

GIORGIO MARCUZZI

Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Padova
diretto dal Prof. U. D'Ancona

L'osmoregolazione nel '*Tenebrio molitor*' L.
(Coleoptera Tenebrionidae)

Desiderando vedere se negli adattamenti degli Insetti all'ambiente terrestre rientra anche l'osmeosmosi, alla stregua di quanto si verifica nei Vertebrati terrestri, ho preso in considerazione i Coleotteri Tenebrionidi che sono tra gli Insetti — e in genere tra gli Invertebrati — meglio adattati alla vita terrestre, avendo potuto adattarsi anche all'ambiente desertico, che non è che un aspetto estremo dell'ambiente terrestre.

Dopo aver determinato il valore della pressione osmotica e delle costanti chimico-fisiche che sono connesse alla stessa (MARCUIZZI, 1955), ho creduto opportuno indagare se esiste o meno in questi animali un meccanismo osmoregolatore e, a tal fine, ho esaminato il comportamento dei singoli componenti del plasma che più verosimilmente possono avere un ruolo in detta regolazione (MARCUIZZI 1956 e 1958). Desidero esporre nel presente lavoro, che vuol avere un carattere d'insieme, i risultati delle mie ricerche per inquadrarli in un piano unico.

Le mie osservazioni sono state fatte principalmente sul *Tenebrio molitor*, in quanto questo insetto offre delle caratteristiche fisico-chimiche dell'emo-linfa particolarmente interessanti (cfr. MARCUZZI, 1955), oltre al vantaggio della facilità di allevamento. Ho compiuto però delle osservazioni preliminari anche in altre specie di Tenebrionidi, che riferirò in lavori futuri. Come si vedrà, è stato spesso saggiato separatamente il comportamento della larva, della pupa e dell'adulto, in considerazione della differente fisiologia dei vari stadi del ciclo biologico di questa specie; la gran parte delle ricerche sono state fatte però sulla sola larva.

TECNICHE USATE

Per la misura della pressione osmotica si determinò l'abbassamento del punto crioscopico del sangue 'in toto' a mezzo di un apparato ideato recentemente (1954) da RAMSAY.

Per il contenuto del sangue in cloruri si usò il metodo potenziometrico ideato da SANDERSON e modificato (micromodificazione) da CROGHAN.

Per la determinazione del sodio fu seguito il metodo della precipitazione mediante acetato di zinco e uranile (cfr. WEINBACH), impiegato recentemente da VAN ASPEREN e VAN ESCH. A questo scopo si usò precisamente 0,1 cc di emolinfa, oppure 1 g di tessuto fresco, privo di sangue (vedi più avanti).

Per la determinazione quantitativa del potassio fu usato il metodo della precipitazione mediante acido fosfomolibdico (cfr. BELCHER e ROBINSON). A questo scopo usai 0,2 cc di emolinfa, oppure 1 g di tessuto fresco. Al fine di eliminare quanta maggior quantità di emolinfa possibile, il tessuto veniva lavato abbondantemente in una soluzione di saccarosio iso-osmotico con il sangue di *T. molitor*.

Per tutte queste determinazioni l'emolinfa era ottenuta mediante amputazione delle zampe e raccolta per capillarità in una micro-pipetta calibrata. Per ottenere 100, rispettivamente 200 μ l, era necessario raccogliere assieme l'emolinfa di numerosi esemplari (in media 10-12 nel primo caso, 20-24 nel secondo).

Per la determinazione quantitativa degli aminoacidi si dosò lo N amminico col metodo di FRAME, RUSSEL e WILHELMI (modificazione del classico metodo di FOLIN), applicato su filtrato tungstico di emolinfa.

La quantità totale di sostanze riducenti fu determinata con il metodo di SOMOGYI, previo allontanamento delle proteine a mezzo tecnica di NELSON. A tal fine usai il reattivo di rame descritto da SOMOGYI nel 1952 e il reattivo cromogenico di NELSON, descritto da questi nel 1944.

Il contenuto in acqua del corpo venne determinato mediante pesata prima e dopo il disseccamento a peso costante (110° C per circa 2 ore).

La quantità d'acqua del sangue venne calcolata in base al peso dopo disseccamento, ma il peso del sangue fresco fu calcolato indirettamente, moltiplicando volume per peso specifico, al fine di evitare errori dovuti alla evaporazione del sangue stesso durante le operazioni della pesata.

Il peso specifico è stato determinato con la miscela di bromobenzene e petrolio, in cui si sfruttano le proprietà idrostatiche di liquidi di diverso peso specifico.

Gli animali da esaminare erano mantenuti digiuni per un periodo di 7 giorni a umidità costante e nota e a temperatura di laboratorio. Le umidità erano ottenute con i metodi usati dagli Autori che si sono occupati in prece-

denza di questi problemi, e precisamente BODENHEIMER (1931) e WIGGLESWORTH (1941), secondo quanto segue:

Umidità relativa (%)	Sostanza usata	Autore
0	Ca Cl anidro	Bodenheimer
10	H ₂ SO ₄ 66 %	»
40	» 48 %	»
60	» 39 %	»
76	soluz. satura Na Cl	Wigglesworth
86	» » K Cl	»
92	» » tartrato neutro Na	»
95	» » Ca(H ₂ PO ₄) ₂	»
100	acqua distillata	»

