

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCLXXXIX.

1892

SERIE QUINTA

RENDICONTI

PUBBLICATI PER CURA DEI SEGRETARI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME I.

1° SEMESTRE



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1892

Zoologia. — *Contributo alla conoscenza dei Coccidi*. Nota del dott. P. MINGAZZINI, presentata dal Socio TODARO.

Gen. **Benedenia** Aimé Schneider.

• Cisti sporigena con sporulazione generalmente completa, spore ovali od ellittiche, numerosissime, contenenti tre corpuscoli falciformi. Divisione del protoplasma per la produzione delle spore, principalmente nastriforme. Cisti a corpuscoli falciformi con uno o più nuclei di reliquat. Divisione del protoplasma per la produzione dei corpuscoli, regolare, in una o più sfere. Parassita della *Sepia* e dell'*Octopus*.

Sp. *Benedenia octopiana* Aimé Schneider.

Syn. *Benedenia octopiana* Aimé Schn.; in: Arch. Zool. Exp. (I), 4, p. XL-XLV (1875).

Klossia octopiana Aimé Schn.; in: Arch. Zool. Exp. (I) 9, 387-404 (1881).

? *Benedenia* Bütschli Sporozoa, p. 576 (1882)

Klossa octopiana Aimé Schn.; in: Arch. Zool. Exp. (II), 1, p. 77-104 (1883).

• Il Lieberkühn⁽¹⁾ segnalava per il primo, nelle pareti dell'intestino della *Sepia*, una specie di gregarina di forma sferica che egli porta per esempio di una gregarina che forma le spore senza bisogno di precedente coniugazione. In un altro lavoro, lo stesso autore⁽²⁾, ricordava nuovamente la stessa forma, aggiungendo che le sue spore sono ellittiche. L'Eberth⁽³⁾, in un lavoro apposito, mostrò che, a Nizza, questo parassita, oltre che nella *Seppia* si trova anche nel Polpo, e non solo nell'intestino, ma anche nei diversi organi, come nella pelle, nei muscoli, nelle braccia, negli organi genitali e nelle appendici venose. Oltre a ciò che fu detto dal Lieberkühn egli aggiunse dei particolari circa il modo di sporulazione, notando come la cellula primitiva si possa trovare divisa in quattro sfere, le quali o presentano alla superficie le spore già formate, mentre che nell'interno ancora esiste del protoplasma, ovvero ciascuna di esse è costituita tutta da un cumulo di spore. Egli descrisse e figurò anche i vari stadi di evoluzione di queste spore fino alla loro completa maturazione, quando cioè mostrano nell'interno i corpi falciformi. La presenza di questo parassita nella *Seppia* fu anche notata dal Van Beneden⁽⁴⁾, il quale dette una figura molto schematica della cisti matura colle sue spore. Infine Aimé Schneider⁽⁵⁾ ritrovò a Roscoff nel polpo lo stesso parassita. Egli, non

(1) *Evolution des Grégarines*; in: Mém. Ac. Roy. de Belgique. T. XXVI (1854), p. 9.

(2) *Ueber die Psorospermien*, in: Müller's Archiv (1884), p. 1, 349.

(3) *Ueber die Psorospermien-schläuche der Cephalopoden*; in: Zeit. w. Zool., 11, p. 397-401, tav. 34.

(4) *Parasites et Commensaux dans le règne animal*.

(5) Arch. Zool. Exp. (I), 4, 1875, p. XL-XLV.

