R. esp. Fisiol.
Tomo VI, núm. 3, páginas 157 a 168, 1950

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica
Sección de Bioquímica. – Madrid.

Sobre el metabolismo del Bombyx mori

V. Balance nitrogenado

por M. Comenge Gerpe, A. Lorenzo y E. Ojeda

(Recibido para pubicar el día 6 de junio de 1950)

En varios trabajos anteriores hacíamos el estudio de las distintas fases del *Bombyx mori, L.* comparando su composición global con la composición de su único alimento, o sea la hoja de morera ; hacíamos también el análisis de la hoja no ingerida después de roída por el animal, y por último analizábamos los excrementos.

Con estos datos, jalones necesarios para determinar el metabolismo de dicho insecto en todas sus fases, llegábamos a la conclusión de que la composición de la larva difiere notablemente de la hoja que le sirve de alimento, observándose que la larva selecciona las partes de parénquima más ricas en principios inmediatos, despreciando las partes ricas en lignina, y si alguna ingiere se elimina por las heces sin transformación. Por último, la clorofila parece aprovecharse en parte por la larva (2).

La voracidad de la larva, muy grande al principio, va decreciendo hasta la cuarta edad, volviendo a aumentar desde el final de la cuarta edad hasta el último período del desarrollo larvario ; el aumento de peso de la larva es aproximadamente logarítimico con respecto al tiempo ; los metabolismos del agua y de la materia seca son complementarios y siempre muy intensos, aunque al comienzo de la segunda edad se acuse una ligera disminución en el peso que llega a hacerse bien patente en el tránsito de la cuarta a la quinta edad ; la curva de peso desciende desde este momento y continúa su caída hasta la muerte del animal. Durante el período de crisálida el intenso metabolismo de la materia seca se verifica con arreglo a un trabajo mínimo que recuerda lo que sucede en el hambre proteica. Para pasar de crisálida a insecto perfecto macho se me-

taboliza 76,2 g. de materia seca por cada mil larvas, en tanto que para pasar de crisálida a insecto perfecto hembra sólo se metaboliza 18,0 g. de materia seca por cada mil larvas (3).

Los glúcidos constituyen el alimento energético de las larvas; el *Bombyx mori* sintetiza lípidos a partir de la cuarta edad, formando así la reserva energética de la larva; y se observa que el contenido de agua por ciento sigue una marcha inversa a la de lípidos por ciento (4).

La larva consume los prótidos de la hoja, sintetizándolos a partir de la tercera edad, haciéndose un intenso metabolismo de ellos a partir de la cuarta edad (5).

Métodos

Realizamos una comparación entre la distribución del N en la hoja de morera, alimento exclusivo de la larva de B. mori y la distribución del N en el cuerpo de ésta. Hemos adoptado para realizar esta comparación la técnica analítica que indica uno de nosotros (1), aun a sabiendas de que si bien la clasificación por fracciones que allí se indica es útil para el estudio de semillas y de productos vegetales, estas fracciones no deben tener el mismo significado en el reino animal, por la carencia en el mismo, p. ej., de prolaminas (fracción IV) y de glutelinas (frac. V) que, no obstante, al realizar la técnica aparecen como si fuesen tales en el material animal estudiado aquí. La fracción I (clorofila) no es problema, puesto que tal fracción no se encuentra al aplicar la técnica al B. mori.

Resultados

Analizamos los siguientes materiales:

a) larvas de *B. mori* (materia *retenida* por el insecto);
b) hoja de morera antes de darla como alimento (hoja *suministrada*);
c) hoja residual que no comió la larva (hoja *no ingerida*);
d) excremento de las larvas.

El lote experimental lo constituyeron inicialmente 1.315 larvas (1, 2, 3 y 4). Los valores indicados aquí se refieren a 1.000 larvas, hechas las correcciones oportunas. Para uniformidad y comodidad de comparación, todos los valores se refieren a materia seca.

Los valores analíticos obtenidos los combinamos según las siguientes consideraciones:

e) hoja suministrada menos hoja no ingerida = hoja *ingerida*;
f) hoja ingerida menos excreta = *materia asimilada*;
g) materia asimilada menos materia retenida = *materia metabolizada*.

