

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCI.

1904

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XIII.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1904

La parte ossificata consta invece di tessuto osteoide che forma una sorta di rete nelle cui maglie è racchiusa una sostanza amorfa, ialina, che ha scarsissima affinità per le sostanze coloranti e che Harting dice essere osseina non calcificata. In questa sostanza si trovano scarse cellule e numerose fibre lunghe e tortuose.

Questa struttura speciale del tessuto osseo dell'*Orthagoriscus* è molto importante, poichè deve probabilmente mettersi in rapporto col genere di vita che questi animali conducono.

Dopo quanto è stato scritto sull'argomento, mi sembra inutile insistere nella descrizione di queste parti e di riportare figure; quelle di Harting sono chiare e precise.

Parassitologia. — *Ricerche intorno a due specie di flagellati parassiti* (1). Nota della D.^{ra} ANNA FOÀ, presentata dal Socio B. GRASSI (2).

Avendo avuto occasione, per alcune altre ricerche, di esaminare nella soluzione fisiologica di cloruro di sodio il contenuto intestinale di un topolino bianco (*Mus musculus*) albino, vi trovai una quantità enorme di piccoli flagellati che potei riconoscere per quelli descritti dal Grassi nel 1882 e da lui chiamati *Dicercomonas muris*.

Siccome per caso l'intestino del topolino conteneva solo questi flagellati nuotanti in un liquido poco denso, potei ottenere preparati assai dimostrativi che mi permisero di mettere in luce molte particolarità di struttura intorno a questa specie prima imperfettamente nota. Ciò mi indusse ad approfondire le ricerche, esaminando il contenuto intestinale di altri topi, e ad estenderle, prendendo in considerazione qualche altra specie affine.

Le osservazioni a fresco furono fatte nella soluzione di cloruro di sodio al 0,75 % o nello stesso liquido contenuto nell'intestino. Per aver preparati stabili, strisciavo i vetrini copri-oggetti sulla mucosa intestinale, e li fissavo o con liquido di Flemming o col liquido di Schaudinn (Sublimato conc. 100 cc., Alcool ass. 50 cc., Acido acetico 5 gocce). Li colorivo poi colla safranina e verde luce, oppure coll'ematossilina ferrica di Heidenhain ed eosina. Con quest'ultimo mezzo ho avuto i risultati migliori, avendo avuto cura di colorire dapprima i preparati molto intensamente, per giungere poi ad una differenziazione netta delle varie parti.

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia comparata della R. Università di Roma, diretto dal prof. B. Grassi.

(2) Presentata nella seduta del 3 gennaio 1904.

DICERCOMONAS MURIS Grassi.

Sinonimo: *Hexamitus muris* (Grassi), Doflein.

Non ne ho trovata altra descrizione all'infuori dei brevissimi cenni dati dal Grassi nel 1882 e nel 1888. Il Doflein, riportandoli, accenna alla possibilità che questa piccolissima forma possa rappresentare qualche stadio giovanile del *Megastoma entericum*. Ciò rimane assolutamente escluso dalle mie ricerche.

Il *Dicercomonas muris* misura 7-8 μ di lunghezza, e 2-4 μ di larghezza; questa sua estrema piccolezza ne rende assai difficile lo studio.

Osservati a fresco, i varî individui si presentano con diverso aspetto, i più piccoli appariscono quasi cilindrici, quelli di dimensioni un po' maggiori hanno una forma ovalare molto allungata, più allargata alla parte anteriore, più acuminata alla parte posteriore, la loro figura può spesso paragonarsi a quella di un girino; in tutti i casi si distinguono all'indietro due lunghi flagelli. Questi molte volte servono di sostegno all'animale, il quale per mezzo di essi si appoggia ad un corpo qualunque e ruota coll'estremità anteriore del corpo, tenendo fissa la posteriore. Non mi è stato possibile precisare come avvenga questo movimento che è sempre rapidissimo; noto però che durante la rotazione il flagellato non assume mai quella figura di falce che è caratteristica del *Megastoma* osservato di lato.

