

L'importanza delle papille rettali dell'"Apis mellifica L. ligustica Spin." nell'assorbimento di sostanze grasse.⁽¹⁾

Per quanto si riferisce alle citazioni bibliografiche relative ai numerosi Autori che hanno studiato la morfologia, la struttura istologica e le probabili funzioni delle papille rettali degli Insetti, rimando ad un mio precedente lavoro ⁽²⁾.

Le ricerche da me allora condotte mi consentirono di dimostrare che le papille rettali dell'Ape mellifica servono, non soltanto, come era stato dimostrato da WIGGLESWORTH ⁽³⁾ e da LOTMAR ⁽⁴⁾, all'assorbimento dell'acqua e di sostanze ferrose, ma anche di sali, in particolare del cloruro di sodio.

Poichè nel corso di queste mie prime osservazioni ho avuto modo di rilevare come le papille rettali in questi insetti presentino una struttura delle più complesse tra quelle fino ad oggi riscontrate, mi sono domandata se questi organi non fossero dedicati, oltre alle funzioni su accennate, anche a quella di assorbire, dal contenuto rettale e dall'emolinfa, altre sostanze nutritive. Mi hanno condotto ad una tale ipotesi le ricerche compiute da vari AA. sul normale assorbimento delle sostanze nutritive negli Insetti, ed in particolare il fatto che, secondo alcuni sperimentatori, il tratto rettale dell'intestino posteriore sarebbe interessato all'assorbimento delle sostanze a più lento lavoro dialitico, come ad esempio i prodotti derivati dalla scomposizione od emulsione dei grassi (BERLESE ⁽⁵⁾). Nel caso specifico delle Api

⁽¹⁾ Ringrazio il Chiar.mo Prof. GUIDO GRANDI per avere accolto questo mio lavoro nel « Bollettino » dell'Istituto da Lui diretto, in considerazione dei continui rapporti di studio che legano i nostri due Istituti.

⁽²⁾ Vecchi M. A. (1955) - *Struttura e funzione delle papille rettali nella Apis mellifica L. Spin.* - Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna; Vol. XXI, (43-60).

⁽³⁾ Wigglesworth V. B. (1932) - *On the function of the so-called « Rectal-Glands » of Insects.* - Quart. Journ. Micr. Sci., 297, (131-150), London.

⁽⁴⁾ Lotmar R. (1938) - *Untersuchungen über den Eisenstoffwechsel der Insekten, besonders der Honigbiene* - Rev. Suisse Zool., 45; 237-271.

⁽⁵⁾ Berlese A. (1909) - *Gli insetti* - Milano, 1909.

PETERSEN ⁽¹⁾, TRAPPMANN ⁽²⁾, LOTMAR ⁽³⁾ ed altri ancora, avevano da tempo posta in luce la presenza, nella zona marginale delle papille rettali, di inclusioni granulose, senza però attribuire loro una ben definita origine. Sono stata inoltre indotta ad indagare nel senso ora accennato considerando che, in determinati periodi dell'anno, e precisamente quando il polline scarseggia



FIG. I.

Papilla rettale di *Apis mellifica*, alimentata per 15 giorni con soluzione zuccherina e Lievitan VB. — Sezione trasversale. Colorazione con Azan. Ing. 240. — a). Inclusioni intensamente colorate in corrispondenza delle zone marginali.

zone marginali delle papille rettali di Api sottoposte ad alimentazione con Lievitan VB ⁽⁵⁾ la presenza costante di inclusioni (fig. 1). Poichè queste

nell'alveare e nella flora visitata dalle Api, gli apicoltori usano somministrare alle Api dei succedanei. Tali prodotti introdotti già da un certo tempo nella dietetica delle Api, hanno formato oggetto di studi e ricerche da parte di molti AA. Secondo le recenti osservazioni di GONTARSKY ⁽⁴⁾ la somministrazione di particolari lieviti (per esempio del Waldhof Höselhefe) porterebbe ad un aumento notevole del contenuto in azoto e lipoidi della testa e dell'addome delle Api.

