

Alcuni aspetti del metabolismo ossidativo del corpo grasso di *Blaberus craniifer* Brunn. e *Nauphoeta cinerea* Burn.

Le nostre ricerche hanno lo scopo di illustrare, almeno parzialmente, le variazioni del metabolismo ossidativo del corpo grasso dei Blattoidei durante il loro ciclo vitale, di studiare il comportamento di frazioni subcellulari di tale tessuto e di porre in evidenza l'effetto dell'aposimbiosi su particolari sistemi enzimatici.

Si è scelta per gli studi del metabolismo ossidativo la blatta tropicale *Blaberus craniifer* che è in grado di fornire, anche negli stadi giovanili, quantità notevoli di corpo grasso.

Gli effetti dell'aposimbiosi sono stati invece studiati su *Nauphoeta cinerea*, essendo stati in grado, infatti, di privare tale specie dai propri batteri mediante adeguato trattamento antibiotico.

MATERIALE

Da colture di massa delle due specie di blatte usate per gli esperimenti si sono prelevate popolazioni di neanidi di diverse età.

Gli insetti sono stati allevati e datati secondo i metodi riportati da LAUDANI e BIANCHI (1964).

Le popolazioni aposimbiotiche sono state ottenute secondo le tecniche impiegate da FAVA e LAUDANI (1961).

Il controllo dello stato aposimbiotico è stato effettuato con metodo istologico.

METODI

La tecnica per l'estrazione del corpo grasso è stata la stessa seguita da LAUDANI e BIANCHI (1964).

Il consumo di ossigeno del corpo grasso integro è stato determinato mediante manometri a volume costante. La temperatura del bagno termo-

statico era di 30° C; il volume dei fluidi era di 3 ml; il volume gas (aria) era di 15 ml circa.

La soluzione in cui era immerso il corpo grasso integro durante l'esperimento per il consumo esogeno di ossigeno conteneva in 1000 ml:

NaCl	g	9,00
KCl	»	0,20
CaCl ₂	»	0,20
glucoso	»	4,00
KH ₂ PO ₄	»	0,16
Na ₂ HPO ₄ • 2H ₂ O	»	0,97

Il pH finale era uguale a 7,2.

Tale soluzione deriva da quella di ROEDER (1948): essa è stata da noi modificata nelle proporzioni dei componenti.

Per il consumo endogeno di ossigeno il glucoso era sostituito da NaCl in quantità equimolecolari.

Negli esperimenti in cui è stato misurato il consumo di ossigeno in presenza di glicogeno, questo ⁽¹⁾, posto nella quantità di 10 mg per vaschetta, era incubato a 37° C per 30' in atmosfera di O₂, in presenza di corpo grasso e di soluzione salina.

In ciascuna vaschetta il rapporto corpo grasso/soluzione era di di 1/2,8 circa (volume/volume).

In alcuni saggi si usò glicogeno proveniente da femmine vergini di *Blaberus* ottenuto con i metodi di CLEMENTS (1959) e di YOUNG (1959). Il consumo di ossigeno è sempre stato riferito all'unità di peso secco.

Gli esperimenti eseguiti con frazioni subcellulari del corpo grasso di *Blaberus craniifer* sono stati condotti su materiale preparato con due tecniche diverse.

Nel primo caso [A] il corpo grasso veniva privato dall'eccesso della soluzione di lavaggio mediante filtrazione sotto vuoto su filtro di porcellana a larghi pori ($\varnothing = 2$ mm): su tale filtro era disposto uno strato di carta bibula e, a contatto con il corpo grasso, un foglio sottile di plastica con fori minuti che permettevano il deflusso della soluzione.

Il corpo grasso era quindi omogenato manualmente in Potter con pestello in teflon per 1' circa: l'operazione avveniva in bagno di ghiaccio.

(1) Glicogeno fornito dalla Calbiochem.

Si centrifugava quindi a 20.200 g per 20' a - 2° C. Si separavano in tal modo tre strati nettamente individuabili.

Il supernatante consisteva in un blocco di grasso solido, facilmente eliminabile mediante il taglio della provetta di plastica. Il secondo strato era un liquido vischioso. Il terzo strato costituiva il precipitato.

Eliminato il grasso, il rimanente era rimescolato e ricentrifugato a 121 g per 20' a 0° C.

