



◀ O MAGGIO ▶

ANNA FOÀ

L'epitelio dell'intestino medio
nel baco da seta sano e in
quello malato di flaccidezza.

(con 2 tavole)



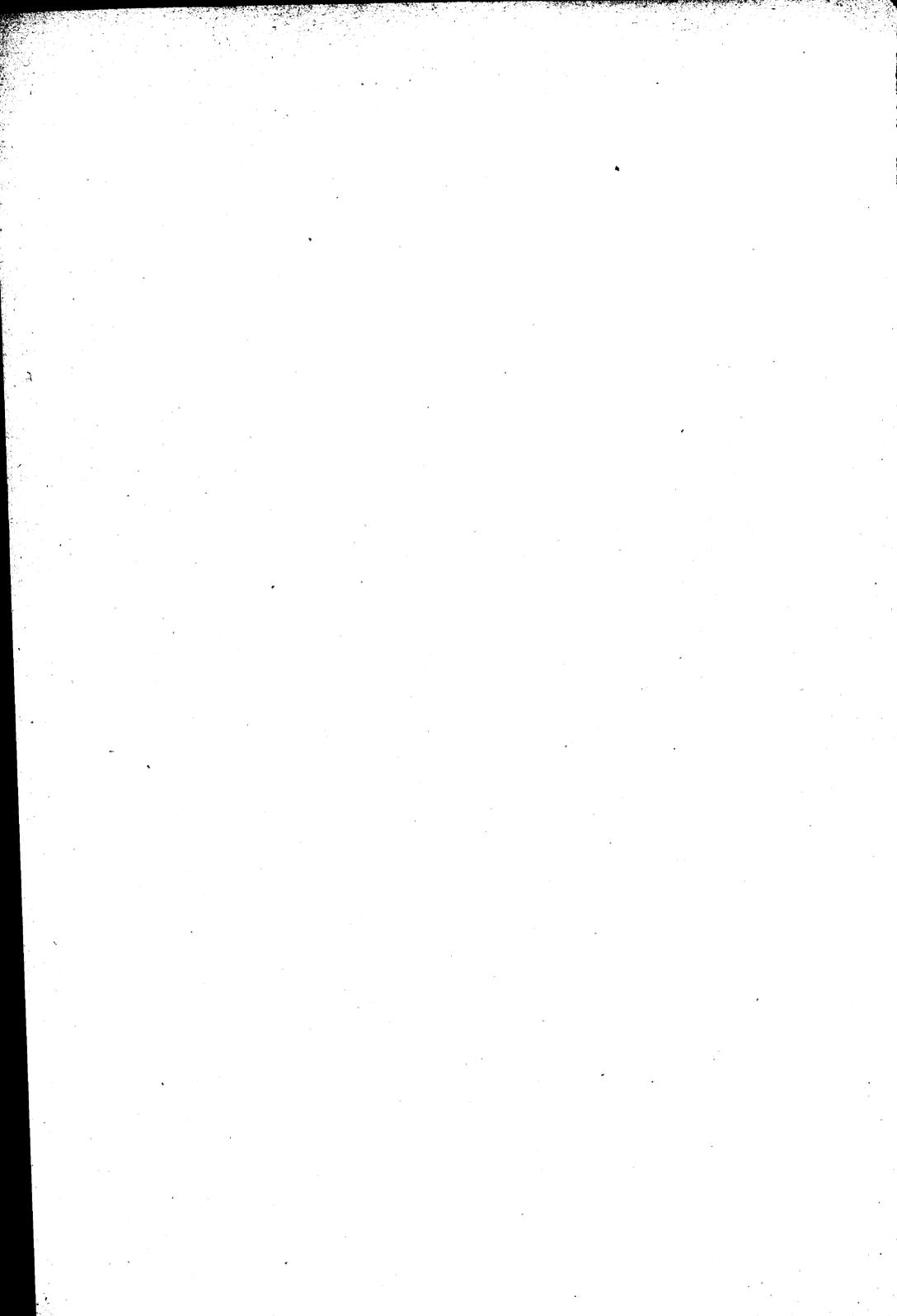
mir.

B

64

30

PORTICI
STAB. TIP. ERNESTO DELLA TORRE
1918



ANNA FOÀ

L'epitelio dell'intestino medio
nel baco da seta sano e in
quello malato di flaccidezza.

(con 2 tavole)



PORTICI
STAB. TIP. ERNESTO DELLA TORRE
1918

Estratto dai *Rendiconti dell' Istituto Bacologico*
della R. Scuola Superiore d' Agricoltura in Portici — Vol. III.

Mi sono proposta di studiare più esattamente di quanto siasi fatto finora, le lesioni anatomiche che si riscontrano nei bachi da seta malati di flaccidezza, non colla speranza di poter trovare in tal modo la causa della malattia — chè purtroppo una lunga schiera di insigni ricercatori si è affannata inutilmente intorno a questo soggetto, — ma collo scopo di penetrare più addentro nella natura di questo flagello, che è il più gran nemico della bachicoltura in molte regioni d'Italia e tuttavia non è ancora nettamente caratterizzato. Infatti il Verson che ha speciale competenza sull'argomento nella recentissima edizione del suo trattato « Il filugello e l'arte di governarlo » (10) così si esprime in proposito: « Le difficoltà incominciano dai segni esterni della malattia i quali oltre che variare di caso, ordinariamente si palesano quando le alterazioni interne sono già tanto gravi, che ogni soccorso torna inutile ». « I segni esterni della flaccidezza dicono solo questo: che essa uccide in uno spazio relativamente breve e che i cadaveri delle vittime passano in rapida putredine ». Qualche cosa di più si sa delle alterazioni interne ma anche qui le cose son ben lontane dall'essere precisate.

Cito ancora dal trattato del Verson: « La diminuzione nel numero dei globuli sanguigni, la presenza di granulazioni adipose disseminate nei vari tessuti, l'aspetto dei vasi renali, sono fenomeni che non hanno un significato ben determinato. Ma la nostra attenzione è fermata in maniera singolare dalle alterazioni

evidenti che ha subito il tubo intestinale anche nei gradi incipienti del male.

Lo stomaco ne è colpito più di ogni altra parte. E lo si scorge tosto nelle sue pareti appannate le quali lasciano trasparire un verde sbiadito in luogo del colore vivace, che in condizioni normali tramanda la foglia contenuta.