Altre volte i *Dicercomonas* si muovono in linea retta, traversando rapidamente il campo del microscopio, altre volte infine, s'incurvano in modo da assumere l'aspetto di una virgola. S'intravedono sempre dei flagelli anteriori, ma essendo essi in continuo movimento, a fresco, non è possibile determinarne la posizione nè il numero.

Nei preparati fissati e coloriti si può riconoscere che il corpo di questo piccolo flagellato presenta completa simmetria bilaterale (fig. 1). Però mentre è facilissimo stabilire i lati, non è altrettanto facile determinare quale sia la faccia ventrale e quale la dorsale. Io, per analogia con quanto è stato stabilito per il *Megastoma*, denomino faccia ventrale quella lungo la quale decorrono i flagelli posteriori che, come dirò più avanti, hanno origine anch'essi all'estremo anteriore del corpo dell'animale; ma per poter asserire che tale denominazione sia esatta, sarebbe stato necessario poter distinguere le due faccie anche nell'animale vivente, cosa che non mi è mai riuscita. Per dare brevemente un'idea della struttura di questo flagellato, si può dire che il suo corpo è nudo e composto di una parte mediana subcilindrica, tubulare, circondata nei due terzi anteriori da protoplasma granuloso. Questa struttura si distingue facilmente perchè la parte subcilindrica ha sempre un aspetto diverso dal resto del corpo dell'animale. Nei preparati coloriti coll'ematosilina ferrica (Heidenhain) che sono i migliori, essa di solito si presenta

omogenea, poco colorita, fuorchè nell'orlo periferico che appare più ispessito, onde fa nascere l'idea ch'essa possa essere un tubolo pieno di sostanza liquida; qualche volta presenta granuli intensamente coloriti. Il protoplasma, che nei due terzi anteriori la riveste, è colorito più intensamente, granuloso, a volte nettamente reticolare (alveolare) e può anche presentare vacuoli.

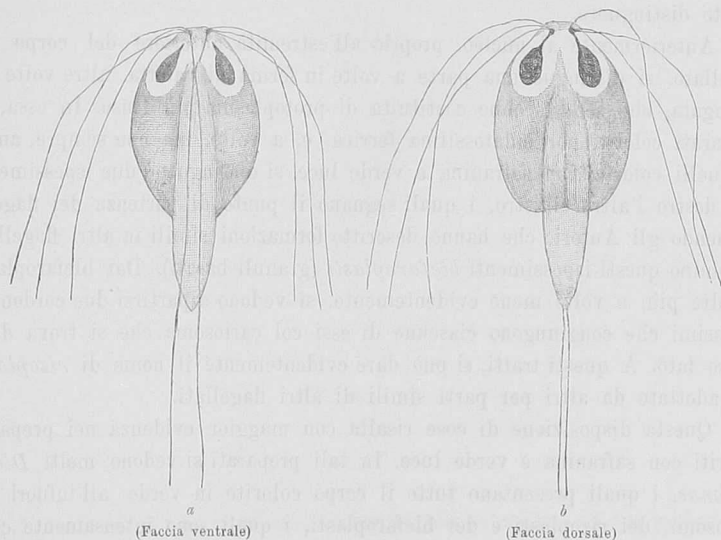


FIG. 1.

È difficile scendere a maggiori particolari e precisare se il protoplasma granuloso riveste completamente la parte cilindrica nei suoi due terzi anteriori, oppure ne lasci scoperto un tratto dal lato ventrale. È certo che guardando l'animale dal lato dorsale (fig. 1b), la parte cilindrica si vede solo per trasparenza al di sotto del protoplasma granuloso, mentre dal lato ventrale essa apparisce assai più netta, tanto che si direbbe scoperta (fig. 1a), ma non si può escludere con certezza che non sia rivestita da uno straterello protoplasmatico sottilissimo. Formazioni probabilmente simili alla parte subcilindrica del *Dicercomonas muris* (appena intraveduta dal Grassi nel 1888) sono già state descritte in altri flagellati quali il *Trichomonas*, il *Megastoma*, la *Joenia* ecc.; è probabile che abbiano ufficio di sostegno.

