

Estudios comparativos sobre quince fenotipos de *Drosophila melanogaster* Mg: datos acerca de su composición química en larvas y adultos *

M.^a Concepción Labrador y J. A. Cabezas

Departamento de Bioquímica
Facultad de Ciencias
Universidad y C.S.I.C.
Salamanca (España)

(Recibido el 31 de julio de 1974)

M.^a C. LABRADOR and J. A. CABEZAS. *Comparative Studies on the Composition of 15 Phenotypes of Drosophila melanogaster Mg (adults and larvae)*. Rev. esp. Fisiol., 30, 289-298. 1974.

Relatively little information is available on the chemical composition of some class of phenotypes of *Drosophila melanogaster* Mg. This work has been carried out in order to compare the composition (humidity, proteins, lipids and carbohydrates) of the following 15 class of phenotypes (corresponding to their homozygous genotypes) of *D. melanogaster*: «Silvestre» (+ Madrid), «brown», «cinnabar», «purple», «sepia», «scarlet», «white», «white apricot», «black», «ebony», «yellow», «yellow⁺», «dumpy», «vestigial» and «Curly».

The determinations were made in adults and in larvae. Values obtained (as % of dry weight) were: For adults (for larvae, between brackets): Humidity, 68-74 % (71-81 %). Total protein, 34-44 % (25-35 %); a maximum of 8 bands were separated by disc electrophoresis of polyacrylamide gel, with a molecular weight between 32,000 and 250,000. Total lipids, generally 20-34 % (near 50 %); phospholipids, as % of total lipids, 18-29 % (3.3-11.7 %); cholesterol, as % of total lipids, 1.1-2.9 % (0.8-1.5 %). Glucose > mannose > galactose > ribose were found in all phenotypes, but fucose in some of them only; galactosamine and glucosamine were also identified, and determined in higher amounts in adults than in larvae. No sialic acids were detected.

Los trabajos sobre analogías y diferencias en la composición química de clases de

* Trabajo realizado mediante Ayuda para el «Fomento de la Investigación en la Universidad» concedida por el Ministerio de Educación y Ciencia a este Departamento.

Una comunicación preliminar ha sido presentada a la «Reunión de la Sociedad Española de Bioquímica» celebrada en Madrid el 24 de mayo de 1974, habiendo aparecido su extracto en el Volumen de Resúmenes (página 105).

fenotipos pertenecientes a *Drosophila melanogaster* Mg. pueden suministrar datos valiosos, ya sea para la taxonomía o ya para valorar la índole e intensidad de algunos cambios producidos durante su desarrollo o como consecuencia de mutación. En relación con estos puntos, hay que tener en cuenta que existen no menos de 2.000 especies de *Drosophila*, de ellas más de 100 solamente en la República de El Salvador; y que se conocen varios cientos de clases de fenotipos que se han origina-

do como consecuencia de mutaciones — ocasionadas por factores genéticos o ambientales — que afectan a todos los órganos.

Escasean, sin embargo, las publicaciones referentes a la composición química de *Drosophila*; y, en todo caso, se refieren sólo a muy pocas clases de fenotipos. Deben citarse a este respecto los siguientes autores: DUKE y PANTELOURIS (10) quienes, en 1963, observaron un incremento en el número de los principales componentes proteicos desde el huevo al imago de *D. melanogaster*. SZABO *et al.* (26) examinaron los cambios cuali y cuantitativos de los aminoácidos en pupas y larvas de *D. melanogaster* «Bar», «white», «white-Bar» y «silvestre» (Oregon-R). Los trabajos de CHURCH *et al.* (7, 8) se refieren a proteínas, lípidos y ácidos nucleicos pertenecientes al fenotipo «silvestre» (Pacific); y los de HASTINGS y KIRBY (14) al DNA y al RNA de *D. melanogaster*. La naturaleza de los ácidos grasos ha sido investigada por KATO (15) y por KEITH (16). Finalmente, CUMMINGS (6) ha estudiado el aumento de peso, proteínas, DNA, RNA y glúcidos en los ovarios del fenotipo «silvestre» de *D. melanogaster*.

No habiendo encontrado datos en la Bibliografía acerca de la composición química de los quince fenotipos de *D. melanogaster* que se indican a continuación, los cuales difieren notablemente por su morfología externa (peso, longitud, color de ojos, color de cuerpo, forma o tamaño de alas, etc.), hemos realizado un estudio comparativo sobre el contenido y características de sus proteínas, lípidos y glúcidos totales, y la naturaleza de estos glúcidos; con objeto de completar este aspecto comparativo en distintos momentos del ciclo vital, las determinaciones se han efectuado en larvas y en adultos.