Per lo più la porzione anteriore di esso si presenta più dilatata della posteriore: e lo si trova vuoto soltanto in quei bachi che furono colti dal morbo quando avevano raggiunta la maturità o quando stavano impegnati nel processo di una muta. Ma in tutti i casi è rammollita la mucosa ed ingrossata la membrana anista, la quale nondimeno ha perduta la naturale consistenza diventando opaca e torbidiccia. E allo stesso tempo scema rapidamente la alcalinità fisiologica dell'umore gastrico per scomparire via via e trasmutarsi in acida; e le tonache ventricolari sempre più s'intorbidano e si rammoliscono; e la mucosa con l'anista si spappola in tenue poltiglia; e la muscolare offesa nella sua continuità lascia uscire il contenuto putrescente, che porta la corruzione da un viscere all'altro ».

Maggiori particolari per quanto si riferisce alle alterazioni anatomiche dovute alla flaccidezza, per quanto io so, non si trovano in nessun autore.

Volendo procedere ad un esame comparativo degli organi del baco sano e del baco malato, ho incominciato naturalmente a studiare il tubo intestinale che sembras la ede principale della malattia.

* * *

Materiale e metodi di ricerche. — Tutti i bachi che mi sono serviti per questo lavoro erano della razza *giallo indigeno*. I primi esaminati appartenevano ad un allevamento primaverile, nel quale la malattia si manifestò tardivamente e non fece grande strage e molti bachi riuscirono a tessere un bozzolo regolare. Le ricerche ulteriori furono eseguite con bachi di un allevamento estivo ottenuto da seme trattato con acido cloridrico. In questo allevamento la malattia si manifestò più precocemente e quasi tutti gli individui perirono. Entrambi gli allevamenti furono fatti nell'Istituto Bacologico di Portici, dove ho compiuto la maggior parte di questo lavoro.

L'esame a fresco, in soluzione fisiologica di cloruro di sodio o in picrocarminio, da principio non mi ha rivelato niente di

più di quanto già si sapesse sulle alterazioni degli organi dei bachi malati, perciò mi sono valsa più specialmente delle sezioni.

Ho adoperato per lo più come fissativo il liquido di Leeuwen (1) che mi è sempre risultato il migliore per la conservazione degli Artropodi, e che in questo caso mi ha dato la più buona fissazione. In questo liquido, a freddo, ho immerso i bachi sani, della 5^a età per due o tre ore, poi li ho tagliati in tre pezzi, e ve li ho lasciati ancora per 3 o 4 giorni. Li ho poi lavati ripetutamente e a lungo in alcool forte ed inclusi in paraffina. Ho ottenuto in tal modo bellissime sezioni, ma prima di includere i pezzi in paraffina ho dovuto a volte nei bachi molto avanzati nello sviluppo, tirar via colle pinzette, i serbatoi delle ghiandole della seta che si erano induriti fortemente e non avrebbero potuto esser tagliati in fette sottili. Ho colorito le sezioni con ematossilina ferrica di Heidenhain, con carminio. In seguito, per mettere meglio in evidenza la struttura delle cellule, ho fissati gli intestini isolati, estratti rapidamente dai bachi anestetizzati con etere solforico, in liquido di Hermann (2); li ho tenuti nel fissativo fino a 24 ore, a volte tagliandoli semplicemente in 2 o 3 porzioni, a volte aprendo ognuno dei pezzi con un taglio longitudinale. Con quest'ultimo mezzo credevo di facilitare la fissazione, ma non ho ottenuto nessun vantaggio notevole. Ho colorito le sezioni con safranina e verde luce. In seguito, per ragioni che dirò più avanti, ho anche sezionato bachi della prima età, appena nati o di uno o due giorni. Per questi ho avuto ottimi risultati col liquido di Leeuwen, mantenuto per qualche ora alla temperatura di circa 40°, poi a freddo per un giorno o due. I piccoli bachi si sezionavano benissimo tutti interi. Invece non sono riuscita affatto a fissarli in modo soddisfacente con nessuna delle usuali miscele a base di acido osmico, pur introducendoli nel fissativo dopo aver tolto via la testa per aiutare la penetrazione del liquido. La colorazione colla safranina mostrava ad evidenza che la fissazione non era riuscita, perchè i nuclei si colorivano bene in rosso nel tratto anteriore e di mano in mano sempre peggio, finchè l'ultimo tratto restava del tutto scolorito.

(1) Acido picrico sciolto in alcool assoluto 1 % parti 6, cloroformio p. 1, formalina p. 1, acido acetico p. mezza o meno.

(2) Cloruro di platino 1 % parti 15; acido osmico 2 % parti 4; acido acetico glaciale parti 1.

Ho estratto allora gli intestini da bachi giovanissimi, togliendo all'animale la testa, poi praticando coll'ago un taglio dei tegumenti un po' al di sopra dell'ultimo paio di zampe addominali, e tirando quest'ultima porzione in modo da far uscire dal corpo l'intestino. L'operazione riusciva molto facilmente, gli intestini venivano fissati in liquido di Hermann e coloriti con safranina e verde luce. I preparati riuscivano a volte brillanti, ma confrontandoli con quelli dei bachi interi, fissati col liquido di Leuwen, mi son potuta accorgere che lo stiramento esercitato per estrarre l'intestino bastava ad alterare la forma delle cellule, e quindi non ho insistito con questo metodo che a tutta prima mi era apparso soddisfacente.

Ho anche sezionato qualche embrione. Le uova erano state fissate con alcool a 90° bollente, sguosciate e imparaffinate.

* * *

Confronto tra l'epitelio dell'intestino medio di bachi sani e di quelli malati di flaccidezza. — Nelle sezioni dell'intestino medio dei bachi sani, le cellule dell'epitelio intestinale, come è noto, si presentano sotto due aspetti differenti: alcune hanno forma più o meno somigliante ad un calice, altre hanno figura di cilindro o di clava: le prime e le seconde si alternano quasi regolarmente.