Il precipitato, costituito di grossi cristalli, glicogeno e cellule, era scartato; il supernatante, contenente mitocondri e batteroidi, era utilizzato per i saggi.

La seconda tecnica [B] consisteva nell'omogenare il corpo grasso in tampone fosfato 0,1 M; pH = 7,4; rapporto volume/volume = 1/3. Si centrifugava a 755 g per 20' a - 2° C. Si asportava il supernatante (grasso) e il rimanente era riomogenato per 30'' e ricentrifugato a 8700 g per 20' a 0° C. Il supernatante era eliminato e il precipitato, consistente in mitocondri e batteroidi, era usato per il saggio. Queste ultime operazioni, quando non specificato altrimenti, erano condotte in camera fredda a 0° C.

L'attività delle frazioni ottenute è stata saggiata in presenza di diversi substrati e cofattori.

Per la separazione dei batteriociti integri e vitali del corpo grasso di *Blaberus* è stata trovata inadeguata la tecnica usata da MANUNTA e coll. (1962). E' stato perciò applicato il seguente metodo:

una soluzione contenente in 1000 ml g 68,4 di saccarosio e g 1 di Na taurocolato era portata a pH = 7,4 con tampone fosfato 1 M. A 10 volumi di tale soluzione si aggiungeva 1 volume circa di corpo grasso; si agitava dolcemente in beuta per 10' a +2° C e si centrifugava a 121 g per 10'. Il precipitato, consistente in gran parte di batteriociti, era lavato con soluzione tampone fosfato 1 M, ricentrifugato ed incubato al buio a 37° C per 30' in tampone fosfato (0,2 M; pH = 7,6) + Na succinato (0,2 M) + neotetrazolo cloruro (1 mg/ml nel rapporto 1:1:2. La vitalità delle cellule era in tal modo posta in evidenza dalla formazione di microcristalli di formazan all'interno del citoplasma. Le preparazioni così ottenute sono state saggiate per l'attività succinossidasica e citocromossidasica, rispettivamente secondo SCHNEIDER e POTTER (1943) e secondo SLATER (1949).

In *Nauphoeta cinerea* è stato confrontato il consumo di ossigeno, in diverse condizioni sperimentali, di frazioni subcellulari di corpo grasso in individui normali e aposimbiotici.

E' stata inoltre saggiata l'attività citomocrossidasica.

Gli omogenati sono stati ottenuti usando il primo dei metodi descritti per la specie *Blaberus craniifer*.

L'omogenazione del corpo grasso degli insetti aposimbiotici ha richiesto particolari attenzioni per la presenza di notevoli quantità di urati. Si sono usate esclusivamente neanidi femmine dell'ultima età.

RISULTATI

Il consumo di ossigeno esogeno del corpo grasso (rettilineo entro 90' dall'inizio dell'esperimento) è in relazione con il fenomeno della muta e, negli adulti, anche con l'età.

Le variazioni dell'attività ossidativa si verificano in ciascuno stadio larvale. Più precisamente, il corpo grasso al momento dell'ecdisi o nell'insetto appena mutato ha un basso consumo di ossigeno che tende ad aumentare nelle ore successive alla muta.

Nelle neanidi (tab. 1 e 2) tale attività è nettamente inferiore a quella riscontrata negli adulti (tab. 3). Nelle neanidi dell'ultima età poi il consumo

TABELLA 1 - Consumo di ossigeno esogeno del corpo grasso di neanidi di 2 cm.

Ore dalla muta	$\mu\text{l O}_2/\text{mg p.s.}/60'$
0	0,27
6	0,47
48	0,71

TABELLA 2 - Consumo di ossigeno esogeno del corpo grasso di neanidi all'ultimo stadio.

Tempo dall'ecdisi	$\mu\text{l O}_2/\text{mg p.s.}/60'$		Tempo dall'ecdisi	$\mu\text{l O}_2/\text{mg p.s.}/60'$	
	♂	♀		♂	♀
ore 1	0,12	0,11	giorni 20	0,75	0,71
» 4	0,17	0,27	» 22	0,68	0,67
» 6	0,36	0,40	» 24	0,50	0,75
giorni 1	0,71	0,40	» 26	0,55	0,59
» 2	0,77	0,40	» 28	0,63	0,63
» 4	0,71	0,44	» 30	0,50	0,77
» 6	0,75	0,44	» 32	0,52	0,67
» 10	0,84	0,49	» 34	0,56	0,73
» 12	0,78	0,54	» 36	0,55	0,73
» 15	0,74	0,53	» 42	0,48	0,79

di ossigeno del tessuto raggiunge nei maschi un massimo tra il 10° e il 20° giorno e quindi decresce rapidamente. Nelle femmine tale attività ossidativa aumenta fino al 20° giorno e quindi rimane pressochè costante per il rimanente periodo di tempo.

