

7. Sergio BETTINI e Leonardo TENTORI. — Insetti e vitamine.

I. Rivista sintetica. II. Vitamine A ed E nell'*Anopheles labranchiae* var. *atroparvus*.

Riassunto. — Nella prima parte gli AA. riportano una rivista sintetica dei lavori che si conoscono sulla vitamine in rapporto con gli insetti.

Nella seconda parte essi hanno ricercato le Vit. A ed E, con i metodi colorimetrici rispettivamente di Carr e Price e di Emmerie-Engel, nei lipidi estratti dalle larve e dagli adulti ♂ e ♀ di *Anopheles labranchiae* var. *atroparvus*. Le larve in esperimento sono state nutrite con tritello di grano.

La Vit. A è risultata assente, mentre è stata dimostrata la presenza della Vit. E nelle larve e negli adulti ♂ e ♀ dell'anofele considerato. La Vit. E dosata sul residuo insaponificabile è stata 10 volte maggiore che non quella dosata direttamente sui lipidi. Dato che il contenuto di Vit. E dei lipidi del tritello di grano, usato come nutrimento, è stato di 0,24%, mentre il contenuto di Vit. E del residuo insaponificabile dei lipidi estratti da ♀ adulte è stato di 1,23%, gli AA. suppongono che la Vit. E dosata negli anofeli sia di origine alimentare, e si accumuli nel corpo grasso degli anofeli.

Résumé. — La première partie de ce travail est une revue synthétique des travaux connus sur les vitamines par rapport aux insectes.

Dans la seconde partie, les AA. ont recherché les Vit. A et E, par les méthodes colorimétriques de Carr et Price et de Emmerie-Engel, dans les lipides extraits des larves et des adultes ♂ et ♀ d'*Anopheles labranchiae* var. *atroparvus*. Les larves ont été nourries avec du petit son.

On n'a pas trouvé de Vit. A, tandis que la Vit. E a été démontrée soit dans les larves soit dans les adultes ♂ et ♀ de l'anophèle étudié. La Vit. E dosée sur le résidu insaponifiable a été 10 fois plus que celle dosée directement sur les lipides. Étant donné que la teneur en Vit. E des lipides du petit son qu'on a employé comme nourriture a été de 0,24%, tandis que la teneur en Vit. E du résidu insaponifiable des lipides extraits des ♀ adultes été de 1,23%, les AA. supposent que la Vit. E trouvée dans les anophèles soit d'origine alimentaire et qu'elle s'accumule dans leurs corps gras.

Summary. — In the first part of this paper the AA. report a synthetic review of all known works on vitamins related to insects.

In the second part they tested for vitamins A and E, using Carr and Price, and Emmerie-Engel colorimetric methods, the lipids extracted from larvae and adults ♂ and ♀ of *A. labranchiae* var. *atroparvus*. The larvae under experiment were fed with bran of wheat.

Vitamin A was absent, while Vit. E was present in larvae and adults ♂ and ♀ of the above mentioned mosquito. The content of Vit. E, determined on the unsaponifiable matter, has been 10 times greater than that determined on the lipids extracted with ether. Since the content of Vit. E of bran lipids used as food has been 0,24%, while the content of Vit. E of lipids (unsaponifiable matter) from adults ♀ has been 1,23%, the AA. think that the Vit. E content of this mosquito may originate from larval food and may accumulate in its fat body.

Zusammenfassung. — Im ersten Teil bringen die Verfasser eine synthetische übersicht der bekannten Arbeiten über Vitamine in Beziehung auf Insekten wieder.

Im zweiten Teil haben sie die Vitamine A und E mit den kolorimetrischen Methoden von Carr und Price sowie Emmerie Engel in den aus den Larven und ausgewachsenen ♂ und ♀ *Anopheles labranchiae* var. *atroparvus* extrahierten Lipiden erforscht. Die zu untersuchenden Larven wurden mit Kleienmehl genährt.

