

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica
Departamento de Bioquímica.— Madrid
(Director: Prof. A. Santos-Ruiz)

Estudio sobre bioquímica de insectos

IX. Oligoelementos en la metamorfosis de la *Calliphora erythrocephala*

por

M. Sapag-Hagar, M.ª D. Stamm-Menéndez y M. Dean-Guelbenzu *

(Recibido para publicar el 14 de junio de 1961)

En trabajos anteriores se determinaron los oligoelementos existentes en diferentes especies de lepidópteros, coleópteros y ortópteros (1, 2, 3, 4, 9, 11, 12, 13) en la actualidad se han querido ampliar estos estudios al díptero *Calliphora erythrocephala*, analizándose las tres fases de la metamorfosis: larvas, pupas y moscas, así como las cutículas pupales.

Material y métodos

El material utilizado (larvas, pupas, moscas y cutículas pupales), previamente desecado, fue calcinado en mufla hasta obtener cenizas albas (4, 7, 8).

La determinación de oligoelementos se realizó por el método espectrográfico, utilizando un espectrógrafo, modelo Q-24; excitación por arco con corriente continua de 110-120 v. y 4 a 5 A, y electrodos soporte de grafito.

* Agradecemos al Dr. López de Azcona su valiosa ayuda en los análisis espectrográficos de las cenizas estudiadas.

Resultados

Los resultados obtenidos se expresan en los cuadros siguientes, I, II y III.

CENIZAS

CUADRO I

	Mg./unidad	% en sust. fresca	% en sust. seca
Larvas	1,00	1,10	3,95
Pupas	0,99	1,36	4,62
Imagos	0,935	1,89	4,43
Cutículas	0,0928	3,10	3,38

Discusión

El análisis espectrográfico de los elementos inorgánicos en las cenizas revela más de un 1 % de Ca, K, Mg, Na, P y Si.

De los oligoelementos el que predomina es el Fe (0,3 %), luego el Zn (0,1 %), Mn y Cu (0,05 %). El Fe permanece constante en todas las etapas de la metamorfosis, con una concentración del 0,3 % en las cenizas, que es también la misma para las cenizas de la cutícula. Un fenómeno análogo ocurre con el Cu, con un 0,05 %. WATERHOUSE ha demostrado que en la *Lucillia* el Cu y el Fe tienden a ser retenidos y acumulados progresivamente durante la vida, principalmente en las células del intestino, y que nunca aparecen en las excretas (14).

Sin embargo, en algunas etapas del desarrollo se encontró un aumento inusitado de ciertos elementos. Así, el Pb alcanza un 2 % en las cenizas de las moscas (20.000 p.p. millón), siendo que en las pupas sólo llega al 0,005 % y al 0,02 % en las larvas.

El Zn llega al 0,1 % en todas las fases, con tendencia a aumentar en los imagos. En las cutículas está ausente por completo, lo que va en contra de la presencia de cantidades apreciables de la enzima anhidrasa carbónica en ellas, enzima que ha sido identificada en muchos insectos. Se podría suponer, razonablemente, que la anhidrasa carbónica estuviese relacionada con la calcificación de la cutícula, y esto podría ser cierto para otros insectos; pero es poco probable que lo sea para la *Calliphora*. En la langosta americana, la enzima en cuestión no es más abundante en la cutícula que en los tejidos internos y no muestra cambios en las concentraciones, relacionadas con el ciclo de la muda (5 y 6).

OLIGOELEMENTOS Y OTROS ELEMENTOS INORGANICOS
(Análisis espectrográfico)

% en cenizas

CUADRO II

	Ag	Al	B	Ba	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Mo	Ni	Pb	Sr	Ti	Zn
Larvas	0,0005	0,1	0,0005	0,04	No	0,0005	≤ 0,05	0,03	0,1	0,0001	0,005	0,02	0,03	0,005	0,1
Pupas	0,001	0,05	0,0005	0,01	0,001	0,0005	≤ 0,05	0,03	0,03	No	0,005	0,005	0,03	0,03	0,1
Imagos	0,001	> 1	0,05	0,05	No	0,001	≤ 0,05	0,03	0,5	No	1	2	≤ 0,03	0,03	≤ 0,1
Cutículas	No	0,01	0,001	0,05	0,001	0,001	0,05	0,03	0,05	No	0,03	0,01	0,03	0,01	No

Las cenizas contienen más de 1 % de Ca, K, Mg, Na, P y Si.
No contienen As (sensibilidad límite 0,1 %).