CUADRO I

Balance de la materia seca ingerida por mil larvas.

FRACCION	1.° edad		2.° edad		3.° edad		4.ª edad		5.° edad	
	Sum.	Ing.	Sum.	Ing.	Sum.	Ing.	Sum	Ing.	Sum.	Ing.
I	0'340	0'014	0'458	0'145	0'954	0'521	5'01	1'94	20'6	6'1
II	0'546	0'051	0'510	0'144	1'278	0'790	6'58	2'52	33'4	15'8
III	0'204	0'017	0'221	0'025	0'430	-0'173	2'43	1'36	8'9	4'5
IV	0'218	0'080	0'280	0'101	0'469	0'284	1'80	0'48	12'8	5'6
V	3,370	0'150	3'813	1'313	8'690	3'90	40'4	4'15	203'7	97'7
Total exp.	4,69	0'33	5'28	1'72	11'84	5'69	56'4	20'8	280	130

CUADRO II

Balance de la materia seca metabolizada por mil larvas

FRACCION	1.° edad			2.° edad			3.° edad			4.° edad			5.ª edad		
	Asim.	Reten.	Metab.	Asim.	Ret.	Met.	Asim.	Ret.	Met.	Asim.	Ret.	Met.	Asim.	Ret.	Met.
I	0'010	0	0'010	0'104	0	0'104	-0'110	0	-0'110	-0'86	0	-0,86	1'0	0	1'0
II	0'016	0'029	-0'013	0'080	0'121	-0'041	0'390	0'601	-0'211	-0'64	2'71	-3'35	5'4	8'13	-2'7
III	0'016	0'038	-0'022	0'000	0'222	-0'222	0'018	1'502	-1'484	0'66	4'20	-3'54	1'8	6'71	-4'9
IV	0'063	0'007	0'056	0'065	0'042	0'023	0'126	0'180	-0'054	-0'05	0'76	-0'81	4'6	2'76	1'8
V	0'133	0'032	0'101	1'213	0'205	1'008	3'316	1'123	2'193	10'64	6'02	4'62	72'3	27'50	44'8
Total cal.	0'238	0'106	0'132	1'462	0'590	0'872	3'740	3'406	0'334	9'75	13'69	-3'94	85'1	45'10	40'0
Total exp.	0'263	0'104	0'150	1'461	0'594	0'877	3'91	3'068	0'23	10'6	13'9	-3'3	85'4	45'3	40'1

CUADRO III

Balance de la materia seca retenida por mil larvas

FRACCION	Día 0. Huevos	Día 1 Eclosión	Día 14 1.º edad	Día 24 2.º edad	Día 35 3.º edad	Día 46 4.º edad	Día 60 5.º edad	Día 73 Crisálida	Día 94 antes acopl.	Día III despues acopl.	Día 94 antes acopl.	Día III despues acopl.
II	0'006	0,004	0'029	0'121	0'601	2'71	8'13	7'30	1'97	1'70	4'37	2'12
III	0'005	0'002	0'038	0'222	1'502	4'20	6'71	3'78	0'91	1'03	3'47	1'05
IV	0'002	0'001	0'007	0'042	0'180	0'76	2'76	1'36	0'65	0'54	0'90	1'05
V	0'014	0'004	0'032	0'205	1'123	6'02	27'50	8'21	5'75	5'48	9'86	4'04
Total calc.	0'027	0'011	0'106	0'590	3'406	13'69	45'10	20'65	9'28	8'75	18'60	8'26
Total exp.	0'029	0'013	0'104	0'594	3'68	13'9	45'3	21'3	9'75	8'38	19'3	8'2