TABELLA 3 - Consumo di ossigeno esogeno del corpo grasso di adulti.

Tempo dall'ecdisi	$\mu\text{l O}_2/\text{mg p.s.}/60'$		Tempo dall'ecdisi	$\mu\text{l O}_2/\text{mg p.s.}/60'$	
	♂	♀		♂	♀
ore 1	0,41	0,23	giorni 240	0,55	0,94
» 6	0,50	0,36	» 260	0,50	0,66
giorni 1	0,83	0,59	» 280	0,52	0,94
» 2	0,93	0,85	» 300	0,46	0,87
» 35	0,95	0,87	» 320	0,43	0,30
» 48	1,07	0,87	» 340	0,37	0,37
» 120	1,01	0,68	» 360	0,31	0,28
» 200	0,76	0,33	» 380	0,19	0,66
» 220	0,61	0,41	» 400	0,11	0,68

Non siamo in grado di fornire dati sull'attività del tessuto nei momenti che precedono di pochi giorni l'ecdisi, essendo difficoltoso porre in evidenza caratteri morfologici particolari che contraddistinguono questo periodo. Tuttavia è probabile, anche in base ai dati di SÄGESSER (1960), che in questo periodo il consumo di ossigeno raggiunga il punto di minimo.

Nei maschi adulti l'attività è maggiore entro i primi 120 giorni di vita adulta e raggiunge livelli estremamente bassi a 400 giorni. Nelle femmine l'incremento dell'attività, pur manifestandosi entro le prime ore dall'ecdisi, si mantiene minore rispetto a quello dei maschi. Non si è però posto in evidenza un decremento in funzione dell'età. Le notevoli variazioni del consumo di ossigeno in questo sesso non sono state chiarite: esse potrebbero essere poste in relazione con il fenomeno della maturazione delle uova (ricordiamo tuttavia di avere sperimentato su femmine vergini).

Poichè da dati di ROTH e STAY (1961) risultava evidente che la presenza dell'ooteca modificava il comportamento delle ghiandole endocrine dell'insetto, abbiamo condotto una serie di ricerche (su femmine prese a caso dall'allevamento generale) tendenti a porre in evidenza un eventuale diverso consumo di ossigeno del corpo grasso di femmina con o senza ooteca nella tasca addominale. Tale ricerca non ha tuttavia fornito risultati conclusivi.

Nel corso degli esperimenti si è notato che alcuni maschi, più vecchi di età, avevano il corpo grasso colorato in giallo scuro, probabilmente dovuto alla presenza di sostanze organiche cristallizzate (PARDI, 1939) e dotato di maggiore consistenza rispetto a quello bianco: il consumo di ossigeno del corpo giallo (tab. 4) si è dimostrato di circa il 50% inferiore a quello del corpo grasso bianco.

TABELLA 4 - Consumo di ossigeno esogeno di maschi adulti in diverse condizioni fisiologiche.

Individui esaminati	n°	$\mu\text{l O}_2/\text{mg p.s.}/60'$
maschi con corpo grasso bianco	6	$0,88 \pm 0,18$
maschi con corpo grasso giallo	10	$0,40 \pm 0,15$

Si è voluto inoltre studiare la possibilità di metabolizzare il glicogeno da parte del corpo grasso degli insetti adulti, maschi o femmine. Tale metabolita, infatti, è particolarmente abbondante in questo tessuto.

Nella tab. 5 sono riportati i dati ottenuti in presenza e in assenza di glucoso.

TABELLA 5 - QO_2 ($\mu\text{l}/\text{mg p.s.}/60'$) \pm e.s. del corpo grasso di neanidi e adulti con substrati diversi.