Material y métodos

Se han utilizado las siguientes quince clases de fenotipos — que son expresión

de los correspondientes genotipos homocigóticos, en todos los casos — de *Drosophila melanogaster* Mg., utilizando muestras (de larvas y adultos) procedentes de la colección de la Cátedra de Biología de esta Facultad, donde se vienen perpetuando desde hace varios años: *

- + (Madrid): «silvestre».
- bw = «brown»: color de ojos pardo rosáceo transparente.
- cn = «cinnabar»: color de ojos como bermellón, pero más translúcido.
- pr = «purple»: color de ojos rosa purpurino.
- se = «sepia»: color de ojos rosa parduzco muy oscuro.
- st = «scarlet»: color de ojos bermellón opaco.
- w = «white»: color de ojos blanco níveo.
- w^a = «white apricot»: color de ojos albaricoque.
- b = «black»: color de cuerpo gris oscuro.
- e = «ebony»: color de cuerpo negro.
- y = «yellow»: color de cuerpo amarillo.
- y² = «yellow»: color de cuerpo menos amarillo que «yellow».
- dp = «dumpy»: alas oblicuamente truncadas a dos tercios de la longitud normal.
- vg = «vestigial»: alas y balancines muy reducidos.
- Cy = «Curly»: alas recurvadas hacia arriba.

La humedad fue determinada en diversos lotes por desecación a 100-105° C hasta peso constante, con las precauciones habituales.

Las proteínas totales fueron valoradas por el método de LOWRY (17), tanto en la fracción procedente de homogeneizar me-

* Agradecemos al Prof. F. Galán la cesión desinteresada de estas muestras, y a la Srta. María Sánchez Gil por el cuidado en el mantenimiento y entrega de las mismas.

dante un «Potter» con agua destilada (albúminas) como en la resultante de extraer el residuo anterior con solución de CINA al 10 % (globulinas). Se siguió el método de ORNSTEIN (19) y DAVIS (9), con ligeras modificaciones, para las técnicas de electroforesis de disco en geles de poliacrilamida, usando geles de 7 % de acrilamida, solución amortiguadora de tris/glicocola ($pH = 8,3$) y tinción (en el caso de los holoproteidos) con negro de anilina, decolorando, por último, con solución de ácido acético; para los glucoproteidos se siguió igual procedimiento en cuanto al desarrollo, pero la tinción se hizo con ácido peryódico-fucsina-metabisulfito sódico.

Los lípidos totales fueron determinados pesando el extracto obtenido después de someter 150 mg de muestra al tratamiento con cloroformo/metanol (2:1) durante una hora, filtración, extracción en iguales condiciones dos veces, y, finalmente, con éter. En el extracto resultante de la evaporación de los líquidos orgánicos citados se determinó el colesterol por el método de BLOOR (12); el fósforo, según ZAUSCH (13), y los fosfolípidos multiplicando por el factor 25,5 el porcentaje de fósforo.

La fracción glucídica fue determinada cuali y cuantitativamente. Para ello, se efectuó la hidrólisis previa de las muestras con HCl 1N, en ampolla cerrada, a 100° durante 4 horas (osas); (para los análisis de cromatografía en fase gaseosa la diferencia consistió en hidrolizar con ácido trifluoroacético 2N). Las osaminas fueron liberadas con HCl 3N, a 100° durante 4 horas, en ampolla cerrada. En los intentos realizados para detectar la eventual existencia de ácidos siálicos, se hidrolizaron las muestras con H_2SO_4 0,1-0,3N, durante 1/2-1 hora, a 80° , y se sometió el hidrolizado a paso por resinas de cambio catiónico y aniónico para su purificación. Las osas y osaminas fueron identificadas por cromatografía descendente en papel (Whatman núms. 1, 2 ó 3), utilizando como líquidos de desarrollo

n-butanol-ácido acético-agua (12:3:5, v/v) y *n*-butanol-piridina-HCl 0,1N (5:3:2, v/v), así como solución de NO_3Ag para el revelado; también se determinaron por cromatografía en fase gaseosa, usando columnas «SE 30», previa silanización de la muestra (22). Para la valoración de las osas se siguió, además, el procedimiento del orcinol (27), comparando con un patrón de galactosa-manosa (1:1); para las hexosaminas se utilizó el método de ELSON-MORGAN (11) modificado por RIMINGTON (23); y en las fracciones donde podría sospecharse que pudiera haber ácidos siálicos se aplicaron las técnicas del ácido tiobarbitúrico (1, 28) y la del resorcinol (25) modificada (18).

Resultados

La tabla I indica que los porcentajes de humedad de las quince clases de fenotipos de *D. melanogaster* (estado adulto) se hallan comprendidas entre el 68 y el 74 %; y que los valores de proteínas totales (referidos a peso seco) oscilan entre el 34 y el 44 % (albúminas: 22-31 %; globulinas: 11-15 %).

En estado larvario, las cifras de humedad son algo mayores (entre el 71 y el 81 %), como era lógico esperar. Los valores de proteínas totales (del 25 al 35 %) resultan, por el contrario, inferiores a los del adulto, afectando este descenso especialmente a las globulinas.

Analizados por electroforesis de poliacrilamida los holoproteidos de adultos dieron un número de bandas comprendido entre 7 y 8 (excepto en «Curly», donde sólo se obtuvieron 5), y con diferencias marcadas en cuanto a intensidad y movilidad, en adultos (fig. 1) y en larvas (fig. 2).