CUADRO IV

Balance de la materia seca excretada y asimilada por mil larvas

FRACCION	1.º edad			2.º edad			3.º edad			4.º edad			5.º edad		
	Ing.	Excr.	Asim.	Ing.	Excr.	Asim.	Ing.	Excr.	Asim.	Ing.	Excr.	Asim.	Ing.	Excr.	Asim.
I	0'014	0'004	0'010	0'145	0'042	0'104	0'521	0'631	-0'110	1'94	2'80	-0'86	6'1	5'1	1'0
II	0'051	0'035	0'016	0'144	0'064	0'080	0'790	0'400	0'390	2'52	3'16	-0'64	15'8	10'4	5'4
III	0'017	0'001	0'016	0'025	0'025	0'000	0'173	0'155	0'018	1'36	0'70	0'66	4'5	2'7	1'8
IV	0'080	0'017	0'063	0'101	0'036	0'065	0'284	0'158	0'126	0'48	0'53	-0'05	5'6	1'0	4'6
V	0'150	0'017	0'133	1'313	0'100	1'213	3'900	0'584	3'316	14'15	3'51	10'63	90'7	25'4	72'3
Total cal.	0'312	0'074	0'238	1'728	0'266	1'462	5'668	1'928	3'740	20'45	10'70	9'75	129'7	40'6	85'1
Total exp.	0'33	0'067	0'263	1'72	0'259	1'461	5'69	1'78	3'91	20'8	10'2	10'6	130'0	64'6	85'4

Algunas veces encontramos para *f*) (materia asimilada) valores negativos y lo mismo ocurre para *g*) (materia metabolizada). En el primer caso quiere decir que es mayor la excreta que lo ingerido, lo que indica una desasimilación de la substancia considerada procedente del organismo además del alimento. En el segundo caso, el valor negativo indica que es mayor la materia retenida que la asimilada, es decir, que se ha realizado una síntesis del producto en el organismo. Cuando los dos valores sean simultáneamente negativos, indicará que la actividad sintética es excesiva para el organismo. y éste tiene que desasimilar parte de lo sintetizado.

Las gráficas se han realizado tomando en abscisas tiempo en días de edad de la larva ; los espacios entre verticales corresponden a períodos de 20 días. En ordenadas hemos tomado los logaritmos de los balances para la m. s. retenida, ingerida y excretada, mientras que en la asimilada y metabolizada ponemos los números correspondientes, aunque variando las unidades en alguna curva para comodidad del gráfico.

Discusión

Fracción I. Clorofila.

La larva asimila clorofila en las dos primeras edades de su vida. Al no retenerla en su organismo, evidentemente lo que ocurre es que inmediatamente le sirve como punto de partida para formar otros compuestos, es decir, que toda la metaboliza. En la tercera edad la clorofila ya no parece serle útil, puesto que excreta toda la que ingiere, y 0'110 g. más, que con certeza no será clorofila sino algún compuesto pirrólico de desecho que se extraerá en la misma fracción. Este producto de desecho ha sido formado a partir de las otras substancias proteicas. En la cuarta edad se observa el mismo fenómeno, pero más acusado aún. Obsérvese que la actividad sintética de la larva en proteínas alcanza su mayor expresión en la cuarta edad o mejor dicho, unos días antes de la quinta (mínimo en la gráfica del N total metabolizado). En cambio, en cuanto ya se está llegando a la quinta edad la actividad metabólica vital alcanza valores extraordinarios. Se observa un formidable cambio de vida del insecto ; lo que antes era actividad de síntesis, ahora es todo lo contrario ; el animal se descompone a sí mismo. Empieza a ser otro ; es la niñez de la crisálida.

Fracción II. Albúminas.

Las asimila en las tres primeras edades y en las cinco necesita sintetizar a partir de otras substancias. Esta síntesis es más activa en la cuarta edad, tanto que es excesiva y el an[illegible] ha de desprenderse de 0,64 g. En la quinta edad, la [illegible]

sintética no es ya tan elevada, pero existe notablemente también.

Fracción III. Globulinas.

La asimilación de globulinas es pequeña en general en toda la vida de la larva. Parece que el tipo de globulinas existente en la hoja de morera no es el adecuado para que quede retenido por el insecto y éste se ve obligado durante toda su vida a sintetizar las que le convienen. Esta síntesis alcanza su máximo como siempre entre la cuarta y la quinta edad.

Fracción IV.

Durante las tres primeras edades, la larva asimila casi la mitad de las prolaminas que ingiere, para comenzar la actividad sintética ya en la tercera edad y alcanzar el máximo al mismo tiempo que las otras proteínas. Pero igual que en la fracción primera, en cuanto se ha alcanzado, cambia por completo la situación, desapareciendo la síntesis y utilizándose ya parte (casi la mitad de lo asimilado) para la actividad metabólica.