RISULTATI

Accanto alle variazioni della pressione osmotica dell'emolinfa (espressa come Δ) in funzione dell'umidità ambiente (umidità relativa), sono state determinate le seguenti caratteristiche fisico-chimiche: quantità d'acqua totale, contenuto in cloruri, sodio, potassio, aminoacidi (calcolati come N aminico), zuccheri (sostanze riducenti) e peso specifico. Da un esame dei grafici ottenuti (1) con i valori di dette caratteristiche in funzione dell'umidità ambiente, risulta che nel *T. molitor* esiste solo un limitato potere osmoregolatore. Questo potere sembra si svolga particolarmente con valori di umidità intermedia (tra 40-60 e 92 %), mentre al di sotto di 40-60 e al di sopra di 92 % l'animale si comporta come un corpo fisico, in quanto al di sotto dei valori 40-60 perde gradatamente acqua, mentre oltre 92 % si ha un notevole aumento del contenuto d'acqua. Ciò è particolarmente visibile all'esame del Δ (fig. I e II) e del contenuto del corpo in acqua, per le quali costanti si hanno delle curve che sono pressappoco l'immagine speculare una dell'altra. Ciò vale particolarmente per la larva, denotando l'esistenza, nello stadio larvale ed in quello di adulto, di meccanismi fisiologici relativamente diversi. Ancora più visibile è l'effetto della esposizione a umidità diverse quando si esamina il comportamento delle variazioni del peso corporeo, espressione del contenuto assoluto d'acqua.

(1) Si rimanda il lettore ai miei lavori precedenti sull'argomento per quanto riguarda la rappresentazione grafica dei risultati analitici.

Il comportamento dei liquidi interni (e in genere dell'acqua) del *Tenebrio molitor* rispetto all'umidità ambiente sembra si rifletta anche sul peso specifico dell'emolinfa, che avrebbe un valore maggiore ad umidità basse, indicando così una maggior concentrazione dei soluti.

Se osserviamo ora il comportamento dei principali gruppi di soluti responsabili del Δ dell'emolinfa, risulta che, mentre gli zuccheri seguono da vicino l'andamento del Δ (fig. I), si dà da far pensare che non ci sia alcun meccanismo che mantenga costante la quantità di queste sostanze nel sangue, per i cloruri, il sodio, il potassio e ancor più gli aminoacidi, sembra ci sia un certo grado di regolazione che interviene a regolare sia il ricambio idrico che la pressione osmotica totale dell'emolinfa.

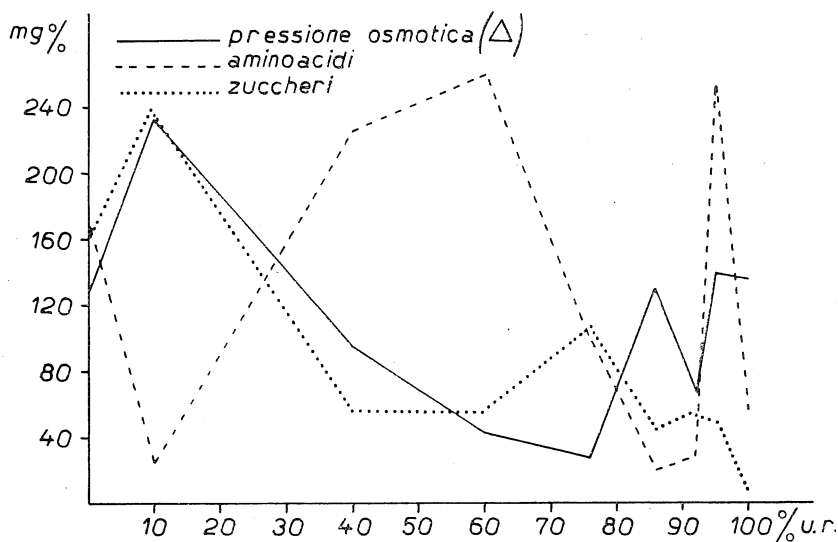


Fig. I. - Modificazioni della pressione osmotica e della concentrazione degli aminoacidi e zuccheri dell'emolinfa del *Tenebrio molitor* (larva) in funzione dell'umidità esterna.

I cloruri seguono, sebbene molto relativamente, l'andamento del Δ , ma nell'insieme sembra siano indipendenti dall'umidità ambiente.

L'esame del comportamento degli ioni Na e K è stato completato dallo studio della distribuzione di questi due elementi nei tessuti alle varie umidità cui erano sottoposti gli animali. I risultati di questo studio parallelo sono i seguenti (vedi anche fig. III).

La quantità di Na del sangue è maggiore di quella dei tessuti di circa 13 volte; quella di K invece di sole 1,4 volte. Il rapporto Na/K per il sangue varia da 1,72 a 3,25, negli esemplari controllo (digiunanti) essendo pari a 2,03. Il rapporto Na/K dei tessuti va invece da 0,15 a 0,35, essendo negli esemplari controllo pari a 0,27.

Pur essendoci delle grandissime variazioni nei risultati, che rispecchiano l'enorme variabilità della concentrazione salina e del contenuto d'acqua del *Tenebrio molitor*, e che rendono molto difficile interpretare i risultati stessi, credo di poter affermare che, nell'insieme, il Na del sangue mostra con l'aumento dell'umidità esterna una lieve diminuzione, apparentemente dovuta all'aumento del contenuto d'acqua del sangue e, più ancora, a quello del contenuto d'acqua del corpo. Un confronto tra il Na dell'emolinfa e quello dei tessuti ci permette di stabilire che la concentrazione di questo ione inorganico non è aggiustata alle varie condizioni, ma al contrario c'è una tendenza da parte dell'organismo alla sua eliminazione, in rapporto probabilmente alla eliminazione di acqua. Ciò è particolarmente evidente quando prendiamo in considerazione la quantità totale di Na del corpo. Tuttavia, dal momento che l'eliminazione di questo ione a umidità maggiori di 90 % non è sufficiente a eliminare tutta la quantità d'acqua accumulata nel corpo (1), dobbiamo ammettere che l'ione Na — mediante la sua eliminazione — interviene, anche se senza un risultato notevole, nell'equilibrio idrico; sarebbe utile però estendere queste ricerche, onde stabilire la natura della sua azione.

