

24. Bruno VISINTIN – L'amido come fattore alimentare del *Calotermes Flavicollis*.

Le termiti, vivendo nelle parti legnose di piante vive o morte, ingeriscono con grande voracità i minuscoli frammenti che esse staccano con le loro robuste mandibole, a mano a mano che procedono nel lavoro di escavazione delle gallerie, entro il legno. Le strutture legnose dei vegetali, oltre a rappresentare un asilo particolarmente favorevole alla vita delle specie xilofaghe, costituiscono infatti il loro substrato alimentare ideale.

A questo riguardo, è utile rilevare che il legno non va considerato come semplice materiale di sostegno, costituito essenzialmente da celluloso e da lignina. Entro la cellula sono presenti le emicellulose e una serie di sostanze come: amido, zuccheri solubili, proteine, grassi, cere, alcaloidi, olii essenziali, sostanze coloranti, tanniche e gommose.

Da questo complesso di sostanze, le termiti, pur tenendo conto della preferenza che esse hanno per le parti legnose di certe piante, traggono l'alimento necessario alla loro vita.

Mentre importanti ricerche sono state eseguite in questi ultimi anni sul problema della digestione cellulosica ⁽¹⁾ ⁽²⁾ ⁽³⁾ ⁽⁴⁾, il meccanismo relativo alla utilizzazione degli altri carboidrati da parte delle termiti, non ha suscitato fin qui particolare interesse.

A scopo orientativo, ho alimentato un lotto di termiti (*Calotermes flavicollis*), per 30 giorni, su lievito fresco: in tal modo, esse subirono una parziale defaunazione, in merito alla microflora che alberga nella loro ampolla cecale e perdettero conseguentemente la facoltà di digerire il celluloso ⁽⁵⁾. Successivamente le medesime termiti vennero tenute per 44 giorni su legno di termitaio. In tal modo il corredo protistologico intestinale che, in seguito al trattamento con lievito, appariva rappresentato dalle forme piccole, si è andato arricchendo, già dopo alcuni giorni di permanenza sul legno, di un altro protozoo: la *Microrhopalodina inflata* nella caratteristica forma pedunculata (figg. 1 e 2). Tale sviluppo non aveva luogo quando invece del legno si ponevano le termiti su carta da filtro, anche se successivamente si facevano nutrire le medesime nuovamente con legno. Si è notato pure, con altri lotti

di termiti, che, alternando il digiuno con periodi in cui si alimentavano successivamente con lievito e con legno, lo sviluppo della *Microrhopalodina* non aveva più luogo.

Il modo di comportarsi di questo protozoo spiega che, per effetto della defaunazione parziale, esso non viene più alimentato dal contenuto della ampolla intestinale e trova nella successiva alimen-

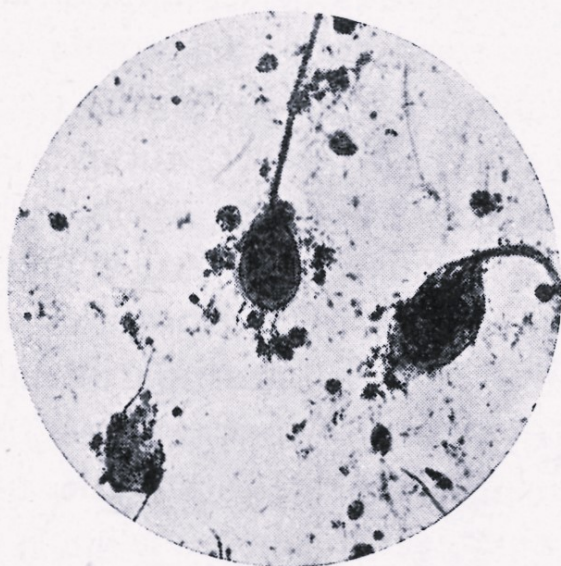


Fig. 1.

Ingr. ($\times 300$).

