

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

Lipasas en el ortóptero *Anacridium aegyptium*

por

M.^a Dolores Stamm

(Recibido para publicar el 15 de febrero de 1964)

Lipasas con pH óptimo alcalino han sido identificadas en numerosos insectos. BAKCH y PARRETSBEY (1) han demostrado la presencia de estos enzimas en todos los estados de la mosca doméstica. En ésta, según trabajos de CIAVATTINI y colaboradores (2) la actividad lipásica presentó un máximo en el estado larval descendiendo después al comenzar la pupación, seguidamente aumentó lentamente hasta llegar a un valor de alrededor de la mitad del máximo alcanzado y en el momento de emergencia de la mosca adulta volvió a disminuir hasta el punto de partida.

GEORGE y col. demuestran actividad lipásica en el cuerpo graso (6, 7) y en los músculos de alas (9) de *Schistocerca* así como en mariposas de las familias *Danaidae*, *Nymphalidae*, *Pieridae* y *Papilionidae* (8) las cuales queman grasas durante el vuelo. Lipasas mucho más activas se han encontrado en los músculos de alas de la mosca dragón *Pentala flavescens* (10). MAZZI y BACCETTI (13) las identifican en tubos de Malpigio de *Blaps gibba*, *Acridia bicolor* y *Apis mellifera* y GAETA y ZAPPANICO (4) en los hue-

vos de *Bombyx mori*. En éstos la actividad lipásica es pequeña, pero mesurable, siendo máxima en el momento de la eclosión. En las larvas en ayuno descendiendo marcadamente. Resultados similares han obtenido con *Artemia salina*. Según los autores la función de esta lipasa es movilizar los lípidos vitelinos que van a proporcionar la energía que requiere el embrión. En el gusano de seda (5) la actividad lipásica máxima se presenta en el estado prepupal, llegando a ser más débil en el último estado de pupa. KRISHNAMOORTHY (11) identifica lipasas en el tracto digestivo de termitas y EISNER en el de *Periplaneta americana* (3).

Nosotros hemos analizado la actividad lipásica que aparece en los diferentes órganos del ortóptero *Anacridium aegyptium* utilizando el método manométrico.

Material y métodos

Recogida de muestras. El material utilizado fueron cabezas, tórax, abdómenes, músculos de alas y tubo digestivo de adultos de *Anacridium aegyptium*.

Preparación del material. Para las determinaciones de actividad enzimática se utilizaron homogenados preparados con agua destilada en el homogeneizador de POTTER-ELVEHJEM (14) en la proporción de dos órganos para 2,5 ml. de agua. Los homogenados se centrifugaron a 10.000 r.p.m. a 0° C durante media hora y se emplearon en las determinaciones los líquidos sobrenadantes.

Determinación global de proteínas solubles. Se llevó a cabo por el método fotocolorimétrico de LOWRY (12) utilizándose también los líquidos sobrenadantes antes citados.

Determinación de actividad lipásica.* El método usado para el ensayo fue el manométrico basado en el de RONA y LASNITZKI (15). La actividad de las pre-

el baño a 30°, seguidamente el sustrato fue volcado y las lecturas se realizaron cada 2,5 minutos. Los manómetros se agitaron a unas 70 oscilaciones/minuto siguiendo una amplitud de 4-5 cm. por oscilación.

La actividad lipásica se calculó sobre la base del peso húmedo y de la concentración proteínica de la solución enzimática utilizada y se expresó como el número de μ l de CO₂ producidos/mg. de proteína/30 minutos y por mg. de peso húmedo/30 minutos.

Resultados

Los resultados obtenidos se resumen en el cuadro I en el que se dan las cantidades de proteína soluble obtenidas de las distintas regiones referidas a un ejem-

CUADRO I

Organo	mgs. prot. sol/unidad	μ l CO ₂ /mg. prot. 30 min.	μ l CO ₂ /mg. p. húm./30 min.
Cabeza	7,83	39,—	1,33
Tórax	9,—	40,56	0,60
Abdomen	16,80	24,24	0,87
Aparato digestivo	38,2	16,08	2,03
Músculos de alas	8,47	32,4	1,12

paraciones de lipasa se valoró en el aparato de Warburg a 30° frente a una emulsión de tributirina en suero Ringer, que contenía 9 ‰ de ClNa, 0,24 gr. por mil de Cl₂Ca, 0,42 gr. por mil de ClK y 0,5 gr. por mil de CO₂HNa, y este mismo líquido cuyo pH era de 7,3 fue el tampón utilizado. Cada matraz de reacción contenía 2 c. c. de tampón y 0,5 c. c. de solución enzimática en el vaso principal y 0,5 c. c. de la emulsión de tributirina en el lateral, obteniéndose así un volumen total de 3 c. c. Los manómetros se equilibraron durante 10 minutos en

plar y la distribución de la actividad lipásica expresada en μ l de CO₂ producidos en 30 minutos por mg. de proteína y por mg. de peso húmedo de cada una de las partes estudiadas.

