

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCXCVII.

1900

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME IX.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1900

Chimica. — *Nuove ricerche nel gruppo della canfora*. Nota di ENRICO RIMINI, presentata dal Socio PATERNÒ.

Questa Nota sarà pubblicata nel prossimo fascicolo.

Zoologia — *Osservazioni sopra fenomeni che avvengono durante lo sviluppo postembrionale della Calliphora erythrocephala*. I. Nota preventiva del dott. FELICE SUPINO, presentata dal Socio GRASSI.

Non pochi sono quelli che hanno preso a studiare i cambiamenti cui vanno soggetti i vari organi durante la ninfa degli insetti; ma tuttavia in alcune interessanti quistioni, le opinioni sono così svariate e diverse che si può dire che su tale argomento esista una vera confusione. Io ho voluto perciò prendere in considerazione questi fenomeni, ed in attesa di quanto potrò ritrarre dallo studio completo, credo intanto utile parlare in questa Nota preventiva di una quistione riguardante il modo di distruzione del tessuto adiposo larvale, riservandomi a trattare di questo e di altri argomenti, come pure di dare numerose e dettagliate figure, nel lavoro in esteso.

Anche la bibliografia completa verrà da me data in seguito, solo ora mi limiterò a dirne qualche cosa, tanto per mostrare a che punto è la quistione.

Furono studiati a tale riguardo vari insetti. Alcuni pensano che le cellule adipose si rigonfino, e la loro parete cellulare si rompa lasciando disperdere il contenuto (Weismann 1864); oppure che si distruggano ed il protoplasma si riduca ad un liquido vischioso che andrebbe a nutrire gli organi della ninfa (Künckel d' Herculais 1875, Ganin 1875).

Altri sono d' opinione che nelle cellule adipose si trovino dei fagociti prodotti per generazione endogena, i quali sarebbero incaricati di distruggerle (Viallanes 1882); oppure che i fagociti penetrino di buon' ora nelle cellule adipose allo scopo pure di distruggerle (Kowalevsky 1885, Korotneff 1892, Karawaiew 1898, Rees 1888, Pérez 1900).

Altri infine pensa che i fagociti non penetrino mai, durante la ninfa, nelle cellule adipose e che quindi queste non vengano distrutte dai fagociti (Berlese 1899); ed altri ancora, studiando le Api e le Vespe, dice che i fagociti penetrano nelle cellule adipose solo eccezionalmente, ma che invece avviene qui una liocitosi, cioè che le cellule adipose vengono distrutte da cellule speciali del corpo grasso dette cellule escreto-secretrici del corpo adiposo. (Anglas 1900).

Si osservi dunque quale enorme differenza d'interpretazione tra i vari autori!

È perciò che credo d'interesse poter portare un contributo all'appoggio di una o dell'altra di queste così varie opinioni, cosa che intendo fare per ora brevemente nella presente Nota, riservandomi, come ho già detto, di ritornare su questo e di trattare altri argomenti sullo stesso tema, in seguito.

Anche della tecnica da me adoperata parlerò nel lavoro per esteso, solo qui dirò che, per esaminare bene le pupe, bisogna toglier loro il pupario, cosa che si può non difficilmente ottenere tenendo le pupe stesse per qualche minuto in acqua bollente, ciò che permette poi, usando molta delicatezza, di togliere con gli aghi a punta e lanceolati tutto intiero il pupario anche in pupe del primo giorno.

Ho studiato principalmente la *Calliphora erythrocephala*, come quel dittero che è stato dai più preso in considerazione e che ha dato luogo a tutte le suaccennate discussioni, per cui nel mio caso speciale aveva grande interesse.

Da principio le modificazioni cui va soggetto il tessuto adiposo hanno poca importanza; nella larva appena nata, fino a quella che ha raggiunto i 5 mm. di lunghezza, le differenze non consistono che nel volume sempre maggiore che acquistano le cellule adipose. Queste si mostrano di forma rotondeggiante o poligonale, con contenuto, sui tagli, apparentemente omogeneo, che però a forte ingrandimento appare come una finissima punteggiatura, con nucleo ben distinto il quale mostra nel suo interno uno o due nucleoli.