Vit. A wurde nicht vorgefunden während Vit. E in den Larven sowie in den erwachsenen ♂ und ♀ der untersuchten *Anopheles* nachgewiesen wurde. Das in den unverseifbaren Rest dosierte Vit. E war um das 10-fache grösser als jenes, welches direkt in den Lipiden dosiert wurde. Da der Vitamin E-Gehalt in den Lipiden des Kleienmehls, welches als Nahrung verwendet wurde, 0,24% betrug, während der Vit. E-Gehalt des unverseifbaren Restes der Lipide, welche aus erwachsenen ♀ extrahiert werden, 1,23% betrug, vermuten die Verfasser, dass das in den *Anopheles* dosierte Vit. E auf die Art der Ernährung zurückzuführen sei und sich in den Fettkörper der *Anopheles* ansammelt.

I. - RIVISTA SINTETICA

Esistono nella letteratura tre gruppi di ricerche sulle Vitamine in rapporto con gli insetti. Nel primo gruppo gli autori si sono occupati delle Vitamine in generale (all'epoca in cui essi sperimentarono, difatti, poco si conosceva delle vitamine in particolare). Essi hanno cercato di stabilire se alcune diete particolari fossero indispensabili agli insetti per il loro normale sviluppo, includendo in queste diete delle sostanze ricche di alcune vitamine allora conosciute. Fanno parte di questo gruppo i lavori di Wollman (1919-1922) il quale cercò di determinare le necessità vitaminiche della *Calliphora vomitoria* sterilizzando a 130° e 134° C le diete; i lavori dello stesso A. sulla *Blatella germanica* (1926) in cui si dimostrò la possibilità di allevare 5 generazioni con uova e cibi sterili. Il Wollman quindi concluse che le vitamine non erano strettamente necessarie per lo sviluppo degli insetti.

Seguono gli studi di Zabinski (1926-28) sulla *Blatta orientalis* dai quali l'A. trasse la conclusione che non vi è un acceleramento nella crescita di questo insetto se si aggiungono al vitto cibi ricchi di vitamine quali burro, lievito, estratto di crusca o cibi irradiati.

Portier (1919) allevò larve di *Tenebrio molitor* con farina sterilizzata a 130° C e ottenne uno sviluppo uguale rispetto alle larve alimentate con farina non trattata.

Passerini (1925) trovò che le larve dello stesso coleottero non si sviluppavano con una farina privata della semola; al contrario lo sviluppo avveniva rapidamente se si aggiungeva una quantità anche piccola di crusca o di altre sostanze contenenti vitamine (tegumento di cariossidi, cicoria, lattuga, ed altri vegetali).

Un secondo gruppo più numeroso di ricercatori si è occupato delle singole vitamine (allora conosciute) come parte indispensabile del cibo degli insetti.

VITAMINE LIPOSOLUBILI

Vit. A. — Bacot e Arden (1922) sperimentarono sulla *Drosophila* nutrita con burro, e trovarono che questa mosca poteva certamente svilupparsi in presenza anche di piccolissime quantità di Vit. A se non in sua assenza.

Nel 1926 Richardson compì esperimenti molto esaurienti sulle larve di *Ephestia kuehniella* tarma del grano. Egli notò che il burro ed il tuorlo d'uovo contengono una sostanza che promuove la crescita delle larve e che l'A. ritenne essere la Vit. A.

Sweetman e Palmer (1928) riferirono che il *Tribolium* (Col.) probabilmente ha bisogno di Vit. A o di sostanze analoghe.

Kopèc (1927) dimostrò che le larve di *Lymantria dispar* nutrite di rami di piante spruzzati con crema di latte (Vit. A) producevano ninfe più piccole del normale.

Vit. D. — Non ci risulta che alcun autore si sia occupato dell'eventuale azione del fattore D contenuto negli alimenti sullo sviluppo ed accrescimento degli insetti, se si fa eccezione di Zabinski (1928) che ha esperimentato sulla *Blatta orientalis* nutrendo questi insetti con cibi irradiati, senza peraltro ottenere risultati differenti dai controlli.

Vit. E. — Anche per quanto riguarda la Vit. E non abbiamo trovato nella letteratura nessun specifico riferimento. Dobbiamo però notare che vari AA. hanno ottenuto risultati che dimostravano l'importanza per lo sviluppo degli insetti di una alimentazione contenente sostanze o estratti di sostanze che oggi sappiamo contenere una più o meno alta percentuale di Vit. E.