Inoltre già da alcune osservazioni da me condotte a scopo tutt'affatto preliminare, mi fu dato di vedere nelle

⁽¹⁾ Petersen H. (1912) — *Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung*. 5. *Die Verdauung der Honigbiene*. Pflügers Arch. ges. Physiol. 145.

⁽²⁾ Trappmann W. (1923) — *Die Rectal-drüsen von Apis mellifica L.* Archiv. Bienenkunde, 5 (213-220).

⁽³⁾ Lotmar R. (1945) — *Die Metamorphose des Bienendarmes (Apis mellifica)*. Beihefte z. Schweiz. Bienen-Ztg., 10, (443-506).

⁽⁴⁾ Gontarsky H. (1954) — *Untersuchungen über die Verwertung von Pollen und Hefe zur Brutpflege der Honigbiene*. Zeit. für Bienenforsch., Bd. 2, Heft 6, (161-180).

⁽⁵⁾ Tale lievito è prodotto nei Laboratori del Gruppo « Eridania », utilizzando ceppi di *Saccharomyces*, e messo in vendita dalla Soc. per Az. « Ligure Lombarda ».

inclusioni si presentavano in notevole quantità, tale da non poter essere attribuite, a mio avviso, ad accumulo di sostanze ferrose o di cloruro di sodio, soprattutto tenuto conto del breve periodo di somministrazione del Lievitan VB, pensai potessero essere di altra natura. Per le ragioni suddette ho ritenuto utile ripetere le osservazioni preliminari onde poter stabilire, su basi concrete, se effettivamente le papille rettali fossero direttamente interessate o meno nell'assorbimento di sostanze grasse.

* * *

Le prove sperimentali sono state da me compiute su Api ligustiche allevate, per l'intero periodo di osservazione, in arnie sperimentali e sottoposte a tre tipi di alimento. Alle Api di una arnietta (arnia di controllo) ho somministrato la sola soluzione zuccherina al 90%; le Api delle altre due arnie (arnie di esperimento) sono state invece alimentate, una con soluzione zuccherina al

40% contenente, nella proporzione del 10%, il Lievitan VB, l'altra con un impasto di miele e burro in parti eguali. Poichè, dalle prime osservazioni da me condotte ebbi modo di rilevare come la sola e costante somministrazione dell'impasto suddetto provocasse rapidamente la morte delle Api, ho allora alternato tale alimento con una soluzione zuccherina al 90%.

La prova ha avuto la durata di 21 giorni ed i controlli istologici ed istochimici sono stati da me compiuti, sulle Api delle arnie di controllo e di esperimento, al 6°, 12° e 21° giorno.

Per controllare se effettivamente le papille rettali fossero in grado di assorbire sostanze grasse, mi sono valsa della comune tecnica della fissazione con acido osmico (tetrossido di osmio) in soluzione all'1%. Il tetrossido di osmio, riducendosi in seno alle sostanze lipidiche, le colora in nero rendendole, in tal modo, evidenti.

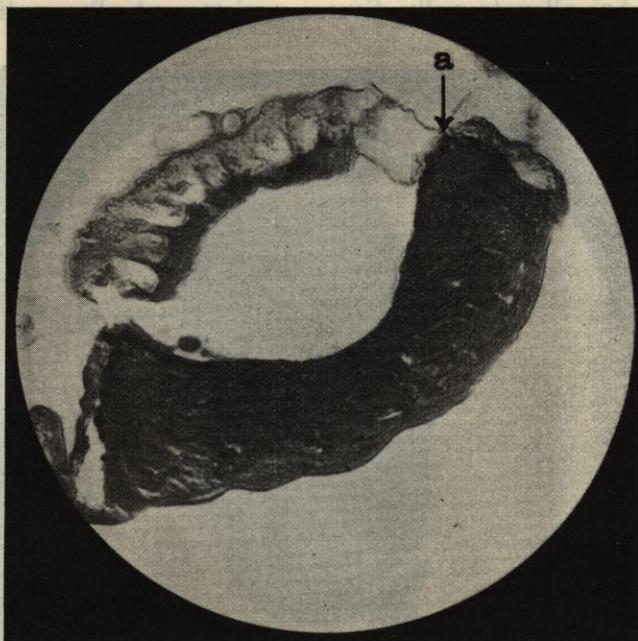


FIG. II.