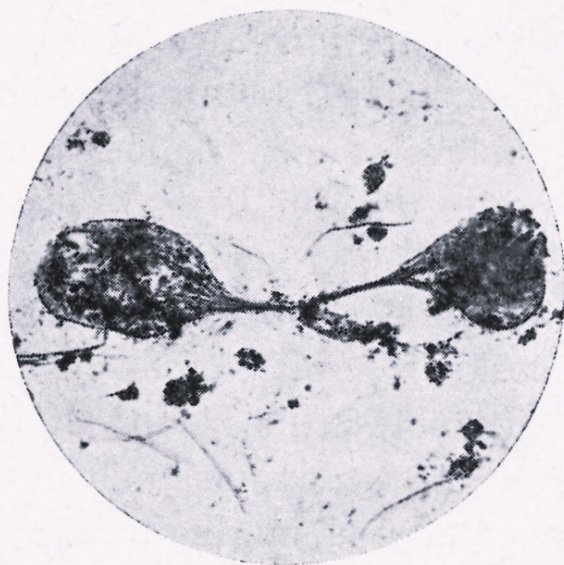


Fig. 2.

tazione con legno le condizioni particolarmente favorevoli al suo sviluppo; il che non avviene invece alimentando le termiti, parzialmente defaunate come sopra, con cellulosio il quale determina anzi la totale espulsione del protozoo dall'intestino. E questo può giustificare la impossibilità della *Microrhopalodina* di partecipare alla scissione idrolitica del cellulosio. Si può inoltre precisare che si tratta di un protozoo a sè, nel senso che non costituisce una fase del ciclo evolutivo della *Joenia annectens*.

Pur esulando dall'argomento di cui è oggetto questa comunicazione, ho ritenuto opportuno accennare al comportamento della *Microrhopalodina* che incidentalmente si è manifestato in questo ciclo di prove.

Il quoziente respiratorio, determinato mediante microrespirometro su termiti alimentate prima con lievito e successivamente con legno di termitaio, ha fornito un valore di 0,86. Termiti defaunate parzialmente con lievito fresco e fatte sostare successivamente per 9 giorni su carta da filtro, hanno fornito un valore relativo al Q.R. di 0,78. Il valore più alto del quoziente respiratorio, riscontrato nel-

le termiti del primo lotto rispetto a quello delle termiti digiunanti del secondo lotto, spiega la facoltà che esse hanno di potersi ancora nutrire con il legno, pur avendo perduto quella di digerire il celluloso; ed essendosi riscontrato in questo caso un Q.R. superiore a 0,80, una partecipazione di altri idrati di carbonio presenti nel legno è ammissibile. Questi sono essenzialmente le emicellulose, l'amido e gli zuccheri solubili.

E' noto come le emicellulose siano dei poliosi complessi che per scissione idrolitica oltre a glucosio forniscono, a seconda dei casi, mannosio, galattosio, ribosio, arabinosio. Nell'intestino degli invertebrati questi poliosi possono essere idrolizzati; tuttavia in base alle ricerche di Falck (1930) e di Ripper (1930), sembra che i pentosani non vengano utilizzati dall'organismo di detti animali.

Il processo di utilizzazione dei monosaccaridi e soprattutto del glucosio è semplice e non richiede l'intervento di fattori particolari.

In merito alla facoltà di digerire l'amido, il MONTALENTI (6) ha riscontrato un'amilasi nell'intestino medio e posteriore della termite. Per una migliore conoscenza del meccanismo di azione di questo enzima nell'intestino della termite, ho ritenuto utile eseguire delle ricerche in merito.

Per le necessarie esperienze, mi valse del *Calotermes fl.* che potei procurarmi dai tronchi di albero termitati della campagna romana. La parte di intestino che più mi interessava a questo riguardo era il mesenteron o intestino medio e l'intestino posteriore. Il mesenteron consta di un epitelio semplice a cellule di tipo unico, rinnovate dalla proliferazione dei nidi cellulari. Posteriormente esso termina assottigliandosi, per continuare in una parte dilatata, impropriamente detta ampolla cecale o rettale, la quale ospita protozoi cigliati e batteri. Tra l'intestino medio e l'ampolla, dove il lume intestinale si restringe, esistono certe spine chitinee che pare abbiano la funzione di impedire il reflusso dei protozoi nel mesenteron. L'ampolla cecale comunica poi col retto che sbocca all'esterno.