Questa disposizione che è quella descritta da tutti gli autori, è stata infatti da me riscontrata in tutti i bachi sani che ho esaminati, (V. Tav. I fig. 1, Tav. II fig. 1: le cellule cilindriche od a clava sono indicate colle lettere *c. ci*, le cellule caliceiformi colle lettere *c. ca*). Più avanti mi intratterò estesamente sul significato di questi due aspetti differenti. Ora invece mi preme notare che il primo baco flaccido che ho sezionato, mi si è presentato sotto un aspetto completamente diverso riprodotto nella fig. 4 di Tav. I.

L'epitelio intestinale a tutta prima appare ancora in buone condizioni, le cellule epiteliali sono benissimo conservate, la muscolatura non è visibilmente alterata, ma il confronto col baco sano fa vedere che mancano del tutto le cellule caliceiformi. Si noti che le sezioni del baco sano e di quello malato, tutti e due della 5ª età, corrispondono presso a poco alla stessa porzione di intestino medio, quella compresa tra il 5° ed il 6° anello addominale, e sono ottenute cogli stessi metodi di fissazione e di colorazione. Naturalmente non si poteva trarre nessuna conclusione

senza estendere le ricerche, e per questo ho sezionato molti altri bachi flaccidi. Ho avuto reperti sempre paragonabili a questo primo ottenuto.

Infatti l'intestino di un secondo baco flaccido presentava ancora lo stesso fenomeno, cioè la mancanza delle cellule caliciformi. Un tratto della sezione trasversale di questo intestino è rappresentato nella fig. 2 (Tav. I) Quivi l'epitelio appare disteso mentre negli altri due casi descritti formava delle pieghe, ma si sa che le pieghe dell'intestino hanno carattere transitorio, quindi questa differenza non ha alcun significato. Per verificare se la mancanza delle cellule caliciformi fosse totale o limitata ad una parte, ho avuta la pazienza di sezionare tutto quanto l'intestino medio di questo secondo baco flaccido. Ho trovato dovunque lo stesso aspetto; nell'ultimo tratto, quello più vicino all'intestino posteriore, le cellule erano più allungate, ma sempre soltanto di aspetto cilindrico, e comparivano le pieghe mancanti nel tratto precedente in tutto l'intestino medio. Tra l'una e l'altra cellula si vedevano spesso degli spazi chiari; la membrana peritrofica (nella figura segnata *per*) era ispessita enormemente, e si presentava come costituita da molti strati, paralleli alla superficie libera delle cellule. In qualche punto tra l'epitelio e la peritrofica si potevano distinguere le goccioline coagulate di secreto prodotto dalle cellule intestinali. Un reperto singolare, che ho trovato solo in questo baco, ma, in questo, molto diffuso per tutta la lunghezza dell'intestino è costituito da cellule allungate, isolate disposte nello spessore della peritrofica sempre nella stessa direzione, cioè coll'asse maggiore parallelo alla superficie del lume intestinale (Tav. I fig. 2 c?). Assai sono rimasta incerta sul significato di queste cellule ed ancora non sono in grado di dare ad esse un'interpretazione sicura. Ricordando di aver letto nel trattato del Verson (10) sopra citato (pag. 316) che il Prof. Tigri in bachi malati di macilenzia aveva creduto di ravvisare delle Gregarine (1) ho pensato che queste cellule per la loro forma e per il modo di presentarsi potevano ben ricordare tali Protozoi e forse il Tigri aveva avuto sott'occhio qualche cosa di simile. Ho cercato accuratamente in tutte le sezioni qualche figura più chiara che rivelasse la struttura caratteristica delle Gregarine, ma non sono riuscita a trovarla, come non ho trovato nessuna

(1) Non ho potuto trovare il lavoro originale del Tigri.

figura che potesse riferirsi ad un altro Protozoo. Ritengo, che si tratti di cellule epiteliali distaccatesi dall'intestino e profondamente alterate.

Un aspetto alquanto diverso da quelli finora descritti presentava l'intestino di un altro baco flaccido (Tav. I fig. 3), nel quale la malattia evidentemente era ad un grado meno avanzato di quello degli altri due bachi. Come dimostra la figura, in questo esistono ancora tanto le cellule cilindriche che le caliciformi, ma invece di essere alternate quasi regolarmente, come nei bachi sani, le cellule cilindriche sono in numero senza paragone superiore. Di più le cellule caliciformi invece di avere la loro superficie basale allo stesso livello di quella delle cellule cilindriche, appaiono sempre più in alto, a volte ancora riunite alla base da un picciolo, a volte completamente distaccate; a volte si trovano addirittura verso la superficie libera dell'epitelio. Ciò dimostra che si distaccano e si separano dalle altre. Attorno ad ogni cellula caliciforme si forma uno spazio chiaro ove sembra di vedere una sostanza assai difficilmente colorabile. E' notevole il fatto che in questo intestino la secrezione del succo intestinale è attivissima, ed evidentemente dovuta alle cellule cilindriche, le quali dalla superficie libera lasciano uscire le goccioline di secreto (*se*) che più in alto poi si vedono in forma di sfera costituire uno strato molto spesso. In questo baco la peritrofica (non rappresentata nella figura), è enormemente ingrossata, e, come nel caso sopra descritto, mostra una stratificazione ben spiccata. Aderenti alla peritrofica dal lato che guarda il lume dell'intestino, ed anche intercalate tra i vari strati, si trovano colonie di batteri vivamente coloriti coll'ematossilina; essi non riescono ad attraversare tutta la membrana ed a trovarsi a contatto colle cellule epiteliali.

Non ho riprodotto nelle tavole le sezioni relative agli intestini degli altri bachi flaccidi da me studiate perchè avrei avuto figure assai poco dissimili da quelle ora descritte. In tutte quanti ho osservato la scomparsa più o meno completa delle cellule caliciformi, in alcuni le cellule cilindriche erano assai ristrette; la loro secrezione appariva a volte abbondantissima.

Di altri bachi flaccidi non ho fatto sezioni, ma ho esaminato frammenti di epitelio intestinale a fresco col picrocarminio, ed ho riscontrato sempre gli stessi fatti.

Quanto ho detto finora si riferisce a bachi del primo allevamento che salì al bosco ai primi di giugno.