Papilla rettale di Apis mellifica, alimentata, per 12 giorni, alternatamente con soluzione zuccherina ed impasto di burro e miele. — Sezione trasversale. Fiss. in ac. osmico. Ing. 450. — a) Masserelle brune evidenti in corrispondenza delle zone marginali.

Trattandosi di una reazione ottima soprattutto per uno studio morfologico, più che istochimico, in quanto non esclusivamente specifica per le sostanze grasse, ho ritenuto opportuno eseguire, parallelamente, altri esami comparativi, usando quali coloranti delle sezioni istologiche, il Soudan III ed il nero Soudan B, che sappiamo essere specifici per i grassi.

All'esame istologico ed istochimico, effettuato nel 6° giorno, sul retto di Api allevate nelle diverse arnie, ed alle quali erano stati somministrati

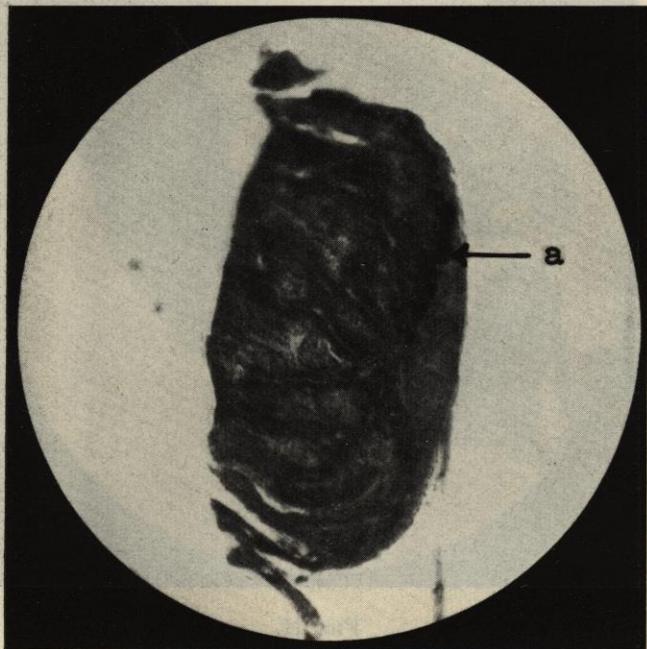


FIG. III.

Papilla rettale di *Apis mellifica*, alimentata, per 12 giorni, con soluzione zuccherina e Lievitan VB. — Sezione trasversale. Fiss. in ac. osmico. Ing. 615. — a) Masserelle brune in corrispondenza delle zone marginali.

gli alimenti ora ricordati, non si notò nessuna inclusione, nè alcuna modificazione in corrispondenza delle zone marginali e nell'aspetto generale dell'intera papilla.

La comparsa delle prime inclusioni di sostanze grasse fu da me rilevata soltanto nel 12° giorno dall'inizio delle prove.

Si trattava di papille rettali di Api alimentate, a periodi alterni, con impasto di burro e miele e con soluzione zuccherina (fig. 2).

Nelle Api alimentate, per un eguale periodo di tempo, con la soluzione zuccherina contenente Lievitan VB, tali inclusioni erano meno evidenti e, soprattutto, meno costanti. Infatti solo in qualche caso mi fu possibile rilevare la presenza di piccole masserelle brune disposte in corrispondenza delle zone marginali delle papille rettali (fig. 3). Nella maggior parte dei casi invece il plasma cellulare delle papille appariva di una tinta omogenea, di colore marrone scuro, molto più intenso di quello delle papille rettali delle Api sottoposte ad alimentazione contenente impasto di burro e miele. Infine, in corrispondenza delle zone marginali delle papille rettali di Api alimentate, per 12 giorni, con semplice soluzione zuccherina, la presenza di inclusioni brune, alla prova con acido osmico, era pressochè irrilevante. Infatti in corrispondenza di queste zone erano visibili solo granuli scuri, distribuiti sporadicamente in modo da formare, lungo la parete cilindrica della papilla stessa, un sottile strato discontinuo (fig. 4).