Discusión

Del estudio del cuadro I se deduce que la actividad lipásica referida a la unidad de proteínas predomina en el tórax, cuyo valor es muy próximo al encontrado en la cabeza. A continuación se encuentra la de los músculos de alas y los valores más bajos se detectan en el abdomen y, finalmente, en el aparato digestivo. No ocurre lo mismo cuando los valores se expresan por unidad de peso húmedo, ya que en este caso es en el tubo diges-

* Por la ayuda prestada en la valoración de las lipasas damos las gracias al Dr. Rufino Cosin.

tivo donde se detectan los valores más altos y en el tórax donde éstos son menores. Los correspondientes al aparato digestivo son además muy superiores a los que aparecen en otros órganos. En el resto de los mismos la actividad decrece en el mismo orden que cuando se expresó por unidad de proteínas, es decir, el segundo órgano en actividad es la cabeza, seguido de los músculos de las alas y el abdomen y, finalmente, el tórax que, como ya hemos indicado, es el órgano de menor actividad por unidad de peso húmedo.

Resumen

Se determina la actividad lipásica en diferentes órganos del ortóptero *Anacridium aegyptium* utilizando el método manométrico. Cuando se expresa refiriéndola a peso de proteína soluble extraída, los valores máximos corresponden al tórax, siguen muy próximos los de la cabeza, luego los músculos de las alas y finalmente abdomen y aparato digestivo. Al referirla a peso húmedo, es en este último órgano donde predomina y sus valores son mucho más altos que los de los demás órganos, siendo los correspondientes al tórax los más pequeños. En el resto de los órganos la actividad decrece en el mismo orden que cuando se expresó por unidad de proteínas.

Summary

Lipases in the orthoptera *Anacridium aegyptium*

The lipase activity in different organs of the orthoptera *Anacridium aegyptium* has been determined, using the manometric method. When it is expressed by referring it to the weight of soluble pro-

tein extracted, the maximum values corresponding to the thorax, followed very closely by those for the head, then by the wing muscles and finally the abdomen and digestive apparatus. If it is referred to the fresh weight, it is in the last of these organs that it predominates and its values here are much higher than those for the other organs, those for the thorax being the smallest. In the rest of the organs the activity decreases in the same order as when it was expressed per protein unit.

Bibliografía

- (1) BAKER, F. D. y PARETSKY, D.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **77**, 328, 1958.
- (2) CIAVATTINI, M. G., RIMATORI, A. y SILEONI, P.: *C. A.*, **54**, 18.798 c, 1960.
- (3) EISNER, T.: *C. A.*, **50**, 5.929 g, 1956.
- (4) GAETA, Y. y ZAPPANICO, A.: *C. A.*, **54**, 2.620 b, 1960.
- (5) GAMO, T., NISHIYAMA, H. y UEHARA, Y.: *C. A.*, **53**, 7.440 e, 1959.
- (6) GEORGE, J. C. y EAPEN, J.: *C. A.*, **54**, 18.806 e, 1960.
- (7) GEORGE, J. C. y EAPEN, J.: *Nature*, **183**, 268, 1959.
- (8) GEORGE, J. C. y BHAKTHAN, N. M. G.: *C. A.*, **55**, 12.681 c, 1961.
- (9) GEORGE, J. C. y BHAKTHAN, N. M. G.: *C. A.*, **55**, 17.922 c, 1961.
- (10) GEORGE, J. C., VALLYATHAN, N. V. y SCARIA, K. S.: *Experientia*, **14**, 250, 1958.
- (11) KRISHNAMOORTHY, R. V.: *C. A.*, **55**, 16833 i, 1961.
- (12) LOWRY, O. H. y col.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265, 1951.
- (13) MAZZI, V. e BACCETTI, B.: *C. A.*, **54**, 2308 li, 1960.
- (14) POTTER, VAN R. and ELVEHJEM, C. A.: *J. Biol. Chem.*, **114**, 405, 1936.
- (15) RONA, P. und LASNITZKI, A.: *Biochem. Zeitschr.*, **152**, 504, 1924.