Nel mese di agosto ho esaminati altri bachi sani e flaccidi, facendo i preparati degli intestini isolati come ho detto precedentemente. Le figure 1, 2 e 3 della tavola II rappresentano appunto alcuni di questi preparati. Le figure 1 e 2 sono tolte da due bachi differenti della 5^a età fissati mentre mangiavano ed almeno apparentemente erano sani; la fig. 3 è tolta da un baco della stessa età, di grossezza eguale ai precedenti, ma già evidentemente malato. Se si confrontano le une e le altre si vede che nelle prime due, le cellule caliciformi (*c. ca*) sono tanto numerose quanto le cilindriche, nella terza invece sono assai più rare ed evidentemente alterate, appaiono assai assottigliate e con una cavità interna limitata. Debbo però notare che in questo baco flaccido la parte anteriore dell'intestino medio (non rappresentata nelle figure) presentava un'alterazione meno spiccata delle cellule caliciformi.

* * *

Come si debbono interpretare i due aspetti delle cellule epiteliali dell'intestino medio. — Dal confronto dell'intestino dei bachi sani con quello dei bachi malati è risultato che mentre nei primi le cellule appaiono in parte cilindriche e in parte caliciformi, nel secondo le cellule caliciformi sono alterate o scomparse, in parte o del tutto. Non si può tentare una spiegazione qualunque di questo fatto senza risolvere la questione, già tanto dibattuta dagli scienziati, dell'esistenza o meno di un dimorfismo nelle cellule epiteliali dell'intestino degli insetti.

Per quanto intorno a questo argomento esista già una letteratura estesissima, non si può dire che sia stata pronunciata la parola definitiva, perchè studi recenti hanno mutato le opinioni che erano più generalmente accettate.

Non è qui il luogo di rifare tutta la storia della questione; per quanto interessa specialmente l'intestino del filugello, basta prender le mosse dal magistrale lavoro del Verson « L'evoluzione del tubo intestinale del filugello » (9) dove si trova citata estesamente la letteratura relativa. Il Verson dopo aver descritto i vari aspetti presentati dalle cellule epiteliali dell'intestino del baco da seta scrive (pag. 18): « Quando di età in età appaiono intiere zone dell'epitelio di eguale ubicazione, ora coi caratteri di elementi protoplasmatici, ora con quelli di cellule mucipare,

o miste tra una specie e l'altra o costituite finalmente con im-
mensa prevalenza da calici vuoti, bisogna pur concludere che
le cellule protoplasmatiche rappresentano forme puramente tran-
sitorie, e che il destino ad esse comune consiste nel subire una
serie di mutazioni per cui diventano prima organi secernenti e
sono convertite poi in calici. Il nome col quale vanno distinte
non fa che precisare una determinata fase evolutiva negli ele-
menti dell'epitelio ond'è rivestito l'intestino medio; una fase che
passa del resto con più o meno rapidità, di volta in volta ».

E più avanti (pag. 23), in seguito ad una descrizione minuta
di varie fasi della secrezione: « Dopo di ciò ho appena bisogno
di manifestare espressamente la sicura convinzione, attinta a
molte migliaia di preparati che nella larva del filugello le cellule
a calice non sono nè formazioni permanenti con caratteri di sta-
bilità nè sono suscettibili di rigenerazione in modo da riprodurre
le parti versate fuori e da ricuperare l'aspetto di cellule integre ».

Dopo il Verson, il Nazari nelle sue ricerche sulla struttura
digerente e sul processo digestivo del *Bombyx mori* allo stato
larvale (6) (lavoro uscito nell'anno successivo a quello del Verson)
descrive le cellule cilindriche e le cellule caliciformi e la loro
alternanza perfetta e aggiunge: « Questa perfetta alternanza è
difficile a spiegarsi ove si attribuisca alle cellule caliciformi il
significato di formazioni transitorie che hanno generalmente e
sembra più probabile che le cellule caliciformi, pur derivando da
cellule cilindriche, rimangano tali durante un'intera età larvale. »

Molti altri autori che precedentemente, per altri insetti ave-
vano studiata la questione erano venuti a conclusioni analoghe
a quella del Verson, e infatti nel trattato del Berlese sugli
Insetti (1) si legge « È stato lungamente discusso circa i rap-
porti di queste cellule con diversi aspetti. La primitiva idea
che nell'epitelio del mesenteron vi fossero cellule differenti tra
loro morfologicamente e fisiologicamente ed ancora di diversa
origine è omai abbandonata dopo che i begli studi del Bizzozero,
del Verson, del Visart, del Mingazzini tra i nostrali e di altri
stranieri hanno dimostrato che la cellula è sempre la stessa dalla
cripta alla sua ultima fase caliciforme. »

La questione sembrava adunque definitivamente risolta, ma
invece, almeno per quanto si riferisce alle larve dei Lepidotteri,
il Deegener in seguito alle sue ricerche sulla *Deilephila euphor-
biae* (3), è venuto a risultati del tutto opposti. Le conclusioni del

Deegener sono ampiamente riassunte dall'autore stesso nel capitolo « Der Darmtraktus und seine Anhänge » che fa parte del manuale di Entomologia di Schröder (4) i cui primi fascicoli comparvero nel 1912 e 1913. Quivi sono anche riportate alcune delle figure del lavoro originale. Dal citato capitolo traduco i periodi seguenti: « L'epitelio sempre semplice del mesenteron degli insetti consiste o di una sorta di cellule le quali servono tanto alla formazione del secreto quanto all'assorbimento, o di due sorta di cellule entrambe certamente secetrici, per quanto i loro secreti siano diversi. In tal caso le cellule che si incontrano costantemente nel mesenteron e che secondo il parere concorde di molti autori di regola segregano sfere di secreto che possono conservare ancora per lungo tempo la loro forma nel lume intestinale devono essere riunite sotto un determinato nome (Cellule cilindriche secondo Frenzel, Sferociti secondo Deegener) e distinte da quelle (cellule a calice secondo Leydig, List, calicociti secondo Deegener), sviluppate solo in alcuni esapodi (larve di Lepidotteri, *Cetonia aurata*, *Gryllotalpa*, Effemeridi, Eschnidi) il cui diffuso secreto acidofilo non appare mai in forma di sfera. Su questa separazione bisogna tanto più insistere in quanto che calicociti e sferociti sono due sorta di cellule senza dubbio diverse morfologicamente e fisiologicamente, tra le quali non esistono gradi di passaggio ».

