

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXI.

1914

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIII.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1914

Tenendo dunque conto dello sviluppo correlativo, i cationi possono venire classificati come segue:



Questi 11 cationi sono dunque quelli che meglio vengono sopportati dalle piantine nel periodo germinativo da me studiato: ben inteso però che anche qui si hanno delle proprietà biologiche specifiche proprie per ognuno di essi. Intanto è da osservare che il peso atomico di questi elementi varia fra un massimo di 87.63 (Sr) ed un minimo di 6.94 (Li), quindi si mantiene piuttosto basso. Dippiù è da notare il parallelismo curioso che passa fra lo Sr ed il Rb da una parte ed il Mn e Cr dall'altra; questo parallelismo si rivela non solo nelle proprietà biologiche ma anche nel peso atomico, che sono pressochè uguali.

Ho constatato per tanto questo fatti; però per la loro ulteriore conforma ho naturalmente bisogno di molti altri dati sperimentali, che verrò esponendo in seguito.

**Fisiologia.** — *Sull'adattamento degli Anfibî all'ambiente liquido esterno mediante la regolazione della pressione osmotica dei loro liquidi interni: importanza dei sacchi linfatici e della vescica urinaria.* Nota I di BRUNO BRUNACCI<sup>(1)</sup>, presentata dal Socio L. LUCIANI.

Dalle ricerche di L. Fredericq<sup>(2)</sup> relative all'influenza dell'ambiente esterno sulla composizione salina del sangue di alcuni animali acquatici, risultò già il differente comportamento di alcuni invertebrati marini rispetto a quello di alcuni vertebrati, nel senso, cioè, che, mentre l'*ambiente interno* [Cl. Bernard<sup>(3)</sup>] dei primi varia col variare di quello *esterno*, nei secondi invece « le milieu intérieur, constitué par le sang, s'isole plus ou moins du milieu extérieur dans le quel vit l'animal ».

È tuttavia noto che solo con l'estesa e sistematica applicazione dei metodi d'analisi fisico-chimica (concentrazione molecolare e conducibilità elettrica) ai liquidi di *animali marini* appartenenti alle varie classi d'invertebrati e vertebrati, il Bottazzi<sup>(4)</sup> potè per il primo stabilire come la

<sup>(1)</sup> Ricerche eseguite nell'Istituto fisiologico di Siena.

<sup>(2)</sup> L. Fredericq, Bull. Ac. roy. de Belgique, IV, 1882; Arch. d. zool. expér. et générale, III, 1885.

<sup>(3)</sup> Cl. Bernard, *Leçons sur les phénomènes de la vie*, 1878; *Introd. à l'étude de la méd. expér.*, 1865.

<sup>(4)</sup> F. Bottazzi, Arch. ital. d. biol., 23, 1897; Arch. di fisiol., III, 1906, e V, 1908; *Ergebn. d. Physiol.*, VII, 1908.

indipendenza relativa dell'ambiente interno da quello esterno s'inizi coi *Teleostei*.

In base alle ricerche del Bottazzi ed a quelle di successivi ricercatori [Quinton<sup>(1)</sup>, Fredericq<sup>(2)</sup>, Rodier<sup>(3)</sup>, Dekhuizen<sup>(4)</sup>, Dakin<sup>(5)</sup> ecc.] l'Höber<sup>(6)</sup>, propose di distinguere gli animali, a seconda dei loro poteri di regolazione osmotica (analogamente a quanto si era fatto per la regolazione termica), in *animali pecilosmotici* ed *animali omeosmotici*. Ai primi apparterebbero tutti quelli che uniformano la concentrazione molecolare dei loro liquidi interni a quella dell'acqua del mare nel quale vivono (invertebrati e vertebrati, fino ai teleostei esclusi); mentre farebbero parte dei secondi tutti gli animali che possiedono una propria e caratteristica concentrazione interna, indipendente da quella esterna (dai Teleostei, inclusi, ai Mammiferi).

Relativamente agli *animali d'acqua dolce*, essi si comportano diversamente da quelli marini.

Qui, infatti, anche gli *Invertebrati* possiedono una pressione osmotica superiore a quella dell'ambiente esterno [cfr. Bottazzi<sup>(7)</sup>, Höber<sup>(8)</sup>, E. M., P. Widmark<sup>(9)</sup>, Backman<sup>(10)</sup>]. Ciò vale anche pei *Vertebrati* (Anfibi, Teleostei, Rettili) [cfr. Bottazzi e Ducceschi<sup>(11)</sup>].