Stadio	S u b s t r a t i			
	Na Cl (endogena)	glucoso	glicogeno ⁽¹⁾ non incubato	glicogeno ⁽¹⁾ incubato
neanidi ♂	$0,226 \pm 0,01$	$0,400 \pm 0,02$	—	—
neanidi ♀	$0,127 \pm 0,01$	$0,345 \pm 0,01$	—	—
adulti ♂	$0,430 \pm 0,01$	$1,096 \pm 0,01$	$0,418 \pm 0,02$	$0,589 \pm 0,02$
adulti ♀	$0,546 \pm 0,03$	$0,712 \pm 0,01$	$0,557 \pm 0,02$	$0,579 \pm 0,03$

(¹) Ottenuto da Molluschi.

Il corpo grasso degli Insetti adulti ha la capacità di metabolizzare il glicogeno previa incubazione del metabolita con il corpo grasso stesso.

La tab. 6 riporta l'analisi statistica dei dati ottenuti. La mancanza di significatività, per quanto riguarda le femmine, tra il consumo di ossigeno in presenza di glicogeno incubato e glicogeno non incubato ci pare possa essere attribuita alla maggiore quantità di sostanza di riserva pre-

senti in questo sesso. I dati riportati dalla tab. 7 confermerebbero tale ipotesi.

Nello stadio di neanide (tab. 8) il consumo di ossigeno endogeno è notevolmente superiore nei maschi che nelle femmine. Le possibilità di utilizzazione aerobica del glucoso paiono invece essere uguali per entrambi i sessi.

TABELLA 6 - Confronto e limiti di significatività (t di Student) tra i QO_2 del corpo grasso di adulti con substrati diversi.

Substrati confrontati		♂		♀	
		t ₁₈	Signifi- cattività	t ₁₈	Signifi- cattività
Na Cl	glucoso	31,12	— —	4,46	— —
Na Cl	glicogeno non incubato	0,48	— —	0,27	— —
Na Cl	glicogeno incubato	5,61	— —	0,64	— —
glucoso	glicogeno non incubato	23,21	+ +	5,84	+ +
glucoso	glicogeno incubato	15,74	+ +	3,14	+ +
glicogeno non incubato	glicogeno incubato	4,94	— —	0,49	— —

+ + Significatività P 0,01 con differenza positiva.
 — — Significatività P 0,01 con differenza negativa.
 — — Nessuna significatività.

TABELLA 7 - Confronto tra i QO_2 di corpo grasso di ♂ e ♀ adulti con substrati diversi.

Substrato	t ₁₈	Significatività
Na Cl	3,30	— —
glucoso	13,86	+ +
glicogeno non incubato	4,52	— —
glicogeno incubato	0,21	— —

+ + Significatività P 0,01 con differenza positiva.
 — — Significatività P 0,01 con differenza negativa.
 — — Nessuna significatività.

TABELLA 8 - Confronto tra i QO_2 endogeni ed esogeni di corpo grasso di neanidi ♂ e ♀.

Substrato	t ₁₈	Significatività
Na Cl	9,20	+ +
glucoso	2,01	— —

+ + Significatività P 0,01 con differenza positiva.
 — — Nessuna significatività.

Si è inoltre creduto opportuno verificare se esistessero differenti possibilità metaboliche per il glicogeno a seconda della sua origine. Infatti, i dati bibliografici (YOUNG, 1959) accennavano alla possibilità di una diversa capacità ossidativa del corpo grasso in presenza di glicogeno puro e di glicogeno impuro tratto dal corpo grasso stesso. Si è sempre usato glicogeno incubato.

I risultati ottenuti (tab. 9) dimostrano che il glicogeno puro, qualunque sia la sua origine, è metabolizzato allo stesso grado e confermano che il glicogeno impuro aumenta notevolmente il consumo di ossigeno.

TABELLA 9 - QO_2 (μ l/mg p.s./60') del corpo grasso di maschi in presenza di glicogeno di provenienza diversa.

S U B S T R A T O			
a	b	c	d
0,571	0,589	1,420	0,560

a = glicogeno da fegato di coniglio.

b = glicogeno ottenuto da Molluschi.

c = glicogeno impuro ottenuto da corpo grasso di *Bleberus craniifer* secondo Young.

d = glicogeno ottenuto da corpo grasso di *Blaberus* secondo Clements, lavato con EtOH ass. e portato a secco sotto vuoto.

L'attività ossidativa endogena di frazioni cellulari (tab. 10) è raddoppiata in presenza di glucoso.

