

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCCXIV.

1917

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVI.

1° SEMESTRE.

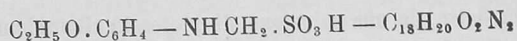


ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1917

Con alcali si precipita una base fusibile a 140° identica con quella testè descritta. Questa sostanza venne pure ottenuta aggiungendo 1 mol. di acido etossiamido metansolfonico ad una soluzione alcoolica di 1 mol. della predetta base del P.F. 140° C. ciò che permette di stabilirne in modo certo la natura e di formularla così:



ossia quale para etossifenilamidometansolfonato della base del punto di fusione 140° C. per la quale dirò, anticipando, fu trovata la formola $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{N}_2$.

Lo studio della base di questo composto verrà pubblicato in altra Nota in collaborazione col dott. Maimeri che mi è grato di ringraziare per il suo valido aiuto in queste ricerche.

Zoologia. — *Sulla Crithidia inflata n. sp. parassita nel tubo digerente del Hygrotrechus najas. Struttura e ciclo di sviluppo.* Nota II di ANNA VIVANTI, presentata dal Socio BATTISTA GRASSI.

Nella Nota precedente ho dato la descrizione dei due primi stadi di sviluppo di una *Crithidia* vivente come parassita nel tubo alimentare del *Hygrotrechus najas*. Passo ora a considerare il terzo stadio, quello cioè di

Post-flagellato.

In quest'ultimo stadio (figg. 1-8) il parassita presenta la parte posteriore del corpo alquanto ridotta e globulare; l'anteriore tende anch'essa ad accorciarsi assieme al flagello, ed a concentrarsi verso il nucleo. Il nucleo, situato dapprima nel centro, occupa ora la parte basale, mentre il blefaroblasto, formato da un sottile bastoncino trasversale, gli si avvicina. Il flagello diviene ora sempre più corto e finisce con lo scomparire del tutto, mentre il parassita, concentrato attorno al nucleo, assume forma ovale od arrotondata e si ispessisce alla periferia, dando luogo alle cisti; queste uscendo dall'intestino con le feci, serviranno per l'infezione di nuovi individui.

Le cisti hanno sempre la parete esterna colorata intensamente e mancano di flagello; alcune (figg. 9, 10) presentano nucleo e blefaroblasto, in altre il nucleo è ridotto ad un gruppo di pochi cromidi (fig. 11); ed in altre ancora non v'è traccia nè di nucleo, nè di blefaroblasto, ma nel protoplasma si osservano grossi cromidi che stanno forse a rappresentare un nucleo frammentato (fig. 13). Variano da 3μ - 6μ circa.

Ho trovato cisti con un nucleo grossissimo (fig. 14) e ripieno di granuli di cromatina, che si prepara alla moltiplicazione. Esso mediante una prima

divisione dà luogo a due nuclei figli (fig. 15), che alla loro volta si scindono formandone quattro (figg. 16, 17). Tale forma darà presto origine a quattro giovani individui formati ciascuno da una porzione di protoplasma con nucleo (fig. 18).

Ho veduto spesso forme polinucleate, le quali seguendo il solito processo danno luogo a nuovi individui piriformi, individui molto piccoli che misurano da 3μ - 6μ circa. Questi non rimangono liberi nel tubo digerente, ma si fissano con la loro estremità ad una particella alimentare, o ad un lembo dell'epitelio intestinale. Costituiscono così degli aggruppamenti di più *Crithidia*, il numero delle quali può variare di molto (figg. 19-24) e che uscendo con le feci dal retto, isolate o no, serviranno per l'infezione di giovani larve.

DIVISIONE.

I miei studi sulla moltiplicazione sono basati tanto sulle osservazioni sui preparati, quanto su quelle a fresco. Nella *Crithidia* del *Hygrotrechus najas* la moltiplicazione avviene per divisione longitudinale, che si osserva in forme di qualsiasi dimensione, e mediante la formazione di rosette.

Il primo a dividersi è sempre il blefaroblasto, il quale è seguito dal flagello e poi dal nucleo; da ultimo si ha la scissione longitudinale del corpo del parassita.

