

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXIV.

1917

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVI.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1917

Fisiologia. — *Contributo allo studio della soluzione fisiologica per i tessuti del Bombyx mori e della funzione del vaso pulsante* (1). Nota del prof. LUCIANO FIGORINI (2), presentata dal Corrisp. LO MONACO.

In una Nota presentata recentemente al R. Istituto Veneto di scienze e lettere, ho reso conto, come sia possibile mantenere lungamente in vita l'intestino asportato dalla larva di *Bombyx mori* e immerso in soluzione 0,8 % di cloruro sodico purchè si provveda ad un continuo gorgoglio di aria attraverso la soluzione. Ho detto come mi proponessi di continuare l'interessante studio delle soluzioni saline adatte al mantenimento in vita dei tessuti della larva, specialmente tenendo conto della reazione, sapendosi che l'emolinfa ha reazione fortemente acida.

Non ho creduto di iniziare questo studio servendomi del preparato del tubo digerente per l'ovvia ragione della complicazione fornita dalla presenza delle sostanze alimentari e del succo gastrico, fortemente alcalino; ed ho preferito tentare il preparato del vaso pulsante, soddisfacendo così anche ad un altro mio desiderio di addentrarmi cioè un poco nella conoscenza tuttora estremamente manchevole della fisiologia di quest'organo.

Struttura del vaso pulsante. — Senza entrare in particolari di struttura che non sono necessari a quanto si espone nel corso di questa Nota, ci basti accennare come, secondo quanto risulta dalle ricerche di Verson, mentre non è ancora tutto trascorso il primo periodo di vita larvale, le pareti del vaso pulsante appaiono già in tutta la loro estensione sostanzialmente composte di tessuto muscolare striato (3).

Tecnica delle esperienze. — La preparazione del vaso pulsante viene così eseguita. Immobilizzata la larva — qualche rara volta presa sul finire della quarta età, quasi sempre di quinta età — con narcosi eterea, fissatala su una tavoletta di sughero con dei piccoli spilli, incisa la pelle in corrispondenza dell'apertura anale e introdotta una sonda scanalata, sulla guida di questa si taglia a tutto spessore la pelle e lo strato muscolare sottostante lungo la linea mediana ventrale. Arrovesciati all'esterno i lembi cutaneo-muscolari e fissatili, la tavoletta di sughero è tenuta alzata e capovolta con

(1) Lavoro eseguito nella R. Stazione bacologica sperimentale in Padova.

(2) Pervenuta all'Accademia il 27 giugno 1917.

(3) E. Verson, *Sul vaso pulsante della sericaria*. Atti Ist. ven. sc. lett., LVII, parte 2^a, 1907-908, e Ann. R. Staz. Bac. Padova, 36, pp. 17-49. Vedere la figura dei cardioblasti alla tavola II, fig. 16.

una mano, mentre con l'altra si recidono a uno a uno i ciuffi di trachee che imbrigliano l'intestino e i seritteri. Questi organi pel loro peso si vanno così lentamente staccando dagli altri senza che avvengano rotture o lacerazioni, particolarmente a danno del delicatissimo vaso pulsante il quale resta scoperto, ben visibile e agevolmente aggredibile. Tutto il preparato, insieme con la tavoletta di sughero immerso nelle soluzioni saline attraverso le quali gorgoglia aria e delle quali un termometro indica la temperatura, è osservato con l'aiuto del microscopio binoculare, con ingrandimento di 9 o 16 diametri.

Le soluzioni usate furono soluzioni di Ringer eventualmente modificate come si dirà di volta in volta.

Soluzione di Ringer originale. — In una esperienza alla temperatura di 22,5° C. il preparato del vaso sopravvisse circa un'ora e mezzo, in una seconda circa 3 ore. Cade qui in acconcio di osservare come non sia sempre facile decidere della morte del vaso pulsante propriamente detto. Nei preparati più felicemente riusciti, il vaso pulsante appare come un tubo trasparente, emergente dal lembo cutaneo-muscolare in tutto il suo percorso o quasi. È agevole allora constatare le variazioni di diametro dovute ai successivi movimenti di diastole e sistole. Ma se, come accade in larve presso a maturità, il vaso rimane più o meno immerso nel tessuto adiposo sviluppatosi rigogliosamente, non si può sempre stabilire con esattezza se i movimenti che si osservano sieno dovuti alle contrazioni proprie della parete del tubo o degli organi muscolari (= alette) che ad esso si accollano. Così avvenne in questa seconda esperienza nella quale veramente una cessazione di ogni movimento non si osservò che dopo tre ore e tre quarti.

Soluzione di Ringer con 0,8% di cloruro sodico. — Risultando dalle ricerche di Ducceschi⁽¹⁾ che la pressione osmotica dell'emolinfa del baco corrisponde a una soluzione di NaCl = 0,790% ho voluto saggiare la riduzione del contenuto di cloruro sodico nel liquido di Ringer, che, come si sa, è del 0,9%. In una esperienza eseguita osservai la sopravvivenza del preparato per 2 ore e 40 minuti circa.