Dalle esperienze di vari ricercatori è poi risultato che alcuni invertebrati di acqua dolce possono adattarsi a vivere anche in acqua salata, e che ciò avviene con perdita di peso [perdita di acqua, P. Bert<sup>(12)</sup>]. [Cfr. F. S. Beudant<sup>(13)</sup>, H. Eisig<sup>(14)</sup>, P. Bert<sup>(15)</sup>].

Così pure è noto che in alcuni *pesci ossei* (es. Anguilla), la di cui pressione osmotica del sangue ascende circa alla metà di quella del mare ambiente, la concentrazione sanguigna diminuisce considerevolmente allorchè

(1) Höber, *Pysikalische Chemie d. Zelle u. d. Gewebe*, 3. Aufl., 1911.

(2) Fredericq L., *Bull. Ac. roy. de Belgique* 1898, 1901, 1902, 1911; *Arch. de Biol.* XX, 1904; *Arch. int. de Physiol.* XI, 1911.

(3) Dakin, *Bioch. Journ.*, III, 1908.

(4) Dekhuizen, *Arch. néerland.*, 10, 1905.

(5) Rodier, *Trav. d. la stat. zool. d'Arcachon*, 1899.

(6) Quinton, *Compt. rend. Soc. biol.*, 51, 1899; 57, 1904. *Compt. rend. Ac. d. sc.*, 131, 1900.

(7) Bottazzi, *Arch. di fisiol.*, III, 1906.

(8) Höber, loc. cit.

(9) E. M. P. Widmark, *Zeitschr. f. allg. Physiol.*, X, 1910.

(10) Backman, *Zentralbl. f. Physiol.*, XXV, 1911; *Pfüger's Arch.*, 149, 1913.

(11) Bottazzi e Ducceschi, *Archiv. ital. d. biol.*, XXVI, 1896.

(12) P. Bert, *Compt. rend. Soc. biol.*, III, 1873; *Compt. rend. Ac. d. sc.*, 97, 1883; *Compt. rend. Soc. biol.*, 37, 1885.

(13) F. S. Beudant, *Ann. d. chemie et d. physique*, II, 1816.

(14) H. Eisig, *Fauna u. Flora d. golfes von Neapel*, XVI, 1887.

(15) P. Bert, loc. cit.

passano nell'acqua dolce [Quinton (1)]; ed inversamente che, ponendo un'anguilla, il cui sangue congeli a  $-0^{\circ},57$ , dall'acqua dolce, in acqua del mare (del nord,  $A = 1^{\circ},9$ ) il sangue stesso aumenta nella sua concentrazione fino a congelare a  $A = 0^{\circ},745$ , cioè raggiunge il valore medio trovato per il sangue dei Teleostei marini, senza tuttavia pervenire alla concentrazione del mare [Dakin (2)].

Circa gli *Anfibi*, esistono numerose ricerche antiche e recenti, eseguite sia su la pelle della rana staccata dall'organismo [Matteucci e Cima (3), Reid (4), Bayliss (5)], sia sull'animale vivente [Cl. Bernard (6), Emery (7), P. Bert (8), Spina (9), Semper (10), Ružička (11), Traube-Mengarini (12) Durig (13), Overton (14)], le quali dimostrano la permeabilità della loro pelle nelle due direzioni e la possibilità che questi animali hanno di perdere, per evaporazione, fino al 25-30 % del proprio peso, per aumentarlo poi di nuovo immergendoli in acqua od in soluzioni saline.

I risultati ottenuti non sono tuttavia molto concordi, nè per ciò che concerne la pelle staccata dal corpo, nè per ciò che si riferisce alla cute dell'animale vivente. Infatti, mentre, per il primo caso, Matteucci e Cima osservano un passaggio maggiore delle sostanze disciolte dalla faccia interna della pelle verso quella esterna, e Reid nota una corrente maggiore di liquido dall'esterno all'interno, Bayliss invece, pur constatando un passaggio di liquido e di sostanze disciolte in entrambe le direzioni, non osserva una maggiore velocità di diffusione a favore dell'una piuttosto che dell'altra parte.