Il nucleo del *Dicercomonas muris* è situato all'estremità anteriore del corpo dell'animale, in complesso alquanto più vicino al lato dorsale. Il suo aspetto non è perfettamente eguale in tutte le forme; le variazioni sono in rapporto con stadî diversi di sviluppo. Nella maggior parte dei casi esso è grande, vescicolare, distinto in due metà quasi totalmente separate fuorchè

nell'estremo anteriore. In ciascuna metà vi è una massa di sostanza cromatica (cariosoma) intensamente colorita. La forma di questi cariosomi è varia; a volte sono allungati, a volte tondeggianti. In quest'ultimo caso sono nettamente separati l'uno dall'altro; attorno a ciascuno vi è un contorno chiaro dato dal succo nucleare; è possibile però che dal lato dorsale vengano a contatto col citoplasma, o forse con una membrana nucleare, che però non ho potuto distinguere.

Anteriormente al nucleo, proprio all'estremità anteriore del corpo del flagellato, si distingue una parte a volte in forma di calotta, altre volte più allungata, che sembrerebbe costituita di protoplasma più denso. In essa, nei preparati coloriti coll'ematossilina ferrica, e, a volte, ma non sempre, anche in quelli coloriti con safranina e verde luce, si distinguono due ispessimenti, uno destro l'altro sinistro, i quali segnano il punto di partenza dei flagelli. Seguendo gli Autori, che hanno descritto formazioni simili in altri flagellati, denomino questi ispessimenti *blefaroplasti* (granuli basali). Dai blefaroplasti, a volte più, a volte meno evidentemente, si vedono dipartirsi due cordoncini esilissimi che congiungono ciascuno di essi col cariosoma che si trova dallo stesso lato. A questi tratti, si può dare evidentemente il nome di *rizoplasti*, già adottato da altri per parti simili di altri flagellati.

Questa disposizione di cose risalta con maggior evidenza nei preparati coloriti con safranina e verde luce. In tali preparati si vedono molti *Dicercomonas*, i quali presentano tutto il corpo colorito in verde all'infuori dei cariosomi, dei rizoplasti e dei blefaroplasti, i quali sono intensamente colorati in rosso dalla safranina e formano evidentemente un tutto continuo. In altri casi, che forse rappresentano stadi ulteriori di sviluppo, i rizoplasti non si distinguono più. Benchè, per la piccolezza del flagellato, sia molto difficile dare una interpretazione alle singole parti, pure *l'aver potuto dimostrare la continuità dei blefaroplasti, rizoplasti e cariosomi costituisce un fatto molto importante per ciò che riguarda l'interpretazione da darsi al cariosoma.*

I flagelli sono otto, di cui sei anteriori e due posteriori. Gli anteriori, più lunghi del corpo dell'animale, sono divisi in due gruppi, ciascuno dei quali origina evidentemente da uno dei blefaroplasti. Molto più difficile è la determinazione dell'origine dei due flagelli posteriori.