OLIGOELEMENTOS. -- Resultados en µg (γ) en cenizas
(Partes por millón)

CUADRO III

	Ag	Al	B	Ba	Co	Cr	Fe	Cu	Mn	Mo	Ni	Pb	Sr	Ti	Zn
Larvas	5	1000	5	400	No	5	3000	500	1000	1	50	200	300	50	1000
Pupas	10	500	5	100	10	5	3000	≤ 500	300	No	50	50	300	300	1000
Imagos	10	10000	500	500	No	10	3000	≤ 500	500	No	10000	20000	≤ 300	300	1000
Cutículas	No	100	10	500	10	10	3000	500	500	No	300	100	300	100	No

El Mn, que en las cenizas de larva está en una concentración de 1.000 p.p.m., desciende a menos de la tercera parte en las pupas para subir con respecto a éstas en los imagos (500 p.p.m.). En las cutículas la concentración es igual a la de los imagos.

Llama fuertemente la atención la elevada concentración de Al (1 %) y Pb (2 %) en las moscas. El Ni tiene en esta fase la misma concentración que el Al, siendo también este último relativamente alto en las larvas (0,1 %), bajando a la mitad en las pupas.

Uno de los elementos más escasos es el Mo que sólo existe en las cenizas de las larvas, en la proporción de 1 p.p.m. Falta por completo en imagos y pupas y, por ende, en las cutículas. El Co sólo está presente, en cambio, en las pupas (10 p.p.m.), observándose la misma concentración en las cutículas de éstas, por lo que se debe suponer una distribución homogénea de este elemento en la pupa.

La Ag, en concentración de 0,0005 % en las larvas, se eleva al doble en las pupas; pero falta en las cutículas indicando la distribución selectiva de este elemento en los tejidos internos. En los imagos se conserva la misma concentración que en las pupas.

El B alcanza su concentración máxima, de 0,05 %, en los imagos, siendo 100 veces inferior en las larvas y pupas; en la cutícula es doble que en la pupa total, lo que dice de una concentración preferencial en el exterior de la pupa. El Ba alcanza su máxima concentración en los imagos, 0,05 %, concentración que es idéntica a la de las cenizas provenientes de cutículas en tanto que en las pupas es de sólo 0,01 %, por lo que este elemento se concentra también proporcionalmente más en la cutícula. El Sr tiene una concentración prácticamente constante de 0,03 % en todas las fases de la metamorfosis y también en la cutícula. Igual concentración muestra el Ti en las fases de pupa y moscas, pero es inferior en las cutículas (0,01 %) y más aún en las larvas (0,0005 %).

En resumidas cuentas, son el Fe (0,3 %), Zn, Mn, Al (0,1 %), Cu (0,05 %) y Ba (0,04 %) los oligoelementos más abundantes en el estado de larva. El más escaso de los estudiados es el Mo (0,0001 %), faltando el Co. En la fase de pupa el Fe (0,3 %) y Zn (0,1 %) son los más abundantes, siguiéndoles el Cu y el Al (0,05 %); los más escasos son el Cr y B (0,0005 %), faltando en absoluto el Mo. En la etapa de imago los más abundantes son el Pb (2 %), Al, Ni (1 %), Fe (0,3 %) y Zn (0,1 %); los más escasos son Ag y Cr (0,001 %) faltando el Co y el Mo. En las cutículas la máxima concentración la alcanzan el Fe (0,3 %), Cu, Mn y Ba (0,05 %); los más escasos son B, Co y Cr, estando ausentes Ag, Mo y Zn.

Conclusiones

1. El tanto por ciento de cenizas, en sustancia seca, sube en el paso de larva a pupa y desciende ligeramente al formarse el imago. Las cenizas de la cutícula representan más de un 9 % de las cenizas totales de la pupa, siendo que aquella misma sólo incluye el 4 % del peso total de dicha fase; esto indica un apreciable contenido de material inorgánico en la cutícula.

2. El análisis espectrográfico de los elementos inorgánicos, en cenizas, revelan más de un 1 % de Ca, K, Mg, Na, P y Si, siendo el Fe, Zn, Mn y Cu los oligoelementos predominantes.

3. En las larvas los oligoelementos que destacan son el Fe, Zn, Mn, Cu, Al y Ba, siendo el Mo el más escaso de los estudiados y faltando el Co. En la fase de pupa el Fe y el Zn son los más abundantes, siguiéndole el Cu y el Al; los escasos son Cr y B, faltando el Mo. En los imagos predominan Pb, Al, Ni y luego Fe y Zn; escasean Ag y Cr, faltando en absoluto el Co y Mo. Las concentraciones de Fe, Zn, Cu y Sr permanecen invariables en toda la metamorfosis. La concentración de Al, Pb y Ni en los imagos, es extraordinariamente elevada, alcanzando también el Ba y B su concentración máxima en esta fase.