Fracción V.

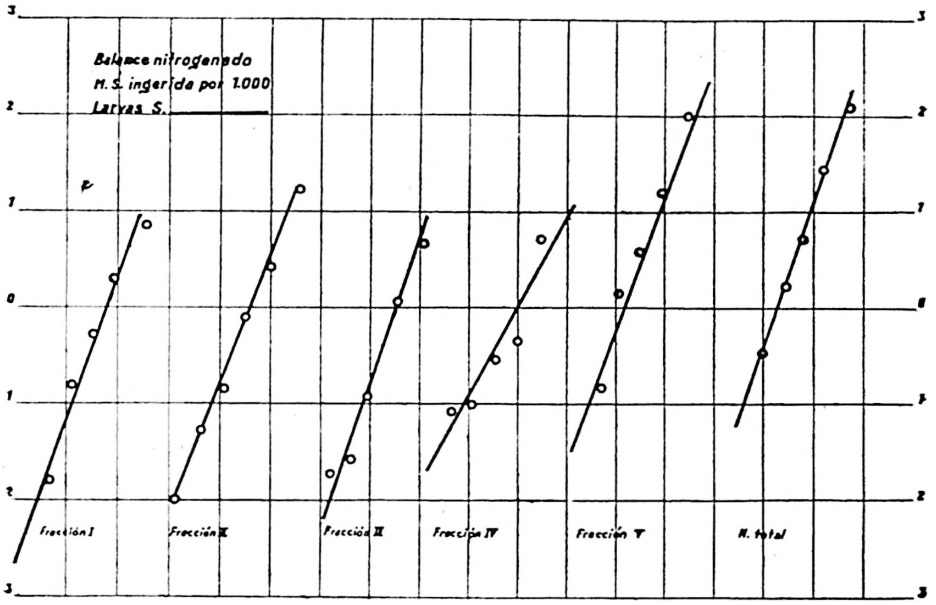
Es la más abundante, ampliamente asimilada y que sirve a la larva durante toda su vida para las actividades metabólicas con más intensidad y regularidad. El crecimiento es muy rápido en cuanto se pasa de la cuarta edad.

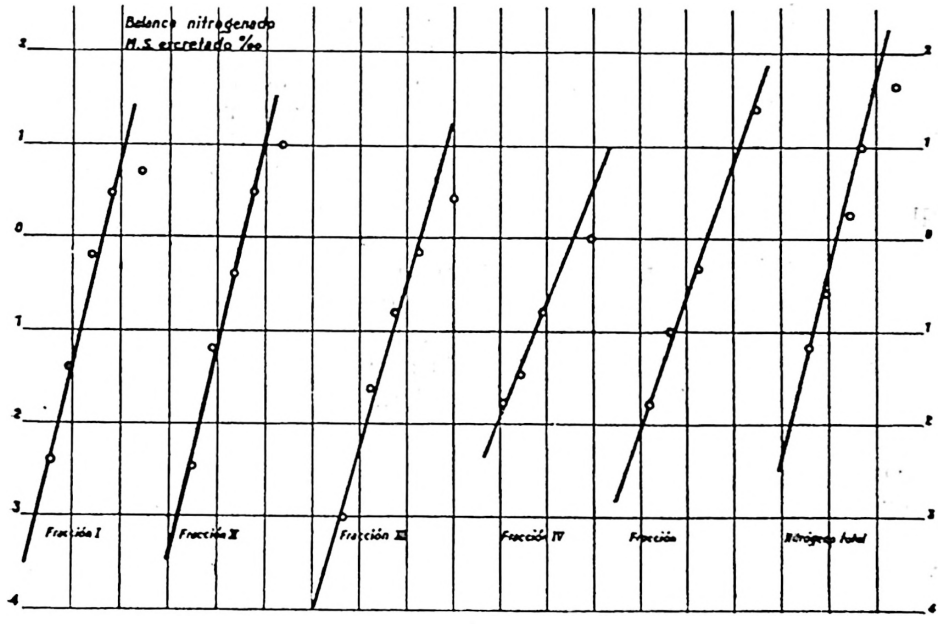
Nitrógeno total.