Al controllo eseguito nel 21° giorno, i depositi di sostanze grasse sono risultati costantemente presenti sia nelle papille rettali di Api alimentate con soluzione zuccherina semplice, sia in quelle di Api nutrite, a giorni alterni, con soluzione zuccherina ed impasto di burro e miele. In queste papille l'accumulo di sostanza grassa era evidentemente aumentato in misura graduale fino ad assumere, il più delle volte, l'aspetto di uno strato compatto e continuo (figg. 5 e 6).

Nelle Api alimentate con soluzione zuccherina contenente Lievitan VB non mi fu invece possibile eseguire alcun accertamento, perchè le papille rettali, che già nel 12° giorno avevano, nella prova con acido osmico, assunto un colore marrone scuro, nel 21° giorno erano colorate così intensamente da rendere impossibile qualsiasi osservazione e, in modo particolare, il reperimento di eventuali inclusioni nel plasma cellulare. Tuttavia in sezioni istologiche normali, colorate con Sudan III o con nero Sudan B, mi fu possibile osservare delle inclusioni e attribuirle ad accumulo di sostanze grasse,

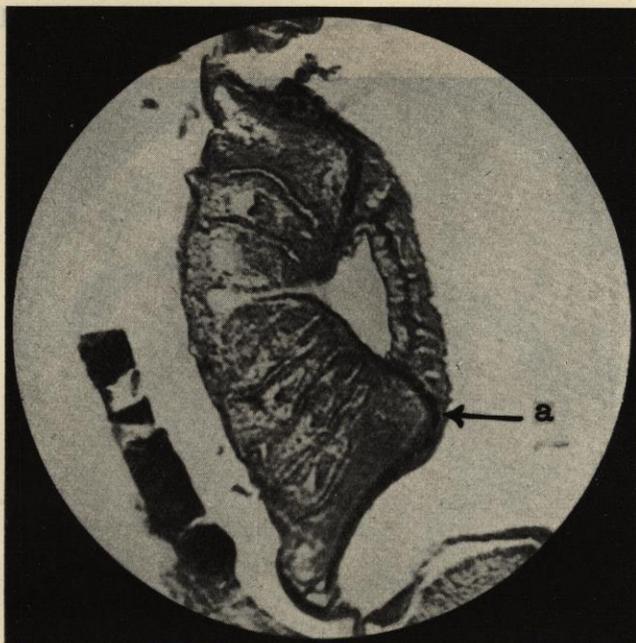


FIG. IV.

Papilla rettale di *Apis mellifica*, alimentata, per 12 giorni, con semplice soluzione zuccherina. — Sezione trasversale. Fiss. in ac. osmico. Ing. 450. — a) Granuli bruni, distinti, rinvenibili in corrispondenza delle zone marginali.

in quanto esse erano molto più intensamente colorate del rimanente plasma cellulare, il quale aveva però anche esso subito una leggera colorazione (fig. 7) e ciò a differenza delle papille rettali delle Api sottoposte agli altri due regimi dietetici, nelle quali soltanto le inclusioni delle zone marginali risultavano colorate.

A volte infine ho avuto modo di rilevare, nei diversi casi esaminati, una presenza continua di precipitato bruno, non solo in corrispondenza delle zone marginali, ma anche tra gli strati cellulari della parete papillare esterna. Penso che ciò possa attribuirsi al fatto che le papille, al momento della fissazione in acido osmico, attraversavano stadi funzionali diversi dai precedenti.