Anche relativamente alla permeabilità della pelle dell'animale vivente, i risultati sono alquanto diversi, poichè, mentre da vari ricercatori (Spina, Ružička, Durig ecc.) è ammessa la permeabilità per l'acqua e per i sali nelle due direzioni, pur notando una caratteristica differenza tra la pelle dell'animale morto e quella del vivo; da altri (Overton) è invece asserita la permeabilità nelle due direzioni soltanto per l'acqua e le sostanze solubili

(1) Quinton, Compt. rend. Soc. biol. 57, 1904.

(2) Dakin, loc. cit.

(3) Matteucci e Cima, Ann. d. chemie et d. physique, XIII, 1845.

(4) Reid, Journ. of Physiology, 1890.

(5) Bayliss, Bioch. Zeitschr., XI, 1908.

(6) Cl. Bernard, loc. cit.

(7) Emery, Ann. d. sc. natur., XII, 1869.

(8) P. Bert, Compt. rend. Ac. d. sc., 73, 1871; Compt. rend. Soc. biol. III, 1873; Compt. rend. Ac. d. sc., 97, 1883.

(9) Spina, *Ueber Resorption u. Secretion*, Leipzig, 1882.

(10) Semper, *Die natürlichen Existenzbeding. d. Thiere*, Leipzig, 1880 (Brockhaus)

(11) Ružička, Wiener med. Blätter, Jahrg., 18, 1898.

(12) Traube-Mengarini, Rend. Acc. Lincei, 5, 1896.

(13) Durig, Pflüger's Arch., 85, 1901.

(14) Overton, Verhandl. d. physik. med. Gesell. zu Würzburg, 1904.

nei lipoidi, e, in confronto a questa, la quasi impermeabilità per le sostanze insolubili nei lipoidi.

Tutte le ricerche relative alla permeabilità della pelle degli Anfibi eseguite sull'animale vivente, sono state fatte desumendole dalla variazione in peso del loro corpo immerso in acqua e nelle più svariate soluzioni di cristalloidi elettroliti e non elettroliti, sia dopo aver fatto subire all'animale vivo una perdita in peso del 25-30 %, per evaporazione, sia nell'animale normale. Nell'un caso come nell'altro, le ricerche sono state fatte a cloaca aperta ed a cloaca chiusa, e tanto a circolazione sanguigna funzionante ed a sistema nervoso centrale integro, quanto a circolazione sanguigna abolita (asportazione del cuore) ed a sistema nervoso distrutto (Spina).

I primi a determinare la concentrazione molecolare del sangue degli Anfibi desumendola dall'abbassamento del punto di congelazione del loro siero, furono Bottazzi e Ducceschi (1896) <sup>(1)</sup> i quali ottennero i valori seguenti:

$$\begin{aligned} Rana escul. \text{ (siero)} \quad \Delta &= 0^{\circ},563, \\ Bufo viridis \text{ ( " )} \quad \Delta &= 0^{\circ},761 \text{ (?).} \end{aligned}$$

Questi numeri sembrarono troppo elevati ad Hamburger <sup>(2)</sup>; ed il Bottazzi stesso, in successive ricerche <sup>(3)</sup>, pur ritenendo esatti i valori precedentemente trovati per la rana, credette che quelli relativi al *Bufo viridis* fossero effettivamente errati. In queste ricerche successive egli ottenne:

$$\begin{aligned} \text{per la } Rana \text{ escul. (siero)} \quad \Delta &= 0^{\circ},435 \\ & \quad x_{30}^{\circ} = 119 \times 10^{-4} \\ \text{ " " " (urina)} \quad \Delta &= 0^{\circ},170 \\ & \quad x_{30}^{\circ} = 45 \times 10^{-4} \text{ (?)} \\ \text{per il } Bufo \text{ vulgaris (siero)} \quad \Delta &= 0^{\circ},445 \\ & \quad x_{30}^{\circ} = 121 \times 10^{-4} \\ \text{ " " " (urina)} \quad \Delta &= 0^{\circ},155 \\ & \quad x_{30}^{\circ} = 29 \times 10^{-4}. \end{aligned}$$

Nell'esposizione delle nostre esperienze vedremo che il supposto errore del Bottazzi corrisponde invece a quanto effettivamente si verifica in determinate circostanze di vita di questa classe di animali (ibernazione), e che l'opinione di Hamburger non era quindi esatta.

Dalla conoscenza di questi dati e da quella delle ricerche precedentemente ricordate (dalle quali già risultava la possibilità negli Anfibi di aumentare o diminuire il proprio peso per assunzione o perdita d'acqua), nonchè

<sup>(1)</sup> Bottazzi e Ducceschi, loc. cit.