Pre-flagellato.

In seguito alle ricerche fatte sugli strisci ho trovato solamente due forme di pre-flagellato in divisione longitudinale.

In una (fig. 25), i due blefaroblasti ed i flagelli sono completamente divisi, mentre il nucleo, dato dall'accumulo di molti cromidi, soltanto ora si prepara alla formazione dei due nuclei figli. Nell'altra (fig. 26) invece, si ha la completa formazione di due blefaroblasti, due flagelli e due nuclei, che dal centro sono migrati verso la periferia, e nel corpo è già evidente il solco che darà origine alle due nuove forme. La fig. 27 poi, mostra che talvolta mediante successive divisioni i pre-flagellati possono dar luogo ad una rosetta di più individui.

Flagellato.

Ho potuto raccogliere molte figure di divisione longitudinale della *Crithidia* nel suo secondo stadio di sviluppo, le quali mostrano chiaramente come avviene il processo.

I primi indizi di divisione si osservano sempre nel blefaroblasto, il quale si restringe nel centro dividendosi poi in due parti uguali; alla moltiplicazione del blefaroblasto segue immediatamente quella del flagello e da ultimo quella del nucleo (figg. 28-30). Questo, nelle forme in divisione, è costituito

da un ammasso di granuli di cromatina che o lo riempiono completamente (fig. 30), o si dispongono alla periferia lasciando uno spazio libero nel centro (fig. 28).

Il protoplasma è ricchissimo di cromidi di varia misura e colorati più o meno intensamente dal Giemsa. Subito dopo la formazione dei due nuclei figli nella estremità anteriore del corpo, appare un breve solco longitudinale che procede a poco a poco sino all'estremità posteriore (figg. 32-34). In questo momento abbiamo la formazione di due nuovi individui che si separano del tutto (figg. 35-37) e nuotano liberamente nel lume intestinale.

Il processo di scissione longitudinale avviene in individui di qualsiasi forma e dimensione (figg. 37-42); ciò conferma il polimorfismo della specie.

La divisione può essere simmetrica od asimmetrica; nel primo caso i due flagellati che risultano sono uguali (fig. 37), nel secondo hanno dimensioni differenti (fig. 34), e mentre la differenza in lunghezza tra i due individui è abbastanza notevole (10μ - 20μ), quella in larghezza è solo di qualche μ .

Ciò potrebbe far ammettere l'esistenza di una sessualità. Parecchi autori, infatti, fecero l'ipotesi che esistano individui sessuali femminili ed individui sessuali maschili, e basarono tale opinione sulla formazione di due figli non uguali, i quali presentino cioè dimensione differente o numero diverso di granulazioni nel protoplasma.

Nessuno sino ad oggi venne ad una conclusione sicura su tale argomento; per accertarsene sarebbe necessario poter osservare se in vita due flagellati si coniugano fra di loro. Nè io per ora posso asserire nulla in proposito riguardo alla *Crithidia* del *Hygrotrechus najas*, ad eccezione del fatto che molto spesso in seguito a divisione longitudinale si hanno due forme di grandezza ineguale.

OSSERVAZIONI A FRESCO.

Potei fare molte osservazioni a fresco mettendo i parassiti tolti da un intestino infetto di *Gerris* in soluzione fisiologica, dove le forme completamente sviluppate si mantengono in vita per 24 ore circa, mentre le forme di preflagellato e quelle di post-flagellato, tenute in camera umida, vivono per alcune settimane e si moltiplicano in modo straordinario.

Come colorazione vitale ho tentato usare il bleu di metilene, che mi fu poco utile, perchè le *Crithidiae* appena colorate morivano quasi istantaneamente.

Le osservazioni fatte a fresco confermarono tutte quelle sugli strisci.

Studiando una notevole quantità di flagellati, tolti da un intestino di *Gerris* (sia ♂ che ♀) e messa in una goccia di soluzione fisiologica, constatavi sempre la presenza di molte forme in ogni stadio di sviluppo con dimensione ed aspetto svariatissimo.