conoscendo nè la scoperta fatta dal Lieberkühn, nè la descrizione molto accurata dell'Eberth, chiamò *Benedenia octopiana* questo parassita, credendo che innanzi a lui, solo il Van Beneden l'avesse scorto. Lo Schneider disse che, nell'interno di ciascuna spora sono contenuti circa quindici corpuscoli falciformi, sia disposti secondo due direzioni ad angolo retto, sia avvolti a spirale. In una pubblicazione ulteriore lo stesso Schneider ⁽¹⁾ emetteva l'opinione che il genere *Benedenia* non potesse ritenersi distinto dal suo genere *Klossia*. Ma questa opinione non venne però accettata dal Bütschli ⁽²⁾ (e secondo me con ragione), il quale benchè dubitativamente, pure sembrò disposto a mantenere il genere *Benedenia* distinto dal genere *Klossia*, fondandosi specialmente sulle seguente ragioni: 1° perchè nella *Klossia* il contenuto della cisti si divide tutto al più fino a 60 spore, mentre che nella *Benedenia* se ne producono moltissime; 2° perchè mentre nella *Klossia* in ogni spora si originano soltanto da 4-6 corpuscoli falciformi, nella *Benedenia* se ne sviluppano circa 15. Da ultimo, lo Schneider è tornato sull'argomento ⁽³⁾ studiando il parassita non più nell'*Octopus* ma nella *Sepia*. Egli è giunto a conclusioni affatto differenti da quelle della sua prima Nota, giacchè nella spora non ha trovato che tre ed eccezionalmente quattro corpuscoli falciformi, ed alla fine del lavoro esprime il dubbio se il parassita della *Sepia* non sia differente da quello dell'*Octopus*, ovvero, se quando studiò quest'ultimo egli ebbe sotto gli occhi non una spora, ma una cisti a microspore ^(?). Nel 1890 io detti un resoconto preliminare dei miei studi sui fenomeni evolutivi di questo coccidio ⁽⁴⁾ mostrando che molte delle conclusioni alle quali era giunto lo Schneider, tanto colle ricerche sul medesimo parassita, quanto con quelle che egli aveva dedotto dallo studio di molti coccidi erano errate e diceva che « i caratteri dati - dallo Schneider ed accettati dal Bütschli, per la classificazione dei coccidi - non possono essere accettati e vanno molto modificati » perchè un coccidio che io trovava nel tubo digerente della stessa *Sepia*, in unione colla *Benedenia*, presentava caratteri di oligosporeo e monosporeo. Più tardi mi convinsi non essere questo coccidio una nuova specie, ma un ciclo di sviluppo della *Benedenia*, la quale si riproduceva tanto per spore durevoli, quanto direttamente per corpuscoli falciformi. Questa mia convinzione è stata avvalorata dalla recente scoperta dello Pfeiffer ⁽⁵⁾, il quale vuole che l'*Eimeria* ed il *Coccidium*, il primo secondo Schneider monosporeo ed il secondo tetrasporeo, siano due stadi differenti dello stesso coccidio.

⁽¹⁾ *Sur les Psorospermies oviformes ou Coccidies*, in: Arch. Zool. Exp. (I), 9, p. 398-399 (1881).

⁽²⁾ *Sporozoa*, p. 576.

⁽³⁾ *Nouvelles observations sur la sporulation du Klossia octopiana*, in: Arch. Zool. Exp. (II), 1, p. 77-104, tav. 8, 9.

⁽⁴⁾ *La parentela dei coccidi colle gregarine*; in: Boll. Soc. Nat. Napoli, (I), 4, 1890, p. 151-159.

⁽⁵⁾ *Die Protozoen als Krankheitsreger*, Jena, Fischer, 1891, p. 6, 7.

« Questa seconda fase di vita della *Benedenia* è stata vista dai precedenti autori ma è stata erroneamente interpretata. Lo Eberth infatti che la notò per il primo, disse di aver visto « cellule coperte da ciglia sottili e « folte contenenti una massa granulosa o un nucleo e ricoperte da una membrana ». Le ciglia sarebbero state i corpuscoli falciformi e la massa granulosa il nucleo di reliquat. Anche lo Schneider notò fra le cisti normali altre « che mostrano uno due tre o quattro ammassi diversi di sostanza granulosa. « Da tutta la superficie dell'ammasso o degli ammassi così costituiti si elevano dei prolungamenti gracili, tanto che la maggior parte di essi s'incurva « alla sommità come sotto un peso troppo forte e terminati ciascuno da un « nucleo. Si direbbe l'androceo di un fiore. Senza dubbio non è difficile mettere in relazione questo aspetto a quello di una echinosfera od ad una sporosfera le cui spinule o le spore siano state molto stirate. Ma qual'è il « significato di questo stiramento? A priori se ne presentano due: o è un « fenomeno cadaverico, ed io confesso di propendere per questa spiegazione. « oppure questo allungamento degli sporoblasti precederebbe la loro liberazione « e segnerebbe forse un periodo di attività, di movimento libero, come quello « di cui gli sporoblasti degli *Stylorhynchus* ci offrono un esempio. Io ripeto « che mi attengo più volentieri alla prima ipotesi ».

« A Napoli la *Sepia* sembra molto più infestata dal parassita che non l'*Octopus*. Quasi ogni esemplare adulto della prima, da me esaminato, conneva lungo il decorso dell'intestino, quantità enormi di coccidi, ben visibili, per il loro colore bianco latteo opaco, sul colore bianco trasparente del tessuto intestinale della *Sepia*. Gli *Octopus*, mentre dapprima mi sembrarono totalmente esenti dal parassita, con ulteriori ricerche si mostrarono anch'essi infetti, giacchè sul finire dell'agosto ed i primi di settembre mi pervennero degli esemplari che avevano l'intestino invaso dal parassita, e così potei stabilire con ogni sicurezza, che la *Benedenia* è parassita comune di questi due cefalopodi. Molte altre specie di questa classe, come *Sepiola*, *Rossia*, *Argonauta*, furono da me esaminate, ma tutte si mostrarono esenti.

