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

Estudios sobre bioquímica de insectos

XV. Oligoelementos en *Celerio euphorbiae* y *Agrotis pronuba*

por

M.^a Dolores Stamm y Miguel Dean-Guelbenzu

(Recibido para publicar el 11 de enero de 1962)

En trabajos anteriores se estudiaron los oligoelementos que se encuentran en diversos lepidópteros (1, 2, 6, 7, 10 y 12), coleópteros (3 y 8), ortópteros (9 y 14) y dípteros (11 y 13). En esta nota presentamos el resultado de los análisis de otros dos lepidópteros: *Celerio euphorbiae* y *Agrotis pronuba*.

Material y métodos

El material objeto de estudio lo constituyen larvas de *Celerio euphorbiae* e imagos de *Agrotis pronuba*, procedentes de Palma de Mallorca las primeras y de Madrid las segundas.

Las muestras se incineraron de la misma forma indicada en trabajos anteriores (4 y 5) y las cenizas obtenidas se analizaron mediante método espectrográfico, utilizándose un espectrográfo modelo Qu-24; excitación por arco con electrodos soporte de carbón y corriente continua de 110-120 v. y 4 a 5 A. Rendija 0,007 mm; foco para 3.100 angstroms; diafragma previo 5 mm y diafragma de cámara 1,5. Peso de la muestra 0,006 gr. mezclada con 0,006 gr. de grafito. Tiempo de exposición hasta total agotamiento de la muestra. Revelador D-76; tiempo 4 minutos. Método de análisis cuantitativo aproximado, con escalas de per-

sistencia para comparación visual de las líneas analíticas de los oligoelementos, según se indica en anteriores trabajos.

Resultados

Los resultados obtenidos se representan en la tabla I. En ella, las cifras de alto contenido del elemento en la ceniza analizada (del 1 % o mayor) sólo sirven de orientación aproximada, ya que que la exactitud de la técnica analítica es mayor cuanto menor es la concentración del elemento. Los espectrogramas de *Agrotis* se obtuvieron con electrodos soporte que contenían boro y cobre como impureza por lo que no han podido incluirse, para esta especie, los resultados de ambos oligoelementos.

En la tabla II reúnen algunos resultados obtenidos anteriormente en otros trabajos nuestros sobre oligoelementos en cenizas de diversas especies de lepidópteros. En estos trabajos se utilizó la misma técnica analítica que en la nota que ahora presentamos, y si bien fueron diferentes algunas de las condiciones operatorias, como, por ejemplo, el espectrógrafo empleado, los resultados pueden ser, no obstante, objeto de comparación.

TABLA I
Oligoelementos (g % en cenizas) en *Celerio* y *Agrotis*

	<i>Celerio euphorbiae</i> Larvas	<i>Agrotis pronuba</i> Imagos
Cenizas %	6,7	4,81
Al *	1	0,01
B	0,001	—
Ba	0,5	—
Ca **	≤ 10	2
Cr	Indicios	0,001
Cu	0,005	—
Fe *	3	0,5
K	5	0,3
Li	0,005	—
Mg	Mucho	Mucho
Mn	0,01	0,1
Na	2	0,5
P	Mucho	1 a 10 %
Pb	—	0,005
Si	Mucho	Mucho
Sr *	0,2	0,005
Ti	0,01	0,005
Zn	—	0,1

* = aproximado. ** = poco aproximado.

TABLA II
Oligoelementos (g % en cenizas) en algunos lepidópteros

Elemento	BOMBYX MORI																
	Saturnia pyri Larvas		Pieris brassicae Larvas		Ocnogyna bretica Larvas		Euproctis chrisoroza Larvas		Lymantria monocla Larvas		Lymantria dispar Larvas		Larvas		Crisálida	Mariposa	Huevos
	1.ª, 2.ª, 3.ª edad		4.ª, 5.ª edad		1.ª, 2.ª, 3.ª edad		4.ª, 5.ª edad		1.ª, 2.ª, 3.ª edad		4.ª, 5.ª edad						
Ag	< 0,0001	< 0,01	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Al	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ba	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ca	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Co	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cr	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Cu	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Fe	0,1	0,01	0,01	0,1	0,01	0,01	0,1	0,01	0,1	0,01	0,1	0,01	0,1	0,01	0,1	0,01	0,1
K	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Li	< 0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mn	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Mo	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Na	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ni	< 0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pb	0,01	0,001	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Si	< 1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1
Tl	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
V	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Zn	1	0,1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10

Observaciones: 1.ª) Ca, K, Mg, Na, P, Si: Mucho en todas.
 2.ª) Límites de sensibilidad: Ag < 0'0001, Co < 0'001, Cr < 0'01, Li < 0'01, Mo < 0'001 V < 0'0001.
 3.ª) Ba se halla, en algunas, en el límite de sensibilidad (±).
 4.ª) Zn no se determinó en Bombyx mori.

Discusión

El porcentaje de cenizas es más alto en las larvas de *Celerio* que en los imagos de *Agrotis*.