Iniziai tosto una prova di alimentazione di queste termiti mediante amido Arrow-Root: — 300 individui vennero posti entro capsula Petri, nel cui fondo avevo prima disteso uno strato di amido. Già nei primi giorni, si è notata la tendenza dei protozoi intestinali all'incistamento. Al microscopio, tanto l'intestino medio che la cavità dell'ampolla cecale, risultarono contenere granuli che, per tratta-

mento con soluzione jodo-jodurata, si coloravano in azzurro. Dopo due mesi di permanenza sull'amido, la *Joenia annectens* e la *Mesojoenia decipiens* risultarono totalmente scomparse dall'intestino delle 240 termiti ancora viventi. Continuando a nutrirsi per altri 6 mesi in queste condizioni, la massa corporea di tali individui è notevolmente diminuita: da mg 7,5 che è il peso di un *Calotermes* di media taglia, è discesa a mg 2,8. La loro dotazione in protozoi intestinali si è ridotta esclusivamente alle forme piccole. Nell'intestino di queste termiti, alimentate da ultimo, per sei giorni con carta da filtro, non si riscontrò più amido, bensì frammenti di carta da filtro ingerita.

A parte il deperimento a cui le termiti vanno incontro nel corso di queste prove dietetiche, non vi è dubbio che esse hanno potuto alimentarsi a lungo, usufruendo esclusivamente di amido.

Intrapresi quindi una serie di prove sul potere amilolitico dell'intestino di termite, operando in condizioni diverse, al fine di mettere in evidenza la tecnica più idonea.

*Determinazione del potere amilolitico sull'intestino
in toto del Calotermes*

Gli intestini di 80 individui vennero raccolti in piccolo mortaio e ridotti in poltiglia omogenea con polvere di quarzo e qualche goccia di acqua bidistillata satura di toluolo; detta poltiglia venne successivamente sospesa in cm³ 80 di acqua bidistillata satura di toluolo. Con questo liquido si apprestarono 3 cilindri in ciascuno dei quali si introdusse:

- cm³ 25 di sospensione contenente la poltiglia;
- » 15 di soluzione tampone a pH 6,6 ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$), satura di toluolo;
- » 9 di salda d'amido al 2,5% preparata di fresco;
- gocce 25 di toluolo.

Fu inoltre allestito un quarto cilindro come sopra, ma senza intestino di termite, per la prova in bianco.

Il cilindro n. 1 venne lasciato a sè per un'ora alla temperatura ambiente;

» n. 2 venne sottoposto ad agitazione per un'ora alla temperatura ambiente;

Il cilindro n. 3 venne sottoposto ad agitazione per un'ora alla temperatura ambiente e quindi filtrato;

» » n. 4 per la prova in bianco.

Dopo aver posto i quattro cilindri in termostato alla temperatura di 37° e per la durata di 36 ore, si sottopose i liquidi relativi a defecazione mediante aggiunta di idrossido di sodio e di solfato di zinco, indi si centrifugarono rapidamente e si filtrarono per carta. Saggiati con soluzione jodo-jodurata, detti liquidi diedero ancora la reazione della salda d'amido. Su cm³ 40 dei rispettivi filtrati, si determinarono gli zuccheri riduttori, aggiungendo cm³ 40 di liquido di Fehling e impiegando 4 minuti per portare il liquido all'ebollizione e altri 2 minuti per l'ebollizione. L'ossido rameoso, separatosi per l'azione riducente degli zuccheri presenti nei liquidi, venne rapidamente raccolto su filtro di porcellana porosa e dosato col metodo proposto da Intonti R. (7) e, per comodità, *i valori vennero espressi in mg di rame, dedotti dall'ossidulo, relativamente agli intestini di 20 termiti.*

Si ebbero i seguenti risultati:

Cilindro n. 1	.	.	.	.	.	mg 42
» n. 2	.	.	.	.	.	» 38
» n. 3	.	.	.	.	.	» 35
» n. 4	.	.	.	.	.	» 1

Le prove successive verranno eseguite seguendo le modalità sperimentate per la prova del cilindro n. 1.