« Descriverò dapprima il coccidio adulto e la formazione delle cisti con spore durevoli; poi la formazione della cisti con corpuscoli falciformi.

« Generalmente non è abbondante nell'esofago, anzi talvolta vi manca affatto ma diviene più frequente nello stomaco e nella prima porzione dell'intestino, ed io credo che la sua presenza sia in relazione col diverso funzionamento delle varie parti del tubo digerente, per cui è a credersi che là ove avviene l'assorbimento, sia il punto più infestato dai coccidi, che vi trovano il massimo nutrimento. Infatti, non si deve credere che la vita di questo parassita si faccia a spese dei tessuti nei quali esso vive, perchè l'ispezione anatomica e l'istologica mostrano che per la sua presenza non vi ha nè distruzione diretta, nè neoformazione di elementi, ma il solo disturbo da esso arrecato ai tessuti è lo spostamento semplice dei loro elementi, ed in qualche

periodo vitale vi ha anche distruzione dell'epitelio intestinale, semplicemente però per azione meccanica.

• Al contrario dell'Eberth, tanto nella Seppia, quanto nel Polpo, io non ho ritrovato questo coccidio altro che nel tubo digerente. Anche gli altri che hanno studiato questo parassita fanno principalmente menzione del tubo digerente ed il solo Schneider, quando descrisse quello dell'*Octopus*, disse di averlo trovato anche, ma raramente, nelle branchie. Nella Seppia non si trova che nell'epitelio e nel connettivo sottostante, nell'*Octopus* si trova anche nel connettivo esterno. Nella Seppia si verifica questo fatto generale, che il coccidio si fa tanto più grosso, quanto più è lontano dall'epitelio; vale a dire che verso lo strato muscolare diventa maturo più tardi, di quando è posto o al disotto dell'epitelio o nell'epitelio stesso. Inoltre nello stomaco esso diviene maturo più presto che nell'intestino, vale a dire che nel primo le cisti sono più piccole che nel secondo, ed anche i fenomeni di sporulazione si svolgono in un modo alquanto diverso.

• Da quanto precede, si vede adunque, che la maturità del coccidio non è determinata dalla quantità del protoplasma, perchè se così fosse esso dovrebbe raggiungere sempre una certa grossezza, prima di sporificare. Invece deve avere influenza la qualità del protoplasma, la quale determina la formazione delle spore.

• L'individuo, tanto allo stato adulto, quanto nel giovanile, è generalmente sferico, più raramente ovoidale od ellissoidale; il colorito è sempre di un bianco latteo. È ricoperto da una membrana alquanto spessa, ha un protoplasma granuloso, talvolta più, altre volte meno denso, un nucleo sferico, grosso relativamente al volume del coccidio. La parete del nucleo è grossa; ha un doppio contorno, non si tinge coi colori ed è molto rifrangente. Il contenuto nucleare consta di un liquido più o meno denso, di un reticolo finissimo, con granuli nei punti nodali, collegato con un nucleolo, anch'esso assai grosso, spesso intieramente solido e ben colorabile, alcune volte più o meno vacuolato, non sempre unico e quando è frazionato i singoli nucleoli hanno volume e forma differenti.

• Il protoplasma del coccidio è talvolta molto denso ed a fresco si vede come una massa opaca, altra volta è meno denso ed allora è molto trasparente e chiaro. Esaminato nei preparati fissati, si vede costituito da un reticolo, a maglie più o meno fine e regolari, e negli spazi interposti si trova una sostanza granulosa, talvolta finissima, altra volta piuttosto grossolana, sempre però molto rifrangente. Questo protoplasma può essere uniformemente distribuito, oppure essere più denso alla periferia e meno denso attorno al nucleo o viceversa. La membrana che chiude il protoplasma può anch'essa variare molto, cioè essere o finissima, o di una spessezza notevole.

• Queste sono le principali caratteristiche del coccidio adulto, le quali variano in qualche grado nei differenti individui. Le variazioni poi sono mag-

giori secondo il grado di sviluppo: così nei piccoli coccidi che trovansi o nell'epitelio, o appena al disotto di esso, il protoplasma è più denso e più colorabile di quello dei più adulti. Il nucleo può contenere un carioplasma più o meno colorato, ed il reticolo essere più o meno distinto.