De los bioelementos analizados el Ca aparece en cantidades altísimas en las cenizas de larvas de *Celerio*; la cifra de K es casi tan alta como la de Ca y hay también mucho Si, P y Mg. El Na aparece a continuación.

En *Agrotis*, aunque es también el Ca el bioelemento que predomina, las cifras son inferiores a las anteriores y existe también mucho Mg, Si P. y El K, sin embargo, escasea y las cifras son más bajas que la de Na.

De los oligoelementos analizados el Fe existe en *Celerio* en cantidades altas iguales o superiores a las de Na, lo que hace pensar en un posible papel plástico de este oligoelemento en el insecto estudiado, siempre compatible además con sus funciones catalíticas. En *Agrotis* el Fe es también el oligoelemento predominante, pero las cifras son mucho menores e iguales a las de Na, las cuales, como hemos dicho, son también inferiores en esta especie a las que aparecen en *Celerio*.

Después del Fe y Na se detecta, en *Celerio*, el Al, también en cantidades altas, cosa que no ocurre en *Agrotis*.

De los restantes oligoelementos el Ba es el que predomina en *Celerio*; quizá esté esto relacionado con la pigmentación de la larva, puesto que hay datos en la bibliografía de que el Ba suele acumularse en membranas pigmentadas como por ejemplo en la coroides del ojo (15). En *Agrotis*, sin embargo, no se detecta este oligoelemento.

A continuación aparece en *Celerio* el Sr, después en cantidades mucho menores e iguales el Ti y Mn y más bajas aún son las de Li y Cu. Seguidamente aparece el B, por último hay también indicios de Cr y no se detectan Zn ni Pb, que aparecen sin embargo en *Agrotis*.

En éste no se encuentra Li. Después del Fe y Na aparece el K y a continuación el Mn y Zn, siendo las cifras de éstos aproximadamente un tercio de las de K. Seguidamente va el Al y luego, en cantidades iguales, aparecen Ti, Sr y Pb; finalmente el Cr cuyo contenido es el menor (1 mg. % gr).

Si comparamos los resultados expuestos en las tablas I y II observamos como detalles más salientes:

Aunque no hayamos visto líneas de Ag en los espectrogramas correspondientes a la tabla I hemos de suponer que, probablemente, tanto *Celerio* como *Agrotis* deben contener este oligoelemento en cantidad, quizás, ligeramente inferior al límite de sensibilidad, puesto que todas las especies de lepidópteros que se incluyen en la tabla II lo tienen en dichas proporciones

límite (0,1 mg. % gr. de cenizas) con la excepción de las larvas de las tres primeras edades de *Bombyx mori* en las que se ve en cantidades de un orden diez veces mayor (1 mg. % de cenizas) y en *Pieris brassicae* cuya proporción es aún más alta. Este hecho de la existencia de indicios de Ag en todas las fases evolutivas del *Bombyx mori*, fue señalado anteriormente por nosotros (1 y 2) e incluso comentado de modo especial en un trabajo de revisión sobre el tema (17). Autores japoneses comprobaron también posteriormente la existencia de indicios de plata en todos los órganos separados del insecto mencionado (16). De todos estos trabajos nos hicimos eco en una monografía (18) y terminábamos diciendo lo necesario que es acoger con gran reserva los datos señalados en cuanto se refiere a la consideración del posible significado de la citada existencia de indicios de plata en plantas y animales. Ahora podemos añadir que esta reserva sigue siendo precisa aun en el supuesto de comprobar que el citado elemento se halla, no sólo en una o dos sino en todas las especies de lepidópteros.

Cu oscila en todos los lepidópteros en cantidades variables alrededor de 0,01 gr. % de cenizas. Las de Fe varían aun más, de 1 a 0,01 % ; en *Bombyx mori* se hallan las cifras mayores, sin contar la que vemos en *Celerio* que es excepcionalmente alta como se ha señalado antes.

Mn se halla en cantidades que llegan a 0,1 % en *Agrotis* y *Bombyx* y son del orden de 0,01 % o menores en las demás cenizas.

Mo falta en la tabla I y en dos muestras de la II ; pero en el resto de las cenizas de lepidópteros se ve en dosis próximas (en más o en menos) a 0,01 % ; en los huevos de *Bombyx* llega a 0,05 % , lo cual parece indicar la posible necesidad de este oligoelemento.

Las cantidades de Ti van de $\geq 0,01$ a $< 0,001$ y falta en dos muestras de la tabla II.

Finalmente Zn, que no se determinó en *Bombyx*, lo hemos hallado ahora en *Agrotis* (0,1 %) y no en *Celerio* ; en los demás lepidópteros (tabla II) se ve en proporciones excepcionalmente altas.

Resumen

Se analizan los bioelementos existentes en dos lepidópteros *Agrotis pronuba* (imago) y *Celerio euphorbiae* (larvas) por método espectrográfico, semicuantitativo, observándose que la cifra de cenizas es más alta en larvas de *Celerio* que en imago de *Agrotis*.