Nella larva che misura 6 mm. di lunghezza, le cellule adipose si mostrano, specialmente ai lati dell'animale, disposte come in uno strato pieggettato al di sotto dell'ipoderma e dello strato muscolare. Esse misurano, nelle sezioni, 30-32 μ ed il loro citoplasma anzichè tingersi uniformemente con l'emallume, come succedeva negli stadi precedenti, mostra qua e là delle macchioline incolori, le quali, come vedremo meglio nello stadio successivo, costituiscono veri vacuoli.

Nella larva che misura 7 mm. di lunghezza, le cellule sono ancora più grandi, poichè misurano circa 45 μ di diametro ed il loro nucleo ne misura 19. Qui si vedono ingrandite e più numerose quelle macchioline incolori che abbiamo osservate nello stadio precedente, in modo che appare evidente trattarsi di veri vacuoli. Nel nucleo si vedono benissimo uno o due nucleoli. Tali fatti si osservano bene anche in larve lunghe 8-10 mm.

Da questo punto fino a che la larva diviene matura ed ha cessato di nutrirsi, non vi sono cose molto importanti da osservare; salvo che le cellule aumentano ancora di volume, tanto da misurare quasi 150 μ , ed i vacuoli sono relativamente più o meno grandi a seconda della regione del corpo nella quale si trovano.

Nella larva matura che ha cessato di nutrirsi, si osserva che le cose hanno mutato grandemente d'aspetto. Le cellule adipose appaiono quasi regolarmente sferiche, sono più o meno allontanate l'una dall'altra e si trovano sparse irregolarmente, rispetto a quanto abbiamo osservato nei primi stadi, nel corpo dell'animale. I vacuoli sono divenuti molto numerosi, ed il citoplasma, visto a forte ingrandimento, assume nelle sezioni la forma di un reticolo. Sui tagli, attorno alle cellule si trova una gran quantità di sostanza in forma di minutissimi granuli che deve considerarsi come plasma sanguigno coagulato. In mezzo a questo si vedono dei leucociti i quali, specialmente negli stadi ulteriori, si mostrano assai numerosi e grandi, e si possono trovare anche addossati alle pareti delle cellule adipose. Però, per quanto io abbia attentamente osservato, non ho mai visto che vi penetrino. Le cellule adipose sono aumentate ancor più di volume, potendo misurare più di 200 μ . Nelle maglie del reticolo si riscontrano ora dei minutissimi granuli, alcuni dei quali si colorano con l'emallume, altri rimangono incolori e sono perciò rifrangenti. Però io non ho osservato, come afferma il Berlese, che i granuli colorati e quelli non colorati, sieno disposti in zone regolari; io non ho riscontrato tale regolarità, ma ho visto granuli colorati o meno, sparsi in qualunque parte della cellula e quindi, tanto vicino al nucleo che lontano da questo. In stadi ulteriori ⁽¹⁾ e precisamente poco tempo prima della formazione della pupa, si nota che all'esterno delle cellule adipose non si trova più un plasma in forma di minutissimi granuli come avevamo visto negli stadi precedenti, ma si vede invece un plasma che appare in forma di granuli più grossolani, plasma che persiste ed anzi si fa più abbondante fino alla pupa di tre o quattro giorni. Tale modificazione del plasma è molto probabilmente in rapporto con la distruzione di organi larvali e specialmente dei muscoli della regione anteriore del corpo che sono i primi a disfarsi. Nello stesso tempo si osserva che nell'interno delle cellule adipose si trovano oltre ai granuli colorati o meno, di cui abbiamo fatto più sopra parola, anche delle sferette più grandi che mostrano nel loro interno delle piccole particelle sferiche simili a nuclei, le quali si colorano intensamente con l'emallume.

Se il plasma che abbiamo visto all'esterno delle cellule adipose, penetri nelle cellule stesse per formare i granuli più o meno colorati come asserisce il Berlese, è cosa che non potrei ben definire. Io non vidi il plasma esterno penetrare nell'interno delle cellule adipose, e se qualche volta sembra di vederlo, ciò dipende dal fatto che la parete delle cellule adipose si è rotta

(1) Io non ho diviso lo stadio preninfale nei momenti adottati dal Berlese, poichè ho potuto constatare che per ragioni speciali, tali momenti possono non avvenire con regolarità e che spesso dalla larva matura, per esempio, che ha finito di nutrirsi e si locomove, si può passare allo stadio III del Berlese e magari a quello di larva già da tempo raccolta su sè stessa

in qualche punto. Si tratta di fenomeni così complicati e d'altra parte così difficili a risolversi, dati i mezzi che la microchimica oggi ci dà, che credo sarebbe per lo meno temerario il voler dare un giudizio esatto. È perciò che io mi limito alla esposizione di quanto ho potuto osservare, lasciando che l'interpretazione di fenomeni così complessi si risolva quando la tecnica ci darà mezzi sufficienti per dire con sicurezza come procedano le cose.