• Sono molto importanti i fenomeni che precedono la sporulazione, che avvengono tanto nel protoplasma, quanto nel nucleo. In primo luogo, nel coccidio maturo, il protoplasma si raddensa e mentre prima era strettamente aderente alla membrana, ora, tra questa ed il protoplasma, si forma un largo spazio chiaro, occupato da un liquido ialino, incolore, segregato dal protoplasma. Più importanti sono i cambiamenti del nucleo. Questo spesso cambia di posizione e si porta eccentricamente; da rotondo che era dapprima, diventa variamente irregolare, il suo contenuto si modifica, cioè il grosso nucleolo subisce una specie di decomposizione, per la quale una parte della sostanza cromatica che lo compone si scioglie nel liquido nucleare ed un'altra parte va a costituire spesso un numero grandissimo di granuli, simili a quelli dei punti nodali del reticolo, i quali nascono dapprima in parte lungo il decorso del reticolo e in parte si originano per una specie di gemmazione del grosso nucleolo, e poi si trovano tutti liberamente notanti nel carioplasma per la decomposizione del reticolo nucleare. Il fenomeno però non è affatto generale. In altri casi invece della formazione di questi granuli si ha una specie di soluzione del nucleolo: questo comincia dapprima a mostrare qua e là dei vacuoli, i quali s'ingrossano, e finalmente il nucleolo appare come una vescicola, non più intensamente colorita come nel coccidio adulto, ma scolorata, mentre che in compenso il carioplasma che dapprima si colorava debolmente ora si trova intensamente colorato. In altri casi, invece, il nucleolo si mantiene integro e sembra che si sciolga molto tempo dopo della rottura del nucleo, la quale avviene per la decomposizione della membrana nucleare. Il fenomeno è dimostrato, tanto dall'osservazione a fresco, quanto dall'esame dei preparati fissati. Non sembra che la rottura della membrana nucleare sia determinata dalla pressione del carioplasma, perchè nei coccidi maturi la membrana non è tesa, ma variamente raggrinzita; invece si può supporre che venga decomposta sia dal carioplasma, che dal protoplasma modificati.

• Se veniamo ora a considerare il significato di tutti questi fenomeni nucleari che si producono quando il coccidio si prepara a sporificare, noi vediamo che dal loro complesso risulta, come il punto capitale di essi stia nella distribuzione della sostanza cromatica nelle varie frazioni in cui il nucleolo si decompone. O che questa sostanza cromatica sia distribuita mediante piccoli granuli o goccioline, ovvero che sia sciolta completamente nel carioplasma prima della rottura del nucleo o dopo, il risultato è sempre quello che dal nucleolo la sostanza cromatica va sparsa nei vari pezzi in cui si divide il nucleo. Il nucleolo, in questi animali, si può considerare come un serbatoio di sostanza cromatica, che si distribuisce durante i fenomeni di spo-

rulazione. Infine noi dobbiamo riconoscere che la divisione per cariocinesi in questi fenomeni nucleari non esiste e nemmeno quella che va col nome di divisione diretta per strozzamento. Essa non ha neppure somiglianza con quella forma di divisione diretta che vien chiamata frammentazione. Infatti, tanto nella divisione diretta, quanto nella frammentazione persiste sempre la membrana nucleare, mentre che in questa forma di divisione, come avviene generalmente nella cariocinesi, la membrana si decompone. Come nella cariocinesi, abbiamo in questa forma di divisione una mescolanza fra il contenuto nucleare e il protoplasma cellulare, ma gli altri fenomeni caratteristici della cariocinesi mancano affatto, e per conseguenza si deve considerare questa specie di divisione come una forma intermedia tra la mitosi e l'amitosi.

- Dopo di avere esposto i risultati ai quali sono giunto colle mie ricerche discuterò quelle ai quali è pervenuto lo Schneider collo studio del medesimo coccidio. In primo luogo egli dà una grande importanza alla produzione di quei numerosi granuli che talvolta si osservano nel nucleo del coccidio, quando esso è in via di sporificare. Egli chiama quei granuli *nucleoliti* e suppone che essi siano poi destinati a formare i nuclei degli sporoblasti. Io però non posso affatto accettare le sue interpretazioni. In primo luogo il fenomeno della produzione dei nucleoliti non è affatto generale, e poi dalle dimensioni stesso date dallo Schneider si vede che non possono essere essi quelli che danno luogo ai primi nuclei degli sporoblasti, così detti *noyaux en brételes* - poichè tra gli uni e gli altri vi ha una differenza enorme di grandezza e di numero, non spiegabile affatto colle possibili trasformazioni o appiattimenti dei nucleoliti. Infatti le dimensioni di questi sono, secondo le misure stesse dello Schneider da 3-8 μ , ma secondo i casi più frequenti, hanno generalmente le dimensioni minori; invece i nuclei *en brételes* - secondo le misure che egli dà hanno le dimensioni di 30-40 μ , e una differenza così grande non si potrebbe affatto giustificare colla possibile diradazione della sostanza cromatica o anche col suo accrescimento. Infine, quando vediamo che il processo non è affatto generale e che si ottiene lo stesso effetto senza la produzione dei nucleoliti, noi verremo a concludere che la sua interpretazione non è affatto giusta.