L'esame della concentrazione del K del sangue e dei tessuti permette di dire che c'è una regolazione per entrambi. Precisamente, il K ematico mostra una variazione (statisticamente significativa) che, fino a un certo punto, è inversa a quella del Δ del sangue, dimodochè bisogna concludere che il K interviene nell'osmoregolazione.

Il K dei tessuti è invece molto costante alle diverse umidità, per cui possiamo pensare ad un meccanismo che mantiene molto efficacemente il valore del K tessutale a un dato livello tanto che potremmo confrontare la costanza del livello del K tessutale con quella riscontrata nei Vertebrati.

Gli aminoacidi (figg. I e II) sembra che abbiano un comportamento opposto a quello degli zuccheri, sia nella larva che nell'adulto, per cui si potrebbe pensare ad un meccanismo compensatore grazie al quale il Δ si potrebbe mantenere entro certi limiti piuttosto costanti.

(1) L'accumulo può essere spiegato in parte come conseguenza della formazione di acqua metabolica e mancata eliminazione per assenza di traspirazione.

Se vogliamo ora analizzare separatamente l'effetto osmotico (1) di ciascuno dei costituenti chimici del sangue finora presi in considerazione, potremmo stabilire quanto segue. Mentre il glucosio, che è l'unico componente che segua passivamente le modificazioni del Δ del sangue, ha un effetto osmotico estremamente limitato, gli altri costituenti o non hanno un comportamento decisivo per l'andamento del Δ , oppure intervengono per opporsi

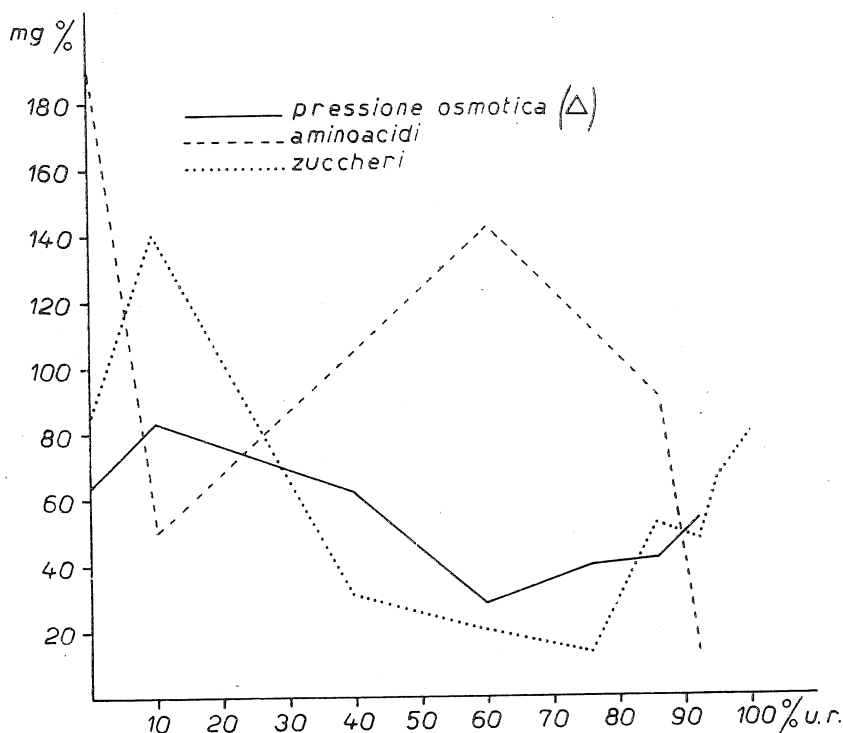


Fig. II. - Modificazioni della pressione osmotica e della concentrazione degli aminoacidi e zuccheri dell'emolinfa del *Tenebrio molitor* (adulto) in funzione dell'umidità esterna.

alle modificazioni dello stesso, com'è ad esempio il caso degli aminoacidi. Se costruiamo un grafico in cui si confronta l'andamento del Δ e quello dell'effetto osmotico totale dei componenti finora visti (fig. III), si ottiene un'im-

(1) L'effetto osmotico di una data sostanza è calcolato in base alla formula
$$\text{E.O.} = - \frac{n \text{ g/l} \cdot 1,86}{P \text{ equiv.}}$$
 espresso in $^{\circ}\text{C}$, ossia in Δ .

magine pressochè speculare, tanto da dover concludere che dette sostanze si oppongono, nell'insieme, a modificazioni del Δ e quindi sono responsabili dell'osmoregolazione, mentre altre da me non ancora prese in considerazione (forse i cationi Ca e Mg, assieme a qualche anione pure bivalente) dovrebbero esser responsabili delle modificazioni stesse del Δ e quindi non dotati di regolazione (2).

