

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

VII. - Sobre el metabolismo de la tirosina y el triptofano en el *Bombyx mori* L.

por M.^a Dolores Stamm, M. Comenge y A. Santos Ruíz

(Recibido para publicar el día 2 de agosto de 1950)

Continuando con el metabolismo de los aminoácidos en el *Bombyx mori* L., la presente nota se dedica a la determinación de tirosina y de triptofano contenidos en las distintas fases de evolución de dicho insecto, por ser éstos, especialmente la tirosina, los más íntimamente ligados con la seda.

Se han determinado también la tirosina y el triptofano contenidos en los excrementos eliminados durante las cinco fases por las que pasa la larva mientras dura su desarrollo, en la muda que deja al transformarse en crisálida, en el capullo, en los huevos y, por último, en la hoja de morera que se le dió como alimento.

Métodos

La recogida de muestras y la preparación del material de estudio se hace con arreglo a las normas consignadas en una nota anterior.

Antes de comenzar las valoraciones se prepararon dos curvas de calibración en las condiciones siguientes:

Para la tirosina se empleó una disolución patrón al 0,0344 g. por ciento; en la de triptofano la concentración fué de 0,196 g. por ciento.

Técnica analítica. — El procedimiento seguido en la valoración de tirosina y triptofano fué el de Block y Bolling (1), adaptación al método de Millong-Lugg (4). Este método separa los dos aminoácidos precipitando el triptofano y está fundado en el hecho de que la tirosina en presencia de sales mercúricas

produce con los nitritos en medio ácido coloración roja intensa, debida a la formación de derivados nitrados diversos. El grupo oxhidrilo es fundamental para la producción de esta reacción.

El precipitado de triptófano una vez disuelto da también con las sales mercúricas un color naranja que se acentúa al añadirle nitrito sódico.

Resultados

Los resultados obtenidos con las técnicas mencionadas son los que a continuación se expresan:

CUADRO I

CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS POR MIL LARVAS

	Tirosina	Triptofano
Cascaras de huevos	0,030 gr.	0,0057 gr.
Eclosión	0,0053 »	0,0026 »
Primera edad	0,033 »	0,0152 »
Segunda edad	0,155 »	0,0456 »
Tercera edad	0,89 »	0,274 »
Cuarta edad	3,23 »	1,330 »
Quinta edad	14,25 »	5,15 »
Crisálidas	9,41 »	3,83 »
Capullos	39,54 »	3,76 »
Mudas	0,71 »	0,079 »
Hembras	9,00 »	1,29 »
Machos	3,67 »	1,90 »

CUADRO II

AMINOÁCIDOS EXCRETADOS POR MIL LARVAS

	Tirosina	Triptofano
Primera edad	0,023 gr.	0,01 gr.
Segunda edad	0,030 »	0,035 »
Tercera edad	0,10 »	0,084 »
Cuarta edad	0,91 »	0,59 »
Quinta edad	18,24 »	15,08 »

CUADRO III

PROTEÍDOS INGERIDOS POR MIL LARVAS

Primera edad	2,89 gr.
Segunda edad	9,89 »
Tercera edad	37,25 »
Cuarta edad	128,61 »
Quinta edad	928,94 »

CUADRO IV

AMINOÁCIDOS INGERIDOS POR MIL LARVAS

	Tirosina	Triptofano
Primera edad	0,16 gr.	0,06 gr.
Segunda edad	0,57 »	0,21 »
Tercera edad	2,15 »	0,79 »
Cuarta edad	7,42 »	2,74 »
Quinta edad	53,60 »	19,78 »

CUADRO V

AMINOÁCIDOS ASIMILADOS POR MIL LARVAS

	Tirosina	Triptofano
Primera edad	0,13 gr.	0,051 gr.
Segunda edad	0,54 »	0,175 »
Tercera edad	2,05 »	0,706 »
Cuarta edad	6,51 »	2,15 »
Quinta edad	35,36 »	4,70 »

CUADRO VI

AMINOÁCIDOS METABOLIZADOS POR MIL LARVAS

	Tirosina	Triptofano
Primera edad	0,104 gr.	0,035 gr.
Segunda edad	0,385 »	0,129 »
Tercera edad	1,16 »	0,432 »
Cuarta edad	3,28 »	0,82 »
Quinta edad	21,11 »	0,45 »

Discusión

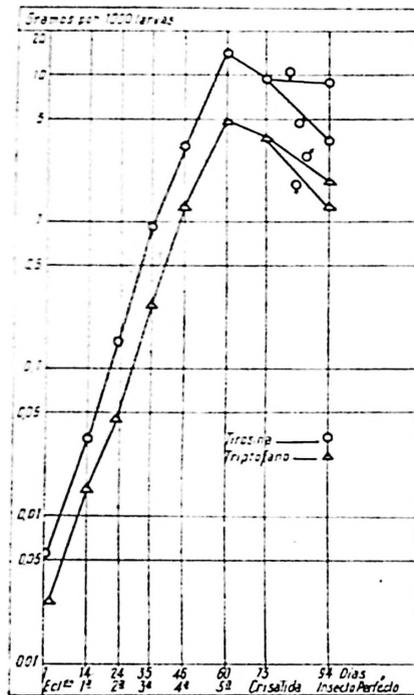
Teniendo en cuenta las curvas de fenilalanina de la nota anterior publicada en esta Revista (3) y los presentes resultados, podemos deducir las consideraciones siguientes:

En la gráfica 1 se observa que la curva de tirosina aumenta también casi paralelamente a la obtenida para fenilalanina (5), aunque sus números se mantienen siempre inferiores a los de fenilalanina.

