

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXVI, serie 6<sup>a</sup>, 2<sup>o</sup> sem., fasc. 1-2. - Roma, luglio 1937-xv

## Studi di Biologia embrionale

### II. Differente comportamento di fronte all'anaerobiosi e normale assorbimento di ossigeno nelle diverse forme di Anfibi.

NOTA

di

A. SPIRITO



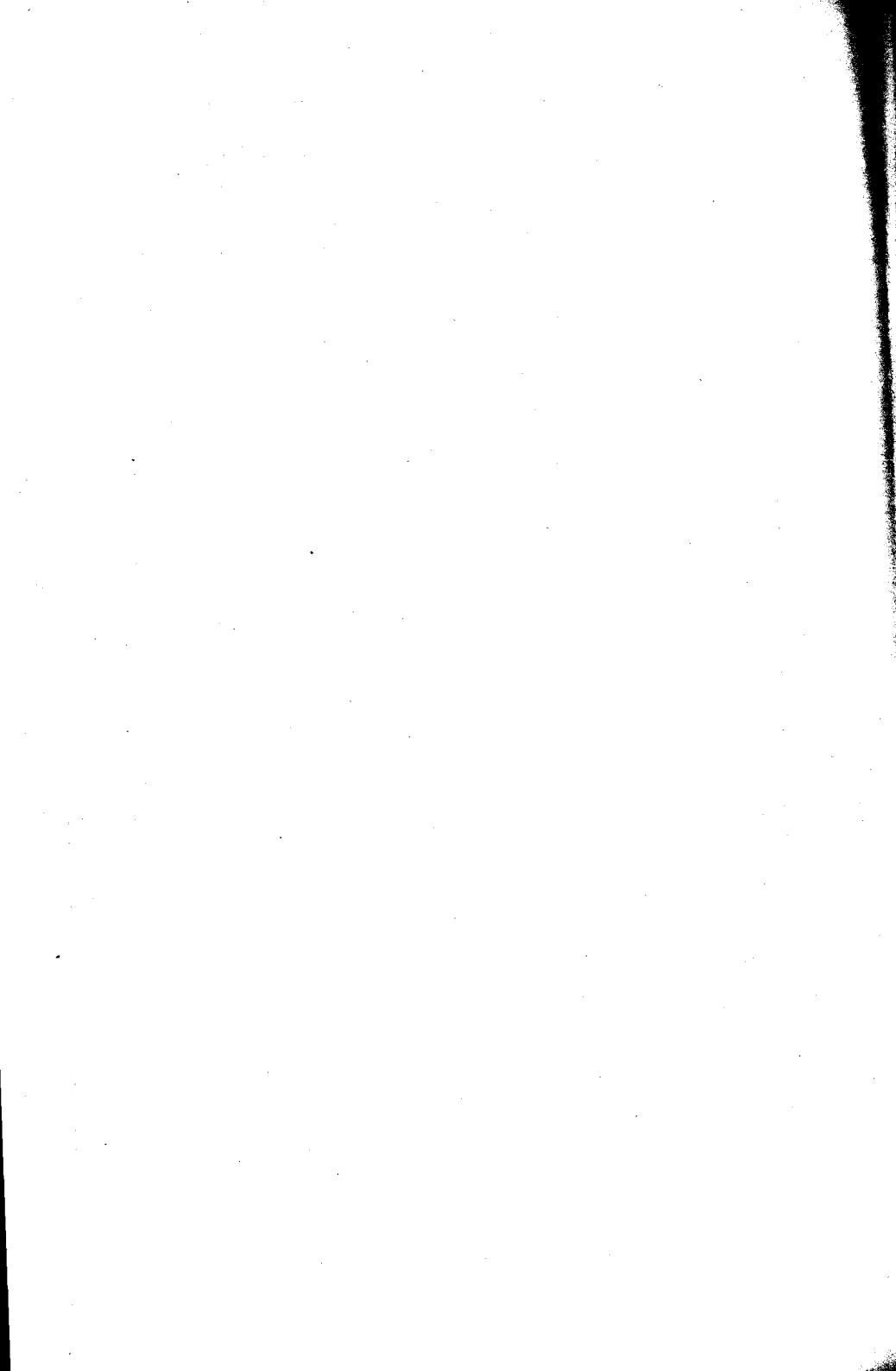
*Alba*  
*B*  
*57*  
*48*

ROMA

DOTT. GIOVANNI BARDI

TIPOGRAFO DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

1937-XV



---

**Biologia.** — *Studi di Biologia embrionale.* — II. *Differente comportamento di fronte all'anaerobiosi e normale assorbimento di ossigeno nelle diverse forme di Anfibi* <sup>(1)</sup>. Nota <sup>(2)</sup> di ALDO SPIRITO, presentata dal Socio E. CARANO.

In una Nota preliminare del 1936 e in un lavoro in esteso recentemente pubblicato <sup>(3)</sup>, ho riferito le mie esperienze relative ai processi di anaerobiosi durante lo sviluppo embrionale di alcuni Anfibi e dei Petromizonti. In tali ricerche è risultato un diverso comportamento, di fronte all'assenza di ossigeno o all'azione di soluzioni di KCN, a seconda della specie adoperata.

Si presentava logico quindi esaminare se e come queste differenze di comportamento si potessero mettere in rapporto a meccanismi intrinseci delle specie osservate, e, innanzi tutto, se le rispettive resistenze massime o minime all'assenza di O<sub>2</sub> potessero essere in relazione a un assorbimento piccolo o grande di tale elemento.

Queste idee sono state già prospettate nel lavoro precedente, e le ricerche descritte in questa Nota, che si occupa appunto dello studio del normale assorbimento di O<sub>2</sub>, ne sono state la diretta conseguenza.