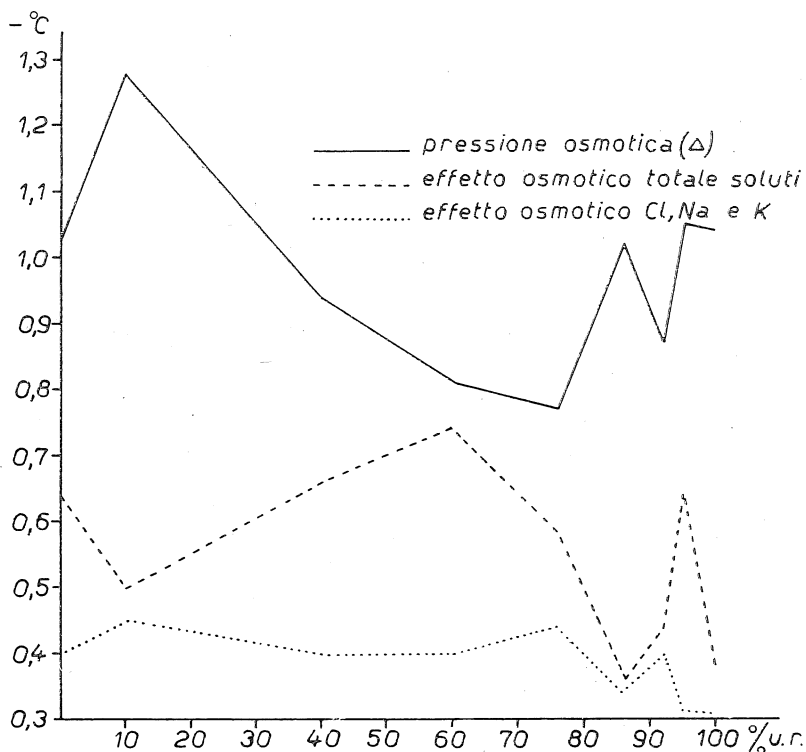


Fig. III. - Pressione osmotica ed effetto osmotico dei singoli soluti dell'emolinfa del *Tenebrio molitor* (larva) in funzione dell'umidità esterna.

Si dovrebbe dedurre da quanto ora esposto che in *Tenebrio molitor* c'è un limitato potere di osmoregolazione soprattutto per i valori intermedi di umidità (da 40-60 a 92 %). Questa regolazione sarebbe data da un meccanismo finora sconosciuto che regola la quantità di aminoacidi e, secondariamente, di cloruri e di ione K.

(2) E' mia intenzione prendere quanto prima in considerazione il comportamento nell'osmoregolazione degli ioni Ca e Mg.

* * *

Per quanto si riferisce alla ripartizione dell'acqua tra sangue e tessuti, mentre da 0 a 86 % di umidità relativa si ha una ripartizione dell'acqua nelle diverse parti del corpo molto varia e in un certo qual senso opposta, dal valore 86 in su si nota un comportamento relativamente parallelo tra acqua del sangue e acqua dei tessuti. Bisognerebbe pensare perciò che nella larva del *Tenebrio molitor* c'è un potere regolatore per cui, attraverso un meccanismo per ora sconosciuto (la quantità di ioni Na e K sembra non abbia un ruolo in questo caso), l'acqua passa costantemente dal sangue ai tessuti e viceversa, al fine di riparare eventuali perdite o aumenti della stessa. Siccome sono esclusi gli ioni Na e K, bisognerà pensare ad altri elementi (forse proteine, che possono scindersi facilmente in aminoacidi e quindi influire nello stesso tempo e inversamente sull'idratazione rispettivamente sul Δ del sangue) che spieghino questo comportamento dell'acqua nel corpo del *Tenebrio molitor*. Da 86 % di umidità in su, invece, non ci sarebbe regolazione di sorta, la diffusione dell'acqua obbedendo probabilmente a semplici leggi fisiche di diffusione, permeabilità, etc., ripartendosi quindi in modo perfettamente uguale tra tessuti e sangue, senza consumo di energia.

DISCUSSIONE

Il problema dell'osmoregolazione negli Insetti terrestri è stato studiato, con metodo ormai superato, dalla MONTI, la quale, nel suo fondamentale lavoro del 1914, riferisce anche sulle ricerche precedenti, come quelle di BACKMAN. Successivamente il problema non è stato più ripreso, se si eccettuano delle notizie frammentarie in alcuni AA., come POLIMANTI o, più recentemente, ROUSCHAL. Altre osservazioni riguardano invece l'effetto dell'umidità ambiente sul contenuto del corpo in acqua, costante che, naturalmente, sta in rapporto con la pressione osmotica dell'emolinfa, e quindi ha una certa importanza in connessione al problema che ci interessa: vedi ad es. BERGER, BODINE, VIALLI, BUXTON (1930) e, ultimamente, GOVAERTS e LECLERCQ.

Molto studiate sono state invece numerose specie di Insetti acquatici, ma i risultati ottenuti per queste specie non sono in linea generale comparabili con quelli che si hanno nello studio di un insetto terrestre. Recentemente ZWICKY ha studiato l'osmoregolazione nella larva della *Drosophila melanogaster*, ma i costumi di questo animale lo fanno rientrare nelle forme acquatiche e i risultati ottenuti da detto A. verranno discussi a proposito delle specie acquatiche.

Modificazioni della concentrazione degli ioni Na e K e del contenuto d'acqua dell'animale in toto, dell'emolinfa e dei tessuti, in funzione dell'umidità ambiente. Na e K in meq/l rispettivamente in meq/k. Vi è indicata anche la deviazione standard ($\pm$).