Una estimación de las masas moleculares de estas proteínas permite agruparlas del siguiente modo, por su abundancia relativa: En adultos (masas moleculares): a) entre 39.000 y 69.000; b) próximas a 100.000; c) entre 150.000 y 170.000; d) entre 200.000 y 250.000. En larvas: a)

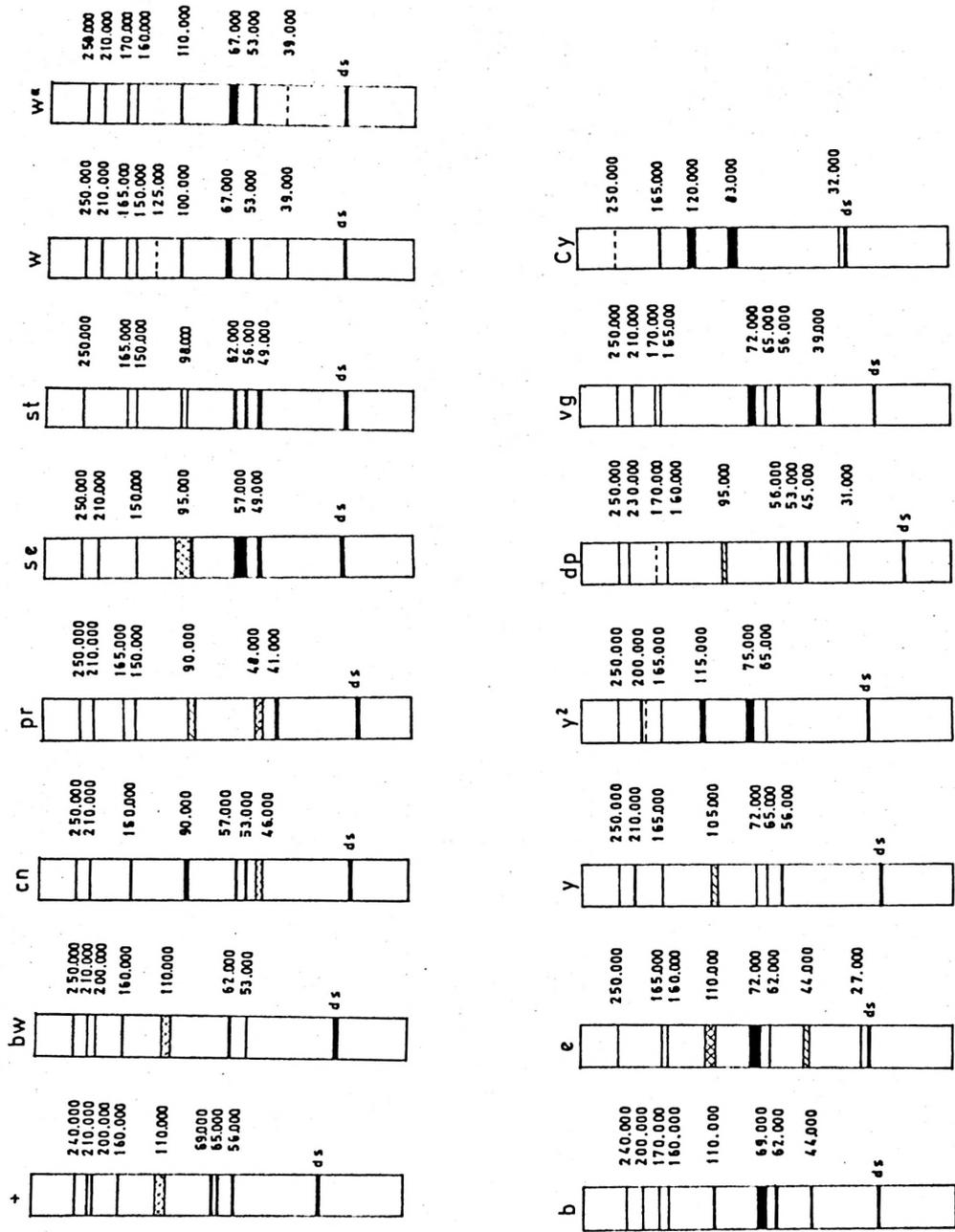


Fig. 1. Separación de holoproteidos de adultos de *D. melanogaster* mediante electroforesis en disco de poliacrilamida. Esquema que reproduce (a escala) la situación e intensidad de cada una de las bandas con indicación de sus masas moleculares aproximadas correspondientes a los fenotipos: +, bw, cn, pr, se, st, w, wⁿ, b, e, y, y², dp, vg, Cy (ds = disco salino).

Tabla I. *Humedad (%) y composición porcentual de albúminas y globulinas de distintos fenotipos de D. melanogaster (en adultos y en larvas).*
Valor medio de seis determinaciones \pm error estándar.