Le indagini degli AA. precedenti, pur su stadi embrionali di Anfibi (Bataillon, Godlewski, Bialaszewicz e Bledowski, Parnas e Krasinska, Brachet), sono state eseguite con apparecchi di vario tipo: tra i migliori noto il

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia e Embriologia comparate della R. Università di Roma.

(2) Pervenuta all'Accademia il 16 luglio 1937.

(3) Questi «Rendiconti», vol. XXIII, 1936; «Arch. Scienze Biol.», vol. 23, 1937.

microrespirometro di Winterstein, l'apparecchio di Barcroft, l'apparecchio di Warburg: con tutti però vi è sempre la necessità di usare un gran numero di esemplari per ottenere uno spostamento apprezzabile nel manometro. Mi si è presentata invece la fortunata occasione di poter eseguire le mie determinazioni seguendo una tecnica molto più precisa, grazie al nuovo microrespirometro di Stefanelli, il quale presenta caratteristiche preziose per studi di tale genere, inquantochè esso può essere usato per un singolo uovo o embrione. Si potrebbe obiettare che determinazioni eseguite contemporaneamente su molti esemplari (ciò che si verifica necessariamente quando si usino apparecchi poco sensibili), e quindi fornenti un valore medio, diano più affidamento: credo invece che anche poche determinazioni eseguite su singoli esemplari (con apparecchi adatti), ma concordanti tra loro a parità di tutte le condizioni di studio, abbiano un valore molto più rilevante.

Rimando il lettore ai lavori originali dello Stefanelli<sup>(1)</sup> per la descrizione dell'apparecchio: riferisco solo alcune modalità riguardanti le ricerche da me eseguite.