Umidità relativa (%)	Emolinfa				Tessuti				Animale in toto			
	Acqua	Na	K	Na/K	Acqua	Na	K	Na/K	Acqua	Na	K	Na/K
0	86,2	74,7 $\pm$ 42,5	40,0 $\pm$ 12,2	1,86	58,0	7,5 $\pm$ 3,8	30,8 $\pm$ 3,4	0,24	58,6	24,8	34,3	0,72
10	86,8	86,5 $\pm$ 55,0	30,5 $\pm$ 14,2	2,83	55,0	8,6 $\pm$ 2,4	33,6 $\pm$ 6,9	0,25	57,2	27,2	28,9	0,90
40	88,4	82,7 $\pm$ 9,9	33,2 $\pm$ 11,0	2,49	55,0	11,2 $\pm$ 2,7	31,9 $\pm$ 7,6	0,35	57,7	30,1	32,8	0,91
60	88,4	63,9 $\pm$ 19,8	37,8 $\pm$ 10,5	1,72	56,0	6,7 $\pm$ 2,9	29,6 $\pm$ 8,1	0,22	58,5	23,2	30,2	0,77
76	87,2	97,6 $\pm$ 32,5	32,5 $\pm$ 7,6	3,00	57,0	8,2 $\pm$ 2,5	31,2 $\pm$ 5,9	0,26	59,6	27,5	32,5	0,86
86	86,7	51,4 $\pm$ 15,1	26,8 $\pm$ 12,1	1,91	57,0	5,6 $\pm$ 1,8	33,0 $\pm$ 6,9	0,15	58,9	20,8	24,3	0,86
92	86,4	80,4 $\pm$ 15,5	29,1 $\pm$ 5,0	2,76	59,5	6,2 $\pm$ 2,2	35,1 $\pm$ 5,5	0,17	58,2	23,7	31,2	0,76
95	87,8	56,8 $\pm$ 22,0	17,5 $\pm$ 3,1	3,25	59,5	6,2 $\pm$ 2,7	30,1 $\pm$ 8,6	0,20	59,4	22,2	25,3	0,89
100	87,9	43,9 $\pm$ 8,5	14,7 $\pm$ 5,3	2,98	59,0	5,8 $\pm$ 0,8	30,7 $\pm$ 5,3	0,18	59,4	20,9	31,5	0,67

Come si è detto, l'aspetto meglio conosciuto del fenomeno osmoregolatore è quello inerente alla quantità d'acqua. Buxton (1930) dimostra che la larva del *T. molitor* può mantenere le proporzioni d'acqua nel suo corpo quasi costanti durante un mese di digiuno a umidità che vanno da 0 a 60 %. « Sembra che essa possa far ciò — dice Buxton — consumando qualche sostanza accumulata e trattenendo l'acqua prodotta nel metabolismo » (p. 576 sgg.). Ciò sarebbe in evidente contrasto con i risultati delle mie esperienze. Auber e Raymond invece, sperimentando in *Ephesia*, trovano un comportamento molto analogo a quello da me trovato in *T. molitor*, notandosi anche in questa specie una dipendenza della quantità d'acqua del corpo dall'umidità ambiente maggiore nella larva che nell'adulto; quest'ultimo quindi sembra possedere un maggior potere di controllo del contenuto d'acqua e, come si può affermare alla luce delle mie esperienze, anche del Δ dell'emolinfa.

Il comportamento della quantità d'acqua è comunque molto variabile. Buxton (1930) diceva che « nè il deficit di saturazione, nè alcuna misura dell'umidità atmosferica spiega la perdita d'acqua a diverse umidità e per ogni temperatura »: dipende da ciò la difficoltà di sperimentare, come pure la difficoltà di tirare delle conclusioni sicure e definitive da un'esperienza sull'osmoregolazione in un insetto terrestre.

Bodine ha sperimentato con ninfe di Ortotteri e, sebbene i suoi dati non siano utilizzabili in modo sintetico o grafico, perchè le ricerche sono state condotte con metodo ormai superato, pare che a basse umidità le ninfe di Ortotteri perdano in peso (e in acqua), mentre ad alte umidità esse sono capaci di assumere acqua direttamente dall'ambiente, aumentando così pure di peso. Secondo questo autore, Breitenbrecher (1918) avrebbe ottenuto risultati simili per la *Chrysomela decemlineata*.

Venendo ora al problema dell'osmoregolazione vera e propria, ci troviamo nell'impossibilità di esaminare i nostri dati da un punto di vista comparativo, causa la mancanza pressochè totale di ricerche precedenti su Invertebrati terrestri, con eccezione forse per le ricerche di Rouschal. Le esperienze di Rouschal, sebbene condotte con una metodica molto diversa da quella da me usata, possono trovare forse un certo riscontro con le mie per ciò che si riferisce alla specie di Tenebrionide da lui investigata (*Gnaptor spinimanus*), per la quale si ha un aumento del Δ del sangue che segue da vicino la perdita d'acqua del corpo.

Se ci rivolgiamo invece agli Invertebrati acquatici — tra cui numerosi Insetti — troviamo allora un'abbondante letteratura in merito. Precisamente, sembra che tra gli Insetti acquatici quelli che vivono in acque salmastre possiedano un potere osmoregolatore molto notevole, che può stare alla pari

con quello di certi Vertebrati. Le forme tipicamente d'acqua dolce, invece, sono quasi prive di potere osmoregolatore (cfr. WIGGLESWORTH, 1953). Nella *Drosophila melanogaster* (larva), ZWICKY trova un comportamento analogo a quello degli insetti d'acque salmastre: precisamente, si ha la regolazione in acqua ipotonica, mentre l'animale non regola in soluzioni ipertoniche (soluzioni 1-2 M di Na Cl).

Un altro gruppo di Invertebrati terrestri nei quali è stata studiata l'osmoregolazione o fenomeni a questa connessi, è quello degli Isopodi terrestri. In *Ligia oceanica*, la PARRY trova che ad una diminuzione dell'umidità relativa segue una rapida perdita d'acqua con conseguente aumento del Δ del sangue (da 2,12 a 3,48° C), viceversa in ambiente saturo d'acqua si ha caduta del Δ da 2,12 a 1,44° C. Più recentemente, BURSELL trova che nell'Isopodo terrestre *Oniscus asellus*, animale tra i Crostacei meglio adattati alla vita nell'ambiente terrestre, si ha un aumento del Δ del sangue parallelo al disseccamento, che fa pensare all'andamento del fenomeno in un corpo inanimato e alla mancanza assoluta di regolazione.