Le osservazioni di Emery sulle formiche (Messor) che si nutrono in natura del germe dei semi delle erbe, potrebbero oggi interpretarsi come una prova dell'importanza della Vit. E nel nutrimento di questo insetto.

E, d'altra parte, è anche da osservare che in tutte le esperienze in cui gli AA. si sono serviti della sterilizzazione degli alimenti per distruggere i fattori vitaminici, essi non hanno superato la temperatura di 140° C mentre è noto che la Vit. E è termostabile resistendo a temperature fino a 250° C (es. Wollman 1919 e Portier 1919).

Complesso Vit. B. — Passando al gruppo delle Vitamine idrosolubili, per quanto si riferisce al complesso B (contenuto nel lievito di birra), accurati ed estesi esperimenti sono stati eseguiti da Guyènot nel 1913, e particolarmente nel 1917. Questo A. adoperò come nutrimento per la *Drosophila ampelophila* varie diete sintetiche con il risultato che nessun alimento artificiale risultò completo se non quando si aggiungevano sostanze contenute nel filtrato autolisato del lievito di birra. L'A. compì

anche una serie di ricerche nell'intento di isolare la frazione attiva dall'autolisato, ma senza successo.

Interessanti sono le osservazioni di Loeb e Loeb e Northrop (1917) i quali trovarono che le larve di *Drosophila* non potevano crescere su agar-glucosio a meno che non fosse aggiunto del lievito di birra, mentre le mosche adulte si sviluppavano su agar-glucosio puro come su agar-glucosio con lievito. Ciò dimostrerebbe che l'adulto può fare a meno di vitamine che sono invece necessarie per lo sviluppo della larva.

Della stessa *Drosophila* (1922) si sono occupati Bacot e Harden che conclusero che questo insetto richiede per il suo sviluppo completo la presenza di Vit. B (lievito) nella stessa dieta.

Chapman (1924) notò che la Vit. B somministrata al *Tribolium confusum*, in aggiunta a destrina, sali, amido, glutine e germe di grano non produceva alcuna variazione dell'accrescimento dell'insetto nei confronti dell'alimentazione normale.

Richardson (1926) in una serie di esperimenti sulle larve di *Ephestia kuehniella*, aventi per scopo l'isolamento dei principi attivi necessari allo sviluppo di queste larve trovò che la farina molto raffinata produceva un accrescimento considerevolmente maggiore se si aggiungeva estratto alcolico di lievito di birra, deducendo perciò che lo scarso potere di accrescimento della farina risiede, almeno in parte, nel suo basso contenuto di Vit. B. L'A. in base a queste ricerche è arrivato alla conclusione che la quantità di Vit. B necessaria per la crescita normale dell'*Ephestia*, sembra essere contenuta, seppure non intieramente, nell'embrione del grano.

Mentre l'Abderhalden (1919) aveva ottenuto delle ninfe molto sviluppate di *Deilephila euphorbiae* nutrendole con piante irrorate con estratto di lievito, al contrario Kopèc (1927) osservò che somministrando a larve di *Lymantria dispar* estratto acquoso di cuticola di grano, si sviluppavano ninfe più piccole del normale.

Ashner e Ries (1933) dimostrarono che il *Pediculus* privato dei « micetomi » (gruppi speciali di cellule pieni di microrganismi probabilmente simbiotici) viene ad essere menomato nelle sue funzioni di nutrizione e di riproduzione e che questa menomazione può essere, in parte almeno, neutralizzata dall'aggiunta di lievito di birra alla dieta.

Nella letteratura più recente si trovano AA. che cominciano a parlare non più del complesso B come tale ma dei singoli fattori.

Vit. B₁. — Hobson (1933) infatti, che ha sperimentato su *Lucilia*, è arrivato alla conclusione che i batteri e il lievito forniscono una vitamina (appartenente al gruppo B) presente nella sostanza cerebrale e non nei muscoli dei vertebrati e che permette lo sviluppo delle larve. Egli provò inoltre che il sangue sterile si dimostra insufficiente e che per un normale accrescimento è necessario aggiungere la vitamina B₁.