| Fenotipo | En adultos | | | | En larvas | | | | | |
|----------------|------------|---------------|----------------|---------------|----------------|------------|---------------|----------------|---------------|---------------|
| | Humedad, % | ALBUMINAS, % | | GLOBULINAS, % | | Humedad, % | ALBUMINAS, % | | GLOBULINAS, % | |
| | | P. húmedo | P. seco | P. húmedo | P. seco | | P. húmedo | P. seco | P. húmedo | P. seco |
| + | 74 | 7,3 \pm 0,3 | 28,1 \pm 1,1 | 3,9 \pm 0,4 | 15,0 \pm 1,5 | 81 | 5,0 \pm 0,6 | 26,3 \pm 3,2 | 1,0 \pm 0,1 | 5,3 \pm 0,5 |
| bw | 74 | 7,5 \pm 0,9 | 28,9 \pm 3,4 | 3,4 \pm 0,3 | 13,1 \pm 1,2 | 77 | 5,5 \pm 0,8 | 23,9 \pm 3,5 | 1,4 \pm 0,5 | 6,1 \pm 2,2 |
| cn | 69 | 6,8 \pm 0,3 | 21,9 \pm 1,0 | 3,9 \pm 0,3 | 12,6 \pm 1,0 | 78 | 6,2 \pm 0,7 | 28,2 \pm 3,3 | 1,2 \pm 0,1 | 5,5 \pm 0,5 |
| pr | 71 | 8,1 \pm 0,4 | 27,9 \pm 1,4 | 3,4 \pm 0,1 | 11,7 \pm 0,3 | 77 | 5,8 \pm 0,7 | 25,2 \pm 3,0 | 1,2 \pm 0,2 | 5,2 \pm 0,9 |
| se | 73 | 7,9 \pm 0,5 | 29,3 \pm 1,8 | 3,9 \pm 0,4 | 14,4 \pm 1,5 | 77 | 5,1 \pm 0,3 | 22,2 \pm 1,3 | 1,3 \pm 0,1 | 5,7 \pm 0,4 |
| st | 72 | 8,6 \pm 0,7 | 30,7 \pm 2,5 | 3,8 \pm 0,3 | 13,6 \pm 1,1 | 79 | 6,6 \pm 0,9 | 31,4 \pm 4,3 | 1,2 \pm 0,3 | 5,7 \pm 1,4 |
| w | 74 | 7,0 \pm 0,2 | 26,9 \pm 0,8 | 3,7 \pm 0,2 | 14,2 \pm 0,8 | 77 | 4,9 \pm 0,4 | 21,3 \pm 1,7 | 0,9 \pm 0,1 | 3,9 \pm 0,4 |
| w ^a | 73 | 7,7 \pm 0,5 | 28,5 \pm 1,8 | 4,0 \pm 0,7 | 14,8 \pm 2,6 | 77 | 6,2 \pm 0,4 | 27,0 \pm 1,7 | 1,0 \pm 0,1 | 4,3 \pm 0,4 |
| b | 71 | 7,2 \pm 0,6 | 24,8 \pm 2,1 | 3,6 \pm 0,4 | 12,4 \pm 1,4 | 79 | 6,2 \pm 0,6 | 29,5 \pm 2,8 | 1,1 \pm 0,1 | 5,2 \pm 0,5 |
| e | 73 | 8,0 \pm 0,5 | 29,6 \pm 1,8 | 3,7 \pm 0,4 | 13,7 \pm 1,5 | 78 | 6,3 \pm 0,4 | 28,6 \pm 1,8 | 1,3 \pm 0,1 | 5,9 \pm 0,5 |
| y | 73 | 7,0 \pm 0,9 | 25,9 \pm 3,3 | 3,5 \pm 0,7 | 13,0 \pm 2,6 | 78 | 6,6 \pm 0,8 | 30,0 \pm 3,6 | 1,1 \pm 0,1 | 5,0 \pm 0,5 |
| y ² | 73 | 7,0 \pm 0,3 | 25,9 \pm 1,1 | 3,6 \pm 0,4 | 13,3 \pm 1,5 | 78 | 6,1 \pm 0,4 | 27,7 \pm 1,8 | 1,4 \pm 0,4 | 6,4 \pm 1,8 |
| dp | 68 | 7,4 \pm 0,5 | 23,1 \pm 1,6 | 3,6 \pm 0,6 | 11,3 \pm 1,9 | 78 | 5,9 \pm 0,7 | 26,8 \pm 3,2 | 0,9 \pm 0,1 | 4,1 \pm 0,5 |
| vg | 71 | 7,2 \pm 0,4 | 24,8 \pm 1,4 | 3,8 \pm 0,5 | 13,1 \pm 1,7 | 77 | 6,1 \pm 0,4 | 26,5 \pm 1,7 | 1,1 \pm 0,2 | 4,8 \pm 0,9 |
| Cy | 69 | 7,8 \pm 0,4 | 25,2 \pm 1,3 | 4,1 \pm 0,8 | 13,3 \pm 2,6 | 71 | 6,8 \pm 0,5 | 23,4 \pm 1,7 | 1,4 \pm 0,2 | 4,8 \pm 0,7 |

entre 32.000 y 72.000; *b*) entre 90.000 y 120.000; *c*) entre 160.000 y 200.000, y *d*) próximas a 250.000.

El análisis de glucidoproteidos mediante esta modalidad de electroforesis dio resultados negativos.

La tabla II recoge los datos de lípidos referentes a lípidos totales, colesterol y fosfolípidos, tanto en estado adulto como en estado larvario.

Las cifras de lípidos totales, referidas a peso húmedo, se hallan comprendidas entre el 5,7 y el 11,2 %, para los adultos; en las larvas, entre el 7,0 y el 15,1 %. De la tabla II se deduce que los porcentajes de lípidos totales en adultos de *D. melanogaster* representan del 20 al 34 % del peso seco (excepto en «white apricot», que es del 41 %); es decir, del 1/5 al 1/3 del peso. En cambio, las larvas poseen frecuentemente porcentajes de lípidos totales próximos al 50 % (o incluso superiores, como «black»); sólo en «brown» y «dumpy» son del orden del 30 %.