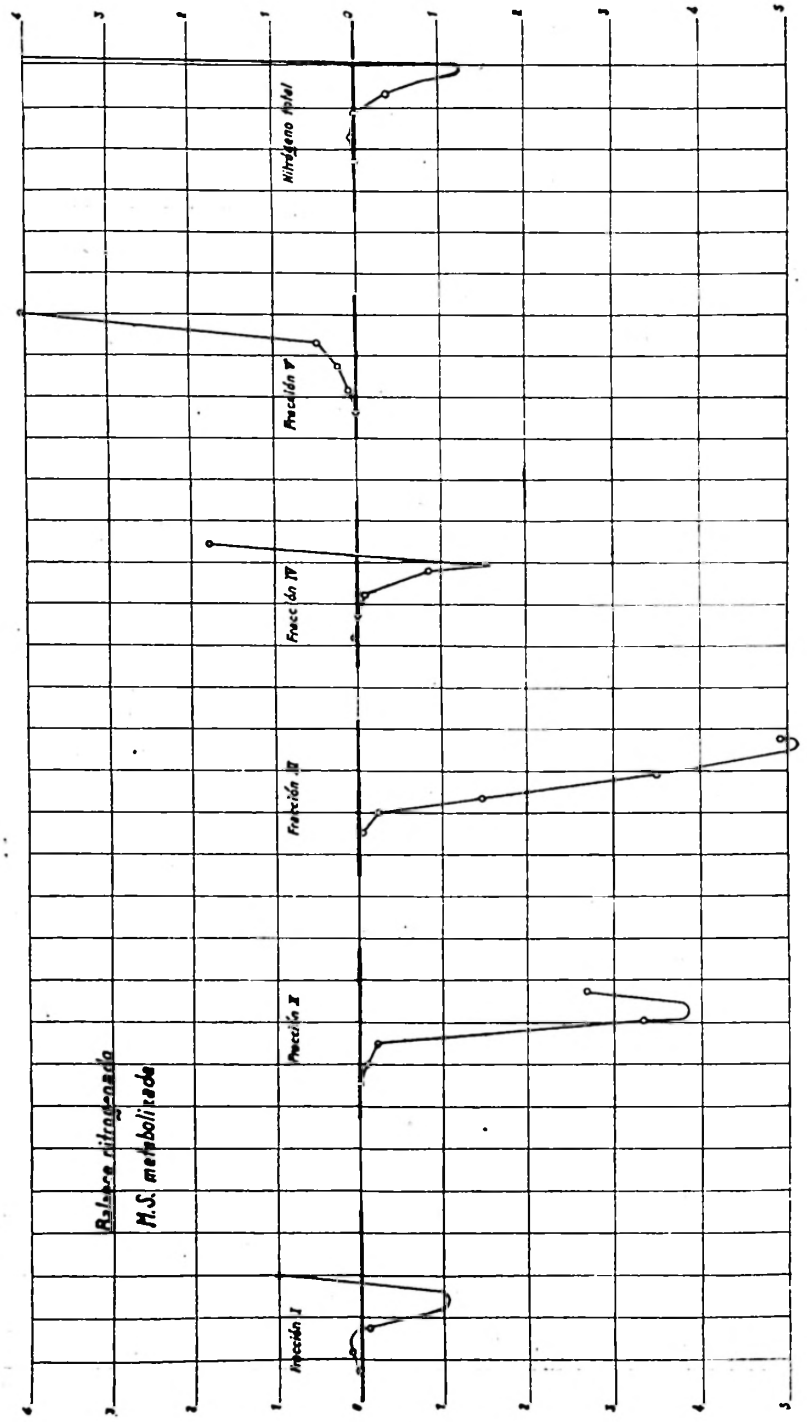
Queda confirmada la apreciación de nuestra nota anterior (5) respecto a las proteínas, en sus líneas generales, pues si bien las cifras obtenidas ahora no son coincidentes con las que él indica, sí lo es el aspecto general de la curva. Tan sólo hacemos perfeccionar su apreciación estableciendo el máximo de síntesis proteica entre la cuarta y quinta edad, en un punto que nos atrevemos a afirmar que es fundamental para el insecto, pues es el que en la mayoría de las gráficas estudiadas se nos aparece marcando un cambio en la dirección de la curva.