Vit. B₂. — Ultimamente Grandori (1940) ha ottenuto un aumento di peso delle larve di bachi da seta in confronto con i controlli spruzzando foglie di gelso con Lattoflavina (*Vit. B₂*) in soluzione.

Ma le ricerche più complete sono state eseguite da Tatum nel 1941. Egli dimostrò che larve di *Drosophila* allevate sterilmente su mezzo di agar contenente aminoacidi, carboidrati, sali ed alcune vitamine, hanno bisogno altresì per la crescita e lo sviluppo completo di tre distinte frazioni del lievito.

Frazione I insolubile in acqua ed alcool: residuo dell'autolisato del lievito.

Frazione II solubile in acqua: estratto alcoolico di lievito di birra secco.

Frazione III solubile in acqua: precipitato con idrato di bario ed alcool degli estratti di lievito.

Gli effetti, sulla nutrizione delle larve di *Drosophila*, di varie combinazioni di queste frazioni sono:

Frazioni I, II, III, separatamente: nessuna crescita.

» I + II oppure I + III: pupazione senza successivo sviluppo.

» I + II + III: sviluppo normale.

Il lavoro di Tatum stabilisce che una combinazione di acido nicotico, Vit. B₁, B₆ ed acido pantotenico rimpiazza completamente la frazione II.

Questi risultati concordano con quelli di Subba Row e Trager (1940) sulle larve di zanzare.

Ancora più recentemente Goldberg, De Meillon e Lavoipierre (1945) durante studi su fattori di crescita per la *Aedes aegypti* L. trovarono che l'acido folico era necessario per la trasformazione in ninfe.

Vit. C. — Riguardo questa vitamina, Bacot e Harden (1922) notarono che la *Drosophila* non ha bisogno, per completare il suo sviluppo, di Vitamina C, e la stessa constatazione fu fatta da Sweetman e Palmer (1928) sul *Tribolium* (Col).

Un terzo gruppo di ricercatori infine ha voluto stabilire i rapporti fra il contenuto in singole vitamine degli insetti stessi.

In questo campo sono a nostra conoscenza solo i lavori sui bachi da seta in rapporto con la Vit. C di De Caro e Rovida e di Manunta nonchè il lavoro di Franceschini sul contenuto di Vit. A dello stesso insetto.

De Caro e Rovida (1939) stabilirono che la quantità maggiore di Vit. C per grammo, nei bachi da seta, coincideva con i periodi di più intenso nutrimento (0,3-0,4 mg di acido ascorbico per g di insetto), ma notarono anche che le uova contenevano 0,12 mg di acido ascorbico per g. Gli AA. inoltre riscontrarono che la ghiandola della seta è costantemente ricchissima di Vit. C (0,7 mg per g). Il contenuto di acido ascorbico nell'uovo dello stesso insetto è stato studiato anche dalla Manunta (1940) la quale, usando il metodo del « dibromofenolindofenolo » rilevò un aumento dal terzo al nono giorno di sviluppo, dopo il quale si aveva una improvvisa caduta. Sia De Caro e Rovida che la Manunta, ammettono che la vitamina C possa essere, sebbene in piccolissima quantità, sintetizzata dal baco e dal suo embrione.

Infine Franceschini (1939) ha dosato il contenuto di Vit. A nelle larve di due razze di baco da seta, a sangue giallo ed a sangue bianco. Secondo l'A. le larve della prima razza contengono 12-14 volte maggiore quantità di Vit. A nei tessuti che non le larve a sangue bianco. Il contenuto di beta-carotene della foglia fresca di gelso è stato di 1,7 mg per kg.

Lo scopo dei diversi AA. nelle ricerche di cui abbiamo riferito è stato quello di voler accertare se qualche fattore oligodinamico vitaminico o di altra natura fosse indispensabile per la vita e sviluppo dei singoli insetti oppure che fosse capace di stimolare il loro accrescimento.

Essi si sono trovati naturalmente di fronte alla difficoltà di eliminare la possibilità di un apporto di questi fattori, indipendentemente dall'introduzione insieme al nutrimento, per mezzo di organismi unicellulari (simbionti, ecc.) presenti nel tubo digerente o nelle speciali cellule dette « micetomi ».