Visti a fresco, sembrano dipartirsi dall'estremo posteriore del corpo del flagellato, e la stessa impressione si ottiene da un esame superficiale dei preparati, perchè nella maggior parte dei casi essi si vedono distintamente soltanto nel tratto che sporge all'indietro del corpo. Ma in alcuni casi essi possono distinguersi anche anteriormente all'estremo caudale, ed in alcuni preparati fissati con liquido di Flemming coloriti con ematossilina ferrica di Heidenhain ed eosina, scoloriti fortemente sì che tutto il protoplasma apparisce pallidissimo, li ho potuti seguire in tutto il loro percorso. In questi prepa-

rati si vede con chiarezza che i due flagelli posteriori si prolungano su tutta la parte cilindrica nel suo lato che ho chiamato ventrale; a volte ravvicinati l'uno all'altro, a volte allontanati più o meno; passano al di sopra del nucleo e terminano rispettivamente ad uno dei blefaroplasti, ciascuno dei quali

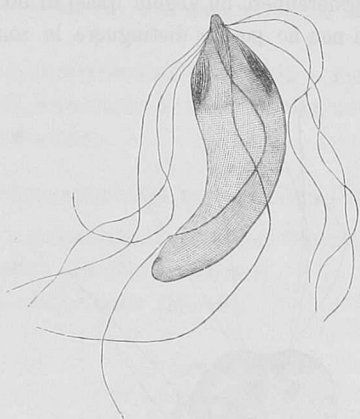


FIG. 2.

così segna il punto d'origine comune a tre flagelli anteriori e ad uno posteriore (fig. 2).

Ho anche potuto seguire fino ad un certo punto la riproduzione del *Dicercomonas muris*, perchè ho riscontrato nei preparati una serie di figure

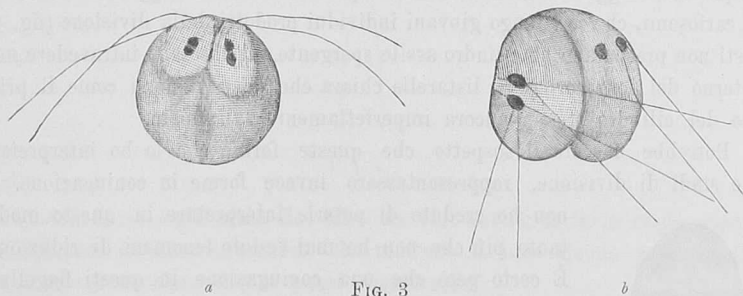


FIG. 3

che mi sembra debbano interpretarsi come stadi di divisione. Queste forme sono tutte quante sferoidali; non vi si distingue più il cilindro centrale. Vi si vedono dei flagelli, ma non ho potuto con certezza determinarne il numero (fig. 3). In un primo stadio ciascuno dei cariosomi, che si trova in ciascuna metà

del nucleo, si allunga e si divide in due (fig. 3a), ne derivano quattro cariosomi tutti tondeggianti. Questi dapprima sono disposti regolarmente come i quattro vertici di un quadrato, in seguito si spostano ed un gruppo di due si allontana dall'altro. La disposizione dei quattro cariosomi diventa tale che se si unissero con una retta i due cariosomi di ciascun gruppo, le due rette non sarebbero parallele, ma formerebbero un angolo quasi di 90° . In questi primi stadi attorno ai cariosomi non ho potuto distinguere la zona chiara data dal

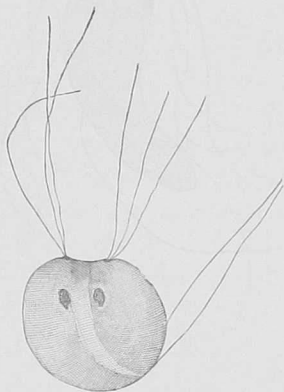


FIG. 4.

succo nucleare; più tardi invece essa è nettamente definibile. Infine si vedono forme costituite da due individui distinti ma ancora congiunti (fig. 3b), ciascuno di aspetto tondeggiante. Si vedono anche piccole forme tondeggianti libere, con due cariosomi, che io ritengo giovani individui prodotti dalla divisione (fig. 4). Questi non presentano un cilindro assile sporgente, ma lasciano intravedere nell'interno del loro corpo una listarella chiara che deve ritenersi come il principio del cilindro stesso, ancora imperfettamente sviluppato.