La de triptofano se comporta del mismo modo que las anteriores, pero sus valores son inferiores a los de ambas; difiere de las otras dos curvas en que las cantidades correspondientes a las hembras son menores que las de los machos.

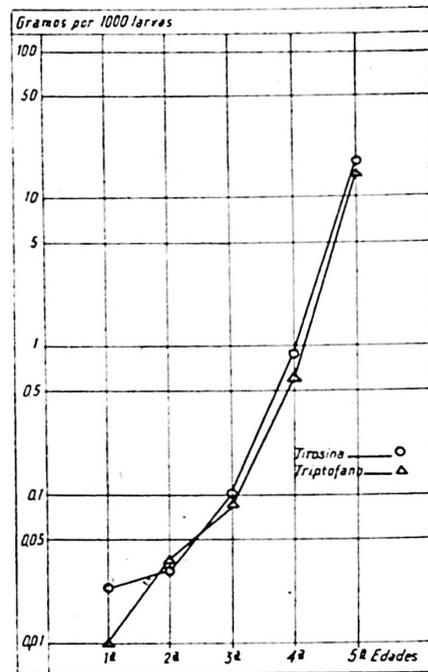
Las curvas se han trazado colocando en abscisas los días que duró cada fase y en ordenadas las cantidades de aminoácidos encontrados, habiéndose empleado papel semilogarítmico.

Relacionando las cantidades de aminoácidos contenidas en las crisálidas, capullos y mudas con los encontrados en la larva en la quinta edad (cuadro I), se observa que la suma de los tres valores (crisálida + capullos + mudas) es superior al encontrado en la quinta edad, y en el caso particular de la tirosina este



Gráfica 1

Metabolismo de tirosina y triptofano en el *Bombyx Mori*, L.



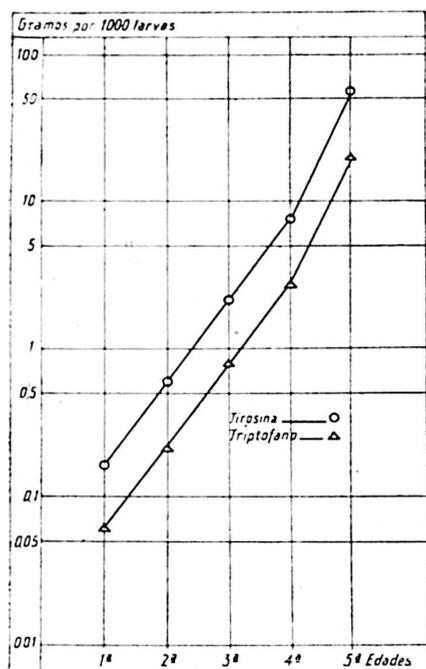
Gráfica 2

Tirosina y triptofano excretados

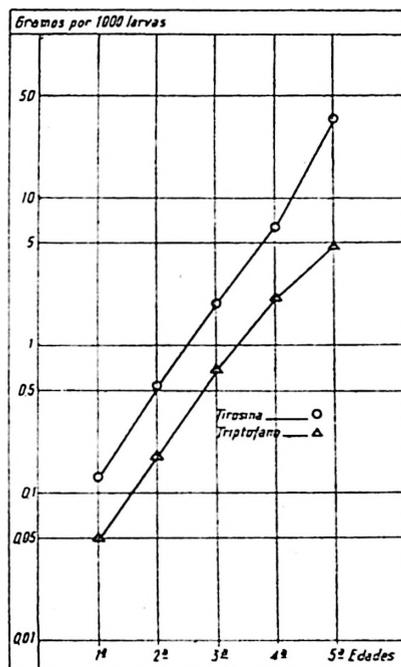
aumento es considerable (Cifras de 35,41 gr. por mil). Como las larvas al llegar a la quinta fase de su desarrollo comienzan ya el hilado y dejan por completo de alimentarse, es evidente que hay síntesis de tirosina por un mecanismo que, según parece, es distinto del hasta ahora conocido a partir de la fenilalanina, puesto que ésta se encuentra también en cantidad menor en las larvas que en los tres productos citados. Este hecho no concuerda con la opinión de Holtzmann (3), el cual señala que no es necesario dar un mecanismo de síntesis de tirosina puesto que la cantidad de este mon péptido que existe en la hoja de morera ingerida por las larvas excede a la contenida en la seda y en las orugas.

