# 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

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 bombicini.

*Orgiya 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 negl'invogli embrionali sono quasi nulle e la colorabilità rapida, intensa e normalissima, con evidenza di tutti i dettagli istologici.

Metodo terzo. Come nei due bombicini, 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*, volli 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 varî stadî 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.

Immancabilmente positivo fu anche in questa specie il reperto di numerosissimi microrganismi diffusi nel vitello e in varî organi embrionali, da uno stadio di poche ore di età fino alla nascita.

Le somiglianze morfologiche che essi presentano con i simbionti del filugello sono grandissime, e certe forme sono quasi del tutto identiche alle forme libere di detta specie. Anche il loro comportamento, che qui riassumo in forma preliminare, per quanto concerne i rapporti fra simbionti ed embrione, non differisce da quello dei simbionti del bombice se non per qualche dettaglio.

Quattro stadî embrionali della *Pieris* ho potuto finora studiare su preparati numerosi, e sono i seguenti:

*α*) *Stadio di blastoderma completo.* — In questo stadio, che ritengo di poche ore di età, il blastoderma riveste tutta la superficie dell'uovo e non esiste ancora differenziazione dello scudetto germinativo. Il vitello è organizzato in sfere complete in una zona periferica, ma la zona centrale dell'uovo è occupata da una enorme massa di microrganismi simbiotici, frammisti a cellule di segmentazione.

L'aspetto dei simbionti in questo stadio è di cellule ovali più o meno allungate, con un nucleo fortemente eccentrico, che si tinge intensissimamente in soli 5 minuti in ematossilina Carazzi ed è ricchissimo di cromatina, talchè appare per lo più compatto e solo in qualche caso anulare, cioè con una areola chiara centrale e un anello di sostanza cromatica periferica. Senza eccezione alcuna il nucleo spicca entro un alone chiaro, eccentrico rispetto al corpo cellulare, con disposizione del tutto simile ai granuli di vitello con simbionti del blastema periferico dell'uovo del filugello. Ma qui il soma cellulare assume alquanto intensamente anch'esso l'ematossilina e si comporta come protoplasma vero e proprio; anche l'alone chiaro contenente il nucleo assume una leggera tinta azzurrognola, e, studiato a fortissimo ingrandimento, si dimostra anch'esso una parte di sostanza plasmatica. La gradazione d'intensità di colorazione delle tre parti è costantemente questa: intensissima nel nucleo, meno intensa nel soma, pallidissima nell'alone che è interposto fra queste due parti.

In mezzo alla gran massa di individui così formati, aventi contorno ovale regolare, ve ne sono alcuni in cui l'alone è tanto eccentrico da formare sporgenza a un polo; e nell'alone stesso il nucleo è a sua volta eccentrico, talora tanto da apparire del tutto esterno alla cellula. A forte ingrandimento questi individui mostrano che la parte essenziale del soma del microrganismo è in realta la sostanza dell'alone, che insieme col nucleo tende ad abbandonare il resto del soma e a rimanere indipendente. Una prova di ciò è data dal fatto che qua e là si riscontrano individui piccoli, liberi, risultanti da nucleo e da una piccola areola di sostanza che per la forma, le dimensioni e la lieve colorazione azzurrognola, si riconosce agevolmente identificabile con l'alone delle altre forme grandi. E una seconda prova è

data da alcuni individui grandi sprovvisti di nucleo e di alone, bensì mostranti un vacuolo polare aperto all'esterno, equivalente in dimensioni allo spazio occupato dall'alone nelle forme complete.

Da questi dati è lecito presumere che anche qui, come nel filugello, il microrganismo si annidi nei granuli di vitello, nelle fasi più precoci dopo la deposizione, ne trasformi la sostanza e successivamente lo abbandoni; la differenza notevole che qui si riscontra è la colorabilità della sostanza dell'alone che nel filugello è minima o nulla.

Nelle sfere vitelline si osservano rari simbionti in questa età dell'uovo. Nelle cellule blastodermiche finora non mi fu dato osservarne alcuno.

Il numero degli individui simbiotici in questo stadio è enorme. In ogni sezione se ne conta qualche centinaio; quindi in un uovo intero parecchie migliaia.

Raramente si osservano forme di divisione diretta del nucleo, accennata o compiuta, risultandone individui binucleati.