Potrebbe nascere il sospetto che queste forme che io ho interpretato come stadi di divisione, rappresentassero invece forme in coniugazione. Io non ho creduto di poterle interpretare in questo modo, tanto più che non ho mai veduto fenomeni di riduzione. È certo però che una coniugazione in questi flagellati deve avvenire, come è provato dalla presenza di cisti che si riscontrano in alcuni preparati, abbastanza numerose. In alcune di queste cisti si vedono ancora ben distinti i due cariosomi, quali appariscono negli individui liberi (fig. 5).



FIG. 5.

Queste cisti corrispondono a quelle del *Megastoma*, vengono come quelle eliminate colle feci e servono a propagare l'infezione da un individuo all'altro. Il Grassi ritiene di aver trovato cisti simili nelle feci umane e ammette perciò la possibilità che esista un *Dicercomonas* parassita dell'uomo.

Non ho mai trovato in questi flagellati corpi estranei, per cui si può asserire che essi non assumono nutrimento solido. Mancano di vacuoli contrattili.

Ho riscontrato i *Dicercomonas muris* più o meno numerosi, in tutti i *Mus musculus* da me esaminati. A volte convivevano col *Megastoma*, altre volte il *Megastoma* mancava.

DICERCOMONAS INTESTINALIS (Duj.).

Sin. *Hexamitus intestinalis* Duj, Stein., Bütschli, Klebs, Doflein.

Dicercomonas intestinalis (Grassi).

Urophagus intestinalis (Moroff).

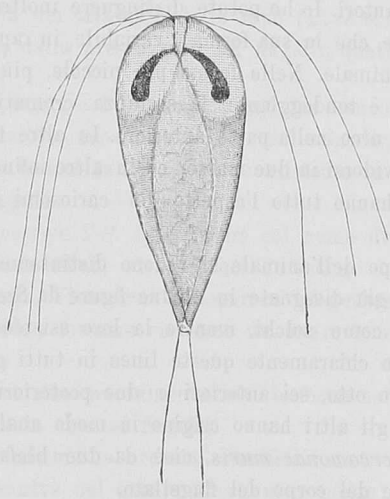


FIG. 6.

Questa forma è già stata descritta da vari autori, tuttavia credo opportuno riportare le mie osservazioni che mettono in luce alcune particolarità di struttura e decidono alcuni punti controversi.

Questi piccoli flagellati erano già stati osservati da parecchi autori nell'intestino di vari anfibi. Seligo li ha anche rinvenuti in un pesce (*Leucaspis delineatus*), ed anche il Moroff li ha trovati nell'intestino di un Salmonide (*Salmo iridea*). Quelli da me osservati furono rinvenuti nell'intestino retto della *Rana esculenta*; non li ho cercati in altri animali.

Gli esemplari da me osservati hanno la lunghezza di circa 8 μ ., la larghezza di 4-5 μ . La forma del corpo è ovalare più o meno allungata. In complesso rassomigliano molto al *Dicercomonas muris*, ne differiscono principalmente perchè non presentano l'estremità posteriore del corpo prolungata a guisa di coda (fig. 6). Il Moroff negli esemplari da lui trovati in un Salmonide, descrive invece una lunga coda, la quale a volte presenta una breve striscia che può indicare, a suo avviso, un'apertura. Io non ho riscontrato niente di simile. Nei miei preparati fissati e coloriti, si vede che anche in questi flagellati il protoplasma è composto di una parte centrale subcilindrica, e di una parte granulosa che la riveste; ma mentre nel *Dicercomonas muris* la parte subcilindrica è rivestita dal protoplasma granuloso solo nei suoi due terzi anteriori, nel *Dicercomonas intestinalis* ne è ricoperta in tutta la sua lunghezza. Questa parte centrale non si vede egualmente bene in tutti gli esemplari, a volte però è evidentissima; essa sembra interamente circondata da protoplasma granuloso.