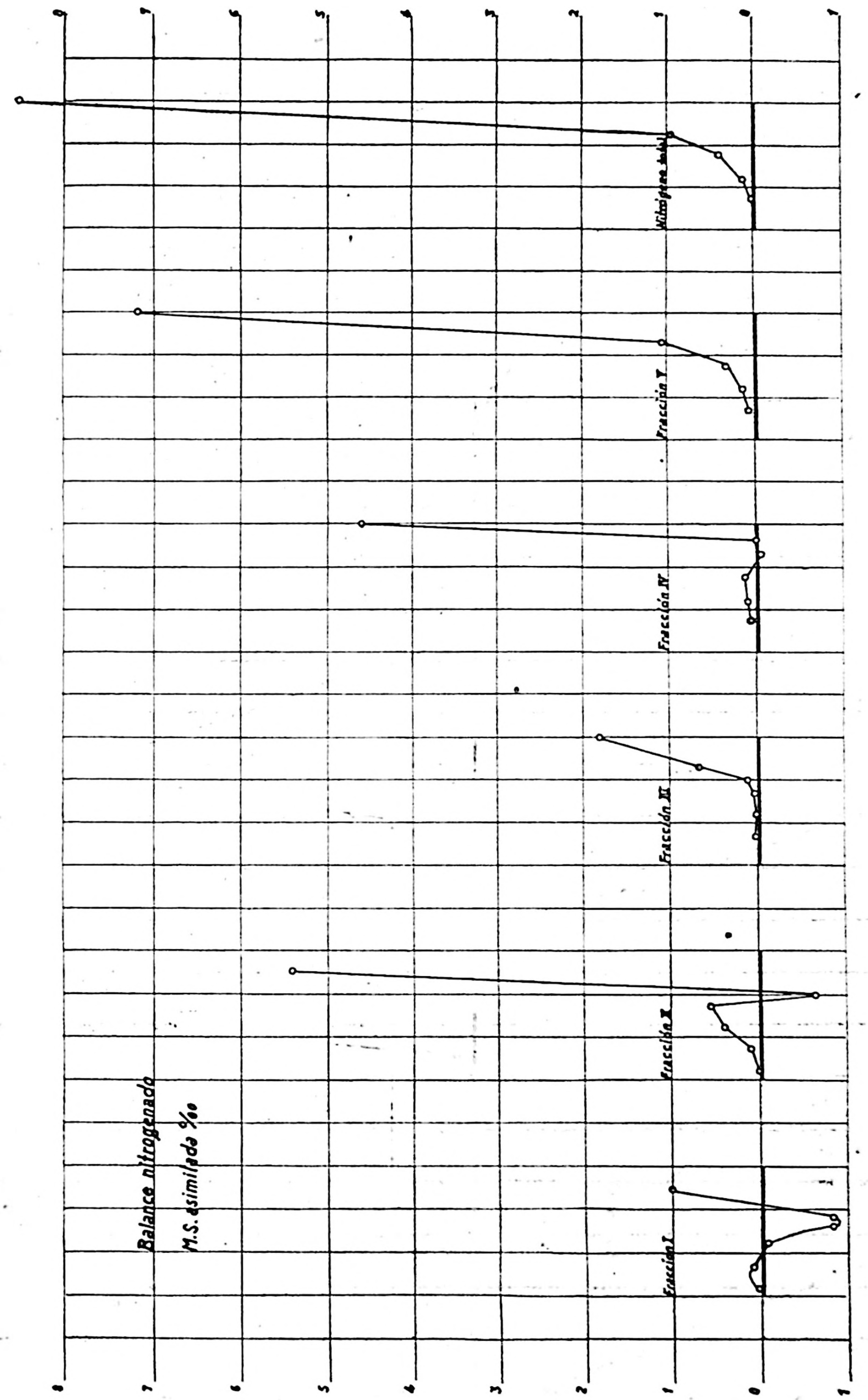
Esta apreciación es particularmente importante en las curvas de metabolismo y adquiere doble fuerza por ello, ya que el metabolismo es lo que da idea de la actividad vital. Se observa también en las curvas de m. s. asimilada.

