

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

Estudios sobre bioquímica de insectos

XVI. Algunos datos sobre el metabolismo protídico en la metamorfosis de *Malacosoma neustria*

por

M.^a Dolores Stamm

(Recibido para publicar el 11 de enero de 1962)

En un trabajo anterior (5) se estudió el metabolismo protídico en la metamorfosis de la *Calliphora erythrocephala* y anteriormente el de aminoácidos aromáticos en diferentes lepidópteros, coleópteros, hemipteros, y ortópteros (6,7,8,9) Actualmente se han estudiado las fracciones proteicas que aparecen en las tres fases de la metamorfosis del lepidóptero *Malacosoma neustria* (larvas, crisálidas e imagos) así como en los excrementos, utilizando el método de electroforesis de papel y el fotolorimétrico de Lowry.

Material y métodos

1. *Recogida de muestras.* — El material utilizado fueron larvas, excrementos de éstas, crisálidas y mariposas de *Malacosoma neustria*.

2. *Preparación del material.* — Para las determinaciones electroforéticas se prepararon homogenados utilizando el homogeneizador de Potter-Elvehjem (4) preparándose los homoge-

nados en las proporciones siguientes : 3 larvas en agua hasta obtener 10 cc de homogenado ; 3 crisálidas para 4,6 cc ; 1 imago macho para 3 cc. y 1 imago hembra para 4 cc. Los homogenados se centrifugaron a 10.000 r. p. m. durante media hora y se emplearon en la electroforesis los líquidos sobrenadantes.

3. *Determinación global de proteínas solubles.* — Se llevó a cabo por el método fotocolorimétrico de Lowry (3) utilizándose también los líquidos sobrenadantes antes indicados.

4. *Determinación de fracciones proteicas por electroforesis sobre papel.* — Para la electroforesis se utilizó un aparato Jouan y papel Arches 302, empleándose unos 50 μ l del sobrenadante, el cual se colocó a 16 cm del cátodo. El voltaje fue de 400 V, el tiempo 2 horas y el tampón empleado de veronal sódico, acetato sódico y ClH a un pH de 8,72.

Las proteínas se fijaron por el calor a una temperatura de unos 80-100° durante 10 minutos y como revelador se utilizó el azul de bromofenol (1).

El fraccionamiento y trazado de curvas se realizó por el procedimiento de lectura directa (2) en el aparato Jouan.

Resultados

a) *Proteínas solubles.*

Los resultados obtenidos se resumen en el cuadro I.

CUADRO I

	Mg/unidad
Larvas	8,33
Crisálidas	30,47
Hembras	20,70
Mariposas	
Machos	2,98

b) *Fracciones proteicas identificadas por electroforesis.*

Trabajando en las condiciones indicadas anteriormente se han identificado las fracciones proteicas que se indican en el cuadro II. Es decir en las larvas dos fracciones perfectamente definidas ; en las crisálidas aparecen además una tercera fracción entre las dos anteriores. En los imagos hembra aparecen también tres fracciones y en los machos solamente dos y la rápida es mucho más pequeña.

CUADRO II

Fase	% relativos de las fracciones electroforéticas		
	Frac. lenta	Frac. intermedia	Frac. rápida
Larvas	65 %	—	14 %
Crisálidas	32 %	33 %	35 %
Hembras	60 %	12 %	28 %
Mariposas			
Machos	61 %		15 %

c) *Movilidad electroforética de las fracciones proteicas.*

En el cuadro III se representa la movilidad electroforética de las diferentes fracciones encontradas.

CUADRO III

Fase de la metamorfosis	Fracción	Distancia en cm. del frente
Larvas	Lenta	0,4
	Rápida	3,3
Crisálidas	Lenta	No se desplaza
	Intermedia	4,5
	Rápida	6
Mariposas	Hembras	
	Lenta	1,1
	Intermedia	2,5
Machos	Rápida	3,9
	Lenta	No se desplaza
	Rápida	2,5