- Ma vi ha ancora di più; in un lavoro posteriore (¹) egli rinuncia ricamente all'ipotesi da lui dapprima espressa, ed ammette, come fatto costante, che il nucleo, tanto in questo come in tutti i coccidi si divide in due porzioni uguali. La sua smentita è ancora peggiore dell'affermazione primitiva, perchè il fatto da lui ammesso nel secondo caso non si verifica punto per questo coccidio. Giacchè mentre egli nel lavoro esteso sulla *Klossia* afferma d'interpretare soltanto le preparazioni e di non avere seguito *de visu* nell'individuo vivente la successione del fenomeno, e nel secondo non sembra che

(¹) *Un mot à M. Ruschhaupt et conférence sur la parenté des Coccides et des Grégarines*; in: *Tabl. Zool.* Vol. I, p. 169, 1886.

abbia fatto su questa specie ulteriori osservazioni, io invece, studiando il parassita vivente, isolato sul vetrino del microscopio e tenuto in acqua di mare, ho potuto avere l'opportunità di vedere, nel corso di qualche ora, la migrazione del nucleo alla periferia, la sua rottura e lo spargersi del contenuto frammentato in vari punti della periferia del coccidio. I frammenti erano ben distinguibili per la loro rifrangenza e per essere molto jalini, spiccando molto sul protoplasma granuloso opaco del coccidio. In tal modo convalidando le osservazioni fatte sui preparati fissati con quelle fatte sul parassita vivente, posso con sicurezza affermare, che in questa specie, nè che i nucleoliti sono i diretti produttori dei nuclei degli sporoblasti, secondo la prima ipotesi dello Schneider, nè che il nucleo si divida regolarmente in due parti eguali e quindi successivamente in altre parti più piccole fino a formare i nuclei degli sporoblasti, ma che invece dai frammenti del nucleo portatisi alla periferia hanno origine i nuclei degli sporoblasti.

• Nè più giusto appare quanto lo Schneider asserisce circa la produzione dei nucleoliti dal nucleolo. Egli vorrebbe infatti che dal nucleolo, mediante un foro da lui detto micropilo, uscissero i nucleoliti e, colla produzione di questi, il volume del primo si ridurrebbe. Ma ciò non è giusto. Si trovano infatti nuclei nei quali i nucleoliti sono abbondanti e nei quali il nucleolo non si mostra nè ridotto in volume, nè presenta la sua sostanza cromatica diradata e neppure fa vedere il micropilo. Mentre in altri casi il nucleolo si presenta quasi vuoto, con una semplice zona cromatica esterna e nel nucleo non si vedono nucleoliti. Raramente si trova ciò che da Schneider è indicato come fatto generale, cioè la presenza di un micropilo o foro nel margine del nucleolo.

• Le sostanze di cui era composto il nucleo va a distribuirsi, immediatamente dopo la sua rottura, alla periferia del coccidio, formando, quando si osserva il fenomeno nel parassita vivente, una specie di zona jalina rifrangente nel suo contorno, con protuberanze più o meno regolari e di altezza differente. Ben presto queste protuberanze divengono più numerose, ma nello stesso tempo più regolari, più uniformemente distribuite e più piccole, finchè tutta la superficie esterna del coccidio si trova ricoperta da nuclei, formandosi così la nucleosfera dello Schneider. Per questo autore la nucleosfera è l'aspetto normale del coccidio in via di sporificare ed egli spiega come semplici deformazioni della nucleosfera le introflessioni fatte dalla zona esterna dei nuclei, per aumentare la superficie di sporificazione. Dalle mie ricerche invece risulta che le introflessioni, che danno l'aspetto più vario al coccidio sporificante, sono il fenomeno più generale, mentre che solo per eccezione si può avere la sporificazione dalla nucleosfera normale di Schneider. Ho trovato infatti, su migliaia di coccidi sporificanti il fenomeno normale dell'internamento dei nuclei esterni nel protoplasma interno del coccidio, così da ridurlo ad una specie di gomitolò, il quale è polimorfo irregolare e le cui anse sono esternamente tutte tappezzate da nuclei •.