

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCCXVII.

1920

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIX.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1920

5°) Ed è da rilevare infine un ultimo fatto che interessa il problema biologico e il problema pratico. Sempre limitatamente ai due incroci studiati, si vede che essi seguono il comportamento delle uova della razza alla quale appartiene la madre. I rapporti sono:

	$\lambda = 475$	465
Incr. femm. oro; maschio giallo . .	1	1
" " giallo; maschio oro . .	2,29	2,16

Ma in entrambi i casi, e specialmente nell'incrocio a femmina gialla e maschio oro, s'è verificato il fatto che ho recentemente osservato per il colore dei bozzoli (1): e cioè di un esaltamento nell'incrocio del coefficiente di estinzione in confronto delle razze pure. Nel presente caso del « seme-bachi », l'osservazione deve tuttavia avere ulteriore conferma e merita d'essere ripetuta.

Embriologia. — *Azione del solfidrato di calcio sul guscio delle uova dei lepidotteri* (2). Nota di L. FIGORINI e R. GRANDORI, presentata dal Corrisp. D. LO MONACO.

I. — L. FIGORINI. *Il solfidrato di calcio solvente del guscio delle uova.*

Avendo sentito più volte lamentare dagli specialisti come una delle difficoltà che si incontrano negli studi embriologici degli insetti sia quella di allontanare il guscio dell'uovo, nell'intento di arrecare un contributo che riuscisse di giovamento in detti studi importantissimi, pensai di cercare un solvente che avesse la proprietà di rammollire o distruggere il guscio lasciando intatto il suo contenuto.

Ho trascurato di saggiare i comuni reattivi, quali gli idrati alcalini e i liquidi contenenti cloro, brutali e grossolani nella loro azione dissolvente di ogni sostanza organizzata che venga in contatto con essi. Tenuto presente che la sostanza costituente il guscio dell'uovo è ritenuta una *sostanza cheratica* dal Verson (3) o *corionina* dal Tichomirow (4), ed essendo riandato con la mente alla singolare proprietà di un composto del calcio, il solfidrato,

(1) Succitata comunicazione alla R. Accademia dei georgofili.

(2) Lavoro eseguito nella R. stazione bacologica sperimentale di Padova.

(3) Verson, *La composizione chimica dei gusci nelle uova del filugello*. Boll. mens. di bachicoltura, 1884, n. 9.

(4) Tichomirow, *Chem. St. über die Entwicklung d. Insektenier*. Zeitschr. physiol., Ch. IX.

di sciogliere i peli degli animali (¹) senza danneggiare, in opportuna misura, gli elementi vivi della pelle, ho voluto saggiare questo composto sulle uova del filugello.

Spento dell'ossido di calcio in acqua, ho aggiunto tanto di questa che bastasse per ottenere una poltiglia semifluida, vi ho fatto gorgogliare per alcune ore idrogeno solforato ed ho separato alla fine con filtrazione il residuo indisciolto. Il liquido, lasciato a sè, diede luogo alla formazione di lunghi cristalli aghiformi per piccolo abbassamento di temperatura.

Saggiato così senz'altro sulle uova di filugello, dimostrò una buonissima azione solvente dei gusci, per il che, dopo poche ore, le uova, prima dure e resistenti, s'erano mutate, pur conservando intatti forma e colore, in massettine molli, facilmente schiacciabili. Il collega Grandori riferirà sul felice esito dell'esame microscopico. Trattando il liquido, che ha già agito sulle uova, con acido cloridrico, si separa in una massa voluminosa e bianchissima una sostanza che verosimilmente non è se non la sostanza stessa del guscio delle uova.

Io sto applicando ora questo mio metodo all'isolamento e studio dei pigmenti della sierosa.

II. — R. GRANDORI. *Applicazione alla tecnica embriologica.*

Sperimentai su tre specie di lepidotteri, e su ciascuna con tre procedimenti diversi: 1°) soggiorno in solfidrato di materiale vivo, allo scopo di accertare se esso agisse anche come fissatore; 2°) come il precedente, trattando poi il materiale, dopo la corrosione del guscio, con fissativo, come se fosse materiale fresco; 3°) soggiorno in solfidrato di materiale precedentemente fissato. Riassumo i risultati:

Bombyx mori. — Metodo primo. Circa 20 ore di soggiorno in solfidrato sono necessarie e sufficienti per corrodere il guscio completamente, cosicchè la massa dell'uovo resta del tutto nuda. Un soggiorno di poche ore di più non nuoce; 12 ore sono sufficienti a sfaldare il guscio e a ridurlo tanto sottile e cedevole da poterne poi agevolmente rimuovere i pezzi con due aghi lavorando sotto il binoculare sulla uova immerse in acqua.

Alle sezioni si può accertare che anche la sottilissima membrana vitellina rimane intatta, e così la sierosa e la stria germinativa. Con colorazioni *in toto* si possono avere splendidi preparati in cui la sierosa si mostra, colorata in modo affatto normale. Ma a forti ingrandimenti si può notare in tutte le sezioni, che le sfere vitelline perdono i loro contorni regolari, e i loro nuclei e i granuli vitellini sono più o meno deformati; così pure sono alterate nei dettagli istologici le cellule della sierosa e dell'amnio. Al con-

(¹) G. Marchetti, *Calcio*, in Guareschi, Enciclop. chim., V, 268.

trario, il mesoderma e l'ectoderma di strie germinali ibernanti o già in avanzata incubazione non sono inalterati; e presentano una colorazione nitidissima con una differenziazione nucleare spiccatissima, cosicchè si direbbero preparati ottenuti coi più normali e adatti fissativi usati in embriologia. Con l'ematosilina Carazzi si ha un'ottima colorazione in 10 minuti.