<sup>(2)</sup> Hamburger, Osmotischer Druck ecc., I, 460, 1902.

<sup>(3)</sup> Bottazzi, Arch. di Fisiol., III, 1906.

dalle mie ricerche <sup>(1)</sup> sul riflesso tonico diffuso, ottenuto appunto nella rana escul. sottraendo acqua dal sistema nervoso centrale, sia per evaporazione (soggiorno dell'animale a sistema nervoso centrale scoperto, sotto una campana di vetro con acido solforico bollito), sia per iniezione sottocutanea di soluzioni saline ipertoniche, fui indotto ad eseguire le presenti ricerche dal punto di vista della regolazione osmotica di questi animali. Mi sembrò infatti non privo d'interesse uno studio sistematico sull'adattamento degli Anfibi all'ambiente liquido esterno, variando la concentrazione di questo e determinando coi metodi fisico-chimici quella dei loro liquidi interni; mentre nello stesso tempo cercavo di indagare il meccanismo di questa regolazione.

Le esperienze precedenti fatte col metodo della pesata dell'animale non mi sembravano d'altro canto adatte per un più preciso studio del fenomeno che mi proponevo di indagare.

Un riassunto dei principali risultati ottenuti da me nella primavera-estate del 1911 fu già comunicato il 6 ottobre 1911 a Torino in occasione della 1<sup>a</sup> Riunione della Soc. ital. di biochimica <sup>(2)</sup>, e successivamente in Roma alla 5<sup>a</sup> Riunione della Soc. ital. per il progresso delle scienze il 16 ottobre 1911 <sup>(3)</sup>. Da quell'epoca sono state eseguite ricerche nello stesso senso da Backman e Sundberg <sup>(4)</sup> le quali sostanzialmente ripetevano quelle di Durig e di Overton fatte per pesata, e confermavano in parte le mie.

Riferirò ora in successive Note i particolareggiati risultati delle mie esperienze.

Esse sono state eseguite nella *Rana esculenta* in *periodo estivo* ed in *periodo d'ibernazione*, prendendo in esame:

- 1°) i limiti dell'adattamento;
- 2°) i fenomeni che si osservano negli animali immersi in acqua distillata ed in soluzioni saline ipertoniche;
- 3°) la concentrazione molecolare e la conduttività elettrica dei loro liquidi interni, nonché il contenuto degli stessi in sostanze organiche, inorganiche ed in N totale
- 4°) il tempo entro il quale la regolazione osmotica avviene;
- 5°) l'importanza dei sacchi linfatici e della vescica urinaria;

<sup>(1)</sup> Brunacci B., Zeitschr. f. Allg. Physiol., IX, 1908.

<sup>(2)</sup> Brunacci B., Atti della Soc. ital. d. biochimica, 1<sup>a</sup> Riunione, Torino, 6-8 ottobre 1911. Ed. Stucchi e Ceretti, Milano, pp. 170-172.

<sup>(3)</sup> Idem, Atti Soc. ital. p. il progresso d. scienze, 5<sup>a</sup> Riunione, Roma, 12-18 ottobre 1911, pp. 880-883; Acc. fisiocritici, Siena, 1912; Zentralbl. f. Physiol., XXV, 1911; Pflüger's Arch., 150, 1912; 153, 1913; Arch. ital. de biol., 58, 1912.

<sup>(4)</sup> Backman e Sundberg, Zentralbl. f. Physiol., XXV, 1911; Pflüger's Arch. 148, 1912; 151, 1913.

6°) i fenomeni che si osservano negli animali immersi in soluzioni saline isotoniche ed ipotoniche;

7°) l'influenza della temperatura;

8°) l'influenza della pressione barometrica.

A) RANA ESCULENTA (estiva).

1°) *Ricerca del limite massimo di adattamento.*

Il primo quesito che mi proposi di risolvere, fu quello relativo al *limite massimo* di adattamento compatibile con la vita.

Allestii perciò sette soluzioni di Ringer (1) contenenti progressivamente grammi 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ‰ di NaCl ciascuna, e gli altri sali (KCl, CaCl<sub>2</sub>, NaHCO<sub>3</sub>) in proporzione; e ne misi tre litri in ciascuno dei sette recipienti, nel quale posi cinque rane il più possibilmente eguali per peso e grandezza, preventivamente asciugate con un panno.