β) *Stadio di stria germinale in avanzato sviluppo.* — Corrisponde verosimilmente a 2-3 giorni dalla deposizione; l'ectoderma e il mesoderma hanno una distinta metameria, e si distinguono gli abbozzi degli arti; il vitello, anche centrale, è tutto organizzato in sfere. I simbionti sono ora assai meno numerosi al centro dell'uovo, e sono sparsi nei territorî cellulari delle sfere vitelline e anche presso la stria germinale sulla sua faccia dorsale. Ma molti sono penetrati nei tessuti embrionali, tanto nell'ectoderma quanto nel mesoderma, endocellulari nel primo, prevalentemente intercellulari nel secondo. Molte sono le cellule migranti dal vitello verso l'embrione anche in questa specie, e parecchie contengono un simbionte endocellulare. Tanto quelli endocellulari quanto quelli liberi nel vitello mostrano sempre l'alone chiaro e una piccola zona di plasma denso e colorato di forma tondeggiante; sono sempre assai più piccoli di quelli dello stadio precedente. Il segmento cefalico della stria germinale contiene forme più numerose.

γ) *Stadio di blastocinesi compiuta.* — L'embrione è ripiegato a mo' di lettera U, della quale un ramo (addominale) è più corto dell'altro (cefalico). Tutti gli organi sono nettamente riconoscibili; l'apertura ombelicale non è ancora chiusa.

In questo stadio i simbionti si riscontrano:

1°) in tutti i gangli nervosi, numerosissimi in ciascun ganglio, specialmente nel sopraesofago e sottoesofago;

2°) in grandi cellule vacuolizzate, isolate nell'ematocele, allogati in un vacuolo (uno o due in una stessa cellula);

3°) nel vitello estraembrionale, liberi (rarissimi);

4°) liberi nell'ematocele embrionale (rari); più frequenti presso l'apertura ombelicale;

5°) nello spessore dell'ipoderma (rarissimi).

L'alone chiaro è quasi sempre scomparso intorno al nucleo, il quale è

quasi sempre anulare. Sorprendente è il numero e la disposizione dei simbionti nei gangli, che appaiono bucherellati da numerose lacune tondeggianti, in ognuna delle quali è allogato un simbionte. Talora essi sono, in ciascuna sezione, tanto numerosi quanto gli stessi neuroblasti. In qualche individuo si osservano più nuclei, disposti a rosetta, che sono presumibilmente derivati da riproduzione per conitomia. Di tali rosette, sempre molto piccole e ben differenti da quelle del filugello, se ne osservano anche nell'ematocele. Numericamente i simbionti non sono, in complesso, diminuiti rispetto allo stadio precedente, ma localizzati in prevalenza nel sistema nervoso.

*δ*) *Stadio di embrione prossimo a nascita.* — Corrisponde alla totale scomparsa del vitello estraembrionale, e alla perdita della struttura delle sfere vitelline, integre nello stadio precedente, racchiuse nell'intestino medio.

I simbionti sono scomparsi quasi sempre dai gangli nervosi, tranne qualche individuo che eccezionalmente vi si riscontra ancora. Essi fanno dunque anche in questo lepidottero una transitoria comparsa nel sistema nervoso come nel filugello, e pressochè nello stesso periodo embrionale. Restano rarissimi individui nelle cellule libere dell'ematocele o isolati nelle lacune stesse. Nessun esemplare ne ho riscontrato, fino a questo stadio embrionale, nelle ghiandole genitali. Ma, data la assoluta costanza del microrganismo in tutte le uove di varie provenienze, appare difficile di ammettere che esso non sia ereditario; io penso quindi che esso passi nelle ghiandole genitali più tardi, forse nelle fasi di vita postembrionale, a differenza di quello del bombice che passa nelle gonadi in fasi embrionali ancora precoci.

*
* *

Una ricca serie di preparati di larve di *Apanteles glomeratus*, notissimo imenottero parassita della *Pieris brassicae*, mi ha dimostrato evidentissimi i corpi simbiotici perforanti l'ipoderma della larva parassita e adunantisi specialmente nello spazio fra catena gangliare e ipoderma ventrale. Numerosi individui invadono anche nel parassita il sistema nervoso centrale, e specialmente gli ultimi gangli della catena. La zona di penetrazione attraverso l'ipoderma che sembra costantemente preferita è appunto quella corrispondente agli ultimi tre gangli addominali dell'*Apanteles*. L'età in cui questa larva parassita contiene simbionti più numerosi è l'età media, corrispondente a una lunghezza, della larva, di 3 mm. Tutte le larve parassite contengono, senza eccezione, simbionti più o meno numerosi.

Gli interessantissimi rapporti biologici, che questi reperti fanno intravvedere, mi inducono ad estendere e completare queste ricerche sul simbionte della *Pieris* e dell'*Apanteles*; dei reperti attuali ed ulteriori confido poter dare prossimamente una dettagliata illustrazione.

G. C.