En los adultos, los porcentajes de co-

lesterol (respecto a la totalidad de lípido) se hallan comprendidos entre 1,1-2,9 %; y los de fosfolípidos entre 18-29 %. En larvas, respectivamente, estos valores son: 0,8-1,5 %; 3,3-11,7 %. Puede apreciarse que las cifras de colesterol son en todos los casos superiores en adultos respecto a las larvas. Lo mismo sucede con los fosfolípidos.

En cuanto a osas, se identificaron en adultos mediante la técnica de cromatografía en papel las siguientes: galactosa, glucosa, manosa y ribosa, en todos los fenotipos estudiados, excepto en «sepia», donde no se detectó la galactosa; la fucosa fue apreciada solamente en «yellow», «yellow²» y «dumpy». El método de cromatografía en fase gaseosa confirmó estos resultados y permitió la identificación de otras osas no detectadas antes, permitiendo además una estimación de las proporciones relativas de cada una por el área de los picos cromatográficos correspondientes. Los resultados se expresan en la tabla III.

Tabla II. Lípidos totales y fracciones lipídicas (colesterol y fosfolípidos) en adultos y larvas de D. melanogaster.

Dada la dificultad de conseguir suficiente cantidad de muestras, las cifras siguientes corresponden generalmente a dos determinaciones prácticamente coincidentes; si no se obtuvieron inicialmente valores concordantes se repitieron los ensayos hasta conseguirlo.

| Fenotipo | En adultos | | | En larvas | | |
|----------------|---|---|---|---|---|---|
| | Lípidos totales (% del peso seco de muestra) | Colesterol (% de la fracción lipídica) | Fosfolípidos (% de la fracción lipídica) | Lípidos totales (% del peso seco de muestra) | Colesterol (% de la fracción lipídica) | Fosfolípidos (% de la fracción lipídica) |
| + | 31,2 | 2,8 | 32,6 | 52,6 | 1,8 | 4,4 |
| bw | 21,5 | 2,9 | 28,1 | 30,5 | 1,2 | 5,6 |
| cn | 22,9 | 1,8 | 25,5 | 56,4 | 0,9 | 3,6 |
| pr | 34,1 | 1,1 | 18,1 | 52,2 | 1,0 | 3,8 |
| se | 34,8 | 1,8 | 27,8 | 58,3 | 1,1 | 4,3 |
| st | 29,6 | 2,3 | 22,2 | 52,9 | 1,1 | 4,4 |
| w | 30,8 | 2,2 | 32,6 | 58,7 | 0,8 | 3,3 |
| w ¹ | 41,4 | 1,8 | 24,5 | 50,4 | 0,8 | 4,4 |
| b | 19,7 | 2,6 | 27,0 | 71,9 | 1,2 | 3,8 |
| e | 32,2 | 2,6 | 25,2 | 28,2 | 1,3 | 4,4 |
| y | 28,9 | 2,5 | 29,8 | 52,3 | 1,0 | 4,1 |
| y ² | 27,0 | 2,8 | 25,5 | 45,5 | 1,2 | 6,6 |
| dp | 21,3 | 1,8 | 25,5 | 36,8 | 1,5 | 11,7 |
| vg | 30,0 | 1,9 | 26,3 | 54,8 | 1,0 | 3,6 |
| Cy | 29,4 | 2,9 | 19,9 | 51,7 | 1,3 | 4,3 |

En larvas, la identificación y valoración de osas por cromatografía en fase gaseosa dio los resultados que aparecen en la misma tabla III. De ella se deduce que hay diferencias entre los distintos fenotipos, y también entre adultos y larvas, sobre todo en lo que se refiere a la fucosa, que no ha sido detectada en varios casos; asimismo, las diferencias, de orden cuantitativo, se aprecian en las proporciones de manosa, galactosa y glucosa, tal vez motivadas por interconversiones entre dichas hexosas. En cambio, la ribosa se encontró en todos los fenotipos, tanto de adultos como de larvas, a concentraciones bajas pero bastante próximas entre sí.

Como osaminas se identificaron galactosamina y glucosamina, en concentraciones equivalentes, aunque distintas según los fenotipos.

La determinación cuantitativa tanto de osas como de osaminas, en adultos y en larvas, produjo los valores que se resumen en la tabla IV.

Confirmando lo ya apreciado mediante la técnica de cromatografía en fase gaseosa, en cuanto a cifras de osas, la valoración de osas por las técnicas fotocolorimétricas mostró igualmente diferencias notables en las concentraciones de osas entre los distintos fenotipos, siendo esta variabilidad menor en el caso de las osaminas. Así como la cifra media de osas es en larvas superior a la de adultos, la de osaminas resulta ser considerablemente menor; verosíblemente el proceso de quitinización propio del adulto explica este hecho.