Metodo secondo. Fissate le uova con soluzione di acido cromico 1% a caldo, dopo che avevano soggiornato per 20 ore in solfidrato, i risultati sono migliori. Le deformazioni delle sfere e granuli vitellini, delle cellule della sierosa e dell'amnio, sono assai meno notevoli; la nitidezza della colorazione nucleare della stria germinativa ancor più spiccata: la rapidità di colorazione maggiore che non nel caso precedente (bastano cinque minuti).

Metodo terzo. Con materiale precedentemente fissato in soluzione cromica, difficilmente il guscio viene corroso totalmente; quindici ore sono sufficienti a ridurlo a un sottile velo rigonfio e sfaldato che non offre più al rasoio del microtomo resistenza di sorta; del resto è facilissimo allontanarlo nel modo sopraccennato. Alle sezioni si rileva costantemente che *tutte le parti dell'uovo restano assolutamente inalterate, anche nei più fini dettagli istologici*, cosicchè nessuno potrebbe dire, ignorandolo, che tali preparati subirono trattamenti diversi da quelli normali. Di più, la colorazione è rapidissima (tre minuti in ematosilina Carazzi) e la elettività dei nuclei per questo colore è assoluta, così che nessuna traccia del colore basico si diffonde nel citoplasma. Questa nettezza di elettività non avevo mai ottenuto coi metodi consueti.

Bombyx Yamamai. — **Metodo primo.** Sono sufficienti tre ore di soggiorno di uova vive in solfidrato per corrodere totalmente il guscio e lasciare nudo l'uovo. Le sezioni dimostrano una buona e rapida colorabilità dei tessuti embrionali, sebbene qualche alterazione si noti nei granuli del vitello e nei gangli nervosi; non si ottiene una netta visione dei granuli di cromatina nucleare, benchè i nuclei non sieno deformati.

Metodo secondo. Materiale fissato dopo tre ore di soggiorno in solfidrato dà, come pel *B. mori*, migliori colorazioni, migliori dettagli istologici, minori alterazioni nel vitello.

Metodo terzo. Materiale precedentemente fissato dà anche in questa specie preparati ottimi, con rapidità massima e massima nettezza di colorazione e totale assenza di alterazioni di qualsiasi sorta. Anche qui la membrana vitellina non viene attaccata, benchè sieno necessarie almeno 15 ore di permanenza in solfidrato per corrodere il guscio totalmente (mentre bastano tre ore su materiale vivo). La elettività dei nuclei per il colore basico è anche qui assoluta, e i preparati sono assolutamente normali.

Con tali risultati si schiude finalmente la via allo studio della embriologia di questo bombicino che non era stata precedentemente affrontata per l'enorme spessore del guscio dell'uovo e la materiale impossibilità di allon-

tanarlo e di sezionarlo. Col materiale già conservato l'estate scorsa ho potuto iniziare tale lavoro embriologico che promette ottimi risultati comparativi per illuminare i problemi embriologici ancora discussi nei bomicini.

Orgiia antiqua. — Metodo primo. Occorrono 36 ore di soggiorno in solfidrato per uova vive di questa specie; il guscio non viene del tutto corroso neppure in 48 ore, ma rigonfiato e ridotto a un sottile velo sfaldato, asportabile o sezionabile. Alle sezioni si notano le stesse alterazioni nel vitello e invogli embrionali come in *B. mori*, restando la stria germinale intatta e nettamente colorabile.

Metodo secondo. Materiale fissato nel solito modo, dopo 36 ore di soggiorno in solfidrato dà preparati migliori; in certi casi anzi le deformazioni nel vitello e nell'invogli embrionali sono quasi nulle e la colorabilità rapida, intensa e normalissima, con evidenza di tutti i dettagli istologici.

Metodo terzo. Come nei due bomicini, anche qui il materiale precedentemente fissato richiede un maggior tempo per la corrosione del guscio (48 ore) che però mai viene corroso del tutto. Le sezioni non mostrano alterazioni di sorta; la colorabilità è perfetta e rapidissima in ogni dettaglio.

Riassumendo: il solfidrato di calcio può essere usato senza danno notevole nella tecnica embriologica anche su materiale vivo, sul quale agisce talvolta come discreto fissatore, specialmente se si fa seguire un buon fissativo subito dopo di esso. Se poi esso è applicato su materiale precedentemente fissato e indurito in alcool forte, è assolutamente innocuo, non solo, ma conferisce sempre ai tessuti embrionali una rapidità ed elettività di colorazione straordinaria, quale non si ottiene negli embrioni dei lepidotteri con i metodi tecnici consueti.

Embriologia. — *Microrganismi simbiotici in Pieris brassicae e Apanteles glomeratus*⁽¹⁾. Nota preliminare di REMO GRANDORI, presentata dal Corrisp. D. LOMONACO.

Dopo aver trovato e descritto in un recente lavoro⁽²⁾ speciali microrganismi simbiotici costanti nel *Bombyx mori*, vollen estendere le ricerche ad altri lepidotteri per accertare se essi fossero diffusi in altre specie di questo ordine di insetti.

La stagione invernale rendeva difficile la ricerca di materiale adatto, cioè di uova svernanti in stadio di sviluppo arretrato. Ma avevo conservato da lungo tempo uova di *Pieris brassicae* in vari stadi di sviluppo, e ne ottenni molte serie di sezioni.

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

⁽²⁾ R. Grandori, *La simbiosi ereditaria nel Bombyx mori*; Nota preliminare. Atti del R. Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti, tomo LXXIX, parte II, 1919.