En las de excretada, demostramos que el crecimiento es logarítmico hasta la cuarta edad, y la quinta edad queda fuera de la recta y a su derecha, lo que quiere decir que hay un máximo entre la cuarta y la quinta edad. El mismo fenómeno y con más importancia se presenta en las curvas del balance de la m. s. retenida por 1.000 larvas. Esta consideración no se desprende de las curvas de trabajos anteriores (3), sin duda debido a su trazado, pero en las gráficas I y II de dicho

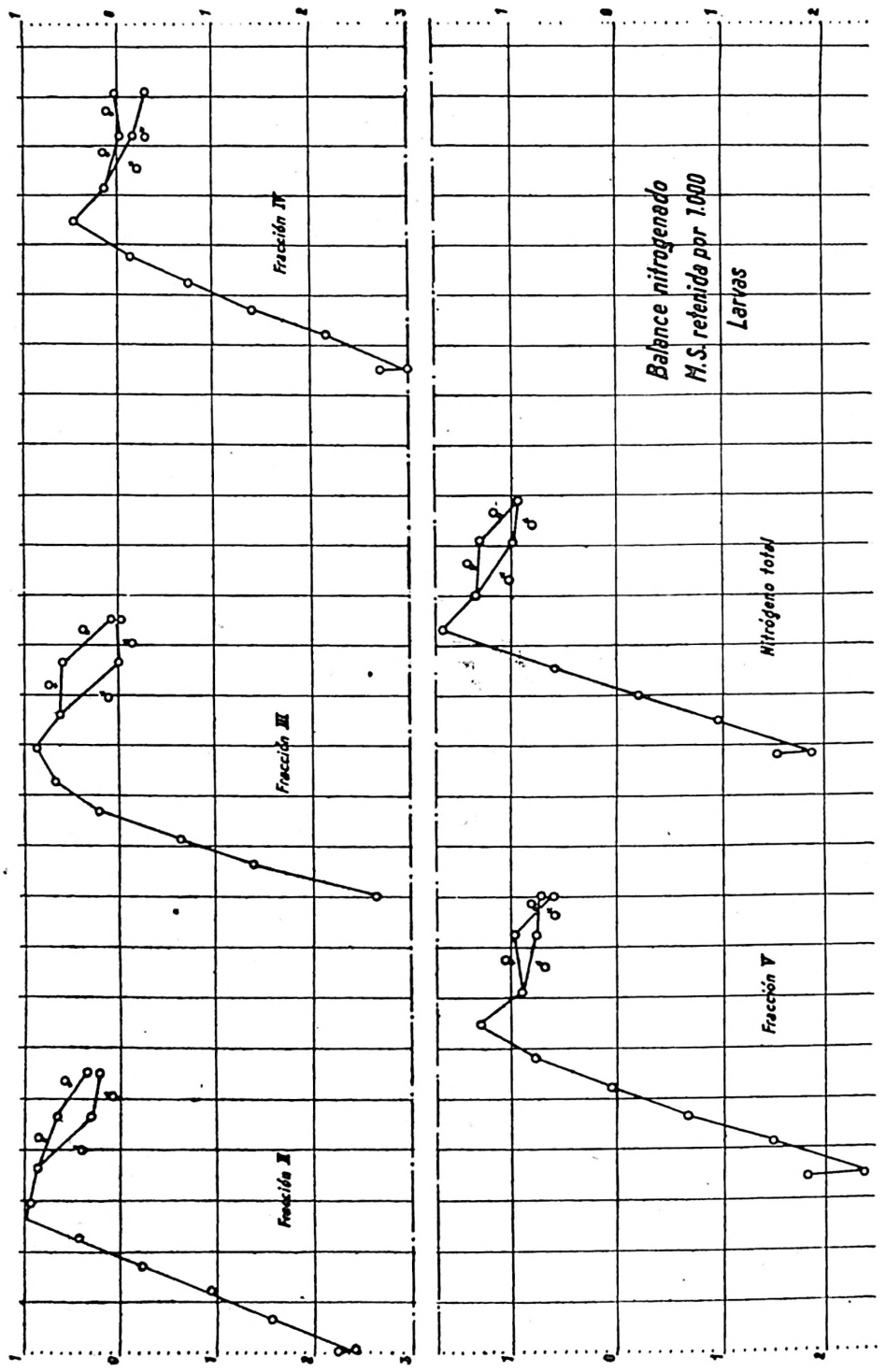

Balance nitrogenado
M. S. ingerida por 1.000
Larvas S.
Fracción I
Fracción II
Fracción III
Fracción IV
Fracción V
N. total