En la relación con la eventual existencia de ácidos siálicos en estos materiales —que *a priori* podría esperarse encontrar—, los ensayos efectuados en los hidrolizados correspondientes dieron reacción débilmente positiva con el ácido tio-barbitúrico; por el contrario, los eluatos procedentes de la purificación de esos hidrolizados por paso a través de las columnas de cambio iónico (catiónica enlazada

Tabla III. Proporción relativa de cada una de las osas detectadas por cromatografía en fase gaseosa (en adultos y en larvas).

| Fenotipo | En adultos | | | | | En larvas | | | | |
|----------------|------------|--------|--------|--------|--------|-----------|--------|--------|--------|--------|
| | Rib. % | Fuc. % | Man. % | Gal. % | Glu. % | Rib. % | Fuc. % | Man. % | Gal. % | Glu. % |
| + | 2 | 3 | 27 | 16 | 52 | 2 | — | 34 | 31 | 33 |
| bw | 1 | — | 11 | 3 | 85 | 2 | — | 37 | 25 | 36 |
| cn | 3 | — | 11 | 10 | 76 | 2 | — | 42 | 26 | 30 |
| pr | 2 | 9 | 33 | 21 | 35 | 1 | — | 25 | 20 | 54 |
| se | 2 | 6 | 30 | 21 | 41 | 1 | — | 26 | 26 | 47 |
| st | 2 | 12 | 36 | 22 | 28 | 2 | 11 | 26 | 22 | 39 |
| w | 2 | 4 | 26 | 20 | 48 | 2 | — | 45 | 30 | 23 |
| w ^a | 3 | — | 9 | 7 | 81 | 2 | — | 30 | 29 | 39 |
| b | 1 | — | 13 | 4 | 82 | 4 | — | 44 | 28 | 24 |
| e | 1 | — | 14 | 5 | 80 | 3 | — | 25 | 28 | 44 |
| y | 1 | 5 | 29 | 18 | 47 | 2 | — | 27 | 31 | 40 |
| y ² | 2 | 5 | 29 | 20 | 44 | 3 | 1 | 6 | 15 | 75 |
| dp | 2 | 8 | 31 | 20 | 39 | 1 | 4 | 11 | 14 | 70 |
| vg | 3 | 9 | 33 | 15 | 40 | 2 | — | 37 | 28 | 33 |
| Cy | 1 | 6 | 27 | 18 | 48 | 3 | 15 | 37 | 22 | 23 |

Tabla IV. Concentraciones de osas y osaminas (%) de distintos fenotipos de *D. melanogaster* (en adultos y en larvas).Valor medio de seis determinaciones \pm error estándar.

| Fenotipo | En adultos | | | | En larvas | | | |
|----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | OSAS, % | | OSAMINAS, % | | OSAS, % | | OSAMINAS, % | |
| | P. seco | P. húmedo | P. seco | P. húmedo | P. seco | P. húmedo | P. seco | P. húmedo |
| + | 5,96 \pm 0,35 | 1,55 \pm 0,09 | 1,96 \pm 0,16 | 0,51 \pm 0,04 | 13,03 \pm 1,47 | 2,47 \pm 0,28 | 0,96 \pm 0,06 | 0,18 \pm 0,01 |
| bw | 9,52 \pm 0,73 | 2,48 \pm 0,19 | 1,81 \pm 0,23 | 0,46 \pm 0,06 | 7,58 \pm 0,83 | 1,73 \pm 0,19 | 0,93 \pm 0,17 | 0,21 \pm 0,04 |
| cn | 4,41 \pm 1,00 | 1,36 \pm 0,31 | 1,50 \pm 0,41 | 0,47 \pm 0,13 | 12,79 \pm 0,96 | 2,81 \pm 0,21 | 0,81 \pm 0,09 | 0,18 \pm 0,02 |
| pr | 4,72 \pm 0,82 | 1,37 \pm 0,24 | 1,79 \pm 0,14 | 0,53 \pm 0,04 | 10,33 \pm 1,26 | 2,36 \pm 0,29 | 0,78 \pm 0,00 | 0,18 \pm 0,00 |
| se | 7,81 \pm 0,74 | 2,10 \pm 0,20 | 3,14 \pm 0,47 | 0,85 \pm 0,13 | 8,54 \pm 0,87 | 1,96 \pm 0,20 | 0,76 \pm 0,09 | 0,18 \pm 0,02 |
| st | 6,02 \pm 0,57 | 1,67 \pm 0,16 | 2,89 \pm 0,50 | 0,82 \pm 0,14 | 8,98 \pm 0,57 | 1,89 \pm 0,12 | 0,92 \pm 0,05 | 0,19 \pm 0,01 |
| w | 4,79 \pm 1,01 | 1,24 \pm 0,26 | 2,43 \pm 0,77 | 0,62 \pm 0,20 | 6,53 \pm 1,47 | 1,50 \pm 0,34 | 0,77 \pm 0,04 | 0,18 \pm 0,01 |
| w ^a | 3,51 \pm 0,33 | 0,95 \pm 0,09 | 1,79 \pm 0,44 | 0,49 \pm 0,12 | 10,31 \pm 1,35 | 2,36 \pm 0,31 | 0,70 \pm 0,04 | 0,17 \pm 0,01 |
| b | 5,67 \pm 0,76 | 1,66 \pm 0,22 | 1,93 \pm 0,34 | 0,55 \pm 0,10 | 10,19 \pm 0,86 | 2,14 \pm 0,18 | 0,81 \pm 0,05 | 0,17 \pm 0,01 |
| e | 8,22 \pm 2,45 | 2,21 \pm 0,66 | 3,19 \pm 0,70 | 0,87 \pm 0,19 | 7,52 \pm 0,64 | 1,65 \pm 0,14 | 0,85 \pm 0,04 | 0,20 \pm 0,01 |
| y | 7,40 \pm 0,29 | 2,01 \pm 0,08 | 2,61 \pm 0,11 | 0,71 \pm 0,03 | 8,94 \pm 1,23 | 1,95 \pm 0,27 | 0,86 \pm 0,04 | 0,20 \pm 0,01 |
| y ² | 6,48 \pm 1,20 | 1,72 \pm 0,32 | 2,02 \pm 0,11 | 0,55 \pm 0,03 | 7,96 \pm 0,55 | 1,75 \pm 0,12 | 1,04 \pm 0,14 | 0,22 \pm 0,03 |
| dp | 10,29 \pm 0,40 | 3,31 \pm 0,13 | 2,62 \pm 0,69 | 0,83 \pm 0,83 | 7,91 \pm 0,82 | 1,73 \pm 0,18 | 0,90 \pm 0,09 | 0,20 \pm 0,02 |
| vg | 7,13 \pm 1,04 | 2,05 \pm 0,30 | 2,53 \pm 0,62 | 0,73 \pm 0,18 | 10,24 \pm 1,09 | 2,34 \pm 0,25 | 0,70 \pm 0,44 | 0,16 \pm 0,01 |
| Cy | 8,47 \pm 1,36 | 2,62 \pm 0,42 | 1,72 \pm 0,13 | 0,54 \pm 0,04 | 7,42 \pm 0,90 | 2,14 \pm 0,26 | 0,69 \pm 0,37 | 0,19 \pm 0,01 |