Gli AA. hanno cercato di eliminare questi organismi sterilizzando i cibi, i terreni di coltura, le uova e perfino le larve; malgrado ciò è rimasto sempre il dubbio che batteri e simbionti non fossero del tutto distrutti e che essi potessero fornire con la loro presenza una probabile, quanto discussa sorgente di fattori ad azione vitaminica.

Wigglesworth difatti nota che i simbionti possono costituire una sorgente endogena di vitamina, e così permettere ad insetti quali *Cimex*, *Glossina* e mosche pupipare che non si cibano durante la loro vita altro che di sangue sterile, di poter vivere e crescere normalmente. Difatti è stato dimostrato sperimentalmente che, se il pidocchio viene privato del suo « micetoma » e dei suoi simbionti, lo sviluppo e la riproduzione vengono altamente menomati, e che questa alterazione può essere neutralizzata, almeno in parte, con l'aggiunta alla dieta di estratti di lievito.

E' da notare che nessuno dei ricercatori ha mai affrontato questo quesito problema delle vitamine dal punto di vista di una eventuale loro azione su altre condizioni di vita quale per esempio l'ibernamento.

II. - VITAMINE A ED E NELL'*Anopheles labranchiae* var. *atroparvus*

Come parte di una serie di lavori sui corpi grassi degli insetti (Culicidi) abbiamo voluto accertare l'eventuale presenza di vitamine liposolubili in questi materiali di riserva.

Ci siamo serviti come materiale di esame di larve di adulti di *Anopheles labranchiae* var. *atroparvus* allevati in laboratorio. Le condizioni di allevamento sono state le seguenti:

Periodo nel quale sono stati raccolti gli adulti: 10 agosto 1946-30 settembre 1946.

Temperatura media durante il suddetto periodo: 28° C.

Umidità media: 78%.

Le larve sono state allevate in bacinelle di terra cotta usate di continuo per l'uopo e perciò ricoperte all'interno di uno strato spesso di alghe verdi. Il nutrimento è stato sempre tritello di grano piuttosto povero in contenuto di amido, di un'unica provenienza. L'acqua non è stata mai cambiata ma solo mantenuta ad un livello costante con aggiunte periodiche, ed è stata sempre limpida.

Le alate sono state uccise con vapori di cloroformio nello stesso giorno della chiusura di modo che i materiali di riserva erano costituiti sia da quelli immagazzinati dalla larva, tolta quella parte consumata durante la ninfosi, sia da quelli eventualmente sintetizzati in seguito alla istolisi dei muscoli larvali.

Abbiamo compiuto le estrazioni della parte lipidica sulle alate in toto.

In quanto alle larve, le abbiamo prelevate al 4° stadio in procinto di diventare ninfe durante il periodo dal 23 novembre 1946 al 30 gennaio 1947.

Abbiamo privato ogni larva delle seguenti parti: porzione caudale dell'addome, comprendente il 6° segmento, sede costante delle gonadi; tubo digerente comprese i ciechi; la membrana peritrofica con tutto il contenuto alimentare; per cui il materiale di estrazione per le esperienze nel caso delle larve, era formato esclusivamente dai corpi grassi, muscoli, tegumento, e parti trascurabili del sistema nervoso, tracheale, ecc.

Abbiamo dovuto limitare il numero delle determinazioni al materiale che è stato possibile raccogliere dall'allevamento nei periodi suindicati.

TECNICA DELLE ESTRAZIONI

Accenniamo brevemente alle modalità tecniche seguite per la estrazione dei lipidi su cui abbiamo ricercato le vitamine.

Gli adulti delle larve dopo il prelevamento sono stati posti in essiccatori da vuoto e tenuti in ghiacciaia alla temperatura costante di -5°C dopo avere praticato il vuoto e poi immesso azoto.

Le prove sotto descritte sono state eseguite su materiale perfettamente essiccato e su di un numero conosciuto di adulti e di larve dopo averne accertato il peso. Il materiale è stato triturato con sabbia di quarzo, quindi posto, in un piccolo ditale estrattore in Soxhlet. L'estrazione con etere solforico, privo di perossidi è stata prolungata per quattro ore. L'etere è stato evaporato nel vuoto a bassa temperatura, e sul residuo pesato sono state eseguite le determinazioni. In un solo caso abbiamo eseguito la determinazione sul residuo insaponificabile dei lipidi di alate femmine.