4. El Zn, presente en las pupas, falta por completo en las cutículas de éstas, lo que habla en contra de la presencia de anhídrido carbónico en la cutícula y de alguna relación importante de esta enzima con la calcificación de ella. La Ag, presente en las pupas, está también ausente de las cutículas.

Resumen

Mediante el método espectrográfico se han determinado los oligoelementos existentes en larvas, pupas y moscas de *Calliphora erythrocephala*, así como en las cutículas pupales utilizando un espectrógrafo modelo Q-24 excitación por arco con corriente continua de 110-120 v. y 4 a 5 A, comprobándose que el tanto por ciento de cenizas sube en el paso de larva a pupa y desciende al formarse el imago. En la cutícula de la pupa existe un apreciable contenido de material inorgánico.

Las cenizas contienen más del 1 % de Ca, K, Mg, Na, P y Si, siendo el Fe, Zn, Mn y Cu los oligoelementos predominantes. En las larvas destacan el Fe, Zn, Mn, Cu, Al y Ba siendo el Mo el más escaso y no se encuentra Co. En la pupa falta Mo, el Fe y Zn son los más abundantes, les sigue el Cu y Al y escasea Cr y B. En imagos predomina Pb, Al y Ni, les sigue Fe y Zn, escasean Ag y Cu y no se detecta Mo y Co. La Ag y Zn presentes en las pupas no existen en las cutículas de éstas, lo que habla en contra de la presencia de anhídrido

carbónica en ellas y por lo tanto de su intervención en la calcificación de aquéllas.

Summary

Studies on the Biochemistry of Insects

IX. Oligoelements in the metamorphosis of *Calliphora erythrocephala*

By means of the spectrographic method we have determined the oligoelements existing in larvae, pupae and flies of *Calliphora erythrocephala*, as well as in the pupae cuticles by using a spectrograph model Q 24 excitation by arc with continuous current of 110 : 120 V and 4-5 A. We have found that the percentage of ashes increases in the phase from larva to pupa and decreases on forming the imago. In the cuticle of the pupa there is a certain amount of organic matter to be found.

The ashes contain over 1 % of Ca, K, Mg, Na, P and Si, the predominating elements being Fe, Zn, Mn, Cu, Al and Ba, the rarest being Mo and Co non existent. In the pupa Mo is absent and Fe and Zn are the most abundant, then come Cu and Al and Cr and B are scarce. In the imagines the elements predominating are Pb, Al and Ni, then come Fe and Zn; Ag and Cu are scarce, and Mo and Co have not been found. Ag and Zn present in pupae is not to be found in their cuticles which speaks against the presence of carbonic anhydrase in them and therefore its intervention in the calcification of the former.

Bibliografía

- (1) COMENGE, M. y DEAN, M.: *Bull. Sté. Chim. Biol.*, **31**, 1580, 1949; *R. esp. Fisiol.*, **7**, 143, 1951.
- (2) COMENGE, M., SANTOS, A. y DEAN, M.: *R. esp. Fisiol.*, **8**, 197, 1952.
- (3) DEAN, M.: *Anales de Bromatología*, **4**, 57, 1952.
- (4) DEAN, M.: *Inf. Quim. Anal.*, **5**, 172, 1951; *Medicamenta*, **6**, 19, 1951.
- (5) RICHARD, A. G.: «The Integument of Arthropods». Univ. of Minnesota Press, Minneapolis, 1951.
- (6) RICHARD, A. G.: *Ergeb. Biol.*, **20**, 1, 1958.
- (7) SANTOS RUIZ, A., LÓPEZ AZCONA, J. M. y SAMPEDRO, A.: *R. esp. Fisiol.*, **4**, 163, 1948.
- (8) SANTOS RUIZ, A., DEAN, G. M. y LÓPEZ AZCONA, J. M.: *R. esp. Fisiol.*, **8**, 3, 1952.
- (9) STAMM, M.^a D. y FERNÁNDEZ, F.: *R. esp. Fisiol.*, **13**, 4, 225, 1957.
- (10) STAMM, M.^a D. y FERNÁNDEZ, F.: *R. esp. Fisiol.*, **14**, 3, 177, 1958.
- (11) STAMM, M.^a D. y FERNÁNDEZ, F.: *R. esp. Fisiol.*, **14**, 3, 185, 1958.

- (12) STAMM, M.^a D. y FERNÁNDEZ, F.: *Actas de la IV Reunión Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas*, pág. 41, 1958.
- (13) STAMM, MENÉNDEZ, M.^a D., GONZÁLEZ, P. y DEAN M.: *R. esp. Fisiol.*, 17, 2, 45, 1961.
- (14) WATERHOUSE, D. F.: *Count. Sci. Ind. Res. Australia Pamph* n.º 191, 1, 1945.