncopeltus fasciatus*, así como los efectos del tratamiento con HJ o PII. Ambos compuestos aumentan la tasa del consumo de oxígeno de este órgano, siendo mayor el efecto producido por la HJ, aunque las diferencias no son significativas ($p > 0,05$).

Cuerpo graso. — Se han considerado cinco tipos distintos de cuerpo graso de acuerdo con el estadio de desarrollo de los ovarios en el momento de la disección. La HJ estimula la deposición de la yema en los oocitos, por lo que en las hembras tratadas con este compuesto sólo se han obtenido ovarios de los tipos denominados como C, D y E (12). Por el contrario, el PII detiene el crecimiento ovárico, por lo que en estas hembras sólo se han obtenido ovarios de los tipos A y B (ovarios sin desarrollar, previtelogénicos). Por tanto, se ha estudiado la tasa metabólica del cuerpo graso procedente de hembras cuyos ovarios mostraban el estadio de desarrollo más frecuente, A, para el caso de los insectos tratados con PII, y E para los tratados con HJ. Cada uno de los tipos de cuerpo graso estudiado se ha comparado con su respectivo control.

Ninguno de los productos químicos utilizados tiene un efecto significativo ($p > 0,05$) sobre la tasa metabólica del cuerpo graso estudiado, cuyos resultados

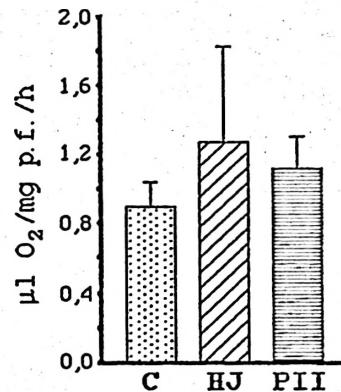


Fig. 1. Tasas metabólicas medias ($\pm$ desviación típica) del tubo digestivo procedente de hembras control (C) y tratadas con hormona juvenil (HJ) o precoceno II (PII).
n=10. Resultado del análisis de la varianza: $F_{(2,27)} = 2,91$ ($p > 0.05$).

oscilan entre $0,96 \pm 0,24$ y $1,08 \pm 0,51$ µl de O_2 /mg p.s./h.

Ovarios. — Se observan variaciones en la tasa de consumo de oxígeno de ovarios procedentes de hembras control, con respecto al estadio de desarrollo considerado. Hay un claro aumento en la tasa metabólica desde los ovarios de tipo A a los de tipo B, seguido por una lenta disminución en los tres tipos de ovarios vitelogénicos, C, D y E. Se han encontrado diferencias significativas (ANOVA: $p < 0.01$; test de Tukey: $p < 0,05$) entre las respuestas mostradas por los ovarios previtelogénicos (A y B) y las de los estadios vitelogénicos (C, D y E) (tabla I).

El tratamiento con HJ acelera la maduración de los ovarios, observándose ovarios de tipo vitelogénico, C, D y E. Por otro lado, los ovarios procedentes de hembras tratadas con PII no han sobrepasado el grado de desarrollo tipo B. Por tanto, los ovarios de hembras tratadas con HJ se han comparado con sus respectivos controles C, D y E para el análisis esta-

Tabla I. Tasas metabólicas medias ($\mu\text{l O}_2/\text{mg p.f./h}$) ($\pm$ desviación típica) de los distintos grados de desarrollo de ovarios procedentes de insectos control y tratados con hormona juvenil (HJ) o precoceno II (PII).

A, B: ovarios previtelogénicos. C, D y E: ovarios vitelogénicos. n = 20.

Estadio	Control	HJ	PII
A	0,47 $\pm$ 0,23	—	0,85 $\pm$ 0,09
B	0,65 $\pm$ 0,30	—	0,69 $\pm$ 0,37
C	0,41 $\pm$ 0,23	0,44 $\pm$ 0,18	—
D	0,39 $\pm$ 0,17	0,40 $\pm$ 0,17	—
E	0,27 $\pm$ 0,13	0,28 $\pm$ 0,14	—

dístico, mientras que los de hembras tratadas con PII se han comparado con sus controles A y B.

En la tabla I se observan las tasas metabólicas de ovarios de hembras control y tratadas con HJ. El análisis estadístico realizado muestra que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) debidas al tratamiento. Sin embargo, sí existen diferencias significativas al considerar el grado de desarrollo, siendo las respuestas de los ovarios tipo E significativamente más bajas que las de los tipos C y D (Anova: $p < 0,01$; test de Tukey: $p < 0,05$).

El PII induce un aumento significativo ($p < 0,05$) en la tasa de consumo de oxígeno de los ovarios, con respecto a sus controles (tabla I).