In uno stadio ulteriore si riscontrano nelle cellule adipose in grande quantità quelle sferette contenenti uno o più corpicciuoli a guisa di nucleo, come abbiamo già visto, ed intanto si nota che nel contorno esterno del nucleo della cellula adiposa si vedono come dei piccoli granuli fortemente colorati che pare si stacchino dal nucleo stesso.

Questi corpicciuoli sono quelli che il Berlese ha interpretato come enzimi destinati a penetrare nelle sferette (le quali secondo il Berlese stesso sarebbero costituite da sostanze albuminoidi raccolte nella cellula adiposa dal plasma esterno) per alterarle.

Anche qui posso ripetere quanto già dissi a proposito della penetrazione del plasma esterno nelle cellule adipose. Io non mi sento in grado di attribuire a quei corpicciuoli che pare si stacchino dal nucleo della cellula adiposa, la proprietà di enzima, poichè non ho i dati sufficienti per poterlo dimostrare. Potrebbe anche trattarsi di un semplice fenomeno di cariolisi come si riscontra in molti casi. La ipotesi del Berlese, che tali corpicciuoli sieno enzimi, che questi sieno incaricati di alterare le sferette di sostanza albuminoide, che l'alterazione si riconosca dal fatto che le sferette si colorano o meno, e che infine queste una volta elaborate, fuoriescano per andare a nutrire gli organi di nuova formazione od in accrescimento della ninfa, sarà geniale quanto si vuole, ma io non la credo dimostrata nè per ora facilmente dimostrabile.

Ma veniamo alla parte importante della quistione, all'argomento che più è stato oggetto di discussione e che ha dato luogo a tante interpretazioni così diverse.

Osservando lo stadio di pupa, specie nei primi giorni, si vedono, come abbiamo detto, attorno al nucleo delle cellule adipose, dei corpi rotondeggianti od ovali che racchiudono uno o più corpicciuoli che si tingono intensamente con l'emallume. Tali corpi sono quelli che Kowalevsky, Viallanes e Rees hanno preso per elementi cellulari e che, specialmente quest'ultimo, ha descritti minutamente come leucociti incaricati di distruggere le cellule adipose. Ed infatti a prima vista, tutto concorrerebbe a far ritenere di aver qui a che fare con vere cellule, inquantochè si vede bene una specie di membrana esterna che può scambiarsi per una parete cellulare, poi una sostanza trasparente cosparsa di minuti granuli che può sembrare protoplasma, e finalmente uno o più corpicciuoli interni che si colorano intensamente con l'emallume e che sembrano veramente nuclei. Un attento e prolungato esame fa vedere però che qui non

abbiamo a che fare con elementi cellulari e quindi con leucociti, poichè i supposti nuclei, non presentano struttura di sorta, mentre i leucociti che si trovano all'esterno hanno il loro nucleo ben chiaro ed evidente; inoltre questi corpicciuoli delle sferette non danno con le peculiari sostanze la reazione della nucleina, ed oltre a ciò anche l'esame fatto al microscopio, se eseguito con attenzione, mostra che di cellule qui non si tratta affatto. Il Rees afferma inoltre, come abbiamo già accennato, che questi da lui supposti fagociti sono incaricati di distruggere ben presto la cellula adiposa; ora invece sta il fatto che non poche cellule di grasso col loro nucleo, persistono fino alla formazione dell'immagine ed anche per qualche giorno dopo che è nato l'adulto, cosa che non potrebbe accadere se esse fossero distrutte già di buon'ora dai fagociti, come vuole il Rees.

Può far meraviglia che scienziati come Kowalevsky, Rees ed altri, abbiano potuto errare di tanto, e ciò fa sì che chi intraprende un tale studio debba andar molto guardingo nella interpretazione di questi fatti; ma non v'ha dubbio che un esame accurato dimostra chiaramente quanto ho sopra esposto. Anche il sistema di colorazione tanto raccomandato dal Rees per distinguere bene i leucociti, non è stato capace di farmi cambiare opinione.