La prima vitamina che abbiamo presa in considerazione è stata la vitamina A. Le prove qualitative sono state eseguite secondo il metodo colorimetrico di Carr e Price sui lipidi estratti.

Si è sciolto il grasso in 1 cm³ di cloroformio anidro e si sono aggiunti 3 cm³ di reattivo di Carr e Price (soluzione satura di tricloruro di antimonio in cloroformio anidro).

In un secondo tempo, dopo avere accertata la assenza di vitamina A e di sostanze carotinoidi, abbiamo ricercato qualitativamente e quantitativamente la vitamina E secondo il metodo colorimetrico di Emmerie e Engel anche questa volta direttamente sui lipidi estratti eccetto in una ultima prova nella quale la determinazione, come già accennato, è stata eseguita sul residuo insaponificabile.

La vitamina veniva estratta dai lipidi con alcool assoluto, quindi si centrifugava ed il liquido limpido si versava in un palloncino tarato da 25 cm³. In camera oscura si aggiungevano prima cm³ 1 di cloruro ferrico (soluzione in alcool etilico assoluto al 0,2%) e poi cm³ 1 di alfa-dipiridile (soluzione in alcool etilico assoluto al 0,5%) si portava a volume a cm³ 25 con alcool assoluto. La lettura si faceva dopo 10 minuti al fotometro di Zeiss Pulfrich usando vaschette da 1 cm³ e filtro S50.

Il fattore di estinzione E) del colore dell'alfa-tocoferolo puro con il reattivo può essere dato dalla seguente formula:

$$E \frac{100\gamma}{1 \text{ cm.}} 25 \text{ cm}^3 = 0,146$$

Per la saponificazione abbiamo seguito il seguente procedimento: I lipidi ottenuti venivano trattati con 2 cm³ di KOH sol. 2N in alcool metilico assoluto in b. m. per 10' alla temperatura di 75° C in palloncino con refrigerante a ricadere. Al termine della saponificazione si aggiungevano 8 cm³ di alcool metilico assoluto e 10 cm³ di acqua distillata. In imbuto separatore si estraevano 3 volte con 30 cm³ di etere prico di perossidi. Gli estratti eterici riuniti venivano lavati con acqua, poi con soluzione di KOH al 2%, e quindi nuovamente con acqua fino a reazione neutra. L'estratto eterico veniva quindi essiccato su solfato di sodio calcinato. Evaporato l'etere nel vuoto, il residuo veniva raccolto con una piccola quantità di alcool assoluto per 3 volte e versato in un palloncino tarato di 25 cm³.

In un terzo tempo abbiamo eseguito determinazioni della Vit. A e della Vit. E sul tritello di grano usato per l'alimentazione.

I risultati dei nostri esperimenti sono riassunti nella tabella seguente.

TABELLA I.

Num. adulti	Peso	Peso dei lipidi estratti	Determinazione qualitativa Vit. A
496 ♀	g 0,6522	g 0,0610	assente
396 ♀	» 0,3567	» 0,0402	»
300 ♀	» 0,1438	» 0,0491	»
300 ♂	» 0,0953	» 0,0102	»

TABELLA II.

Num. adulti	Peso	Peso dei lipidi estratti	Determinazione quantit. Vit. E	% Vit. E sui lipidi
300 ♀	g 0,1464	g 0,0591	γ 58,45	0,098
300 ♀	» 0,1446	» 0,0482	γ 54,79	0,11
300 ♀	» 0,1458	» 0,0386	γ 56,80	0,14
300 ♂	» 0,0876	» 0,0128	assente	—
1500 ♂	» 0,5412	» 0,0456	γ 68,49	0,15
300 ♂	» 0,1441	» 0,0470	γ 582 ⁽¹⁾	1,23
Num. larve				
300	—	» 0,0244	γ 20,50	0,08
1000	—	» 0,0510	γ 102,74	0,20

⁽¹⁾ La determinazione in questo caso è stata eseguita sul residuo insaponificabile del grasso estratto.