Il nucleo si trova nella parte anteriore del corpo, come già era stato visto dagli altri autori. Io ho potuto distinguere inoltre che questo nucleo è grande, vescicolare, che la sua forma è variabile, in rapporto coi diversi stadi di sviluppo dell'animale. Nelle forme più piccole, più strette e che ritengo più giovani, esso è tondeggiante, la sostanza cromatica forma una massa unica disposta ad arco nella parte anteriore. In altre forme la sostanza cromatica tende a dividersi in due masse, ed in altre infine è nettamente divisa in due parti che hanno tutto l'aspetto dei cariosomi descritti nel *Dicercomonas intestinalis*.

Lungo il corpo dell'animale si vedono distintamente due linee longitudinali, che furono già disegnate in alcune figure da Stein, descritte da Klebs che le interpretò come solchi, mentre la loro esistenza fu negata da altri autori. Io ho visto chiaramente queste linee in tutti gli individui.

I flagelli sono otto, sei anteriori e due posteriori, tutti molto lunghi; tanto gli uni che gli altri hanno origine in modo analogo a quello già descritto per il *Dicercomonas muris*, cioè da due blefaroplasti situati verso l'estremo anteriore del corpo del flagellato.

Anche in questa specie i due flagelli posteriori apparentemente sembrano originati dall'estremo posteriore del corpo dell'animale, e questa origine è ammessa dalla maggior parte degli autori che li hanno descritti. Klebs invece ritiene non inverosimile che essi si prolunghino fino all'estremo anteriore, ed abbiano origine comune coi flagelli anteriori, ma che siano saldamente uniti ai solchi longitudinali, sì che non si distaccano dal corpo. L'interpretazione di Klebs è dimostrata essenzialmente esatta dai miei preparati. Ciò mi fa ritenere che anche nel *Dicercomonas muris* i flagelli posteriori si comportino in modo simile, benchè ciò non risulti con tutta la desiderabile sicurezza dall'osservazione diretta.

Anche per questo flagellato ho potuto osservare forme tondeggianti che, per analogia con quanto ho veduto nel *Dicercomonas muris*, ritengo siano forme di moltiplicazione, per quanto non abbia seguito il processo nei suoi diversi stadi.

Non ho veduto nessun esemplare che contenesse alimento solido, non ho riscontrato traccia di aperture boccali, nè ho rinvenuto vacuoli contrattili. Il Moroff nella forma da lui trovata nei pesci, ha riscontrato nel protoplasma corpi estranei che ritiene dimostrino la presa di alimento solido. Da tutto l'insieme della descrizione di Moroff, mi sembra che la specie da lui osservata sia diversa da quella descritta nella rana dagli altri autori e da me.

Debbo ora accennare alle ragioni che mi hanno indotto ad adottare per queste specie di flagellati il nome generico di *Dicercomonas* piuttosto che quelli di *Hexamitus* od *Urophagus* adottati da altri autori.

Il genere *Hexamitus* fu istituito dal Dujardin (1841) (1), dietro l'osservazione di tre specie, di cui due esistenti in vita libera (*H. nodulosa* ed *inflata*) ed una parassita dei tritoni e delle rane (*H. intestinalis*), caratterizzate, secondo l'autore, dalla presenza di sei flagelli, quattro anteriori e due posteriori.

Bütschli (1878) descrive l'*Hexamitus inflatus* con otto flagelli.

Stein (1878) descrive nuovamente l'*H. intestinalis*, l'*H. inflatus* ed una nuova specie che denomina *H. rostratus* esistente in vita libera. Attribuisce a tutte sei flagelli.

Grassi (1882) descrive l'*H. intestinalis* col nome di *Dicercomonas intestinalis*, ed una forma affine, vivente nell'intestino del topo, col nome di *Dicercomonas muris*. Viene così a separare dal genere *Hexamitus* queste due forme parassite ed a formare con esse un nuovo genere. Non precisa il numero dei flagelli.