Quanto poi al significato da darsi a queste sferette, io non credo possibile per ora di pronunziarci a meno di non far delle ipotesi. Ed anche qui debbo dire che quella del Berlese è bella, ma mi sembra un po' azzardata. Io ho osservato quei granuli colorati che pare si stacchino dal nucleo, ma non potrei asserire con certezza che penetrino nelle sferette. A buon conto quei corpicciuoli che si trovano nelle sferette, si presentano sotto un aspetto diverso di quelli che sembra si stacchino dal nucleo della cellula adiposa. Comunque è certo che il Berlese ha detto giustamente asserendo che le sferette non sono elementi cellulari.

Ma andiamo per ordine e vediamo che cosa succede delle cellule adipose.

Nella pupa del primo giorno (1) si vedono, quantunque poco numerose, nell'interno delle cellule adipose, quelle sferette le quali sono ormai abbastanza grandi e contengono uno o più corpicciuoli che si tingono bene con l'emallume. Ora le cellule adipose della porzione anteriore del corpo misurano circa 200 μ , mentre quelle della porzione posteriore ne misurano 150.

Nella pupa del secondo, terzo e quarto giorno, le sferette sono divenute più grandi e più numerose e si vede molto chiaramente una disposizione simile alle figure date dal Rees come dimostrazione dei fagociti nell'interno della cellula adiposa. (Vedi Rees, Beiträge zur Kenntniss der inneren Metamorphose, von *Musca vomitoria* fig. 22, 23). Si vedono cioè attorno al nucleo numerose goccioline rifrangenti la luce che hanno nel loro interno uno o più

(1) Osservo che le mie ricerche furono fatte in autunno ed in inverno; ciò perchè ciascuno capisca il valore che possono avere i vari stadi cui accenno.

corpiciuoli fortemente colorati. Tali goccioline sono di varia grandezza e misurano in media 8-10 μ . Sono queste le sferette di cui ho sopra parlato e che secondo il Rees, sarebbero incaricate di distruggere le cellule adipose, mentre come abbiamo già visto, e credo a sufficienza dimostrato, qui non si tratta di elementi cellulari. Non ho riscontrato, come dice il Berlese, che le sferette incolori (non elaborate come dice il Berlese) si trovino tutte attorno al nucleo, mentre quelle colorate, alla periferia della cellula in zone ben distinte a seconda del loro grado di colorazione; ciò non è, poichè si vedono spesso sferette non del tutto colorate e uguali a quelle che si trovano attorno al nucleo, alla periferia della cellula. Certo è che attorno al nucleo se ne vedono in maggiore quantità, ma ciò non vuol dire che non si possano riscontrare in qualunque parte della cellula. È però vero che alla periferia della cellula si riscontrano più specialmente sferette piccole e del tutto colorate.

Nelle pupe dei giorni successivi le sferette contenenti i corpiciuoli colorati divengono sempre meno numerose ed aumentano quelle del tutto colorate e più piccole.

Sembra lecito ammettere che tali sferette colorate fuoriescano dalle cellule adipose, poichè se ne trovano numerose sparse per il corpo dell'animale; e questa uscita avviene in tal modo che la parete cellulare persiste completa anche quando la cellula è quasi del tutto vuota.

Nell'adulto che sta per nascere o che è appena nato, si vedono le cellule adipose, specie le cefaliche, quasi del tutto vuote e si mostrano le cavità una volta occupate dalle sferette. Tale fatto osservò anche il Rees, solo che egli naturalmente dice che i vuoti i quali si riscontrano nelle cellule adipose e mostrano come se da queste fossero usciti dei corpi grossi, sono dati dall'uscita dei leucociti.

Le ultime ad essere esaurite sono le cellule adipose dell'estremo addome, le quali possono persistere perfino in adulti di tre o quattro giorni.

Da quanto son venuto finora brevemente esponendo, sembra logico ammettere che la distruzione delle cellule adipose non avvenga, durante la ninfosi, per mezzo dei fagociti, o che per lo meno questi non sieno a ciò indispensabili. Ma su questa, come sopra altre interessanti questioni, ritornerò come ho già detto in seguito. Per ora a me preme solo, associandomi al Berlese, far osservare che i supposti fagociti del Kowalevsky e del Rees nell'interno delle cellule adipose, non debbono essere considerati tali e che quindi la distruzione di dette cellule, non avviene nel modo dal Rees descritto.

Come si comportino i fagociti e come si compiano molti fenomeni che avvengono durante la ninfosi di tali insetti, dirò un'altra volta.