TABELLA III.

Tritello di grano essiccato	Lipidi estratti	Determinazione vitamine	% Vit. E sui lipidi
g 5,0032	g 0,1011	Vit. A qualitativamente assente	—
» 5,1710	» 0,1176	Vit. E = γ287	0,24

DISCUSSIONE

Premesso che il numero delle prove è insufficiente per potere interpretare i fatti osservati, ci limitiamo a fare alcune considerazioni sui risultati ottenuti.

Tabella I. — La determinazione qualitativa della Vit. A in 3 prove con adulti femmine ed in una prova con adulti maschi, ha dato sempre risultati negativi.

Tabella II. — Partendo da un numero fisso di adulti femmine (300), da cui si estraeva una quantità di lipidi pressochè uguale, abbiamo trovato un contenuto medio di vit. E all'incirca costante, γ 56,68, e cioè 0,116% sul grasso. Nel solo caso in cui la determinazione è stata eseguita

sul residuo insaponificabile dei lipidi estratti, abbiamo ottenuto una quantità di vit. E considerevolmente superiore, circa 10 volte (1,23%). Per spiegare il differente risultato ottenuto sui lipidi estratti con etere da quello ottenuto sulla frazione insaponificabile di essi, si può pensare che la vitamina E presente nei lipidi, sia in parte legata a sostanze che le impediscono di essere individuata.

La quantità dei lipidi ricavata da 300 maschi è stata di molto inferiore (g 0,0128) a quella ricavata dallo stesso numero di femmine per cui abbiamo ripetuto la determinazione su 1500 adulti femmine che ci hanno fornito g 0,0456 di lipidi, con un contenuto di vit. E di γ 68,49, e cioè un % (0,15) sui lipidi estratti pressochè uguale al % di vit. E determinato sui lipidi delle femmine adulte.

I dosaggi sui lipidi delle larve hanno dato risultati assai differenti che, data la scarsità di materiale a disposizione non è stato possibile chiarire: 20,50 γ (0,08%) di vit. E su un primo lotto di 300 larve e poi 102,70 γ (0,20%) di vit. E su un secondo di 1000 larve. Tuttavia i dati sono qui riferiti perchè comunque essi indicano la presenza di vit. E nelle larve.

Tabella III. — Mentre la vit. A assente dai lipidi estratti dal tritello di grano, la determinazione quantitativa della vit. E sul grasso estratto dallo stesso tritello ha dato un contenuto di 0,24%.

Poichè il contenuto di vit. E nel germe del grano è uguale sia dosandolo sui lipidi estratti come tale sia sul residuo insaponificabile, risulta che il % di vit. E nel residuo insaponificabile degli adulti femmine è 5 volte maggiore di quello del tritello di grano. Questo farebbe pensare ad un accumulo di vit. E nel corpo dell'insetto in seguito alla combustione dei grassi ai fini energetici e ad un deposito della vitamina non utilizzata.

La provenienza della vit. E sembrerebbe quella alimentare se consideriamo che il tritello di grano, su cui le larve si sono nutrite, ne è ricco.

Avendo escluso dalle estrazioni tutti quegli organi larvali che potevano contenere una più o meno alta quantità di vitamine, ed il cibo contenente vitamine, e considerando che gli adulti esaminati non si erano ancora nutriti, possiamo giustamente pensare che sia il grasso contenuto nel corpo adiposo il veicolo di questa vitamina. A meno che non si voglia pensare che tutta la vitamina o parte di essa sia presente nei muscoli larvali, nel qual caso essa verrebbe liberata durante l'istolisi dei muscoli larvali.

Come questa nella larva passi attraverso le pareti del tubo digerente e come essa venga deposta nel corpo grasso, o eventualmente nei muscoli, non siamo ancora in grado di precisare.

CONCLUSIONI

1) La vit. A non è presente nei lipidi estratti da adulti maschi e femmine di *A. labranchiae* var. *atroparvus*.

2) La vit. E è presente nei lipidi estratti da adulti maschi e femmine, e da larve dello stesso anofele. La quantità % media di vit. E è di 0,116. Nel caso della determinazione eseguita sul residuo insaponificabile dei lipidi estratti da femmine adulte il % è stato di 10 volte circa più elevato, e cioè 1,23%.

