

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

Biologia. — *Sull'identità delle influenze morfogenetiche nella metamorfosi degli Anfibii anuri e urodeli* (1). Nota di GIULIO COTRONEI, presentata dal Socio BATTISTA GRASSI.

Le ricerche, di cui la presente nota vuole essere soltanto una breve introduzione ed esposizione preliminare, traggono la loro origine da altre, da me compiute parecchi anni or sono. In una memoria, pubblicata nel 1914 (2), ho studiato comparativamente l'accrescimento degli anfibii anuri e urodeli: tale studio venne compiuto principalmente sull'apparato digerente, mediante ricerche anatomiche e misurazioni quantitative. Notando la diminuzione di lunghezza intestinale che si verifica nei tritoni nella fase di metamorfosi e che può essere espressa dalla riduzione di un rapporto intestinale da 1.19 a 0.94, io affermavo che, se una gran parte di tale diminuzione in lunghezza era dovuta al fatto che il tubo digerente durante la metamorfosi è vuoto per digiuno (causa meccanica), era da pensare altresì che una parte di tale accorciamento fosse dovuta alla perdita d'acqua (che io deducevo dalla forte diminuzione di peso). Promettevo fin d'allora una ricerca istologica.

È sulla metamorfosi degli anfibii anuri che sono state compiute le più importanti ricerche riguardanti la perdita d'acqua. Davenport, Schaper, Bia-laszewicz hanno studiato la variazione in acqua durante lo sviluppo degli anfibii. Davenport fu il primo (1898) a notare che durante lo sviluppo la percentuale d'acqua arriva fino a un massimo del 96 %, per poi decrescere; egli ha dato giustamente una grande importanza all'imbibizione d'acqua per l'accrescimento dell'embrione. Shaper trova che nel girino di rana il massimo di contenuto in acqua è del 95,02 %; osserva che già al 40° giorno la percentuale in acqua comincia a diminuire; al 54° giorno, quando il corpo è molto voluminoso e la coda assai sviluppata e le estremità posteriori si vanno sviluppando, il contenuto in acqua si riduce all'88,19 %. In seguito la larva ne perde ancora: da principio più lentamente; ma durante la fase di metamorfosi la grafica dello Shaper presenta un rapidissimo salto, e la percentuale d'acqua si riduce al 76,40 %, presso a poco a quella che presenta la rana adulta (76 %).

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto d'anatomia e fisiologia comparata della r. Università di Roma.

(2) Cotronei Giulio, *L'apparato digerente degli Anfibii nelle sue azioni morfogenetiche*, Memorie Reale Accademia dei Lincei, classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali (anno CCCXI, 1914).

È assai importante osservare che, mentre nella metamorfosi si nota una fortissima perdita d'acqua in pochi giorni, la perdita in sostanze organiche è assai minore e la variazione delle ceneri è quasi nulla, onde proporzionalmente l'organismo si mineralizza.

Conosciuto il fatto della perdita d'acqua, è da ricercare analiticamente con quali modalità essa si manifesta nelle varie parti dell'organismo. Si sa che molti organi nella metamorfosi variano di volume; ma perdono acqua le cellule, onde si verifica una variazione di turgore, o si tratta di una perdita d'acqua interstiziale al di fuori delle cellule? E se le cellule perdono acqua, si può osservare tale fatto in un grado differente nei vari organi e tessuti? Si osserva in tutte le cellule?

È poi noto che durante la metamorfosi gli animali digiunano. Ora, le ricerche sul digiuno hanno condotto a dei risultati (Gaglio, Morpurgo, Lukjanow e la sua scuola, Morgulis, Rondoni, ecc.) dai quali non si può prescindere per la valutazione dei nostri reperti. In linea generale possiamo ricordare fin da ora che le ricerche in proposito hanno dimostrato una notevole differenza nel comportamento dei vari organi e tessuti.

Nella metamorfosi degli anuri, si sono degli organi che presentano fenomeni di istolisi a differenza degli urodéli: le mie ricerche si propongono di osservare se nel divenire di tali processi si possono scorgere delle fasi identiche, così da intravedere, sia pure in grado differente, una medesima causa morfogenetica, ed è sotto questo punto di vista che io parlo di *identità* nella metamorfosi degli anfibi anuri e urodéli.

Molti autori (tra i quali cito soltanto Noetzel, Duesberg, Guieysse) hanno descritto minuziosamente le modificazioni a cui va incontro la coda degli anuri nel suo processo d'atrofia. Le ricerche del Guieysse meritano di essere ricordate: egli descrive il tessuto connettivo della membrana natatoia della coda della larve d'anuri come un tessuto mucoso tipico fatto da cellule stellate, i cui prolungamenti sono dei fini filamenti che s'anastomizzano, formando delle maglie; quando comincia la riduzione della coda, egli nota che il liquido che riempie le maglie viene riassorbito, mentre avviene una forte retrazione delle fibrille.