Quasi contemporaneamente a quelli di Deegener nel 1911, comparvero altri due lavori riguardanti la nutrizione dei Lepidotteri dove però la questione delle due sorta di cellule non è nemmeno trattata. Uno di questi è una breve nota del Portier (7) sulla digestione fagocitaria della *Nonagria typhae*, Lepidottero che passa un periodo della vita larvale negli steli della *Typha latifolia*; l'altro è una Memoria del Bordas (2) con tavole e figure, dove sono descritti molti intestini di larve di Lepidotteri. Per quanto l'A. citi nella bibliografia i lavori del Deegener, non li discute affatto; nelle sue figure le cellule del mesenteron appaiono uniformi.

Ancora nel 1911 il Jordan (5) in una relazione presentata alle Verh. der deutsch. Zool. Gesell., basata in parte su osservazioni proprie, in parte su ricerche di Steudel, tratta della funzione secretiva ed assorbente delle cellule intestinali dei vertebrati e soprattutto degli insetti. Quivi, dopo aver parlato dei vari modi di digestione in vari gruppi di invertebrati conchiude che

« mentre in quasi tutti gli invertebrati (e vertebrati) che hanno digestione extracellulare si trovano cellule assorbenti accanto a cellule ghiandolari, che sempre per il loro aspetto si possono distinguere l'una dall'altra, negli insetti avviene il contrario. Salvo alcuni casi come p. es. nelle larve di *Ptychoptera contaminata* descritte da Van Gehuchten (l'A. non cita ancora il Deegener) le cellule dell'intestino medio degli insetti sono eguali tra loro. La loro identità risulta da una serie di osservazioni: così Biedermann vide in tutte le cellule dell'intestino medio delle larve di *Tenebrio molitor*, senza eccezione, delle riserve di albumina; la contessa di Linden trovò nelle larve di *Vanessa* tutto l'epitelio dell'intestino medio e anche quello dell'intestino posteriore fittamente riempito di goccioline di sostanza colorita (clorofilla) ». Il Jordan e lo Steudel nella *Blatta*, mediante iniezioni di soluzioni di sali di ferro nella cavità del corpo, dimostrarono che l'assorbimento viene fatto dalle stesse cellule che secernono.

Lo studio dell'assorbimento e secrezione nell'intestino degli insetti venne poi ripreso e completato dallo Steudel, il quale nel 1913 pubblicò i risultati delle sue ricerche (8). Egli estese ad altri insetti, cioè *Carabus auratus*, *Myrmeleon formicarius*, *Melolontha vulgaris*, *Gryllotalpa vulgaris*, *Bombus terrestris*, *Vespa vulgaris*, i procedimenti già usati per la *Blatta*, vale a dire il nutrimento degli animali con sali di ferro, le iniezioni di sali di ferro e la combinazione di questi due mezzi di ricerca. Trovò che alle reazioni col ferro si prestano meglio i carnivori e gli onnivori, e quegli insetti che come gli Imenotteri prendono alimenti liquidi; minor successo ottenne cogli erbivori, cioè *Melolontha* e *Gryllotalpa*. Conchiude che « il più importante risultato è la doppia funzione (assorbimento e secrezione) delle cellule attive dell'epitelio intestinale le quali possono trovarsi in due stadi quello di assorbimento e quello di secrezione. Tra i due possono trovarsi stadi di passaggio. »

Considerando questo lavoro di Steudel si può dire che essenzialmente esso non contraddice al Deegener, come parrebbe a primo aspetto, perchè anche il Deegener ammette che le cellule cilindriche (sferociti) siano capaci di assorbire e secernere; di più il Deegener troverebbe altre forme di cellule forse soltanto secernenti (calicociti) che però non si trovano in tutti gli insetti.

Gli insetti che secondo il Deegener avrebbero le due sorta di cellule, non sono compresi tra quelli studiati dallo Steudel, ad

eccezione del *Gryllotalpa* che però è uno di quelli che ha dato allo Steudel le reazioni più incerte.

Tutto sommato sembrerebbe di poter concludere che la maggior parte degli insetti hanno una sola sorta di cellule nell'epitelio del mesenteron, e alcuni, tra cui le larve dei Lepidotteri, e quindi il baco da seta, ne hanno due.

Senonchè nel recente trattato del Verson (10) l'autore conserva in proposito la stessa opinione da lui espressa nel suo lavoro precedentemente citato (9).

Ho così dovuto riprendere a considerare la questione perchè, per spiegare il fatto da me messo in luce che nella flaccidezza scompaiono le cellule caliciformi, se si ammette che esse siano un aspetto speciale delle cellule cilindriche, sapendo che nella flaccidezza la secrezione del succo gastrico è, almeno per qualche tempo, conservata (come si può vedere anche nei preparati, e come dimostra per esempio la fig. 3 a Tav. I) bisogna concludere che tutto il processo di secrezione sia così profondamente ed intrinsecamente modificato, da produrre nelle cellule che lo compiono manifestazioni del tutto diverse dalle usuali. Viceversa, se le cellule caliciformi e le cilindriche sono due sorta differenti, basta ammettere che una di esse abbia una minore resistenza contro l'agente ancora incognito che è causa della flaccidezza per capire come possa scomparire prima dell'altra.

Prima di accogliere l'una o l'altra di queste due interpretazioni io mi sono posta i seguenti quesiti: 1.° stabilire quando cominciano a distinguersi le due sorta di cellule; 2.° verificare se si presentino o no egualmente distinte in tutte le fasi della digestione; 3.° ricercare nella struttura stessa delle due sorta di cellule o l'esistenza di stadi di passaggio tra le une o le altre, o possibilmente, qualche carattere che permetta di meglio individualizzarle.

Ho incominciato a studiare le sezioni di bachi fissati immediatamente dopo la nascita, coi metodi sopra indicati. In questi bacolini, orientati convenientemente, è facile avere sezioni longitudinali che comprendano tutto quanto l'intestino, o almeno tutto l'intestino medio, dalla valvola cardiaca a quella pilorica. Si vede così che tanto attorno alla valvola cardiaca quanto attorno alla valvola pilorica vi è un anello di cellule cilindriche senza le cellule caliciformi; l'anello anteriore ha uno spessore più grande di quello posteriore.



Su tutto il tratto compreso tra i due anelli le cellule cilindriche e le caliciformi si alternano quasi dovunque regolarmente, è raro il caso di vedere due o più cellule cilindriche vicine l'una all'altra; non ho riscontrato mai due cellule caliciformi consecutive.