Discusión

Para la valoración del consumo de oxígeno del cuerpo graso se hace referencia a su peso seco, puesto que las condiciones de extracción de este órgano no permiten la eliminación con facilidad del suero asociado, con la consiguiente alteración de los resultados si se realiza el cálculo sobre peso fresco. Sin embargo esas características de extracción permiten, en ovarios y tubo digestivo, eliminar con facilidad dicho suero, por lo que se ha preferido, en

este caso, expresar los resultados en función del peso fresco de los mismos por la mayor simplificación metodológica que ello comporta.

A pesar de que se ha demostrado la acción directa de la HJ sobre el cuerpo graso, induciendo la síntesis de vitelogeninas (9, 11), este gasto de energía no se corresponde con un incremento notable en el consumo de oxígeno, según los resultados obtenidos en el presente trabajo.

El PII tampoco provoca alteraciones de la tasa metabólica del cuerpo graso, en las condiciones descritas en el presente trabajo, en desacuerdo con los resultados de MÜLLER y ENGELMAN (18) en *Leucophaea maderae*, quienes observan una disminución en la tasa metabólica del cuerpo graso procedente de insectos alatectomizados, con respecto al de insectos control. Este hecho tal vez cuestionaría la equivalencia fisiológica entre una alatectomía química, inducida por el tratamiento con precoceno, y una alatectomía quirúrgica.

LADEL *et al.* (15) sugieren la hipótesis de que el cuerpo graso aislado podría escapar a cualquier tipo de control nervioso o endocrino, y tal vez por ello no se observan diferencias en el consumo de oxígeno de este órgano procedente de insectos control y de insectos previamente tratados con los compuestos estudiados.

Los resultados observados estarían basados en las relaciones existentes entre el cuerpo graso y el desarrollo ovárico. Los cuerpos grasos de insectos tratados con o sin ovarios vitelogénicos podrían haber respondido a ambos tratamientos, antes de realizada la disección de los mismos, por lo que no aparecerían efectos aparentes al estudiar sus tasas metabólicas.

Los resultados obtenidos para la tasa metabólica de ovarios son comparables a los observados por FOURCHE y AMBROSIONI (8) en ovarios de *Bombyx mori*, quienes encontraron tres estadios sucesivos en el desarrollo del ovario con tasas metabólicas características relacionadas con el incremento de los oocitos.

El primer período de crecimiento del oocito descrito por FOURCHE y AMBROSIONI (8) está caracterizado por un aumento en la tasa respiratoria, paralelo al aumento del tamaño del oocito, correlacionada con las mayores necesidades metabólicas asociadas al crecimiento del citoplasma hialino. En el segundo estadio el aumento en tamaño del oocito es mayor que el incremento relativo del consumo de oxígeno, en relación con un metabolismo más lento de los oocitos en su fase vitelogénica. Finalmente, la tercera fase del crecimiento del oocito observada por dichos autores muestra una deposición de la yema completa en el oocito terminal, pero dándose todavía en los folículos más jóvenes. La tasa de consumo de oxígeno es muy baja porque la actividad predominante del ovario consiste en almacenar e incorporar vitelogeninas en los huevos maduros.

Los resultados obtenidos para los estadios de desarrollo ovárico A y B corresponderían a la primera fase de crecimiento del oocito descrita por FOURCHE y AMBROSIONI (8). Los estadios de desarrollo del ovario C, D y E, podrían corresponder a las fases segunda y tercera, respectivamente, mencionadas por dichos autores. Los estudios estadísticos soportan esta hipótesis. No hay diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las tasas metabólicas de ovarios de *O. fasciatus* de tipo A y B, así como tampoco existen entre los de grado de desarrollo C, D y E.

El tratamiento de los insectos con HJ no produce ninguna alteración sobre la tasa metabólica de los ovarios. Probablemente, la actividad gonadotrópica de la hormona induce una aceleración de la maduración del folículo sin ningún otro tipo de alteración fisiológica.

Se ha observado que el PII detiene el crecimiento ovárico e inhibe la maduración de los huevos, lo que está en concordancia con resultados obtenidos con esta misma especie o con especies relacionadas (1, 16, 19). El aumento en el con-

sumo de oxígeno provocado por el tratamiento con precoceno podría estar relacionado, probablemente, con el hecho de que estos ovarios iniciarían el desarrollo por la HJ circulante, antes de que el compuesto inhibiera a los *corpora allata* (2, 3, 22-24), aunque permanecerían preparados, esperando ser estimulados por nueva HJ, a fin de continuar su desarrollo (1).

Agradecimientos

Los autores agradecen las ayudas económicas facilitadas por el C.S.I.C. y por la Consellería de Cultura, Educación y Ciencia de la Comunidad Valenciana, a M.^a D. Garcerá Zamorano y P. Ibáñez Sánchez, respectivamente, para la realización de sus Tesis Doctorales. Asimismo agradecen al Comité Conjunto Hispano Norteamericano la ayuda económica para la realización del trabajo.