con aniónica) dieron resultado negativo. Utilizando la reacción del resorcinol — más específica, aunque menos sensible que la del tiobarbitúrico — los resultados fueron igualmente negativos, tanto con

los hidrolizados como con los eluatos purificados. De ello podría inferirse la carencia de ácidos siálicos en las muestras de los fenotipos de *Drosophila* estudiados; o que, de existir, se hallen en concentra-

ciones insignificantes, no detectables por las reacciones empleadas.

Finalmente, sumando los porcentajes correspondientes a proteínas totales + lípidos totales + osas + osaminas se obtuvieron cifras que suelen superar el 93 % en el estado adulto y el 96 % en larvas.

Discusión

La técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida presenta reconocidas ventajas en los estudios de Bioquímica Comparada. Mediante ella, COLE y WEMPER (5) habían estudiado las proteínas en la pupa de *D. melanogaster*. PAPPAS *et al.* (21) encontraron notables diferencias al comparar las bandas obtenidas por electroforesis de poliacrilamida en las fracciones de proteínas y lipoproteínas de larvas, pupas y adultos.

En 1973, OSTROY y PAK (20), siguiendo este método, han investigado los constituyentes proteicos del ojo compuesto de *D. melanogaster*. BURCOMBE y HOLLINGSWORTH (3), y SAMIS *et al.* (24) han estudiado la variación de diversos componentes en función de la edad, encontrando que estas variaciones en el adulto eran escasas, salvo en lo que respecta a la distribución de proteínas en las fracciones soluble y mitocondrial (2).

De nuestros ensayos se deduce que el número de bandas es de 7 a 8 en estado adulto (excepto en «Curly», que es de 5); y de 6 a 8, en larvas. DUKE y PANTELOURIS (10) habían obtenido, utilizando gels de almidón, 9 bandas en adultos, y de 6 a 11 en larvas de *Drosophila*, pertenecientes a otras clases de fenotipos.

Los porcentajes de proteínas totales hallados por nosotros (10,5-12,4 %, para adultos, referidos a peso húmedo), son coincidentes con los descritos por otros autores (7) en otros fenotipos. Paralelamente, nuestras cifras de lípidos totales en larvas (7,0-15,1 %) son similares a las indicadas por CHURCH *et al.* (7, 8): 6 % a las 24 horas de vida de la larva, y 15 %

inmediatamente antes de la formación del puparium. Por otro lado, de todos los componentes aquí estudiados son los lípidos los únicos que predominan cuantitativamente en las larvas respecto a los adultos; puede interpretarse este hecho como consecuencia de la transformación de los alimentos glucídicos en grasas durante el período larvario, por constituir los lípidos una reserva especialmente útil para realizar los procesos biosintéticos asociados con la metamorfosis.

Es en los glúcidos donde aparece una mayor diversidad en los resultados, ya que no hay un predominio cuantitativo a favor del adulto o de la larva, sino que éste parece depender del fenotipo.

Por último, no parece fácil establecer una agrupación de fenotipos con los datos obtenidos acerca de la composición química, pues ni las diferencias en los resultados son en ocasiones muy marcadas ni existe paralelismo entre las cifras de los distintos componentes mayoritarios determinados (proteínas y lípidos totales, por ejemplo). Evidentemente, la distinción actual de los fenotipos, fundada en caracteres morfológicos, puede beneficiarse de este conocimiento de la composición química. Con objeto de ampliar este conocimiento, se han analizado (4) en estas mismas clases de fenotipos algunas isoenzimas deshidrogenantes.

Resumen

Se ha realizado un estudio químico comparativo sobre el contenido y características de las proteínas, lípidos y glúcidos, en larvas y en adultos, de quince clases de fenotipos de *Drosophila melanogaster* Mg.