3) Il contenuto di vit. E del tritello di grano dato come nutrimento alle larve in esperimento è stato di 0,24%, mentre la Vit. A è risultata assente.

4) Questi dati farebbero pensare ad un accumulo di vit. E di origine alimentare nel corpo grasso degli anofeli.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di malariologia e Laboratorio di biologia. 30 luglio 1947.

Nota. — Ringraziamo il dott. G. Pruner che ci ha consigliato il metodo per la determinazione della Vit. E e che ha collaborato con noi per la lettura al fotometro di Pulfrich.

BIBLIOGRAFIA

- K. ABDERHALDEN, Arch. ges. Physiol., 176, 236-262 (1919) (da Uvarov).
M. ASCHNER e E. RIES, Z. Morph. Oehol. Tiere, 26, 529-590 (1933) (da Wigglesworth.)
A. W. BACOT e A. HARDEN, Biochem. J., 16, 148-152 (1922) (da Uvarov).
CARR e PRICE, Biochem. J., 20, 497 (1926).
R. N. CHAPMAN, J. Gener. Physiol., 6, 565-585 (1924) (da Uvarov).
L. DE CARO e E. ROVIDA, Quad. della Nutriz., 6, 91 (1939).
C. EMERY, Rendic. Acad. Sci. Bologna, 16, 107-117 (1912) (da Uvarov).
A. EMMERIE e CHR. ENGEL, Zeitschrift f. Vit., 13, 259 (1943).
J. FRANCESCHINI, Quad. della Nutr., 6, 87 (1939).
GOLDBERG, DE MAILLON e LAVOPIERRE, J. Exper. Biol., 21, 90 (1945).
L. GRANDORI e R. GRANDORI, Ric. Sci. Prog. tecn. Econom. Naz., 11, 175-178 (1940).
E. GUYÉNOT, C. R. Soc. Biol., 74, 97, 178, 223, 270, 332, 389, 443 (1913) (da Uvarov).
E. GUYÉNOT, Bull. Biol. Belg., 51, 1-330 (1917) (da Uvarov).

- R. P. HOBSON, *Biochem. J.*, 27, 1899-1909 (1933) (da Wigglesworth).
S. KOPEC, *Biologia Generalis*, 3, 375-384 (1927) (da Uvarov).
J. LOEB, *Science*, 41, 169-170 (1915).
J. LOEB, Northrop J. H., *J. Biol. Chem.*, 27, 309-312 (1916) (da Uvarov).
C. MANUNTA, *Studi Sassar.*, 18, 91-94 (1940).
N. PASSERINI, *Atti Acad. Lincei, Rendic.* [6], 1, 58-59 (1925) (da Uvarov).
P. PORTIER, loco citato, 82, 59-60 (1919).
CH. H. RICHARDSON, *J. Agric. Res.*, 32, 895-929 (1926).
SUBBA ROW e TRAGER, *J. Gen. Physiol.*, 23, 561 (1940).
M. D. SWEETMAN e L. S. PALMER, *J. Biol. Chem.*, 77, 33-52 (1928) (da Wigglesworth).
TATUM, *Proc. Nat. Ac. Sc.*, 27, 193 (1941).
B. P. UVAROV, *Trans. Entom. Soc. London*, 76, 314-318 (1929).
V. B. WIGGLESWORTH, *Insect Physiology*, Methuen e Co. Lid., London (1934).
E. WOLLMAN, *C. R. Soc. Biol.*, 82, 593-594 (1919) (da Uvarov).
E. WOLLMAN, *C. R. Soc. Biol.*, 82, 1208-1210 (1919) (da Uvarov).
E. WOLLMAN, *Ann. Ist. Pasteur*, 36, 784-788 (1922) (da Uvarov).
E. WOLLMAN, *C. R. Soc. Biol.*, 95, 165-165 (1926) (da Uvarov).
J. ZABINSKI, *C. R. Soc. Biol.*, 94, 545-548 (1926) (da Uvarov).
J. ZABINSKI, loco citato, 98, 73-77 (1928).
J. ZABINSKI, loco citato, 98, 78-80 (1928).
-