Balance nitrogenado
M. S. excretado ‰
Fracción I
Fracción II
Fracción III
Fracción IV
Fracción
Nitrógeno total


Nitrógeno total
Fracción V
Fracción IV
Fracción III
Fracción II
Fracción I
Balance nitrogenado
N.S. metabolizado



Balance nitrogenado
M.S. asimilada ‰
Nitrógeno total
Fracción V
Fracción IV
Fracción III
Fracción II
Fracción I


Balance nitrogenado
M.S. retenida por 1.000
Larvas
Nitrógeno total
Fracción V
Fracción IV
Fracción III
Fracción II

trabajo se aprecia claramente en algunas de las curvas dibujadas.

Téngase presente también la consideración indicada por el mismo autor, de que «la cuarta edad marca una coincidencia de mínimos en la composición centesimal del *B. mori*». Nosotros estableceríamos tales mínimos coincidentes con los indicados aquí, según puede esperarse lógicamente.

Conclusiones

Con estas consideraciones el estudio de los cuadros y curvas correspondientes nos conduce a las siguientes:

1.ª La clorofila es asimilada por la larva en las dos primeras edades y no parece utilizarse en las restantes.

2.ª Las albúminas se asimilan íntegramente y aun necesita más, que sintetiza a partir de otros prótidos.

3.ª Hay pequeña asimilación de globulinas durante toda la vida larvaria y amplia síntesis de ellas, lo cual demuestra que el tipo de globulinas de la hoja de morera no es el adecuado para que quede retenido por el insecto.

4.ª La larva asimila casi la mitad de las prolaminas que ingiere.

5.ª La fracción de glutelinas se asimila ampliamente por la larva, sirviendo de base para sus actividades metabólicas.

6.ª El máximo de síntesis proteica se realiza entre la cuarta y la quinta edad.

Resumen

Los autores han practicado el balance nitrogenado de la larva de *Bombyx mori* y de la hoja de morera que le sirve de alimento, llegando a la conclusión de que la clorofila se asimila solamente en las dos primeras edades de su vida larvaria y que las albúminas se asimilan íntegramente; por el contrario, la asimilación de globulinas es pequeña. La larva asimila la mitad de las prolaminas que ingiere. Por último, la fracción de glutelina se asimila ampliamente por la larva, sirviendo de base para sus actividades metabólicas.

El máximo de síntesis proteica se realiza entre la 4.ª y 5.ª edad.

Summary

The nitrogen balance of the larva *Bombyx mori L.* is studied in relation to the nitrogenous constituents of white mulberry-tree leaves, which are utilized by them as food. It is concluded that chlorophyll is assimilated only during the first two stages of the life of larva. While albumins are completely assimilated, globulins are only incorporated in a small quantity. Glutelins are assimilated by the larva in a great proportion, serving as base of its metabolic activities and on the other hand half of the ingested prolamins are assimilated.

The maximal protein assimilation takes place during the fourth and fifth age.

Bibliografia

(1) COMENGE, M.: *Anal. Fis. y Quím.*, **42**, 249. 1946.
(2) COMENCE, M. y OJEDA, E.: *Rev. esp. Fisiol.*, **3**, 144. 1947.
(3) COMENGE, M. y OJEDA, E.: *Rev. esp. Fisiol.*, **3**, 351. 1947.
(4) COMENGE, M. y OJEDA, E.: *Rev. esp. Fisiol.*, **4**, 109. 1948.
(5) COMENGE, M. y OJEDA, E.: *Rev. esp. Fisiol.*, **4**, 117. 1948.