Tutte queste rane, portate da poco in Laboratorio, erano state tenute per alcuni giorni in acqua di condotta cambiata tre volte al giorno, allo scopo di eliminare dal loro canale digerente ogni residuo di alimento. Gli animali in esperimento furono tenuti sempre in una stanza sotterranea annessa all'Istituto, la quale non subiva oscillazioni notevoli di temperatura nelle varie ore della giornata, e nei vari mesi dell'anno; ed era completamente allo scuro.

ESPERIENZA I

(3 giorni di permanenza. Temperatura ambiente, circa, 12° C.).

Soluzioni Ringer contenenti gr.	9	10	11	12	13	14	15	NaCl ‰
20-V-1911 ore 8,30 . . .	5 vive	5 vive	5 vive	5 vive	5 vive	5 vive	5 vive	
" " 11,30 . . .	"	"	"	"	"	"	"	1+
" " 13 . . .	"	"	"	"	"	1+		
" " 16 . . .	"	"	"	"	"	1+	1+	
" " 17 . . .	"	"	"	"	"	2+	2+	
" " 18,30 . . .	"	"	"	"	1+	1+	1+	
21-VI-1911 " ] 9 . . .	"	"	1+	1+	4+	—	—	
" " 11,20 . . .	"	"	"	1+	—	—	—	
" " 16 . . .	"	"	"	1+	—	—	—	
" " 17,30 . . .	"	"	"	1+	—	—	—	
" " 19 . . .	"	"	1+	"	—	—	—	
22-VI-1911 " 8 . . .	"	"	"	1+	—	—	—	
" " 11 . . .	"	"	1+	—	[—	—	—	
23-VI-1911 " 8,30 . . .	5 vive	5 vive	2 vive	5 morte	5 morte	5 morte	5 morte	Sospeso l'esperimento

(1) Si è usata la soluzione di Ringer, anzichè soluzioni semplici di NaCl, per ovviare alle conseguenze dannose di queste ultime [cfr. J. Loeb, Pfüger's Arch. 80, 1900, 88, 1902; Micheels, Arch. intern. de Physiol. 4, 1906-907.

ESPERIENZA II

(4 giorni di permanenza; si tralascia la soluzione 15 ‰. Temperatura, circa, 12° C.).

Soluzioni Ringer contenenti gr.	9	10	11	12	13	14	NaCl ‰
23-VI-1911 ore 11 . . .	5 vive	5 vive					
" " 17,30 . . .	"	"	"	"	"	2+	
24-VI-1911 " 8 . . .	"	"	"	"	"	3+	
" " 9,30 . . .	"	"	"	"	1+	—	
" " 10,30 . . .	"	"	"	"	1+	—	
" " 16,30 . . .	"	"	"	"	"	—	
" " 18 . . .	"	"	"	"	1+	—	
25-VI-1912 " 11 . . .	"	"	"	1+	"	—	
26-VI-1911 " 11 . . .	"	"	"	2+	2+	—	
27-VI-1911 " 11 . . .	5 vive	5 vive	5 vive	2 vive	5 morte	5 morte	Sospeso l'esperimento

ESPERIENZA III

(5 giorni di permanenza; si tralascia la soluzione 14 ‰. Temperatura, circa, 12° C.).

Soluzioni Ringer contenenti gr.	9	10	11	12	13	NaCl ‰
28-VI-1911 Ore 9 . . .	5 vive	5 vive	5 vive	5 vive	5 vive	
29-VI-1911 " 9 . . .	"	"	1+	2+	5+	
30-VI-1911 " 9 . . .	"	"	"	3+	—	
1-VII-1911 " 9 . . .	"	"	1+	—	—	
2-VII-1911 " 9 . . .	"	"	1+	—	—	
3-VII-1911 " 9 . . .	5 vive	5 vive	2 vive	5 morte	5 morte	Sospeso l'esperimento

Da queste esperienze risultò dunque che la soluzione Ringer contenente l'11 ‰ di NaCl era sempre troppo concentrata sebbene in essa talora le rane potessero resistere in vita parecchio tempo (Esp. II). Si ritenne perciò come *limite massimo la soluzione Ringer contenente il 10 ‰ di NaCl*, mentre la soluzione 11 ‰ poteva considerarsi *ultra-massima*. Come *limite minimo* si scelse, naturalmente, l'acqua distillata.