I pre-flagellati appaiono come corpi ovali od arrotondati con grosso nucleo, piccolo blefaroblasto e con protoplasma incolore, trasparente, cosparso di granuli che rifrangono fortemente la luce; presentano o no il flagello. Le forme più giovani, prive di flagello, hanno due movimenti, uno di traslazione, ed uno di rotazione attorno a sè stesse; sovente descrivono un circolo per tre o quattro volte di seguito. Negli stadi più avanzati, quando cioè posseggono il flagello, o procedono in avanti con questo, o si fissano coll'estremità anteriore a qualche elemento estraneo e volgono il corpo con grande rapidità alternativamente a destra ed a sinistra, continuando tale movimento per un lungo periodo di tempo.

I flagellati, nel secondo stadio, generalmente sono i più abbondanti e si presentano sotto i diversi tipi descritti, ma prevalgono sempre le *Crithidiae* lunghe, sottili e filiformi appartenenti al tipo 4.

Il protoplasma è talvolta alveolare, sempre incolore e trasparente, ricchissimo di granuli di cromatina che rifrangono fortemente la luce, e che, pel giuoco della luce stessa, appaiono di una bellissima tinta verde smeraldo. I movimenti delle *Crithidiae* sono rapidissimi; esse procedono col flagello in avanti che vibra con enorme velocità volgendosi ora da un lato ed ora dall'altro, cosicchè l'animale non si avvanza in linea retta, ma seguendo una linea a zig-zag. La *Crithidia*, dopo aver percorso un breve tratto, facendo perno sull'estremità posteriore, o descrive per parecchie volte un circolo completo e rimane nella medesima posizione, o descrive un angolo di 180° e cambia completamente direzione.

Tali flagellati si raggruppano spesso a centinaia radialmente ad una particella alimentare, alla quale aderiscono con loro flagello. Questi aggruppamenti sono bellissimi e si possono paragonare ad una attinia nella quale ogni tentacolo rappresenti un singolo individuo. Ciascun flagellato si muove indipendentemente, e l'intero aggruppamento non si sposta mai a meno che non venga urtato da un corpo estraneo, o trascinato altrove da una corrente di liquido.

Vidi in gran numero forme grandi e piccole in divisione e più di una volta riuscii a seguire il completo processo di scissione longitudinale, che avviene con gran lentezza procedendo dall'estremità distale a quella basale. I due individui che ne risultano mantengono sempre la precisa forma del genitore, pur non avendone le stesse dimensioni.

Nelle mie osservazioni a fresco mi è occorso di vedere molto spesso il processo dell'incistamento. Quando il post-flagellato ha assunto la forma di un corpo ovale ed è munito ancora di flagello, comincia a perdere alquanto della sua vivacità primitiva e generalmente ruota attorno a sè stesso non spostandosi di molto. Tale movimento diviene sempre più lento, mentre contemporaneamente il flagello si accorcia. A poco a poco la *Crithidia* concentra tutto il protoplasma attorno al nucleo e si arrotonda perfettamente;

essa eseguisce ancora alcuni giri attorno a sè stessa e poi rimane completamente immobile. La *Crithidia* si è ora incistata, ma mostra ancora per alcuni istanti un brevissimo flagello, che presto scompare del tutto non lasciando alcuna traccia di sè.

MODO D'INFEZIONE.

Io credo che l'infezione sia casuale e non ereditaria, giacchè non trovai mai nè uova nè organi genitali infetti. I flagellati sotto forma di cisti, usciranno dunque con le feci dal retto e probabilmente verranno ingerite da giovani larve di *Gerris*.

CONSIDERAZIONI GENERALI.

La *Crithidia*, che ho descritta, è molto simile pei caratteri generali a quella studiata dalla signorina Porter (1909), che vive come parassita nel tubo alimentare, ovari e feci del *Gerris paludum*.