Nel *Triton cristatus* e nel *Triton taeniatus* io osservo fatti simiglianti: ed è veramente impressionante l'analogia di comportamento fra i fenomeni che intervengono nella metamorfosi degli urodéli e quelli che avvengono in una prima fase nella metamorfosi degli anuri. Il tessuto connettivo della natatoia (nella larva) ha tutto l'aspetto di un connettivo embrionale: si osservano delle cellule (poche in un campo microscopico) da cui partono sottili fibrille che si dispongono ordinandosi in direzione trasversale e lasciando tra serie e serie di fibrille uno spazio che è occupato da una sostanza acquosa; alla periferia, verso l'epidermide, il connettivo (corion), che è più

addensato, mostra una direzione longitudinale. La disposizione trasversale delle fibrille, il fatto che lo spazio compreso tra esse è occupato da una sostanza acquosa e che quindi ha una debole comprimibilità, ci dimostrano (e mi limito per ora a un accenno fugacissimo) che si tratta di disposizioni anatomiche in relazione con le condizioni meccaniche del movimento della coda, durante la vita acquatica larvale.

Esaminiamo ora individui al termine dell'atrofia delle branchie. Già l'osservazione anatomica ci indica l'atrofia della natatoia; l'osservazione microscopica ci fa vedere come le cellule connettive si sono addensate; nello stesso campo microscopico se ne osserva un numero molto maggiore; le fibrille connettive hanno perduto l'ordinamento dianzi descritto e si presentano intrecciate e fortemente addensate; la sostanza acquosa è pertanto in grande diminuzione; si riscontrano anche fibre connettive molto grosse, almeno per certi tratti, che si colorano fortemente in azzurro col Mallory. Io penso a una fusione di varie fibrille e a una probabile modificazione fisico-chimica: in relazione a questa retrazione del tessuto connettivo si verifica quindi una perdita d'acqua, che manifesta perciò un'azione morfogenetica: le modificazioni del tessuto connettivo, infatti, non sono limitate alla coda.

In concomitanza alle modificazioni sopra descritte si verifica un forte impiccolimento delle cellule epidermiche: anche qui si tratta evidentemente di una perdita d'acqua, la quale poi deve essere condizione che porta gradatamente ai processi di corneificazione.

A volere estendere lo studio della perdita d'acqua negli elementi cellulari, desumendolo dalle variazioni di grandezza, si va incontro a non lievi difficoltà di studio.

Negli anuri è forte la diminuzione di grandezza che presentano le cellule degli acini zimogenici del pancreas. Ho calcolato le superficie cellulari da sezioni microtomiche proiettate con la camera chiara con ingrandimento di circa 1400 diametri. Il calcolo eseguito con un planimetro integrativo (¹), sulle figure ingrandite come sopra, mi ha dato i seguenti risultati:

Da superficie cellulari pancreatiche di larva di *Rana esculenta* ho ottenuto una media di cm^2 3,7; dai nuclei una superficie di cm^2 0,73. I calcoli, eseguiti nelle stesse condizioni d'ingrandimento, su cellule pancreatiche al termine della metamorfosi, hanno dato per la superficie cellulare una media di cm^2 1,6 e per la superficie nucleare cm^2 0,5. Per quanto le cifre riferite abbiano un valore approssimativo, date le cause d'errore, pure, considerando che esse cause sono sempre le medesime, possiamo ritenere che le cifre date ci esprimano l'andamento del fenomeno studiato. E quindi rilevabile come il nucleo diminuisca di grandezza assai meno che non il citoplasma. L'indice plasmatico nucleare, che nella larva è 5,06, dopo la metamorfosi

(¹) Planimetro della ditta Dennert e Pape.

passa a 3,2. Gli acini zimogenici si presentano dopo la metamorfosi assai più avvicinati gli uni agli altri, per correlativi fenomeni manifestatisi nel tessuto connettivo. Anche negli urodeli io noto questo fatto; ma per l'impiccolimento delle cellule pancreatiche voglio raccogliere altri dati prima di pronunziarmi.

Negli anfibii anuri avviene durante la metamorfosi un enorme e rapido accorciamento del tubo intestinale. Il Reichenow ritiene che ciò dipenda, sia da un accorciamento e fusione delle fibro-cellule muscolari, sia da un accollamento delle cellule connettive della sottomucosa; io sono indotto ad ammettere che anche nel tubo digerente, almeno in un primo tempo, l'azione morfogenetica sia esercitata da fenomeni di perdita d'acqua che spiegano i fatti di retrazione. Nei tritoni da me esaminati, l'accorciamento del tubo intestinale è enormemente minore; ma osservazioni minuziose ci dimostrano che anche qui si ottiene un addensamento delle fibro-cellule muscolari e del connettivo; anche qui, possiamo dedurne, si manifesta la perdita d'acqua: le profonde differenze che si hanno negli *effetti ultimi* sono dovute in gran parte al fatto che l'intestino larvale degli anuri è profondamente differente da quello degli urodeli.