Ma se l'alternanza regolare delle due cellule è costante, tuttavia l'aspetto dell'intestino medio, nei bachi appena nati è alquanto diverso nei due terzi anteriori e in quello posteriore. Nei due terzi anteriori (Tav. I fig. 5) le cellule che chiamo cilindriche per uniformarmi alla nomenclatura generalmente usata dagli autori, in realtà si presentano a forma di clava, cioè più ristrette alla base, più rigonfiate verso l'estremità libera. I nuclei sono ovali allungati, disposti circa alla metà dell'altezza della cellula, tutti perfettamente allineati. Il protoplasma al disotto del nucleo si presenta assai denso, a volte vi si possono scorgere, più o meno nettamente dei filamenti longitudinali; al di sopra del nucleo appare meno denso con numerosi vacuoli: in qualche preparato i vacuoli si estendono anche al di sotto del nucleo. Lo straterello di protoplasma più superficiale è di nuovo un po' più denso. Al di sopra di questo straterello in alcuni punti del preparato si distingue molto bene su ciascuna cellula una sorta di ciuffetto che evidentemente rappresenta il margine ciliato o *rabdorio* il quale apparirà molto più netto negli stadi un po' più avanzati (*rab.*). La peritrofica non si distingue, forse è già formata, ma sottilissima. Apparentemente a contatto col rabdorio (forse separato da esso per mezzo della peritrofica sottilissima) si scorge il pigmento oscuro delle cellule della membrana sierosa, che il baco ha ingoiato nell'uscire dall'uovo (*p. sic.*).

Le cellule che si alternano colle cilindriche sono quelle che, ancora per uniformarmi alla nomenclatura usuale, chiamerò caliciformi, per quanto siano calici in cui l'apertura è strettissima o forse manca del tutto (questo particolare non si può decidere colle sezioni dove non si è mai certi di aver tagliato la cellula proprio lungo il suo asse longitudinale). In queste cellule (fig. 5 *c. ca*) il nucleo è ancora ovalare, ma a volte meno allungato di quello delle cellule cilindriche. È situato o alla base o a poca distanza da essa. Il protoplasma circonda il nucleo per una zona limitatissima; a formare le pareti della cavità che costituisce il lume del calice contribuisce uno straterello di protoplasma differenziato, che nei preparati colorati con ematossilina ed eosina si

colora in rosa un po' più intenso del secreto che occupa la cavità del calice, nei preparati coloriti con safranina e verde luce si colora in verde. Denomino questo strato *strato interno* (*str. in.* in fig. 5, 8 e 10 di Tav. I; fig. 1, 2 e 5 di Tav. II). Non sempre questo strato si distingue nettamente, ma molte volte è evidentissimo specialmente nei bachi di età più avanzata, come dirò più avanti.

Nell'ultimo tratto corrispondente circa al terzo posteriore dell'intestino medio dei bachi appena nati, come ho detto, l'epitelio ha caratteri alquanto differenti (Tav. I fig. 6). Tutto il protoplasma delle cellule cilindriche si colora poco ed appare chiaro; nelle cellule caliciformi la parte corrispondente al calice invece di estendersi fin quasi alla base dell'epitelio, non arriva che alla metà. Al disotto vi è come un piede ristretto, formato di protoplasma denso, in mezzo al quale con una certa difficoltà si arriva a distinguere il nucleo (fig. 6 *nu.*). Questa differenza tra la parte anteriore e la parte posteriore dell'intestino medio si può osservare soltanto nei bachi appena nati e scompare in quelli che hanno già preso qualche nutrimento; si direbbe che l'ultimo tratto dell'intestino sia più arretrato nello sviluppo, della parte anteriore.

Quello che mi interessa notare, per riguardo all'origine delle due sorta di cellule, è che anche nella parte posteriore del mesenteron, dove esse ancora non hanno acquistato i loro caratteri definitivi, si osserva l'allineamento dei nuclei delle cellule cilindriche differente da quello delle cellule caliciformi e l'alternanza quasi sempre regolare delle une e delle altre. Ammettendo che le caliciformi rappresentino uno stadio di evoluzione delle cellule cilindriche questa disposizione si spiega molto male, quando si rifletta che l'intestino non ha ancora funzionato. Si può obiettare che l'animale ha già inghiottito la sierosa e quella parte del corion dell'uovo in cui ha praticato il foro che gli ha permesso di uscire alla luce e che questo materiale introdotto nell'intestino potrebbe esser stato eccitamento sufficiente a produrre l'eliminazione di secreto e la formazione dei calici. Resterebbe però sempre da chiarire la ragione per cui avrebbero reagito allo stimolo una cellula sì ed una no, mentre sono disposte tutte quante sullo stesso piano.

Per togliere anche questa obiezione ho sezionato degli embrioni di bachi della stessa partita di giallo indigeno da cui più

tardi tolsi gli individui che mi servirono nelle mie ricerche. Ho presi in considerazione gli embrioni fissati il giorno precedente a quello a cui si ebbero la maggior parte delle nascite. In questi embrioni l'epitelio dell'intestino medio quasi dovunque presenta l'aspetto riprodotto a fig. 9 della Tav. I. Non si distinguono bene nelle mie sezioni i confini tra le varie cellule (in qualche punto però vi è un accenno di separazione più netto di quello rappresentato nella figura); i nuclei sono disposti in due file una più vicina alla base, l'altra situata circa a metà dell'altezza dell'epitelio. Specialmente attorno ai nuclei della fila basale si vede accumularsi del protoplasma denso, senza vacuoli. Al di sopra dell'orlo libero dell'epitelio vi è uno strato (*rab*) colorito in rosa dove si intravede traccia di striatura longitudinale, che evidentemente rappresenta il raddorrio, non ancora differenziato. Al di là di questo strato verso l'interno del lume intestinale, vi sono granuli di pigmento (*p. sie*) che ritengo proveniente dalla sierosa, misti a globuli vitellini più o meno alterati.

Come si devono interpretare le due file di nuclei?