L'ATP e il cit. c da soli incrementano di circa 4 volte il consumo di ossigeno; il glucoso è utilizzato con maggiore velocità se si aggiungono nell'omogenato ATP e cit. c; la velocità di utilizzazione aumenta ancora se lo zucchero è fornito sotto forma di glucoso — 6 — P. L'aggiunta di NAD alla preparazione ne aumenta solo leggermente l'attività.

Il succinato è ossidato molto velocemente in rapporto all' α -cheto-glutarato.

L'attività endogena e l'ossidazione dei substrati sono particolarmente elevate quando la frazione corpuscolata del citoplasma è a contatto con il proprio supernatante.

I batteriociti del corpo grasso interno, isolati con il metodo descritto precedentemente (figg. 1-4), dimostrano possedere un metabolismo ossidativo notevolissimo (tab. 11).

Il consumo di ossigeno, in presenza e in assenza di glucoso, è di circa 16 volte maggiore di quello del corpo grasso « in toto »; elevate appaiono anche le attività succinossidastica e citocromossidastica.

TABELLA 10 - Attività ossidativa di frazioni subcellulari di corpo grasso in condizioni diverse.

Substrati e cofattori (concentrazioni finali)		QO ₂ ⁽¹⁾	QO ₂ ⁽²⁾
nessuno	(attività endogena)	1,2	0,1
ATP	3 µM	4,1	0,4
cit. c	15 µM		
glucoso	4.10 ⁻² µM	2,4	0,3
glucoso	15 µM		
ATP	3 µM	6,2	0,5
cit. c	4.10 ⁻² µM		
glucoso — 6 — P	18 µM		
ATP	3 µM	8,4	0,8
cit. c	4.10 ⁻² µM		
glucoso — 6 — P	18 µM		
ATP	3 µM	8,8	0,8
cit. c	4.10 ⁻² µM		
NAD	4 µM		
α-chetoglutarato	23 µM		
ATP	3 µM	5,0	0,3
cit. c	4.10 ⁻² µM		
Na succinato	14 µM		
ATP	3 µM	12,6	1,2
cit. c	4.10 ⁻² µM		

(1) calcolato su preparazioni subcellulari con la tecnica [A] descritta in «metodi».

(2) calcolato su preparazioni subcellulari con la tecnica [B] descritta in «metodi».

Ciascun esperimento è stato condotto in presenza di: MgCl₂ 10 µM; KCl 200 µM; Tampone P0,— 48 µM.

TABELLA 11 - Attività ossidativa di preparazioni di batteriociti isolati del corpo grasso.

Substrati	QO ₂	Attività	QO ₂
nessuno (attività endogena)	16,0	Succinossidasi	80,5
glucoso	36,8	Citocromossidasi	100,2

Le soluzioni per la misurazione dell'attività endogena e della glicolisi aerobia sono le stesse usate per il corpo grasso integro.

Questi dati ci consentono di sostenere che i batteriociti sono gli agenti della maggior parte dell'attività ossidativa del corpo grasso. Tale affermazione è convalidata dal confronto di frazioni di tessuti normali e aposimbiotici (tab. 12). Le preparazioni di tessuto normale, infatti, sono circa 10 volte più attive di quelle del tessuto aposimbiotico.

TABELLA 12 - Confronto dell'attività ossidativa di preparazioni subcellulari del corpo grasso di *Nauphoeta cinerea* normali e aposimbiotiche.

Substrati		QO ₂	
		individui normali	individui aposimbiotici
nessuno	(attività endogena)	1,00	0,08
glucoso	15 μ M		
ATP	3 μ M	1,12	0,10
cit. c	$4 \cdot 10^{-2}$ μ M		
glucoso — 6 — P	18 μ M		
ATP	3 μ M	4,96	0,70
cit. c	$4 \cdot 10^{-2}$ μ M		
Na succinato	14 μ M		
ATP	3 μ M	10,16	0,80
cit. c	$4 \cdot 10^{-2}$ μ M		
α -chetoglutarato	23 μ M		
ATP	3 μ M	4,16	0,38
cit. c	$4 \cdot 10^{-2}$ μ M		

Ciascun esperimento è stato condotto in presenza di:

MgCl ₂	10 μ M
KCl	200 μ M
Tampone P ₀ —	48 μ M

Anche l'attività citocromossidasi (QO₂ = 20,58 in individui normali; QO₂ = 2,17 negli individui aposimbiotici) è molto diminuita nel tessuto aposimbiotico.