Con los números obtenidos anteriormente por uno de nos-

otros (2) sobre las cantidades de proteínas que ingieren mil larvas en cada una de las fases de su desarrollo (Cuadro III) se han podido calcular las cantidades de tirosina y de triptofano que ingieren, asimilan y metabolizan. Entendemos por aminoácidos asimilados (Cuadro V) la diferencia entre los ingeridos (Cua-



Gráfica 3
Tirosina y triptofano ingeridos.



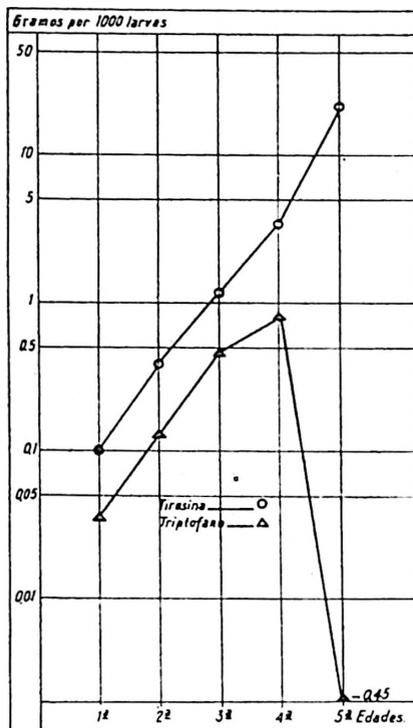
Gráfica 4
Tirosina y triptofano asimilado.

dro IV) y los excretados (Cuadro II), y por metabolizados (Cuadro VI) la diferencia entre los asimilados y los encontrados en la larva (Cuadro I).

Con la ayuda del papel semilogarítmico se han trazado las gráficas 2, 3, 4 y 5.

El estudio detenido de estas gráficas nos enseña que las cantidades de triptofano que ingieren son inferiores a las de tirosina y éstas a su vez a las de fenilalanina, tanto unas como otras crecen progresivamente con la edad de la larva (gráfica 3). Los mono péptidos cíclicos excretados (gráfica 2) siguen un camino análogo en la primera, tercera, cuarta y quinta edad, pero en la segunda las cifras de tirosina y de triptofano están invertidas con respecto a las anteriores, es decir, excretan mayor cantidad de triptofano que de tirosina en la segunda edad.

Los aminoácidos asimilados y metabolizados (gráficas 4 y 5) también se comportan como los ingeridos hasta la cuarta edad.



Gráfica 5

Tirosina y triptofano metabolizados.

Sin embargo, en la quinta la cantidad de triptofano metabolizado es negativa, lo cual apoya la suposición anteriormente indicada de la posible síntesis de dicho aminoácido en esa fase.

Conclusiones

- 1.^a No hay síntesis de tirosina ni de triptofano en ninguna de las cuatro primeras fases del desarrollo del *Bombyx mori* L.
- 2.^a En la quinta edad hay síntesis intensa de tirosina.
- 3.^a El mecanismo de síntesis de tirosina debe ser distinto del hasta ahora conocido a partir de la fenilalanina.
- 4.^a También en la quinta edad parece haber síntesis de triptofano, pero en cantidades muy inferiores a las de tirosina.
- 5.^a Las cantidades de tirosina y triptofano que ingiere u excreta, asimila u metaboliza el *Bombyx mori* L. aumentan progresivamente hasta la cuarta edad.
- 6.^a Las cantidades de fenilalanina que ingiere u excreta u asimila y metaboliza el *Bombyx mori* L. son siempre superiores a las de

tirosina y éstas, a su vez, a las de triptofano, excepto en la segunda y quinta edades.

7.^a En la segunda edad excreta una cantidad de triptofano ligeramente superior a la de tirosina.

8.^a En la quinta edad no se encuentra triptofano metabolizado.

Summary

It is concluded that while tyrosine and tryptophan are not synthesized by the larva of *Bombyx mori* L. in its first four stages, the synthesis of tyrosine takes place intensively in the fifth stage, by a mechanism which must be different to that known until now starting from phenylalanine. Tryptophan appears to be synthesized in the fifth stage, but in a lesser quantity than tyrosine.

Other particularities of ingestion, excretion and metabolism of tyrosine and tryptophan by the larva of *Bombyx mori* L. have been studied.

Bibliografía

- (1) BLOCK, R. J., y BOLLING, D.: *The Determination of the Amino Acids*. Burgess Publishing Co. Minneapolis, Minn. 1938.
- (2) COMENGE, M. y OJEDA, E.: *Rev. esp. Fisiol.*, **3**, 351. 1947.
- (3) HOLTZMANN, J.: *Biochem.*, **30**, 28. 1936.
- (4) LUGG, J. W. H.: *Biochem. J.*, **31**, 1423. 1937.
- (5) STAMM, M.^a D., COMENGE, M. y SANTOS RUÍZ, A.: *Rev. esp. Fisiol.*, **6**. 1950.