Soluzione di Ringer con 0,7% di cloruro sodico. — Il preparato sopravvisse oltre 2 ore e un quarto.

Soluzione di Ringer senza bicarbonato sodico. — Tenendo presente l'acidità dell'emolinfa del baco cominciai col saggiare l'effetto della soppressione del bicarbonato e in una delle esperienze in cui il preparato riuscì felicemente, la sopravvivenza fu superiore alle ore cinque e un quarto.

Soluzione di Ringer senza bicarbonato sodico e acidificata. — Nazari ha determinata l'acidità dell'emolinfa corrispondente a 0,46% di acido

⁽¹⁾ Nazari e Ducceschi, *Il sangue del Bombyx mori allo stato larvale*. Atti d. R. Acc. dei Georgofili, 1902, XXV, disp. 3-4.

ossalico. Era logico supporre che l'aggiunta di acidi al liquido di Ringer — s'intende senza bicarbonato sodico — dovesse migliorare le condizioni offerte da detto liquido ai tessuti della larva che vi fossero immersi. L'esperienza diede un risultato del tutto inatteso e contrario all'aspettazione.

a) *Acidificazione del liquido di Ringer con acido formico.* — Dice il Ducceschi che secondo Poulton l'acidità dell'emolinfa è dovuta ad un acido volatile e forse all'acido formico. Ebbene, l'aggiunta di acido formico al liquido di Ringer nella preparazione di 1:5000 induce istantanea morte nel preparato. In soluzione 1:10000 un preparato visse 10 minuti, e finalmente solo in soluzione 1:20000 un'ora e mezzo. L'acido formico si è mostrato cioè assai tossico. È da notare che per azione dell'acido formico 1:10000 in luogo della loro lucentezza e diafanità i tessuti si presentano alla fine bianco-opachi in superficie, assai verosimilmente per coagulazione delle proteine.

b) *Acidificazione con acido acetico.* — L'acido acetico fu istantaneamente letale alla diluizione 1/1000 e 1:2000, rapidissimamente letale all'1:5000. All'1:10000 lasciò in vita un preparato per circa un'ora, e all'1:15000 per circa due ore; insomma si dimostrò anch'esso assai tossico. Trovo nei miei appunti che all'1:2000 i tessuti divengono bianchi opachi.

c) *Acidificazione con acido ossalico.* — Nei tubi Malpighiani si trova come prodotto di escrezione molto ossalato di calcio. Ho quindi voluto saggiare anche l'acido ossalico. Una prova alla diluizione di circa 1:6700 ha lasciato sopravvivere un preparato per meno di 18 minuti ($T=24,5$), un'altra prova alla diluizione 1:10000 ha lasciato sopravvivere un altro preparato per circa un'ora ($T=24,5$).

Anche l'acido ossalico quindi s'è dimostrato tossico.

Aggiunta di sali di manganese e di rame al liquido di Ringer. — Si sa che manganese e rame compaiono sovente in quantità tutt'altro che trascurabili nei liquidi dell'organismo degli invertebrati.

Perciò, in vista della parte che prendono nei processi di ossidazione, ho voluto provare ad aggiungerli al liquido di Ringer, senza bicarbonato. Il cloruro di manganese all'1:2000 ha ucciso un preparato in meno di 20 minuti; all'1:10000 ne ha lasciato sopravvivere uno per oltre un'ora e tre quarti. In altri termini s'è dimostrato tossico.

Il solfato di rame fu immediatamente letale, all'1:5000. All'1:10000 uccise un preparato in 9 minuti, all'1:20000 in tre quarti d'ora circa e all'1:40000 ne lasciò sopravvivere meno di 1 ora. È però necessario rilevare che nei due casi erano ioni di manganese e rame che venivano a contatto cogli elementi cellulari, e che perciò non si può estendere il giudizio di questa forte tossicità ai sali in cui sieno presenti ioni composti dei rispettivi metalli o più ancora a composti organici complessi.

Aggiunta di urea al liquido di Ringer. — Dalle esperienze di Stefani risulta che l'urea esercita una azione, e precisamente dilatatrice, sui vasi sanguigni. Secondo le ricerche di Baglioni l'urea rappresenta per la vitalità dei tessuti dei selaci (e precisamente le esperienze del Baglioni furono eseguite sul cuore) una condizione chimica specifica indispensabile (¹). Per questi due fatti ho voluto saggiare se l'aggiunta dell'urea portasse a qualche visibile effetto. Aggiunta in proporzione del 5 p. m. al liquido di Ringer — senza bicarbonato — essa lasciò funzionare un preparato per oltre due ore e mezzo e un altro per circa 3 ore e tre quarti. E cioè per i tessuti (vaso pulsante) della larva di *B. mori*, l'urea non appare rappresentare una sostanza tossica nè una sostanza favorevole o necessaria alla loro vitalità.