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Dalle osservazioni e dagli esami istologici ed istochimici compiuti su papille rettali prelevate da Api allevate in differenti condizioni di alimentazione è risultato quanto segue:

1°) Fino al 6° giorno non si è osservata, in tutte le Api, cioè tanto in quelle prelevate dall'arnietta di controllo, quanto in quelle delle arnie di esperimento,

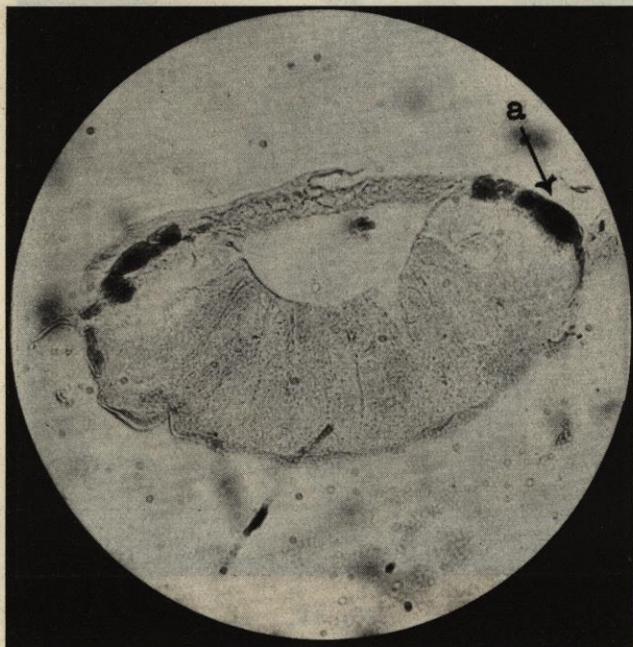


FIG. V.

Papilla rettale di *Apis mellifica*, alimentata, per 21 giorni, con semplice soluzione zuccherina. — Sezione trasversale. Colorazione con nero Soudan B. Ing. 340. — a) Notevole inclusione di sostanze grasse, intensamente colorate, in corrispondenza delle zone marginali.

la presenza di inclusioni di sostanze grasse nelle zone marginali delle papille rettali.

2°) Nel 12° giorno si è notato, in modo inequivocabile e costante, la presenza di inclusioni di sostanze grasse soltanto in papille rettali di Api alimentate con soluzione zuccherina ed impasto di burro e miele. Nelle Api sottoposte, per un eguale periodo di tempo, ad alimentazione o con semplice soluzione zuccherina o con questa contenente Lievitan VB, tali inclusioni sono irrilevanti ed incostanti. Unico fatto degno di nota è la colorazione marrone scuro uniforme del plasma

cellulare delle papille rettali di Api alimentate con Lievitan VB.

3°) Nel 21° giorno in tutte le Api, qualunque fosse l'alimento somministrato, erano evidenti inclusioni di sostanze grasse nelle zone marginali delle papille rettali. Tali inclusioni peraltro sono presenti in quantità molto più rilevante nelle Api alimentate con impasto di miele e burro e meno invece in quelle nutrite con sola soluzione zuccherina. Per quanto si riferisce alle Api alimentate con soluzione zuccherina integrata con Lievitan VB si deve tener presente che, nel 21° giorno, la colorazione del citoplasma delle cellule era così intensa da rendere impossibile il reperimento, in sezioni colorate con acido osmico, di qualsiasi inclusione, reperimento questo che fu

possibile soltanto in preparati istologici colorati con Soudan III e nero Soudan B. A questo proposito inoltre ritengo opportuno precisare che, a differenza delle papille rettali di *Apis* appartenenti all'arnietta di controllo e a quella alimentata con impasto di burro e miele, nelle quali apparivano colorate soltanto le inclusioni di sostanze grasse, in quelle nutrite con Lievitan VB ne risultava debolmente colorato tutto il citoplasma ed in misura più intensa le granulazioni lipidiche. Questo fatto autorizza, a mio avviso, a ritenere che la papilla rettale sia interessata, in seguito ad un tale regime dietetico, ad una funzione complessa e tale da non poter trovare, nelle ricerche ora riferite, una adeguata spiegazione.