En estado adulto, los porcentajes de humedad se hallan comprendidos entre el 68 % y el 74 %, mientras que en larvas las cifras son mayores (71 %-81 %). Los valores de proteínas totales (referidas, como los siguientes datos, a peso seco) oscilan entre el 34 % y el 44 % (albúminas: 22-31 %, globulinas: 11 %-15 %) para los adultos, siendo inferiores en las larvas (25 %-35 %). La electroforesis en

disco de poliacrilamida muestra diferencias, tanto en adultos como en larvas, en cuanto al número de fracciones que se separan (no superior a 8) e intensidad y movilidad de las mismas, poseyendo masas moleculares aproximadas comprendidas entre 32.000 y 250.000. El contenido total de lípidos varía de unos a otros fenotipos, siendo generalmente en adultos del 20 % al 34 %, mientras en larvas es casi siempre del orden del 50 %; correspondiendo a fosfolípidos un 18 %-29 % (de la totalidad de lípidos), y en larvas un 3,3 %-11,7 %. Los porcentajes respectivos de colesterol son inferiores: 1,1 %-2,9 % (en adultos), 0,8 %-1,5 % (en larvas). Se han encontrado diferencias notables en cuanto a las osas (glucosa, manosa, galactosa, fucosa) de unos y otros fenotipos, a excepción de la ribosa que aparece a concentraciones bajas, pero más próximas entre sí. Las osaminas identificadas (galactosamina y glucosamina) se hallan en proporciones superiores en adultos que en larvas, mientras que en éstas son las osas las predominantes. No ha podido demostrarse la existencia de ácidos siálicos en las muestras analizadas. Por último, la suma de los porcentajes de los componentes antes señalados supera generalmente el 93 % en adultos y el 96 % en larvas.

Bibliografía

1. AMINOFF, D.: *Biochem. J.*, **81**, 384, 1961.
2. BURCOMBE, J. V.: *Mech. Ageing Develop.*, **1**, 213, 1972.
3. BURCOMBE, J. V. y HOLLINGSWORTH, M. J.: *Exp. Gerontol.*, **5**, 247, 1970.
4. CABEZAS, J. A. y LABRADOR, C.: *Rev. esp. Fisiol.* (en fase de redacción).
5. COLE, T. A. y KEMPER, B. W.: *Proc. Indiana Acad. Sci.*, **75**, 308, 1965.
6. CUMMINGS, M. R., ROBIN, M. S. y GARNETZKY, B.: *J. Insect. Physiol.*, **17**, 2105, 1971.
7. CHURCH, R. B. y ROBERTSON, F. W.: *J. Exptl. Zool.*, **162**, 337, 1966.
8. CHURCH, R. B., ROBERTSON, F. W. y LINDSAY, H.: *Gent. Res.*, **7**, 383, 1966.
9. DAVIS, B. J.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 404, 1964.
10. DUKE, E. J. y PANTELOURIS, E. M.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **10**, 351, 1963.
11. ELSON, L. A. y MORGAN, W. T.: *Biochem. J.*, **59**, 638, 1933.
12. GARCÍA, F., MAYOR, F. y CABEZAS, J. A.: En «Bioquímica Experimental general y clínica». Saeta. Madrid, 1968, pág. 201-2. (Determinación del colesterol en suero, según la técnica de BLOOR.)
13. GARCÍA, F., MAYOR, F. y CABEZAS, J. A.: En «Bioquímica Experimental, general y clínica». Saeta. Madrid, 1968, pág. 251-2. (Determinación del fósforo total inorgánico, según el método de ZAUSCH.)
14. HASTINGS, J. R. B. y KIRBY, K. S.: *Biochem. J.*, **1**, 532, 1966.
15. KATO, M.: *Can. J. Biochem.*, **43**, 485, 1965.
16. KEITH, A. D.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **17**, 1127, 1966.
17. LOWRY, O. M., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. y RANDALL, R.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265, 1951.
18. MIETTINEM, T. y TAKKI-LUUKKAINEN, I. T.: *Acta Chem. Scand.*, **13**, 856, 1957.
19. ORNSTEIN, L.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 321, 1964.
20. OSTROY, S. E. y PAK, W. L.: *Nature, New Biol.*, **243**, 120, 1973.
21. PAPPAS, P. W., RODRICK, G. E. y DIEBOLT, J. R.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **40**, 1029, 1971.
22. REGLERO, A.: Cromatografía en fase gaseosa de glúcidos y productos alimenticios glucídicos. Tesina. Facultad de Ciencias, Salamanca, 1971.
23. RIMINGTON, C.: *Biochem. J.*, **34**, 931, 1940.
24. SAMIS, H. V., ERK, F. C. y BAIRD, M. B.: *Exp. Gerontol.*, **6**, 9, 1971.
25. SVENNERHOLM, L.: *Biochim. Biophys. Acta*, **24**, 604, 1957.
26. SZABO, K., PUSKAS, M. y BARTALIS, E.: *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.*, **16**, 125, 1965.
27. TILLMANS, J. y PHILIPPI, K.: *Biochem. Z.* **219**, 36, 1929.
28. WARREN, L.: *J. Biol. Chem.*, **234**, 1971, 1959.