Gli esemplari di cui si è voluto conoscere la quantità di ossigeno normalmente assunta in un determinato periodo, sono stati scelti, come era logico, allo stadio caratterizzato dalla presenza della piastra neurale; lo stesso cioè usato precedentemente nelle esperienze di anaerobiosi. Di più anzi, e per maggior rigore sperimentale, giovani neurule provenienti dagli stessi lotti, sono state (secondo la tecnica descritta nel lavoro precedente) poste in ambiente privo di ossigeno. In tale modo — riottenendo gli stessi risultati già riferiti — si è venuto a togliere l'evenienza di un qualsiasi fattore aberrante che potesse diminuire il valore del confronto tra resistenza all'assenza di ossigeno e entità dell'assunzione di questo elemento.

Prima di porre la neurula nell'apparecchio ne è stato misurato il diametro con un calibro munito di nonio.

Per la comparazione dei risultati è stato necessario eseguire tutte le determinazioni ad eguale temperatura: pertanto si è preferita quella di 20° per il bagno del termostato dove era posto il microrespirometro. Si è notata ogni volta anche quella dell'aria e la pressione atmosferica.

Dopo aver atteso alcuni minuti, in modo da portare tutto il sistema (apparecchio-neurula) alla temperatura del bagno, si sono iniziate le letture del manometro indicante le quantità di ossigeno assorbito (nelle camerette è stata posta altresì della carta bibula imbevuta di una soluzione di KOH al 20% in modo da escludere in queste prime ricerche qualsiasi calcolo relativo alla emissione di CO<sub>2</sub> da parte del materiale in esame). Le letture del manometro sono state eseguite ogni 4' con un intervallo di un minuto occorrente per riportare il manometro a livello. Poichè le misurazioni sono state protratte per parecchie ore, ogni tre o quattro letture consecutive si

(1) « Journ. Exp. Biol. », vol. 14, 1937; « La Ricerca Scientifica », vol. 1, ser. II, 1937.

sono poste le camerette dell'apparecchio in comunicazione con l'esterno, rifacendo altri gruppi di letture ad intervalli variabili dai 30' ai 45'. In tal maniera si è avuta la possibilità di ottenere gli esatti valori dell'assorbimento dell'ossigeno da parte degli esemplari studiati durante tutto, o quasi tutto, il periodo della neurulazione: il fatto che durante tale periodo non abbia potuto rilevare differenze di sorta tra le varie letture mi ha permesso un più facile uso dei risultati ottenuti, che se vi fossero stati aumenti, o comunque variazioni sensibili, dell'assunzione di ossigeno.

Per ogni specie, le neurule sono state prescelte ciascuna da un lotto differente: il più delle volte quindi il materiale esaminato ha presentato differenze di grandezza. Pertanto nella tabella che segue, data l'importanza che ha questo fattore per le comparazioni successive, è indicata per ogni specie, a lato del valore dell'O<sub>2</sub> assorbito, la grandezza del diametro delle neurule espressa in millimetri. I volumi di ossigeno assunto sono riportati a 0° e a 760 mm. di gas secco.

TABELLA I.

Specie	Diametro della neurula in mm.	mm <sup>3</sup> . di O <sub>2</sub> assunto dalla neurula in 4'
<i>Bufo viridis</i> . . . . .	1.6	0.0238 *
» » . . . . .	1.6	0.0238
<i>Bufo vulgaris</i> . . . . .	2	0.0265 *
» » . . . . .	2.4	0.0285
<i>Discoglossus pictus</i> . . . . .	1.8	0.0290
» » . . . . .	1.9	0.0308 *
<i>Rana esculenta</i> . . . . .	1.5	0.0219
» » . . . . .	1.7	0.0233
» » . . . . .	1.8	0.0246 *
<i>Rana agilis</i> . . . . .	2	0.0177
» » . . . . .	2	0.0178 *
» » . . . . .	2.2	0.0199
<i>Hyla arborea</i> . . . . .	1.5	0.0125 *
» » . . . . .	1.5	0.0125
<i>Axolotl</i> . . . . .	2.5	0.0364
» . . . . .	2.5	0.0377 *

NB. - I valori contrassegnati dall'asterisco sono stati riprodotti graficamente nella fig. 1.