Bütschli (1884) riunisce nuovamente tutte le forme nel genere *Hexamitus*, che descrive nuovamente con sei flagelli.

Grassi (1888) conferma la propria classificazione.

Klebs (1893) descrive nel genere *Hexamitus* molte specie tra cui l'*H. intestinalis* Duj., parassita, l'*H. inflatus* Duj. e l'*H. pusillus* Klebs, *H. fissus* Klebs, *H. crassus* Klebs e *H. fusiformis* Klebs, esistenti in vita libera.

Separa invece l'*H. rostratus* Stein e lo denomina *Urophagus rostratus* formando così il nuovo genere *Urophagus* caratterizzato dalla presenza nell'estremità posteriore del corpo di due citostomi in forma di valvola. Dimostra in tutte le forme da lui studiate l'esistenza di otto flagelli.

Moroff (1903) fa rientrare nel genere *Urophagus* anche l'*H. intestinalis*, che egli denomina *Urophagus intestinalis*, ma, come ho detto, mi sembra

(1) Egli scrisse *Hexamita*.

che la specie da lui descritta non corrisponda all'*H. intestinalis* degli altri autori.

Per quanto io non abbia esaminato che le forme parassite, pure riferendomi alle descrizioni date dagli altri autori, trovo che esse differiscono dalle forme libere tanto, da rendere necessaria la separazione delle une e delle altre. Infatti mentre le forme libere hanno due citostomi laterali, sistolette, ed ingeriscono nutrimento solido, le forme parassite mancano di citostomi, di sistolette, e non prendono alimento solido. Il genere *Urophagus* è sufficientemente caratterizzato dai citostomi all'estremo posteriore del corpo. La specie *Urophagus intestinalis* Moroff, è forse un vero *Urophagus* parassita, alquanto diverso quindi dall'*U. rostratus*.

In conclusione, l'antico genere *Hexamitus* Dujardin si dovrebbe dividere in tre generi nel seguente modo:

1. HEXAMITUS Dujardin, comprendente forme esistenti in vita libera capaci di assumere alimento solido, provviste di due citostomi laterali e di sistolette. Appartengono a questo genere le specie:

H. inflatus Duj.

H. pusillus Klebs

H. fissus "

H. crassus "

H. fusiformis "

2. DICERCOMONAS Grassi, comprendente forme parassite incapaci di assumere alimento solido, non aventi citostomi, nè sistolette. Appartengono a questo genere le specie:

D. intestinalis (Duj.)

D. muris Grassi.

3. UROPHAGUS Klebs, comprendente forme caratterizzate dall'avere all'estremo posteriore del corpo citostomi in forma di valvole. Vi appartengono le specie:

U. rostratus (Stein).

U. intestinalis (?) Moroff.

LETTERATURA.

- Bütschli O. *Beiträge zur Kenntniss der Flagellaten*. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 30, 1870.
— *Die Protozoen*. 2. Aufl. in Bronn's Klassen des Tierreich 1884.
Doflein F. *Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserr.* Jena 1901.
Grassi B. *Intorno ad alcuni Protisti endoparassiti*. Atti della Soc. Ital. di scienze nat. Vol. XXIV, 1882.
Id. *Morfologia e sistematica di alcuni parassiti*. Rend. della R. Acc. dei Lincei, Classe di sc. fis. mat. e nat. Vol. IV, fasc. 1°, 1° sem. 1888.
Klebs G. *Flagellatenstudien* Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 55, 1893.
Moroff E. *Beitrag zur Kenntnis einiger Flagellaten*. Archiv für Protistenkunde. Bd. III, 1903.
Prowazek G. *Flagellatenstudien*. Archiv. für Protistenkunde. Bd. II, 1903.
Stein Fr. *Der Organismus der Infusionsthier* III. Ab. Die Naturgesch. d. Flagellaten. 1. Hälfte: Leipzig, 1878.