Resumen

Se estudia la tasa metabólica del tubo digestivo, cuerpo graso y ovarios de las hembras adultas del insecto *Oncopeltus fasciatus*, comparando los resultados con los obtenidos tras el tratamiento de los insectos con hormona juvenil (HJ) o precoceno II (PII). Ninguno de ambos compuestos presenta efecto apreciable, con el método utilizado, sobre el consumo de oxígeno del tubo digestivo o del cuerpo graso. El PII aumenta la tasa de consumo de oxígeno de los ovarios, que, además, permanecen sin desarrollar, mientras que la HJ no presenta efecto detectable sobre la tasa metabólica aunque acelera su desarrollo.

Palabras clave: Hormona Juvenil, Precoceno II, Tasa metabólica, Insecto, *Oncopeltus fasciatus*.

Bibliografía

1. Bowers, W. S. y Martínez Pardo, R.: *Science*, 197, 1369-1371. 1977.
2. Brooks, G. T., Pratt, G. E., Ottridge, A. P. y Cocks, J. A.: *J. Pestic. Sci.*, 9, 755-758. 1984.
3. Brooks, G. T., Pratt, G. E., Mace, D. W. y Cocks, J. A.: *Pestic. Sci.*, 16, 132-142. 1985.
4. Cassier, P. y Fain-Maurel, M. A.: *Arch. Zool. Exp. Gen.*, 118, 197-209. 1977.

5. Endo, Y. y Nishiitsutsuji-Uwo, J.: *Biomed. Res.*, 3, 637-644. 1982.
6. Endo, Y., Sugihara, H., Fujita, S. y Nishiitsutsuji-Uwo, J.: *Biomed. Res.*, 4, 51-60. 1983.
7. Feyereisen, R., Johnson, G., Koener, J., Stay, B. y Tobe, S. S.: *J. Insect Physiol.*, 27, 855-868. 1981.
8. Fourche, J. y Ambrosioni, J. C.: *J. Insect Physiol.*, 15, 1991-1997. 1969.
9. Hagedorn, H. H. y Kunkel, J. G.: *Ann. Rev. Ent.*, 24, 475-505. 1979.
10. Highnam, K. y Hill, L.: «The comparative endocrinology of the Invertebrates». (2ª edic.) E. Arnold. Londres. 1977.
11. Kackzor, W. J. y Hagedorn, H. H.: *J. Exp. Zool.*, 214, 229-233. 1980.
12. Kelly, T. J. y Davenport, R.: *J. Insect Physiol.*, 22, 1381-1393. 1976.
13. Kuusik, A., Metspalu, L., Hiiesaar, K., Kogerman, A., Laats, K., Haldre, O. y Reima, T.: *Eesti. Nsv. Teaduste Akadeemia Toimetised*, 29, 198-211. 1980.
14. Kuusik, A., Laats, K., Metspalu, L., Hiiesaar, K., Kaal, T., Reima, T., Haldre, O., Kogerman, A., Tees, S. y Sein, E.: *Eesti. Nsv. Teaduste Akadeemia Toimetised*, 32, 142-152. 1983.
15. Ladel, J. P., Moreau, R. y Ditricu, J.: *C. R. Sci. Soc. Biol.*, 173, 885-891. 1979.
16. Masner, P., Bowers, W. S., Kalin, M. y Muhle, T.: *Gen. Comp. Endocrinol.*, 37, 156-166. 1979.
17. Mitsuhashi, K. y Maramorosch, N.: *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, 22, 435. 1964.
18. Muller, H. P. y Engelmann, F.: *Gen. Comp. Endocrinol.*, 11, 43-50. 1968.
19. Samaranayaka-Ramasamy, M. y Chandbury, M. F. B.: *Experientia*, 37, 1027-1029. 1981.
20. Slama, K. y Hodkova, M.: *Biol. Bull.*, 148, 320-332. 1975.
21. Slama, K. y Kryspin-Sorensen, I.: *Z. Naturforsch. Sect. C. Biosci.*, 34, 599-607. 1979.
22. Soderlund, D. M., Feldlaufer, M. F., Takahashi, S. Y. y Bowers, W. S.: En «Juvenile Hormone Biochemistry» (G. E. Pratt y G. T. Brooks, eds.). Elsevier/North Holland Biomedical Press. Amsterdam. Nueva York. 1981. pp. 353-362.
23. Unnithan, G. C. y Nair, K. K.: *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 72, 38-40. 1979.
24. Unnithan, G. C., Nair, K. K. y Bowers, W. S.: *J. Insect. Physiol.*, 23, 1081-1094. 1977.
25. Unnithan, G. C., Nair, K. K. y Syed, A.: *Experientia*, 36, 135-136. 1980.