Nella fig. 1 i cerchi disegnati sotto ogni valore di ossigeno assunto vogliono rappresentare i reciproci rapporti di grandezza delle neurule delle varie specie alle quali quei valori si riferiscono.

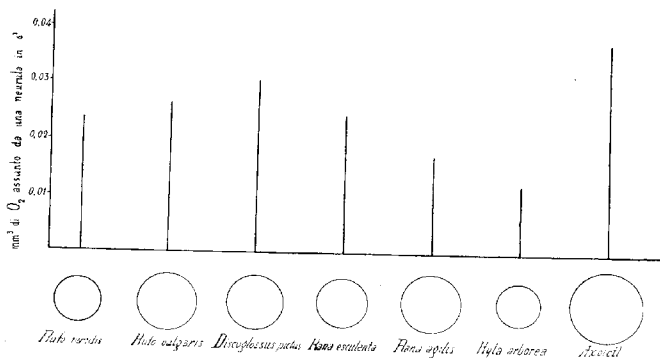


Fig. 1.

In un successivo lavoro in esteso tratterò più diffusamente di alcuni punti inerenti alla valutazione dei risultati ottenuti: fin da ora però è necessario qualche chiarimento.

Innanzitutto vi è la questione della diversa grandezza delle neurule esaminate. Questo fatto potrebbe rendere disagiata il confronto tra i diversi valori indicanti la quantità di ossigeno assorbito in specie diverse, le cui rispettive neurule presentano a volte notevole differenza di grandezza. Ma a questo proposito voglio ricordare alcune ricerche recenti di Stefanelli il quale si è preoccupato appunto di studiare negli Anfibii il rapporto tra ossigeno assunto e grandezza del germe durante i primi periodi dello sviluppo. Questo A. ha notato<sup>(1)</sup> che vi è un rapporto circa costante, in esemplari di *Bufo viridis* di diametro diverso, tra O<sub>2</sub> assunto e raggio dell'uovo: se si considerano i valori da me trascritti nella tabella I, si può dimostrare con calcolo che, anche allo stadio di neurula e nelle specie da me usate, questo rapporto è rilevabile con buona approssimazione. Pertanto nella fig. 2 sono indicate le quantità di O<sub>2</sub> assorbite sempre in 4' da neurule delle sotto notate specie, ma tutte riportate allo stesso diametro di 2 mm.

Ciò premesso vediamo come si possono considerare i risultati ottenuti nei riguardi del quesito posto a introduzione di queste ricerche. Un'occhiata alla tabella e alle figg. 1 e 2 ci mostrano chiaramente come si possa scartare l'idea che le resistenze massime o minime delle neurule delle varie

(1) « Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. », 1937; « Riv. Biol. », 1937.

specie (riscontrate nelle ricerche precedenti), di fronte all'assenza di ossigeno, debbano essere attribuite al fatto che l'entità del normale assorbimento di questo elemento sia rispettivamente piccola o grande.

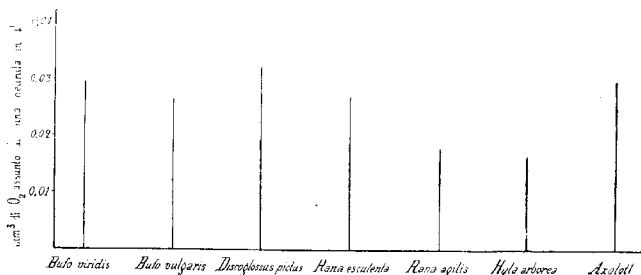


Fig. 2.

Infatti se teniamo presente i risultati riferiti nella tabella e graficamente riprodotti nella fig. 1 e compariamo, per quel che ho detto più sopra, i valori dell'O<sub>2</sub> assunto in un determinato tempo da neurule di specie diversa, ma con diametro uguale o presso a poco uguale, vediamo che in *Bufo vulgaris* (diametro mm. 2) e in *Discoglossus pictus* (diametro mm. 1.9), i cui esemplari a questo stadio possono più o meno svilupparsi in ambiente privo di ossigeno, la quantità di O<sub>2</sub> assunto, a parità di temperatura e di tutte le altre condizioni inerenti all'uso degli apparecchi, è superiore a quella notata in *Rana agilis* (diametro mm. 2), le cui neurule si arrestano subito in assenza dello stesso elemento.