Tali risultati indicherebbero che i batterioidi simbiotici contribuiscono in modo determinante al metabolismo del batteriocita, probabilmente sintetizzando composti altamente energetici, utilizzabili dall'insetto.

I diversi consumi di ossigeno del corpo grasso normale e aposimbiotico (FERRERO e coll., 1964) sono in buon accordo con i risultati da noi ottenuti. Il tessuto con complemento normale di batterioidi, infatti, è circa tre volte più attivo di quello aposimbiotico.

RIASSUNTO

Sono stati condotti studi sul metabolismo ossidativo del corpo grasso di *Blaberus craniifer* Brunn. e si è posto in evidenza in *Nauphoeta cinerea* Burn. l'effetto dell'aposimbiosi su particolari sistemi enzimatici.

Il consumo di ossigeno esogeno del corpo grasso è in relazione con il fenomeno della muta e, negli adulti, anche con l'età. Nelle neanidi l'attività ossidativa è nettamente inferiore a quella riscontrata negli adulti.

Nelle femmine il consumo di ossigeno si mantiene minore rispetto a quello dei maschi.

Si è voluto inoltre studiare la possibilità di metabolizzare il glicogeno da parte del corpo grasso degli insetti adulti.

I batteriociti del corpo grasso interno dimostrano di possedere un metabolismo ossidativo notevolissimo. Il consumo di ossigeno, in presenza e assenza di glucosio, è di circa 16 volte superiore a quello del corpo grasso « in toto »; elevate appaiono anche le attività succinossidasica e citocromossidasica.

SUMMARY

In *Blaberus craniifer* Brunn. the amount of the exogenous oxygen of the fat bodies is related to the phenomenon of the moult and, in adults, also to the age.

The oxidative activity in the larvae is much less than in the adults, and it is less in the females than in the males.

Studies in *Nauphoeta cinerea* Burn. have shown the effect of aposymbiosis on certain enzyme systems.

The bacteriocytes of the internal fat bodies show a very marked oxidative metabolism.

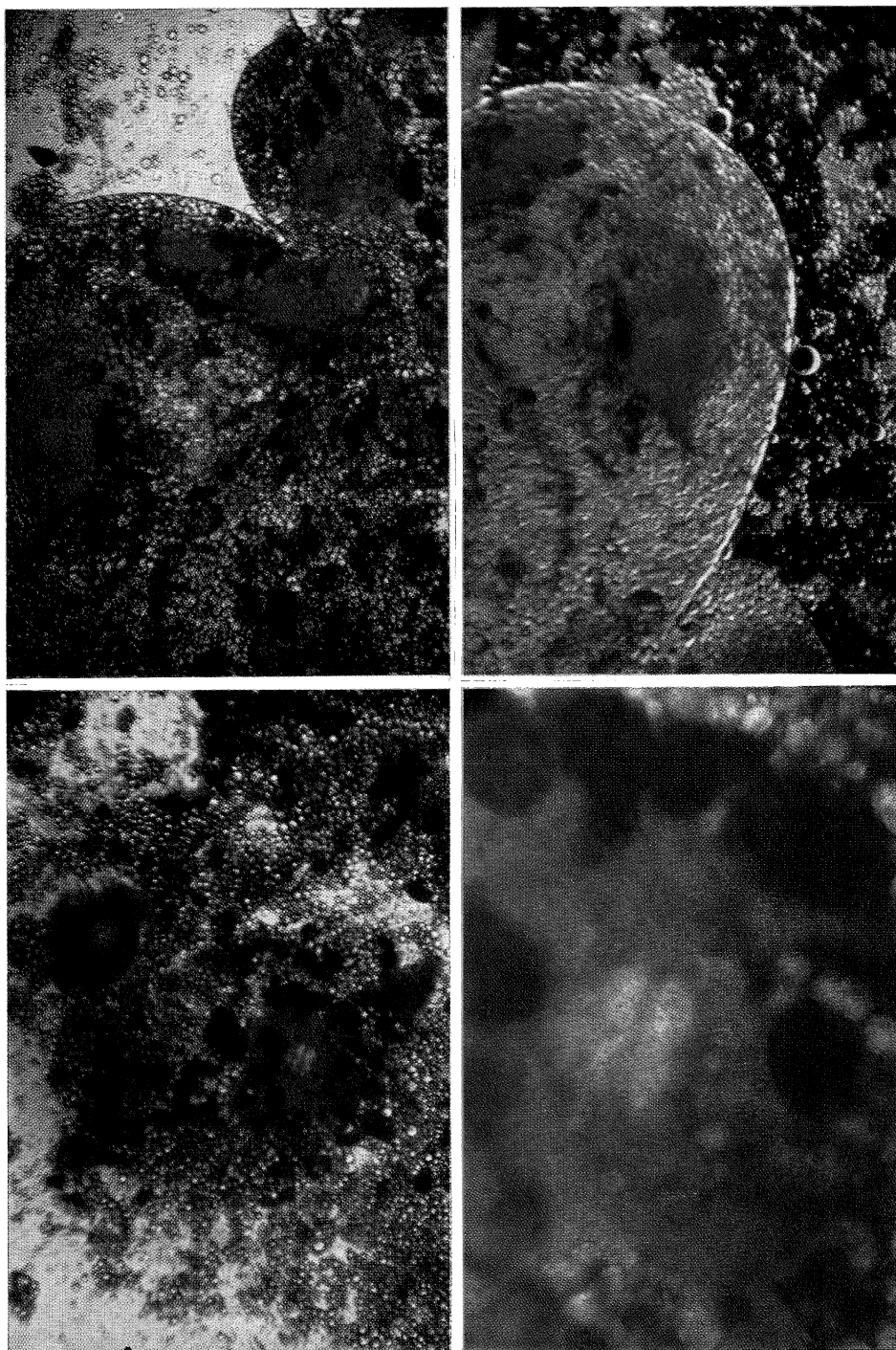
The oxygen intake, in the presence or absence of glucose, is about 16 times that of the fat bodies as a whole.