Determinazione del potere amilolitico sull'intestino in toto del Calotermes, variando il tempo di sosta in termostato

Si sono apprestati quattro cilindri contenenti ciascuno un volume eguale della sospensione contenente la poltiglia:

Cilindro n. 1	—	sosta in termostato: 24 ore	.	.	.	mg 51
» n. 2	—	» » »	:	48	» . . .	» 92
» n. 3	—	» » »	:	72	» . . .	» 115
» n. 4	—	» » »	:	95	» . . .	» 126

Dalla differenza dei mg di rame di una prova con quelli della prova precedente, risulta che il potere amilolitico diminuisce col tempo, con buona approssimazione, secondo una progressione geometrica: 41; 23; 11. Si deduce da ciò l'opportunità di prolungare la digestione dell'amido per una durata di 24 ore.

*Determinazione del potere amilolitico
separatamente sul mesenteron e sull'intestino posteriore*

L'intestino, estratto dall'addome del *Calotermes*, venne diviso nella parte media e in quella posteriore, praticando la divisione in corrispondenza della strozzatura da cui si allarga poi la ampolla. Le due parti vennero fatte agire sulla salda d'amido, separatamente e per la durata di 48 ore, seguendo sempre il medesimo procedimento.

Prova A — intestino medio . .	mg 37,7
" posteriore "	18,9
Prova B — intestino medio . .	mg 81,0
" posteriore "	22,0

*Determinazione del potere amilolitico separatamente,
sul mesenteron e sull'intestino posteriore,
in confronto col potere amilolitico sulle due parti unite*

Gli intestini, medio e posteriore, di 63 *Calotermes* del peso complessivo di gr. 0,55, vennero ridotti separatamente in poltiglia con sabbia di quarzo e sospesi in cm³ 50 di liquido tamponato a pH 6,6, saturo di toluolo, entro due palloncini tarati. In cilindri graduati della capacità di cm³ 50 vennero apprestati i seguenti 3 liquidi:

1) cm³ 20 della sospensione di cui sopra, corrispondente all'intestino medio.

2) cm³ 20 della sospensione di cui sopra, corrispondente all'intestino posteriore.

In ciascun cilindro 1) e 2) si aggiunsero cm³ 20 di liquido tamponato.

3) cm³ 40 della sospensione risultante dalla mescolanza di cm³ 20 della sospensione corrispondente all'intestino medio e di cm³ 20 corrispondenti all'intestino posteriore.

I liquidi vennero lasciati a sè per 1 ora; quindi, in ciascun cilindro 1), 2) e 3), si introdussero cm³ 10 di salda d'amido al 2,5%, di fresco preparata e gocce 25 di toluene.

I cilindri 1), 2), 3), vennero messi in termostato alla temperatura di 37° per la durata di 48 ore, ottenendo i seguenti valori:

intestino medio	mg 35,8
» posteriore	mg 23,8
» medio + posteriore	mg 62,0

Essendo 59,6 la somma dei valori ottenuti per l'intestino medio e per quello posteriore, determinati separatamente, si riscontra una buona concordanza col valore di 62 mg che rispecchia il potere amilolitico esercitato dalle due parti dell'intestino unite.

Altre determinazioni sono state eseguite su termini normali e su quelle alimentate previamente con amido e con carta da filtro. I valori relativi sono contenuti nella tabella riassuntiva.