In quanto al meccanismo osmoregolatore, per il momento possiamo dire quanto segue. Da un confronto con i dati di ZWICKY risulta che nella larva della *Drosophila melanogaster* ci sarebbe un compenso tra aumento di cloruri e diminuzione di aminoacidi e, secondariamente, di zuccheri. Si hanno secondo questo A. anche esempi di « Ueberkompensation ». L'osmoregolazione in soluzioni ipotoniche sarebbe secondo ZWICKY un esempio di regolazione attiva, cioè a dire con dispendio di energia.

Altre ricerche sulle variazioni delle sostanze responsabili del Δ del sangue sono quelle di WIGGLEWORTH (1938), dalle quali si deduce che gli aminoacidi hanno una grande importanza nell'osmoregolazione, quelle di BEADLE e SHAW (1950) in *Sialis lutaria*, e infine quelle di SCHOFFENIELS sulla cloremia nell'osmoregolazione in neanidi di Odonati e le mie (MARCUZZI, 1956 e 1958) sull'osmoregolazione in *Tenebrio molitor*.

Altre ricerche sono state fatte circa il comportamento degli ioni Na e K nel bilancio idrico degli Insetti. Sebbene TOBIAS (1948 a) dica che i tessuti servono come un deposito di potassio e quindi intervengono nella regolazione della concentrazione di questo ione nell'emolinfa, non si sa ancora se gli ioni Na e K hanno negli Insetti lo stesso ruolo che hanno nell'uomo. Secondo BETHE (1955), nei Crostacei il potassio ha un'azione molto diversa di quella che ha nei Vertebrati, dimodochè non si può dire che il potassio, sì abbondante negli Insetti fitofagi, abbia lo stesso ruolo che ha nei Vertebrati. Anche lo ione Ca dovrebbe avere nei Crostacei un'azione differente di quella espressa nei Vertebrati.

Bisogna però ricordare che CLARK e CRAIG giungono recentemente alla conclusione che una grande percentuale del Ca presente nell'emolinfa è legata alle proteine, proteine derivate e altri composti organici, e che la quantità di Ca libero, fisiologicamente attivo, non può esser determinata senza studi ulteriori: può darsi che lo stesso si possa dire per il potassio del sangue degli Insetti.

TOBIAS (1948 a), studiando i rapporti tra ricambio idrico e contenuto in Na e K, accenna all'importanza del rapporto Na/K. E' degno di nota il fatto che questo rapporto è estremamente costante nella larva del *T. molitor*: BONÉ (1944) indica un valore di 1,9 (animali mantenuti con una dieta mista); RAMSAY (1953) riferisce un valore medio di 1,75; personalmente ho trovato in animali normali, regolarmente alimentati, un valore di 1,8, in animali digiunanti invece un valore pari a 2,03.

SHAW trova in *Sialis lutaria* una notevole omeostasi per il Na del sangue, ma quasi nessuna regolazione per il K.

HOYLE, durante il periodo della muta nell'Ortottero *Locusta migratoria migratorioides*, trova delle variazioni di entrambi Na e K del sangue pressochè della stessa ampiezza; contemporaneamente il rapporto Na/K varia enormemente. Secondo questo A., la quantità di acqua del corpo sarebbe controllata, più che da questo rapporto, dalla quantità di Na: risultati molto simili sono stati da me ottenuti per il *T. molitor*.

Nel *T. molitor* il potassio dei tessuti, sebbene leggermente inferiore a quello dell'emolinfa, è costantemente più abbondante del sodio, ma la quantità del primo sembra esser molto differente nei diversi gruppi di Insetti. Così, mentre in *Sialis lutaria* secondo SHAW il 90 % del potassio è confinato alle cellule, in *T. molitor* io avrei trovato solo il 55 % legato ai tessuti, cioè a dire alle cellule. Anche nelle Blatte e nelle Cavallette il potassio sarebbe confinato principalmente alle cellule (STEINBACH, in HAAS 1955).

Degno di nota — anche per l'assoluta originalità per quanto si riferisce agli Artropodi — è il mio reperto circa la costanza del potassio tessutale (che noi possiamo senz'altro considerare intracellulare), confrontato con il Na. Precisamente, il legame tra K e cellule — a prescindere dalla sua natura — resisterebbe a tutti i gradi di concentrazione delle sostanze osmoattive, concentrazione che, come abbiamo visto, dipende dall'umidità esterna.

Dal momento che il K dei tessuti rimane relativamente costante mentre quello del sangue interviene ad opporsi alle modificazioni del Δ conseguenti alle modificazioni dell'umidità ambiente, possiamo immaginare che il rap-

porto $\frac{\text{K tessutale}}{\text{K ematico}}$ presenti delle notevoli variazioni. In relazione a queste

modificazioni, possiamo prevedere una notevole variazione nella quantità di acqua dei due scompartimenti del corpo, tessuti e emolinfa. (Vedi a tale proposito CAPRARO 1952 o, più recentemente, ROBERTSON 1957).

E' molto probabile che a umidità uguali o maggiori di 80-86 % vi sia un'eliminazione di acqua parallela a quella di Na: questa eliminazione non sarebbe tuttavia sufficiente a assicurare un'omeostasi al contenuto d'acqua del corpo del *T. molitor*, che aumenta tanto da provocare a volte la morte dell'animale.

Secondo VAN ASPEREN e VAN ESCH, non si sa se l'acqua può passare dai tessuti al sangue e viceversa: essi dicono che la regolazione è dovuta principalmente al trasporto di ioni, piuttosto che di acqua. Io credo che c'è anche un passaggio d'acqua; molto probabilmente questo passaggio è regolato e prodotto dalle continue modificazioni della quantità di ioni Na e K di entrambi sangue e tessuti.