DIAGRAMAS ELECTROFORETICOS

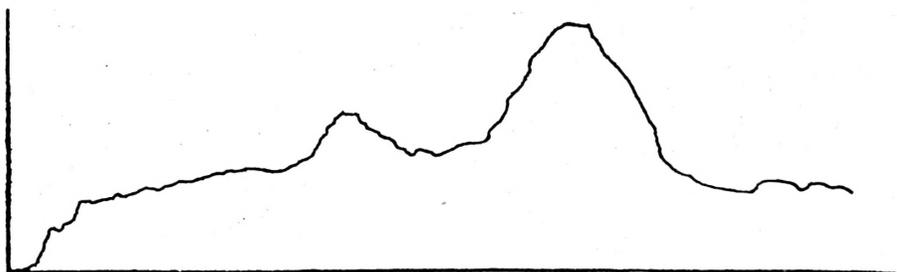


Figura 1. Larvas



Figura 2. Crisálidas

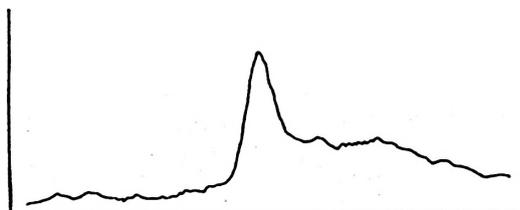


Figura 3. Mariposas hembras

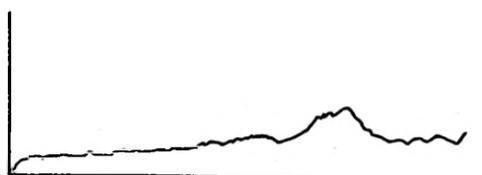


Figura 4. Mariposas machos

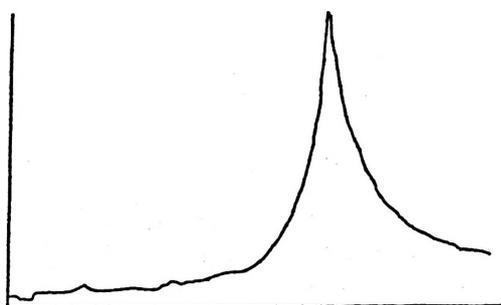


Figura 5. Deyecciones

Discusión

Los prótidos aumentan notablemente al transformarse la larva en crisálida siendo las cifras encontradas en éstas casi cuatro veces superiores a las de la larva, es decir debe haber una transformación de otros principios inmediatos en proteidos. Descienden después una tercera parte en la mariposa hembra y la cifra es muy baja en el macho. En los imagos los análisis se realizaron después de la fecundación.

Las figuras (1, 2, 3, y 4) muestran los diagramas electroforéticos obtenidos en los diferentes estados de la metamorfosis y el cuadro II los porcentajes relativos de las fracciones electroforéticas que se lograron separar en las cuatro fases. En la larva la fracción lenta es muy superior a la rápida (65 % la primera y 14 % la segunda). Al pasar a la fase de crisálida la lenta se reduce a la mitad y la rápida se hace 2,5 veces mayor, apareciendo además otra nueva fracción cuya movilidad es intermedia entre las dos anteriores, en una proporción del 33 %. La fracción rápida debe tratarse de un cromoproteido, ya que en el ferograma la zona correspondiente a ella aparece de color negro antes de la tinción por el azul de bromofenol.

En las mariposas hembras aparecen también como en la crisálida tres fracciones: la lenta, en proporciones casi dobles (60 %) a las de la crisálida, la rápida menor (28 %) y la intermedia es también inferior (12 %). En los machos la fracción lenta está en una proporción casi idéntica a la de la hembra y la rápida es mucho más pequeña.

La figura 5 nos muestra el diagrama electroforético obtenido con las deyecciones antes de teñir con azul de bromofenol. En él se puede apreciar la presencia de una sola fracción a una distancia de unos 6 cm, del origen, ésta es de color pardo y no se tiñe por el azul de bromofenol.

Resumen

Se estudian por el método fotocolorimétrico de Lowry y el de electroforesis de papel las proteínas solubles y las fracciones proteicas que aparecen en las tres fases de la metamorfosis del lepidóptero *Malacosoma neustria*, así como en las deyecciones, comprobándose que las proteínas aumentan notablemente al transformarse la larva en crisálida, luego debe haber transformación de otros principios inmediatos en proteicos, descenden después una tercera parte en la mariposa hembra y la cifra es muy baja en los machos después de la fecundación.

Estas proteínas se distribuyen en dos fracciones en la larva, en tres en la crisálida y mariposa hembra y en dos también como en las larvas, en los machos. De ellas la fracción lenta aparece en proporciones seme-

jantes en larvas y en mariposas hembras y machos y la cifra se reduce a la mitad en las crisálidas. La fracción rápida predomina en las crisálidas, desciende en la mariposa hembra y el descenso es mucho más pronunciado en las larvas y en los machos, siendo los valores encontrados en estos dos últimos casi iguales. La fracción intermedia de crisálidas e imago hembra es mucho más alta en las primeras.

Summary

Studies on the Biochemistry of Insects.

XVI. Notes on proteic metabolism in the metamorphosis of *Malacosoma neustria*.

We study by Lowry's photolorimetric method and paper electrophoresis soluble proteins and the proteic fractions which appear in the three phases of the metamorphosis of the lepidopterous *Malacosoma neustria* so as in the excrements. It was found the proteins increase a lot when the larva is transforming to chrysalis, thus there must be a transformation from other immature principles to proteids, they decrease afterwards to a third of then in the female butterfly and the figure is very low in the males after the fecundation.

These proteins are distributed in two fractions in the larva, in three in the chrysalis and female butterflies and in two also as in the larvae, in the males. The slow fraction of them appears in similar proportions in the larvae and the female butterflies and males and the figure is reduced to the half in the chrysalis. The fast fraction prevails in the chrysalis, it decreases in the female butterfly and the decrease is very strong in the larvae and the males, the values found being approximately the same in two these latter. The intermediate fraction in chrysalis and imago female is much higher in the former.

Bibliografía

- (1) HOLIDAY, E. R. y OGSTON: *Biochem. J.*, **32**, 1166 (1938).
- (2) KASTING, R. y Mc GINNIS, A. J.: *Natura.*, **182**, 1380 (1958).
- (3) LOWRY, O. H. y col.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
- (4) POTTER, van R. y ELVEHJEM, C. A.: *J. Biol. Chem.*, **114**, 495 (1936).
- (5) SAPAG-HAGAR, M. y STAMM-MENÉNDEZ, M.^a D.: *R. esp. Fisiol.*, **17**, 115 (1961).
- (6) STAMM-MENÉNDEZ, M.^a D., SANTOS RUIZ, A. y VILLAR PALASI, V.: *Anal. Fis. Quim. R.*, **XLVI**, 595 (1950).
- (7) STAMM-MENÉNDEZ, M.^a D. y AGUIRRE, L.: *R. esp. Fisiol.*, **11**, 63 (1955).
- (8) STAMM-MENÉNDEZ, M.^a D. y AGUIRRE, L.: *R. esp. Fisiol.*, **11**, 69 (1955).
- (9) STAMM-MENÉNDEZ, M.^a D. y AGUIRRE, L.: *R. esp. Fisiol.*, **11**, 75 (1955).