* * *

In conclusione le osservazioni sopra citate rivestono, a mio parere, notevole interesse. Esse infatti stanno a dimostrare anzitutto che la papilla rettale esplica una effettiva e reale funzione di assorbimento di sostanze grasse, assorbimento che, dagli esperimenti eseguiti, risulta essere lento e progressivo. Il fatto poi che tale assorbimento non solo si verifici anche nelle papille rettali di *Apis* alimentate con semplice soluzione zuccherina, quindi con una alimentazione carente di grassi, ma che esso tenda gradualmente ad aumentare in rapporto al perdurare di tale alimentazione, e in condizioni di prolungata clausura dell'insetto, può indurre a pensare che, in questo caso, le sostanze grasse vengano riassorbite, dalle papille rettali, non già dal contenuto intestinale ma soprattutto dall'emolinfa e che tale assorbimento possa interessare sostanze grasse sintetizzate dall'organismo stesso.

Si tratta, come ho già detto, di pura e semplice supposizione, che potrà trovare o meno conferma in una successiva sperimentazione. La supposizione che tale assorbimento possa avvenire anche dall'emolinfa concorda con

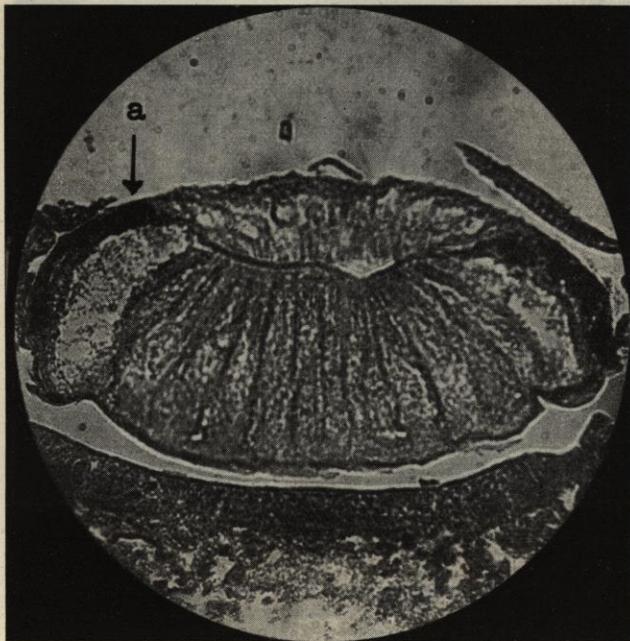


FIG. VI.

Papilla rettale di *Apis mellifica*, alimentata, per 21 giorni, alternatamente con soluzione zuccherina ed impasto di burro e miele. — Sezione trasversale. Fiss. in ac. osmico. Ing. 340. — a) Notevole inclusione di sostanze grasse in corrispondenza delle zone marginali.

quanto ho riferito nel mio precedente lavoro a proposito della funzione delle papille rettali nell'assorbimento dei sali ed in particolare dei cloruri di sodio. In tale occasione avanzai l'ipotesi che le papille rettali funzionassero non solo quali organi di riserva ma, soprattutto, quali organi capaci di regolare

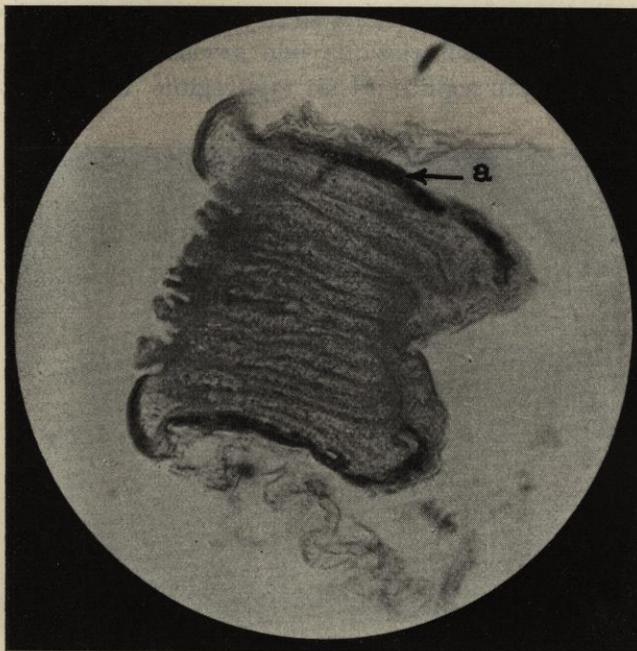


FIG. VII.