La *Crithidia* del *Gerris paludum* passa per i tre stadi di pre flagellato, flagellato e post-flagellato, come quella del *Hygrotrechus najas*; mentre però questi due parassiti hanno caratteri analoghi nel primo e nel terzo stadio, essi presentano alcune differenze nel secondo, quando cioè hanno raggiunto il loro completo sviluppo.

La signorina Porter nota infatti:

- 1°) nella membrana ondulante la presenza di mionemi che servono a darle una certa contrattilità;
- 2°) nel protoplasma la presenza del cosiddetto « granulo basale » situato fra il blefaroblasto e l'origine del flagello, dal quale sembra che il flagello stesso abbia origine.

Nel caso della *Crithidia* del *Hygrotrechus najas* invece:

- 1°) non ho mai riscontrati mionemi nella membrana ondulante;
- 2°) per ciò che riguarda il granulo basale, posso dire, che spesso vi sono granulazioni vicino al blefaroblasto, ma che nessuna ha caratteri tali da essere ritenuta come un « granulo basale ».

Oltre a ciò il polimorfismo della *Crithidia* del *Hygrotrechus najas* è molto maggiore di quello della *Crithidia* del *Gerris paludum*. La signorina Porter nella sua descrizione non accenna alle forme che io ho chiamato del tipo *b*, e che sono numerosissime nel caso della *Crithidia* del *Hygrotrechus najas*, a quelle forme cioè caratterizzate da speciali rigonfiamenti protoplasmatici situati o all'estremità basale, o tra l'estremità basale ed il nucleo, od in corrispondenza del nucleo stesso.

La *Crithidia* del *Gerris paludum* infetta tubo digerente, feci ed ovari, quella del *Hygrotrechus najas* tubo digerente e feci soltanto.

Considerando dunque, che l'ospite in cui vivono le due *Crithidiae* è diverso, e che oltre a ciò esse presentano notevoli caratteri differenziali, io credo opportuno fare della *Crithidia* del *Hygrotrechus najas* una nuova specie che denominerò *Crithidia inflata*.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA.

I disegni sono fatti con la camera chiara usando l'obiettivo di 1/15 e l'oculare compensatore 8.

L'ingrandimento è di 1200 volte.

- FIGG. 1, 2. — Principio di incistamento; parte posteriore accorciata.
- FIGG. 3-8. — Post-flagellati con parte posteriore ancora più accorciata; protoplasma concentrato attorno al nucleo; nucleo grosso arrotondato addossato alla periferia; blefaroblasto sempre più vicino al nucleo ed a guisa di bastoncino.
- FIG. 8. — Post flagellato visto a freseo.
- FIGG. 9-14. — Una serie di cisti.
- FIG. 9. — Cisti arrotondata con nucleo, blefaroblasto e con periplasma evidente (diametro 4.74μ).
- FIG. 10. — Cisti arrotondata con nucleo, blefaroblasto e poche granulazioni.
- FIG. 11. — Piccola cisti arrotondata con nucleo dato dall'ammasso di cromidi.
- FIG. 12. — Cisti ovale ($6.30 \mu \times 4.74 \mu$) con nucleo evidente, il blefaroblasto non si vede; granulazioni di varia dimensione; periplasma.
- FIG. 13. — Grossa cisti con nucleo probabilmente frammentato ($7.90 \mu \times 6.32 \mu$).
- FIG. 14. — Grossa cisti ($7.90 \mu \times 6.32 \mu$) con nucleo ($4.74 \mu \times 3.16 \mu$), dato dall'accumulo di cromidi, che si prepara alla moltiplicazione; periplasma evidente.
- FIG. 15. — Cisti il cui nucleo ha subito una prima divisione in due nuclei figli.
- FIGG. 16, 17. — Seconda divisione in quattro nuclei figli.
- FIG. 18. — Giovani forme.
- FIGG. 19-24. — Aggruppamenti di più individui derivanti da forme polinucleate.
- FIG. 25. — Pre-flagellato in divisione.
- FIG. 26. — Pre-flagellato in divisione, ma in istadio più avanzato del precedente. Si ha già la formazione dei due nuclei, dei due blefaroblasti e dei due flagelli, ed un solco trasversale mostra nettamente le due forme figlie che ne risulteranno.
- FIG. 27. — Moltiplicazione a rosetta di pre-flagellato.
- FIGG. 28-43. — Forme in divisione longitudinale.
- FIG. 28. — Forma in divisione, blefaroblasto e flagello già completamente scissi.
- FIG. 29. — Flagellato che darà luogo a due forme figlie piccole.
- FIG. 30. — Flagellato che darà luogo a due individui di dimensioni differenti, il più lungo misura 59μ circa e l'altro 43μ circa.
- FIG. 31. — Forma in divisione con nucleo, blefaroblasto e flagello già completamente scissi; moltissime granulazioni protoplasmatiche.
- FIG. 32. — Forma in divisione longitudinale; anteriormente il corpo del parassita è già diviso e sono già evidenti le due forme figlie con nucleo, blefaroblasto e flagello proprio; sono disuguali: una misura 55.30μ e l'altro 39.50μ .
- FIG. 33. — Altra forma in divisione di aspetto differente dalla precedente.