The succinic dehydrogenase and the cytochrome oxidase activity appear high.

BIBLIOGRAFIA

- CLEMENTS, N. A., 1959. - Studies on metabolism of locust fat body. *J. exp. Biol.*, 36: 665-675.
- FAVA, A., LAUDANI, U., 1961. - Produzione di stipiti aposimbiotici in *Nauphoeta cinerea* Burn. mediante somministrazione parenterale di antibiotici. *Genet. agr.*, XIV: 167-174.
- FERRERO, E., FAVA, A., LAUDANI, U., 1964. - Alcuni particolari aspetti metabolici in *Nauphoeta cinerea* Burn. *Symp. genet.*, XIII: 120-124.
- LAUDANI, U., BIANCHI, U., 1963. - Consumo di ossigeno del corpo grasso di *Blaberus craniifer* Brunn. *Rc. Atti Acc. naz. ital. Ent.*: 133-141.
- MANUNTA, C., MOSCONI BERNARDINI, P., LAUDANI, U., 1962. - Indagini fisiologiche e cromatografiche su batteriociti del corpo adiposo di blatta *Blaberus craniifer*. *Symp. genet.*, IX: 464-470.
- PARDI, L., 1939. - I corpi grassi degli Insetti. *Redia*, XXV: 87-288.
- ROEDER, K. D., 1948. - Effect of cations on nervous system roach. *J. cell. comp. Physiol.*, 31: 327-338.

- ROTH, L. M. and STAY, B., 1961. - Oöcyte development in *Diploptera punctata* (Eschscholtz) (Blattaria). *J. Insect Physiol.*, 7: 186-202.
- SÄGESSER, H., 1960. - Über die Wirkung der corpora allata auf den Sauerstoffverbrauch bei der Schabe *Leucophaea maderae* (F.). *J. Insect Physiol.*, 5: 264-285.
- SCHNEIDER, W. C. and POTTER, V. R., 1943. - The assay of animal tissues for respiratory enzymes - II. Succinic dehydrogenase, and cytochrome oxidase. *J. biol. Chem.*, 149: 217-227.
- SLATER, E. C., 1949. - The measurement of cytochrome oxidase activity of enzyme preparations. *Biochem. J.*, 44: 305-318.
- YOUNG, R. G., 1959. - Oxidative metabolism of Insect fat body. *Ann. ent. Soc. Am.*, 52: 567-573.



U. LAUDANI E A. GRIGOLO - Batteriociti in *Blaberus craniifer* Brunn.