CONCLUSIONI

Dalle mie osservazioni si deduce che c'è un comportamento diverso nella larva e nell'adulto. Nella prima c'è nell'insieme un comportamento inverso tra quantità d'acqua del corpo, da una parte, e Δ rispettivamente concentrazione degli zuccheri dall'altra. Tale comportamento è visibile soprattutto per i valori bassi d'igrometria, per cui si deduce che in atmosfera secca manca una osmoregolazione e l'animale si comporta alla stregua di un corpo fisico. A valori più elevati d'igrometria (sopra 60 %) si ha un minor parallelismo tra le varie costanti chimico-fisiche, per cui bisogna pensare a dei meccanismi fisiologici che funzionano diversamente a seconda che si tratti di concentrare, rispettivamente diluire, i soluti del sangue o di assumere acqua dall'esterno.

Nell'adulto, a parte il fatto che c'è un maggior potere regolatore, c'è una minore concordanza tra i vari fenomeni rispetto alla larva, la qual cosa fa pensare ad un meccanismo osmoregolatore diverso nei diversi stadi del ciclo biologico di questo Insetto. Degno di nota è purtroppo l'andamento della quantità di zuccheri rispetto al Δ , e il comportamento dell'N aminico che segue da vicino quello della larva, e quindi fa pensare ad un fenomeno di compensazione rispetto agli zuccheri.

Il ruolo degli ioni Na e K nell'osmoregolazione del *T. molitor* dovrebbe essere molto limitato. Il potassio sembra avere una tendenza a impedire le variazioni del Δ del sangue, ma la sua efficacia è molto inferiore, dal punto di vista dell'effetto osmotico, a quella degli aminoacidi, che risultano essere, non solo in *Tenebrio molitor*, ma probabilmente nella generalità degli Insetti terrestri, i principali costituenti del sangue responsabili dell'osmorego-

lazione. Il sodio — negli Insetti, come pure nei Vertebrati — controllerebbe la quantità d'acqua del corpo e la sua eliminazione. Un altro meccanismo comunemente adottato dagli Insetti terrestri nella osmoregolazione è la formazione dell'urina e il meccanismo con cui viene raggiunta la sua composizione (vedi RAMSAY 1952 e 1953 e EDNEY 1957, oltre al vecchio lavoro di PATTON e CRAIG 1939).

RIASSUNTO

Nel *Tenebrio molitor* c'è un limitato potere osmoregolatore, più evidente nell'adulto che nella larva. A umidità estreme (sotto 40, rispettivamente sopra 92 %) l'animale si comporta come un corpo fisico, perdendo rispettivamente acquistando acqua dall'esterno. Massimi responsabili della limitata osmoregolazione sono gli aminoacidi, cui seguono K e cloruri. Il Na controllerebbe la quantità di acqua del corpo e la sua eliminazione. Anche nel *T. molitor*, come nei Vertebrati, i tessuti sono più ricchi di K che il sangue e costituiscono un deposito di questo ione.

Notevole è la costanza del livello del K tissutale.

SUMMARY

In the meal worm *Tenebrio molitor* there is a limited capacity of osmoregulation, more evident in the adult than in the larva. When exposed to extreme external humidities (lower than 40, or higher than 92 % r.h.) the animal behaves as a physical body, by losing or assuming water from the environment. The aminoacids are the substances mainly responsible for the osmoregulation; but also K and chlorides are involved in this effect. Na should control the amount of body water and its elimination. Also in *T. molitor*, as in Vertebrates, the tissues represent a deposit of K. Quite noticeable is the constancy of the level of tissue K. The importance of urine formation in the osmoregulation is emphasized.

BIBLIOGRAFIA

- ASPEREN K. (van) e ESCH I. (van), 1956 - *The chemical composition of the haemolymph in Periplaneta americana*, etc. Arch. Neerl. Zool., XI, 342-360, 3 figg.
- BACKMAN: vedi MONTI.
- BEADLE L. C. e SHAW J., 1950 - *The retention of salt and the regulation of the non-protein nitrogen fraction in the blood of the aquatic larva, Sialis lutaria*. J. exp. Biol., XXVII, 96-109, 5 figg.
- BELCHER R. e ROBINSON J. W., 1954 - *The determination of Potassium on the microscale by the Phosphomolybdate method*. Mikrochim. Acta, 49-51.
- BERGER B., 1907 - *Ueber die Widerstandfähigkeit der Tenebrioniden gegen Austrocknung*. Arch. Ges. Physiol. (Pflüger Arch.), CXVIII, 607-612.
- BETHE A., 1955 - *Allgemeine Physiologie*. Göttingen & Heidelberg.
- BODENHEIMER F. S., 1931 - *Ueber die Temperaturabhängigkeit von Insekten. III. Die Beziehungen der Vorzugstemperatur zur Luftfeuchtigkeit der Umgebung*. Z. vergl. Physiol., XIII, 740-747.