De los bioelementos el Ca es el que predomina en *Celerio* detectándose en cifras muy altas. Hay también mucho Si, P y Mg, Fe y Na, estos

tres últimos en cantidades decrecientes. Los restantes aparecen en el siguiente orden: $Al > Ba > Sr > Mn = Ti > Cu = Li > B > Cr$. De estas cifras quizás sea conveniente destacar la de Ba, 0,5 % en cenizas de la larva de *Celerio euphorbiae*, que es, para este oligoelemento excepcionalmente alta: «a priori» podríamos explicar este hecho relacionándolo con la pigmentación de la larva, puesto que existen antecedentes a este respecto en la bibliografía.

En imagos de *Agrotis* hay también mucho Si, Mg, P y Ca, pero menos Na y K. No se detecta Ba ni Li y los demás oligoelementos aparecen en el siguiente orden: $Fe > Mn = Zn > Al > Pb = Sr = Ti > Cr$.

De la comparación de estos resultados con los obtenidos, en trabajos anteriores, para otras especies de lepidópteros, podemos destacar como detalles más interesantes: por una parte: las cifras correspondientes a los oligoelementos espiratorios, Cu, Fe, Mn, Ti y Zn, cuyas variaciones en las diversas cenizas se señalan oportunamente. Por otra, el hecho de no haber encontrado Ag ni Mo en *Celerio* ni *Agrotis*, aunque ambos elementos se hallan de modo bastante constante en otros lepidópteros estudiados (Ag en todos y Mo en todos menos en dos). Posiblemente los dos se encuentran también en las dos especies citadas, si bien en cantidades ligeramente inferiores al límite de sensibilidad de la técnica analítica utilizada; en los comentarios a estos resultados se alude a algunas observaciones y sugerencias de anteriores trabajos, referentes a los oligoelementos Ag y Mo.

Summary

Studies on the Biochemistry of Insects.

XV. Oligoelements in *Celerio euphorbiae* and *Agrotis pronuba*.

In this work the bio-elements content in ashes of two insects *Agrotis pronuba* imagines and *Celerio euphorbiae* larvae, are determined by spectrographical analysis.

The macro-components in both species are Ca, Mg, Na, K, P, Si; and the oligoelements in *Celerio* are found in decreasing amounts as follows: $Fe > Al > Ba > Sr > Mn = Ti > Cu = Li > B > Cr$; in *Agrotis* the series is: $Fe > Mn = Zn > Al > Pb = Sr = Ti > Cr$, and it is noted that Ba and Li spectral lines are not observed.

These results are compared with others that previously were obtained from other *Lepidopterous* species.

Bibliografía

- (1) COMENGE-GERPE, M. y DEAN-GUELBENZU, M.: *Bull. Chim. Biol.*, 31, 1580 (1949); *R. esp. Fisiol.*, 7, 143 (1951).
- (2) COMENGE-GERPE, M., SANTOS-MERINO, A. y DEAN-GUELBENZU, M.: *R. esp. Fisiol.* 8, 197 (1952).
- (3) DEAN-GUELBENZU, M.: *Anales de Bromatología*, 4, 57 (1952).

- (4) DEAN-GUEL BENZU, M.: *Inf. Quim. Anal.*, 5, 172. (1951); *Medicamenta*, 6, 19 (1951).
- (5) SANTOS-RUIZ, A., DEAN-GUEL BENZU, M. y LÓPEZ DE AZCONA, J. M.: *IV Congr. Intern. Patolog. Comp.* Madrid (1952).
- (6) STAMM, M.^a D y FERNÁNDEZ, F.: *R. esp. Fisiol.*, 13, 4, 225, (1957).
- (7) STAMM, M.^a D y FERNÁNDEZ, F.: *R. esp. Fisiol.*, 14, 3, 177, (1958).
- (8) STAMM, M.^a D. y FERNÁNDEZ, F.: *R. esp. Fisiol.*, 14, 3, 185 (1958).
- (9) STAMM, M.^a D y FERNÁNDEZ, F.: *Actas de la IV Reunión Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas*, pág. 41 (1958).
- (10) STAMM, M.^a D., GONZÁLEZ, P. y DEAN, M.: *R. esp. Fisiol.*, 17, 2, 45, (1961).
- (11) STAMM, M.^a D., SAPAG-HAGAR, M. y DEAN, M.: *R. esp. Fisiol.*, 17, 107, 1961.
- (12) STAMM, M.^a D. y DEAN, M.: *R. esp. Fisiol.* 17, 40 (1961).
- (13) STAMM, M.^a D. y DEAN, M.: *R. esp. Fisiol.*, 17, 44 (1961).
- (14) STAMM, M.^a D. y DEAN, M.: *R. esp. Fisiol.*, 17, 49 (1961).
- (15) RAMAGE, SHELDON y SHELDON: *Proc. Roy. Soc. Lond.*, B. 113, 308 (1953).
- (16) FUKUDA y MATUDA: *Journ. Seric. Sci. Japan.*, 22, 243 (1953).
- (17) DEAN-GUEL BENZU, M.: *Medicamenta*, 4, 48 (1950).
- (18) DEAN-GUEL BENZU, M.: «*Oligoelementos*». *Monograf. Ciencia Moderna*, C.S.I.C. Madrid, págs. 163-164, 1959.