Prove sul potere amilolitico dell'intestino di termite

	'Termiti alimentate con legno di termitaio						'Termiti alimentate per 30 giorni con amido			'Termiti alimentate per 32 giorni con cellulosa
Intestino medio . .		37,7	81	35,8			8,4		3,5	8,4
Intestino posteriore .		18,9	22	23,8			22		7,5	9,3
Intestino medio e posteriore	92	56,6	103	62	72	74	30,4	26	11	17,7

Da un attento esame di detti valori, risulta quanto segue:

Il potere amilolitico dell'intestino in toto di termiti trattate con legno è decisamente più elevato di quello che si riscontra per

l'intestino di termiti trattate con amido o con celluloso. Inoltre per l'intestino posteriore si hanno valori bassi che tuttavia non vanno soggetti a notevoli variazioni, sottoponendo le termiti alle diverse diete. Forti sbalzi invece si registrano per l'intestino medio che vanno da un valore massimo di 81 per le termiti alimentate con legno ad un valore minimo di 3,5 per le termiti alimentate con amido.

Evidentemente la facoltà da parte delle termiti di produrre il fermento amilolitico, non è costante nel tempo. Si può tuttavia affermare che mentre con un'alimentazione idonea l'attività amilolitica dell'intestino medio si mostra in linea di massima elevata, con un'alimentazione difettosa ed incompleta tale attività risulta ancora più bassa di quella già ridotta che si riscontra per l'intestino posteriore.

Prove eseguite ripetutamente sull'intestino in toto, ma senza provvedere al tamponamento del liquido in cui si è sospesa la poltiglia degli intestini e operando per il resto come nelle prove precedenti, non hanno dato luogo a idrolisi dell'amido e quindi non si è avuta la riduzione del liquido di Fehling.

Esaminato perciò il contenuto della cavità ampollare con diverse cartine indicatrici, è risultato :

con cartina al tornasole rossa	(pH 4,4-6,4) :	reazione alcalina ;
» » » rosso neutro	(pH 6,8-8,0) :	» »
» » alla fenoftaleina	(pH 8,2-10) :	» acida

Si deduce che il liquido ampollare ha un pH compreso tra 8,0 e 8,2. Saggiata una poltiglia ottenuta con il mesenteron, si è pure riscontrata una reazione alcalina alla cartina tornasole.

Identificata l'acidità attuale del contenuto ampollare e di quello del mesenteron ridotto in poltiglia, riscontrata inoltre l'efficacia del tamponamento delle prove a pH 6,6 si può ammettere che nelle condizioni di esperienza per la determinazione dell'amilasi intestinale, si vengono a trovare nel liquido fattori atti ad inibire in maniera reversibile l'attività del fermento.

La facoltà riscontrata nel *Calotermes flavicollis* di elaborare attivamente, in condizioni normali di vita, un enzima amilolitico che esplica la sua azione soprattutto nel mesenteron, spiega l'im-

portanza che assume per la termite l'amido come principio alimentare. Si può anzi affermare che, mentre questo enzima rappresenta un fattore proprio dell'attività vitale dell'isottero, i microorganismi cellulositici che essa alberga nell'ampolla cecale devono considerarsi come fattore occasionale.

Infatti le larve giovani di *Calotermes* assumono il corredo protistologico solo quando hanno raggiunto un certo sviluppo somatico. L'infezione avviene mediante l'ingestione del cibo, oppure direttamente da individuo a individuo. D'altro canto la defaunazione può aver luogo per cause diverse.

Non a torto K. MANSOUR e J. J. MANSOUR-BEK ⁽⁸⁾ considerarono la demolizione idrolitica del celluloso, per opera dei cellulositici intestinali, come sorgente supplementare di alimento zuccherino.

Roma - Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di chimica.

RIASSUNTO

Nel sottoporre il *Calotermes flavicollis* a diete diverse, si è riscontrata la facoltà, da parte di questa termite, di utilizzare lo amido come alimento glucidico. E' stata di conseguenza eseguita una serie di determinazioni sul potere amilolitico dell'intestino, constatandovi la presenza di un'amilasi. L'attività di questo enzima presenta un certo interesse soprattutto nell'ambito dell'intestino medio.