- BODINE J. H., 1921 - *Factors influencing the water content and the rate of metabolism of certain Coleoptera*. J. exp. Zool., XXXII, 137-164, 6 figg.
- BONÉ G.-J., 1944 - *Le rapport sodium/potassium dans le liquide coelomique des Insectes. I. Les relations avec le régime alimentaire*. Ann. Soc. Roy. Zool. Belg., LXXV, 123-132. BREITENBRECHER: vedi BODINE.
- BURSELL E., 1955 - *The transpiration of terrestrial Isopods*. J. exp. Biol., XXXII, 238-255, 4 fig.
- BUXTON P. A., 1930 - *Exaporation from the meal worm (Tenebrio: Coleoptera) and the atmospheric humidity*. Proc. Roy. Soc. London, CVI, 560-577.
- CAPRARO V., 1952 - *Permeazione cellulare e tessutale*. Boll. Soc. It. Biol. Sper., XXVIII, 542-577, 8 fig.
- CLARK E. W. e CRAIG R., 1953 - *The calcium and magnesium content in the haemolymph of certain Insects*. Physiol. Zool., XXVI, 101-107.
- EDNEY E. B., 1957 - *The water relations of terrestrial Arthropods*. Cambridge.
- FRAME E. G., RUSSELL J. A. e WILHELM A. E., 1943 - *The colorimetric estimation of amino-nitrogen in blood*. J. biol. Chem., CXLIX, 255-270, 4 figg.
- GOVAERTS J. e LECLERCQ J., 1946 - *Water exchange between Insects and air moisture*. Nature, CLVII, 483.
- HAAS J., 1955 - *Physiologie der Zelle*. Berlin.
- HOYLE G., 1956 - *Sodium and Potassium changes occurring in the haemolymph of Insects at the time of moulting and their physiological consequences*. Nature, CLXXVIII, 1236-1237, 1 fig.
- MARCUZZI G., 1955 - *Osservazioni fisico-chimiche sul sangue dei Coleotteri Tenebrionidi. I. La pressione osmotica nel Tenebrio molitor L.* Rend. Accad. Naz. Lincei, XVIII, 654-662.
- MARCUZZI G., 1956 - *L'osmoregolazione nel Tenebrio molitor L. (Col. Tenebrionidae)*. Ibidem, XX, 492-500, 6 figg.
- MARCUZZI G., 1956 - *Osmoregulation in Tenebrionid beetles*. XVth Intern. Congr. Zool. Sect. VI, Paper 16 (1958).
- MONTI R., 1914 - *La variabilità della pressione osmotica nelle diverse specie animali*. Atti Soc. It. Sc. Nat., LIII, 391-448, 6 figg.
- NELSON J., 1944 - *A photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glucose*. J. biol. Chem., CLIII, 375-380, 1 fig.
- PARRY G., 1953 - *Osmotic and ionic regulation in the Isopode Crustacean Ligia oceanica*. J. exp. Biol., XXX, 567-574.
- PATTON R. L. e CRAIG R., 1939 - *The rates of excretion of certain substances by the larvae of the meal worm, Tenebrio molitor*. J. exp. Zool., LXXXI, 437-457, 4 figg.
- POLIMANTI O., 1915 - *Untersuchungen über den Koeffizienten des osmotischen Druckes von Bombyx mori L., etc.* Biochem. Zeits., LXX, 74-92, 1 fig.
- RAMSAY J. A., 1952 - *The excretion of Sodium and Potassium by the Malpighian tubules of Rhodnius*. J. exp. Biol., XXIX, 110-126, 4 figg.
- RAMSAY J. A., 1953 - *Active transport of Potassium by the Malpighian tubules of Insects*. Ibidem, XXX, 358-369, 1 fig.
- RAMSAY J. A., 1954 - *Active transport of water by the malpighian tubules of the stick Insect Dixippus morosus (Orthoptera, Phasmidae)*. J. exp. Biol., XXXI, 104-113, 3 figg.
- RAMSAY J. A., BROWN R. H. J. e CROGHAN P. C., 1955 - *Electrometric titration of chloride in small volumes*. J. exp. Biol., XXXII, 822-829, 3 figg.
- ROBERTSON J. D., 1957 - *Osmotic and ionic regulation, etc.* In Rec. Adv. Invert. Physiol., Eugene, Oregon.
- ROUSCHAL W., 1940 - *Osmotische Werte wirbelloser Landtiere und ihre oekologische Bedeutung*. Z. wiss. Zool., CLIII, 196-218, 2 figg.
- SANDERSON P. H., 1952 - *Potentiometric determination of chloride in biological fluids*. Biochem. J., LII, 502-505, 3 figg.

- SCHOFFENIELS E., 1950 - *La régulation de la pression osmotique et de la chloremie chez les larves d'Odonates*. Arch. Int. Physiol., LVIII, 1-4.
- SHAW J., 1955 - *Ionic regulation and water balance in the aquatic larva of Sialis lutaria*. J. exp. Biol., XXXII, 353-382, 13 figg.
- SOMOGYI M., 1952 - *Notes on sugar determination*. J. biol. Chem., CXCV, 19-23.
- TOBIAS J. M., 1948 a - *Potassium, Sodium and water interchange in irritable tissues and haemolymph of an omnivorous insect, Periplaneta americana*. J. cell. comp. Physiol., XXXI, 125-142.
- TOBIAS J. M., 1948 b - *The high potassium and low sodium in the body fluid and tissues of a phytophagous insect, the silkworm B. mori, etc.* Ibidem, 143-148.
- VIALLI M., 1925 - *La pressione osmotica negli Invertebrati*. Arch. Fisiol., XXV, 577-596.
- WEINBACH A. P., 1935 - *A micromethod for the determination of Sodium*. J. biol. Chem., 95-99.
- WIGGLESWORTH V. B., 1931 - *The physiology of the excretion in a blood-sucking insect, Rhodnius prolixus (Hemiptera, Reduviidae)*. J. exp. Biol., VIII, 411-51.
- WIGGLESWORTH V. B., 1938 - *Regulation of osmotic pressure and chloride concentration in the haemolymph of the mosquito-larvae*. Ibidem, XV, 235-247.
- WIGGLESWORTH V. B., 1941 - *The sensory of the human louse Pediculus humanus corporis De Geer (Anopl.)*. Parasitology, XXXIII, 67-109.
- WIGGLESWORTH V. B., 1953 - *The principles of Insect Physiology*. London & New York.
- ZWICKY K. T., 1954 - *Osmoregulatorische Reaktionen der Larve von Drosophila melanogaster*. Z. vergl. Physiol., XXXVI, 367-390, 8 figg.