Se poi ci valiamo dei risultati riferiti nella fig. 2, in cui sono più facilmente comparabili le quantità di ossigeno assunto dalle neurule delle varie specie usate, perchè riferite tutte a esemplari aventi uno stesso diametro (2 mm.), possiamo vedere per esempio che gli esemplari di *Discoglossus*, i quali hanno mostrato le maggiori possibilità di sviluppo in assenza di O<sub>2</sub>, assumono, sempre a parità di tutte le condizioni di studio, maggior quantità di questo elemento non solo delle specie (*Bufo viridis* e *B. vulgaris*) le quali hanno pure un certo sviluppo in anaerobiosi, ma anche di quelle (*Rana esculenta*, *R. agilis*, *Hyla arborea*, *Axolotl*) le cui neurule si arrestano nello sviluppo in assenza di O<sub>2</sub> (1).

Ma c'è un'altra questione da considerare nella valutazione dei risultati: si tratta della durata diversa della neurulazione, pur a parità di temperatura,

(1) Sarebbe stato molto interessante conoscere i dati riferentisi a neurule di *Petro-myzon fluviatilis* (in assenza di O<sub>2</sub> si arrestano nello sviluppo), ma purtroppo mi è venuto a mancare, per cause accidentali, il materiale necessario.

nelle varie specie usate. In tal caso quindi si potrebbe avere che i valori indicanti le rispettive quantità di ossigeno assunto in uno stesso determinato periodo di tempo possono essere alterati nei reciproci rapporti se riferiti a tempi diversi: si potrebbe, per esempio, verificare il caso di una specie, le cui neurule assumessero a parità di grandezza ossigeno in quantità doppia in confronto a quella assorbita in un'altra specie, ma la cui neurulazione durasse un terzo del tempo di quello necessario per l'altra; in tal caso si avrebbe che nella prima specie il valore globale di  $O_2$  assunto durante il processo della neurulazione è minore che nella seconda.

Ma se pur poteva avere carattere prudenziale prospettare tale questione vediamo che, per lo meno in alcune delle specie da me usate, ciò non altera le considerazioni fatte: se ci riferiamo infatti nuovamente ai risultati ottenuti in *Discoglossus pictus* (diametro mm. 1,9) e in *Rana agilis* (diametro 2 mm.) e calcoliamo rispettivamente le quantità di ossigeno assunto durante tutto il periodo della neurulazione (durata rispettivamente 3 ore e 5 ore) abbiamo i seguenti valori: mmc. 1,38; mmc. 1,33. Anche in tal caso quindi la valutazione fatta precedentemente, pur con l'introduzione di un nuovo fattore, è rimasta inalterata: per i nostri fini ciò è più che sufficiente per dimostrare come la maggior resistenza all'assenza di  $O_2$  delle neurule di *Discoglossus pictus* in confronto a quelle di *Rana agilis*, non possa essere in funzione del fatto che le prime assumano meno ossigeno delle seconde, essendosi dimostrato proprio il contrario.

In conclusione quindi dalle presenti ricerche è risultato che l'entità del normale assorbimento di  $O_2$  da parte delle neurule delle varie specie usate non può essere messa in relazione con i rispettivi differenti comportamenti rilevati nell'anaerobiosi, per la spiegazione causale di essi. Le esperienze infatti hanno chiaramente dimostrato che a massime o minime resistenze delle neurule delle varie specie di fronte all'assenza di  $O_2$ , non corrispondono quantità piccole o grandi di tale elemento assorbito.

~~319473~~

54681