Riferisco ora brevemente su osservazioni che si collegano a ricerche sperimentali di cui m'occupo da non poco tempo⁽¹⁾: i fenomeni dovuti essenzialmente a perdita d'acqua, riferiti precedentemente, si ripresentano ugualmente anche nelle larve d'anuri trattate con tiroide? In verità i risultati della ricerca sono facilmente prevedibili e intuitivi. L'influenza del trattamento tiroideo non si manifesta essenzialmente con fenomeni speciali nello sviluppo e nella riduzione dei vari organi considerati isolatamente; ma non fa altro, quando comincia ad agire, se non accelerare con enorme rapidità il metabolismo cellulare. L'acceleramento agisce su tutto l'organismo (anche quando alcuni organi dovrebbero attendere lo sviluppo correlativo di altri), onde si determinano i fenomeni di disarmonia⁽²⁾.

Il Giacomini⁽³⁾ ha descritto per il primo un fatto molto interessante: mettendo della sostanza tiroidea nell'acqua-ambiente, ove si sviluppavano embrioni

(1) Rimando il lettore al mio ultimo lavoro: Cotronei Giulio, *Ricerche sperimentali sull'accrescimento larvale e sulla metamorfosi degli Anfibii anuri*. Memorie della società italiana delle Scienze detta (dei XL), serie 3^a, tomo XXI, 1919.

(2) Intendo dire, per quanto già esposto chiaramente, che i fenomeni differenziativi non si svolgono nei vari organi, prescindendo dall'accrescimento raggiunto, diversamente dallo sviluppo normale, fino al grado di sviluppo in cui i vari organi vengono a trovarsi nella fase di metamorfosi negli esperimenti con nutrizione contiroide: non intendo e non ho mai inteso dire che in tale condizione sperimentale tutti gli organi si trovano in egual grado di differenziazione che nei casi normali.

(3) Giacomini E., *Osservazioni macro e microscopiche sopra giovanissimi girini di rana metamorfosati per l'azione della jodotirina e di preparati di tiroide secca*, Rendiconti R. Accademia di Scienze di Bologna, vol. XX, 1916.

di rana, ha osservato che l'azione accelerativa non si verifica se non quando avviene la rottura della membrana faringea: i miei esperimenti mi hanno dato risultati analoghi. Io ritengo che il trattamento tiroideo manifesti la sua influenza al termine dell'assorbimento vitellino, quando cioè si è giunti al termine di una determinata fase differenziativa e cominciano quelle modalità di metabolismo proprio inerente alla vita larvale; se poi la metamorfosi, e in tutti i casi, non è altro che la fase corrispondente ad un determinato consumo delle energie cellulari, ne consegue che i processi intimi che si svolgono nelle cellule non possono essere diversi da quelli dei casi normali. Si hanno però delle modalità differenti in relazione alle condizioni generali in cui viene a trovarsi l'organismo (soppressione dell'accrescimento larvale): così le cellule nervose, che, com'è noto, continuano ad aumentare di dimensioni durante l'accrescimento, nei casi di metamorfosi accelerata con impedito accrescimento si presentano di piccole dimensioni.

NOTA AGGIUNTA.

Mentre correggo le presenti bozze di stampa posso consultare un recentissimo e interessante lavoro critico di G. Levi, *Il fondamento morfologico dell'accrescimento organico*, Archivio di Scienze biologiche 15 dicembre 1919. L'autore che è un illustre cultore degli studi sull'accrescimento, ricorda le mie prime ricerche sulle larve d'Anuri nutrite con tiroide; ma commette un involontario equivoco quando attribuisce a Romeis il merito delle ricerche che hanno fatto risaltare come nella metamorfosi in siffatte condizioni sperimentali vi siano degli organi in arretrato sviluppo rispetto ad altri. Ricordo che fin dal primo mio lavoro sull'argomento *pubblicato in estratto nel settembre del 1913*, io ho voluto esprimere per il primo con la parola disarmonia un tale dato di fatto, che risultava chiaramente dalle mie ricerche. Questi reperti (e rimando oltre che ai miei lavori anche a quelli posteriori del Giacomini e del Romeis) non sono del resto per nulla in contraddizione con la mia interpretazione generale, che sempre la metamorfosi corrisponde a un determinato consumo delle energie cellulari: avviene però che vi sono degli organi di più tardiva formazione o evoluzione i quali perciò, in un determinato momento, non riescono a raggiungere lo stadio di acceleramento di altri organi e il grado di senescenza in cui si viene a trovare l'organismo larvale.