Papilla rettale di *Apis mellifica*, alimentata, per 21 giorni, con soluzione zuccherina e Lievitan VB. — Sezione trasversale. Colorazione con Soudan III. Ing. 450. — a) Evidenti le inclusioni intensamente colorabili in corrispondenza delle zone marginali.

e mantenere costante la pressione osmotica dell'organismo, funzione determinata dalla possibilità della papilla di cedere all'emolinfa, o di assorbire da questa, il cloruro di sodio. Nel caso attuale dell'assorbimento di sostanze grasse penso si possa giungere ad una analoga conclusione e cioè che le papille rettali siano in grado di assorbire grassi oltre che dal contenuto del retto anche dall'emolinfa. Tale duplice possibilità consentirebbe da un lato la eliminazione del sovraccarico di sostanze lipidiche dall'emolinfa, contribuendo a regolare così l'equilibrio organico, d'altro lato l'assor-

bimento di queste sostanze e la loro conservazione, nelle papille rettali, quali riserve successivamente utilizzabili. Naturalmente si tratta di argomenti che, come ho più volte detto, meritano una più ampia indagine.

RIASSUNTO

Il presente lavoro ha lo scopo di portare un ulteriore contributo alla conoscenza delle funzioni delle papille rettali dell'Ape mellifica (*Apis mellifica* L. *ligustica* Spinola). In particolare mi sono proposta di indagare se in questi organi si verificasse assorbimento di sostanze grasse in senso lato.

Le prove sperimentali sono state compiute somministrando ad Api, allevate in clausura (arniette da sperimentazione), alimenti diversi e precisamente: soluzione zuccherina al 90%, soluzione zuccherina integrata con Lievitan VB in proporzione del 10%, ed impasto di burro e miele (in parti eguali) somministrato alternatamente a soluzione zuccherina semplice.

Dalle ricerche eseguite è risultato quanto segue:

1) Le prime inclusioni di sostanze grasse sono state da me rilevate solo nel 12° giorno dall'inizio dell'esperimento. Tali inclusioni inoltre sono andate gradatamente aumentando col perdurare dell'alimentazione.

2) La maggior quantità di inclusioni si è verificata nelle papille rettali delle Api alimentate alternatamente con impasto di burro e miele e semplice soluzione zuccherina.

3) La presenza e l'aumento progressivo di sostanze grasse in papille rettali di Api sottoposte, in clausura, ad alimentazione di per sé povera di grassi, mostra come un tale accumulo non sia solo in evidente rapporto con una prolungata ed intensa ingestione di queste sostanze da parte delle Api. Questo fatto induce a ritenere che vi sia anche un assorbimento dalla emolinfa di lipidi sintetizzati dall'organismo stesso.

SUMMARY

This work has the purpose to bring a further contribution to the knowledge of the functions of the rectal papillae in the honey-bee (*Apis mellifica* L. *ligustica* Spinola). Particularly I have intended to inquire whether absorption of fatty substances in a wide sense occurred in these organs.

The experimental tests were performed feeding bees, which were bred in seclusion (in little beehives for experiments) with various foods and precisely: solution containing 90 per cent of sugar, sugar solution integrated with Lievitan VB in, proportion of 10 per cent, and mixture of honey and butter (of each an equal quantity) given alternatively with simple sugar solution.

From the researches performed the following results were attained:

1) - The first inclusions of fatty substances were observed by me only at the 12th day from the beginning of the experiment. Such inclusions gradually increased continuing the alimentation.

2) - The greatest quantity of inclusions occurred in the rectal papillae of the bees fed alternatively with butter and honey mixture and simple sugar solution.

3) - The presence of the progressive increase of fatty substances in rectal papillae of bees receiving in seclusion an alimentation in itself poor in fats, show how such accumulation is not only in clear relation to a delayed intense ingestion of these matters by the bees. This fact leads to consider that there is also an absorption by the haemolymph of lipids synthesized by the same organism.