- FIG. 34. — Forma in divisione molto avanzata; le due figlie sono ancora unite all'estremità posteriore per un brevissimo tratto; nucleo arrotondato; blefaroblasto tondeggiante, flagello sottilissimo. Le due nuove forme sono disuguali: una misura 36.34μ in lunghezza e 3μ in larghezza; l'altra invece 63.20μ in lunghezza e 2μ circa in larghezza.
- FIG. 35. — Due flagellati appena divisi, lunghi e sottili, uguali (60.04μ).
- FIG. 36. — Due Crithidia e appena divise; sono disuguali, una misura 48μ e l'altra 37μ circa in lunghezza; in larghezza misurano tutte e due 3μ circa.
- FIG. 37. — Due Crithidia e lunghissime (79.00μ) appena divise; nucleo allungato; blefaroblasto tondeggiante, abbondanti granulazioni specialmente in vicinanza del nucleo. All'estremità posteriore v'è un corpo arrotondato che ritengo sia una particella alimentare, alla quale sia attaccato il parassita prima di dividersi; ma il preparato non troppo evidente in questo punto non permette di determinarne la natura.
- FIG. 38-40. — Flagellati in divisione che daranno luogo a Crithidia e di vario aspetto.
- FIG. 41. — Due piccole Crithidia e già completamente divise (19μ circa).
- FIG. 42. — Forma in divisione in istato molto avanzato.
- FIG. 43. — Crithidia che si prepara alla moltiplicazione come si può vedere dal grosso nucleo (4μ circa), dato dall'accumulo dei cromidi, che presenta un principio di movimento nucleare.

Fisiologia. — *Sull'adattamento degli anfibî all'ambiente liquido esterno mediante la regolazione della pressione osmotica dei loro liquidi interni. Proprietà chimiche e fisico-chimiche dei liquidi interni di animali tenuti in soluzioni Ringer isotoniche ed ipotoniche.* Nota V di BRUNO BRUNACCI, presentata dal Socio LUCIANI (1).

Dopo le esperienze riferite precedentemente ho eseguito anche ricerche per constatare i fenomeni osservabili nelle *rane esculente estive immerse in soluzioni Ringer isotoniche ed in soluzioni Ringer ipotoniche*. Come nel caso di animali tenuti nelle soluzioni ipertoniche, così in questi casi, le rane, prima di essere immerse nelle soluzioni saline iso- ed ipo-toniche, venivano fatte soggiornare in acqua corrente di condotta finchè nel liquido di lavaggio non si fossero più trovati residui alimentari.

La soluzione isotonica conteneva:

Na Cl	gr.	7	%
Ca Cl ₂	"	0,1	"
Na HCO ₃	"	"	"
KCl	"	0,075	"

Il Δ di tale soluzione era $= 0^{\circ}450$, $R 22^{\circ} = 26 \text{ Ohm}$.

(1) Annunciata il 25 febbraio 1915, non fu potuta più inviare perchè l'A. fu richiamato in servizio militare.