Aggiunta di glicosio al liquido di Ringer. — Nel liquido di Locke, simile a quello di Ringer, è presente l'1:1000 di glicosio. La stessa quantità di glicosio aggiunta al liquido di Ringer — senza bicarbonato — mi ha permesso di osservare la sopravvivenza di un preparato di cuore di *B. mori* per tre ore e tre quarti, non dimostrando cioè nessun effetto particolare. L'esperienza non è stata più ripetuta.

Separazione del vaso pulsante dal sistema nervoso centrale. — A questo scopo la tecnica di preparazione del vaso pulsante è così modificata. Le larve sono fissate su un fianco anzichè sul dorso e il taglio dell'integumento muscolo cutaneo è fatto seguendo la linea degli stigmi. Si arrovesciano così ai due lati due lembi cutaneo-muscolari dei quali uno comprende il vaso pulsante, l'altro tutta la catena ganglionare. Una fila di piccoli spilli viene infissa fra il vaso pulsante e la catena ganglionare. Accertata la buona funzione del preparato con un bisturi ben affilato si fanno tre tagli: con uno si asporta la testa e la porzione prossimale del torace, con un secondo, eseguito fra la fila di spilli e la catena ganglionare ventrale, si asporta tutta questa catena, col terzo infine l'estremità caudale. La buona fissazione con spilli permette di evitare stramenti e lesioni del vaso pulsante. L'esperienza eseguita quattro volte diede lo stesso risultato: e cioè che le contrazioni del vaso pulsante continuano indisturbate.

Dunque le pulsazioni del vaso o sono di origine cosiddetta miogena automatica, o sono dovute allo stimolo proveniente da centri nervosi diffusi nell'organo, centri dei quali finora ignoriamo la presenza.

Divisione del vaso pulsante in segmenti. — In due dei preparati testè descritti ho proceduto al taglio trasverso del vaso pulsante. In entrambi i casi i due monconi anteriore e posteriore hanno continuato a pulsare, dimostrando così una indipendenza funzionale da segmento a segmento.

(¹) Stefani, *Contrib. alla fisiol. d. cuore e d. vasi*. Memorie R. Acc. Lincei. Roma, 1916, vol. XI, fasc. 12. Baglioni, *I prod. ultimi (urea) d. metab. azot. nei selaci*. Atti d. I. Congr. Naz. d. Pesca. Milano, 1903.

Riassumendo: risulta per ora da queste esperienze:

1) che il liquido di Ringer originale si presta alla sopravvivenza dei tessuti (vaso pulsante) del B. mori allo stato larvale;

2) che meglio appare prestarsi se non contenga bicarbonato sodico;

3) che l'aggiunta ad esso di acidi è pernicioso e che di essi solo tracce minime vengono sopportate;

4) che dannosa è l'aggiunta di sali di manganese e rame nei quali sieno presenti gli ioni dei rispettivi metalli;

5) che indifferente è l'azione di urea o di glicosio;

6) che il vaso pulsante funziona anche sottratto all'azione del sistema nervoso centrale;

7) che i suoi singoli segmenti sono capaci di funzionare indipendentemente.

Da queste conclusioni nascono due problemi di fondamentale interesse. Il primo: quello della spiegazione del singolare fenomeno per il quale i tessuti del B. mori — e probabilmente sarà lo stesso per gli altri insetti — mentre prosperano *in vivo* nell'emolinfa acidissima muoiono *in vitro* per tracce minime di acidi aggiunti alle soluzioni fisiologiche; il secondo: quello di stabilire la presenza o meno di elementi nervosi nella parete del vaso pulsante.

Appare infine sempre più meritevole di studio la formazione e la presenza di urea nei tessuti liquidi del baco, urea che dalle ricerche eseguite finora non sembra esistere nei prodotti di escrezione.

Batteriologia. — *Sull'attività biochimica dei batteri agglutinati.* Nota del dott. AMILCARE ZIRONI ⁽¹⁾, presentata dal Corrispondente G. GALEOTTI ⁽²⁾.

Non vi ha dubbio che i microrganismi in genere si sviluppino benissimo in un mezzo di coltura liquido, contenente un siero specifico capace di agglutarli. Mano a mano che essi si riproducono, vengono agglutinati in fiocchi, che cadono al fondo, mentre il terreno di coltura rimane limpido. Il Bandi (che ha utilizzato questo fenomeno di *agglutinazione allo stato nascente*) crede che anzi, in queste condizioni, la moltiplicazione dei batteri sia maggiore, quasi per una difesa della specie batterica contro l'anticorpo.

Non si sa però, se i batteri, che crescono agglutinati, conservino immutate le loro attività biochimiche, e su questo argomento ho fatto le seguenti ricerche.

⁽¹⁾ Dal Laboratorio batteriologico di Muscoli.

⁽²⁾ Pervenuta all'Accademia il 23 giugno 1917.