Queste esperienze mettono in luce l'importanza che riveste l'amido come fattore alimentare delle termiti.

Nel corso di queste prove è emersa, in termiti parzialmente defaunate, un particolare comportamento della *Microrhopalodina inflata*.

RESUMÉ

Soumettant le *Calotermes Flavicollis* à des diètes différentes, on a constaté que ce termite a le pouvoir d'utiliser l'amidon comme aliment hydrocarboné. On a donc effectué une série de déterminations sur le pouvoir amylolytique de l'intestin de cet insecte et

l'on y a constaté la présence d'une amylase. L'activité de cet enzyme a un certain intérêt surtout pour ce qui concerne la partie moyenne de l'intestin.

Ces expériences mettent en évidence l'importance de l'amidon comme facteur alimentaire pour les termites.

Au cours de cette recherche on a remarqué aussi quelques aspects particuliers de la vie de la *Microrhopalodina inflata* dans des termites partiellement délivrés de leur faune intestinale.

SUMMARY

In subjecting the *Calotermes Flavicollis* to different diets, it has been observed that this termite has the power of utilizing starch as a carbohydrate food. For this reason, a series of determinations have been carried out on the amylolytic power of the intestine of this insect, in which the presence of an amylase could be ascertained. The activity of this enzyme is a matter of interest, especially when developing in the middle intestine.

These experiments afford evidence of the importance of starch as a food factor in termites.

In carrying out this investigation on termites partially freed from their intestinal fauna, a particular behaviour has been observed of the *Microrhopalodina inflata*.

ZUSAMMENFASSUNG

Wenn die *Calotermes Flavicollis* verschiedenen Diäten unterzogen werden, wird beobachtet, dass diese Termiten die Fähigkeit besitzen, die Stärke als Kohlenhydrat-Nährstoff zu verwerten. In Folge dessen wurde eine Reihe von Bestimmungen der amylolytischen Wirkung des Darms gemacht und die Gegenwart einer Amylase festgestellt. Die Aktivität dieses Enzyms weist ein gewisses Interesse, hauptsächlich für den Mitteldarm, auf.

Diese Erfahrungen legen die Bedeutung der Stärke als Nahrungsfaktor der Termiten an den Tag.

Während dieser Untersuchungen hat sich ein besonderes Verhalten der *Microrhopalodina inflata* bei Termiten gezeigt, welche zum Teil von Flagellaten befreit waren.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) MONTALENTI G. I flagellati intestinali delle termiti. *Rassegna faunistica* 1, 1 (1934).
- (²) PIERANTONI U., La simbiosi fisiologica nei termitidi xilofagi e nei loro flagellati intestinali. *Arch. Zool. It.* 22, 131 (1936).
- (³) VERONA O., BALDACCI E. Isolamento di schizomiceti cellulositici, attinomiceti, eumiceti dell'intestino delle termiti e ricerche sulla attività cellulositica degli attinomiceti. *Mycopatologia* 2 130, (1939).
- (⁴) GHIDINI G. M. Ricerche sul quoziente respiratorio nelle diverse caste di *Reticulitermes lucifugus*. *Rivista di Biol. Col.* 2, 385 (1939).
- (⁵) VISINTIN B. Ricerche sulla digestione in *Calotermes flavicollis*. *Rivista di Biol. Col.* 4, 27 (1941); *Rendiconti Ist. Sup. Sanità* 4, 394 (1941).
- (⁶) MONTALENTI G. Gli enzimi digerenti e l'assorbimento delle sostanze solubili nell'intestino delle termiti. *Arch. Zool. It.* 14, 859 (1931).
- (⁷) INTONTI R. *Ann. Chim. Appl.*, 20, 583 (1930).
- (⁸) MANSOUR K., MANSOUR-BEK J. J. *Biological Reviews* 9, 363 (1934).