Confrontando la fig. 9 colle figg. 5 e 6 mi parrebbe naturale ammettere che la fila più bassa di nuclei debba dare origine alle cellule caliciformi e l'altra alle cellule cilindriche. Ma resto un po' dubbiosa nell'accogliere questa interpretazione perchè il Verson, la cui competenza per tutto quanto riguarda l'istologia del filugello è indiscussa, accenna al fenomeno, ma lo spiega in tutt'altro modo.

Dice il Verson (9) a pag. 10 « È stato accennato innanzi come l'epitelio dell'intestino medio, cilindrico nei suoi primordi, si abbassa poscia proliferando verso la regione dorsale, per ritornare da ultimo ancora cilindrico. Però è rimarchevole — e non mi consta che altri abbia mai rilevato quest'interessante particolare — che nel filugello il mutamento va accompagnato da una singolare disposizione dei nuclei epiteliali. Le singole cellule cominciano a riprendere forma slanciata appena compiuta la chiusura tubolare dell'intestino e non sono riuscite ancora a comporre un suolo continuo, perchè qua e là si scorgono nell'epitelio delle brevi interruzioni. Ora nel breve spazio di tempo che trascorre fra il primo riallungarsi delle cellule depresse e rade da una parte e la piena colmataura delle lacune sunnotate dall'altra (due giorni al massimo!) l'epitelio presenta quasi improvvisamente un doppio ordine di nuclei alternanti, attesochè

alla base tra le cellule decisamente cilindriche e provviste di nucleo alto, poco discosto dalla faccia libera, sorge in massa una novella generazione di elementi muniti di nuclei quasi altrettanto grande, ma poveri di proteplasma e perciò tondeggianti di forma. Lo studio dei processi di rinnovazione che impegnano l'epitelio del mesenteron nelle mute larvali ci fornirà criteri sicuri per ricondurre questo fenomeno alle sue vere origini. Intanto staremo paghi ad avvertire che esso è di breve durata e che alla vigilia dello schiudimento l'epitelio dell'intestino medio apparisce d'ordinario costituito da un suolo unito e continuo di cellule cilindriche nelle quali il nucleo occupa la parte pressochè centrale; la parte libera porta un orlo nettamente striato; fra questo e il nucleo, dunque nella metà superiore delle cellule si vengono adducendo numerose goccioline sferiche di materia omogenea assai rifrangente; non si scorgono ancora nè calici vuoti nell'epitelio, nè membrana anista nel vano del ventricolo ». Il Verson rappresenta questo stadio nella sua fig. 18. E a proposito del rinnovamento delle cellule epiteliali dice (pag. 27) « . . . *nidi* di cellule germinali o embrionali che si vogliono dire, giacciono sparsi anche nell'intestino medio del filugello, fra epitelio e muscolare, circondati da scarsissimo tessuto congiuntivo. Essi non vi mancano nè allo stato embrionale nè a quello larvale. Ma è certo che non sono sempre egualmente distinti e diventano ora più ora meno palesi. E a somiglianza delle cellule peritoneali delle trachee.... crescono e scemano eziandio col volgere delle mute i nidi germinali fra le tonache dell'intestino medio. Questo vicendevole movimento si rende già manifesto all'avvicinarsi della muta intraovulare che precede di poco lo schiudimento; ed è cagione che in certa epoca embrionale l'epitelio del ventricolo presenta un doppio ordine di nuclei, come fu accennato a suo luogo. »

Io ho studiato troppo poco il processo delle mute per poter dir nulla in proposito della formazione di nuove cellule dai *nidi*.

È probabile che appunto durante la muta da cellule indifferenziate si originino tanto le cellule cilindriche che le cellule caliciformi del mesenteron, e che altrettanto avvenga nell'embrione nelle sue ultime fasi di sviluppo nell'uovo; certo è che negli embrioni da me esaminati le due file di nuclei erano evidenti ancora il giorno precedente alla nascita (precisamente furono fissati l'8 maggio 1917, la maggior parte delle nascite si ebbe il 9 maggio) e che la figura 18 del Verson sopra citata, che mi dispiace di

non aver riprodotta nelle mie tavole, riferentesi al baco neonato coincide assai bene colla mia fig. 5 di Tav. I a cui corrisponde. La figura del Verson è stata rappresentata ad un ingrandimento assai più piccolo; in essa le varie cellule cilindriche sono nettamente separate l'una dall'altra da canalicoli chiari che si estendono fin verso la base dove la figura è meno precisata. Non mi sembra ingiustificato il dubbio che i canalicoli chiari del Verson rappresentino il lume delle cellule caliciformi e che alle migliori proprietà fissative del liquido di Leeuwen da me adoperato, e al più forte ingrandimento si debba l'aver potuto io distinguere nella parte basale dell'epitelio i nuclei delle cellule caliciformi e la piccola zona di protoplarma che li circonda.

Aggiungerò che i bachi appena nati, decapitati e fissati col liquido di Hermann, e coloriti con safranina e verde luce, per quanto non mi abbiano fornito preparati abbastanza ben riusciti per esser riprodotti nelle tavole, tuttavia mi hanno permesso di distinguere lungo tutto l'intestino medio, la presenza di cellule caliciformi le quali si possono riconoscere facilmente perchè la loro parte corrispondente al calice prende un colorito verde più o meno spiccato, che manca del tutto nelle cellule cilindriche.

* * *

Per studiare il modo di presentarsi delle due sorta di cellule nei vari stadi della digestione, ho sezionato una serie di bacolini di un giorno di età fissati rispettivamente a diversi intervalli dopo un pasto, e precisamente, dopo 2 ore e mezza, dopo 4 ore, dopo 6 ore, dopo 11 ore, e $\frac{1}{4}$ d'ora dopo aver ricevuto un secondo pasto. Questa serie di preparati contrariamente a quanto mi sarei aspettata, non si è dimostrata sufficiente a fornire una successione di figure che desse un'idea abbastanza precisa delle varie modalità presentate dalle singole cellule nello svolgimento della loro funzione, e ciò soprattutto per la circostanza che i vari intestini sezionati longitudinalmente non presentavano mai lo stesso aspetto in tutta la loro lunghezza, e nemmeno un avvicinarsi regolare di aspetti diversi che potessero logicamente esser ritenuti derivati gli uni dagli altri. Piuttosto ho avuto l'impressione che nello stesso momento in uno stesso baco porzioni diverse del tubo intestinale, non regolarmente disposte, potessero trovarsi in fasi differenti di secrezione o di assorbimento. Ma su questo punto che richiederebbe vaste ricerche non mi sono intrattenuta,

tanto più che il mio scopo non era quello di studiare il funzionamento delle cellule epiteliali dell'intestino, ma di vedere se durante la digestione si trovassero evidenti stadi di passaggio tra le cellule cilindriche e le caliciformi, oppure vi fosse qualche stadio in cui tutte le cellule apparissero uniformi, come ho descritto in principio per i bachi flaccidi.

Non ho trovato nè l'una cosa nè l'altra, e ritengo che non esistano.

Riporto alla Tav. I nelle fig. 7 e 8 i due casi estremi delle modificazioni presentate dall'epitelio intestinale durante il processo di digestione.

La fig. 7 è tratta da un baco ucciso dopo il digiuno di 11 ore, la fig. 8 da un baco ucciso $\frac{1}{4}$ d'ora dopo il pasto. Nella fig. 8 l'epitelio è altissimo, le cellule cilindriche e caliciformi presentano evidentissima la loro regolare alternativa. Le cellule cilindriche sono allungate e ristrette (confr. con fig. 5 che rappresenta l'intestino del baco appena nato) i loro nuclei pure sono allungati, e si estendono verso la faccia libera della cellula, non verso la faccia basale dove sono i nuclei delle caliciformi. L'orlo libero presenta evidentissimo il raddorrio (*rab*) al di sopra del quale si accumulano le sferule di secreto (*se*) trattenute dalla membrana peritrofica (*per.*). Le cellule caliciformi hanno allargata la cavità del loro calice, la quale specialmente in basso, mostra assai evidente quello strato che ho denominato *strato interno* (*str. in.*). I nuclei sono diventati tondeggianti, sempre avvicinati alla base della cellula. In questo stadio la differenza tra cellule cilindriche e caliciformi, si è accentuata.

Molto diversamente si presenta in qualche punto l'intestino del baco digiuno da 11 ore (fig. 7). Quivi l'epitelio ha un'altezza che è appena i due terzi di quella descritta precedentemente, i confini tra le varie cellule non si distinguono più, come più non si rivela a primo aspetto l'alternanza regolare tra cellule cilindriche e le caliciformi; però l'esistenza delle une e delle altre è rivelata dai nuclei e dai calici. I nuclei delle cellule cilindriche sono ancora allineati circa alla metà dell'altezza dell'epitelio; la cromatina appare riunita in una massa di forma ovale, ma irregolare, attorno alla quale si nota un vacuolo che non ritengo artificiale perchè lo riscontro in tutti i preparati di intestini di bachi digiuni. A volte qualche nucleo è disposto trasversalmente e sembra in via di distaccarsi. Le cellule caliciformi va-

riano molto di aspetto, e irregolarmente, nelle varie zone dello intestino. In alcuni tratti sono ancora quasi inalterate e si presentano presso a poco come nella fig. 8, in altri punti come per es. nel tratto riprodotto a fig. 7 sono alterate moltissimo; il calice invece di apparire allungato ha forma tondeggiante, il nucleo della cellula è schiacciato e impiccolito; a volte sembra che le cellule siano andate distrutte o ne rimangano solo i residui. Sarebbe molto interessante per lo studio della funzione della cellula, un' esatta conoscenza di tutti i gradi di alterazione, ma mi avrebbe condotto troppo lontano dall' argomento, e mi sono limitata alla ricerca delle forme di passaggio tra cellule cilindriche e caliciformi.

Debbo dire che non le ho trovate per quanto abbia esaminati accuratamente molti intestini in questo stadio; anche là dove l' epitelio aveva subito le maggiori modificazioni, come per es. in quello riprodotto a fig. 7 non è possibile confondere le une colle altre. Gli spazi chiari attorno alle masse di cromatina (nuclei) delle cellule cilindriche si distinguono assai bene dai calici i quali hanno la parete circondata dallo strato interno che si colora in rosa coll' eosina. In qualche caso, come per esempio nella seconda delle cellule cilindriche della figura 7 il protoplasma al di sopra del nucleo è più chiaro, ma non si può esser certi che questo protoplasma appartenga alla cellula cilindrica invece che ad una cellula caliciforme ad essa addossata; in ogni modo la posizione del nucleo e la mancanza dello strato interno escludono uno stadio di passaggio.

Certo è che i nuclei delle cellule cilindriche restano diversi per grandezza, forma e posizione da quelli delle cellule caliciformi comunque alterati. Alcuni nucleetti che si vedono alla base dell' epitelio, e non si saprebbero attribuire a nessuna delle due sorta, devono appartenere ai nidi di cellule di sostituzione.

Riguardo allo stadio ora descritto, che certamente è uno dei più interessanti, devo notare che nei punti dove l' epitelio presenta più alterate le cellule caliciformi, si ha una condizione che potrebbe ricordare quella dei banchi flaccidi, se non fosse completamente diverso l' aspetto delle cellule cilindriche; di più nei banchi flaccidi la riduzione o la mancanza dei calici si riscontra in tutto l' intestino, mentre in questo stadio, solo eccezionalmente qua e là.

Un' altra differenza è data dalla presenza assai frequente del succo intestinale nei banchi flaccidi, e dalla mancanza quasi totale del secreto nei bacolini digiuni da 11 ore.

A questo proposito debbo osservare che il Deegener per le larve di *Deilephila euphorbiae* e per gli adulti di *Dytiscus* ha dimostrato che lo svuotamento del secreto delle cellule nel lume intestinale non avviene subito dopo che l'animale ha preso il nutrimento, ma prima, così che il nutrimento già trova il secreto preparato. D'altra parte è noto che si può provocare il vomito e raccogliere abbondante succo intestinale da bachi da seta digiuni. Avrei creduto perciò di trovare nei bacolini digiuni da 11 ore un'abbondante secrezione, ma il reperto diverso dall'aspettativa non è in contraddizione con quanto ha visto Deegener, perchè gli intestini dei bachi dopo 11 ore erano ancora pieni di foglia. Lo stadio osservato e descritto deve ritenersi perciò una fase di assorbimento il quale sarebbe affidato almeno per la massima parte alle cellule cilindriche. Per studiare propriamente le condizioni dell'intestino dei bacolini digiuni avrei dovuto fissarli in un tempo più lontano dal pasto, ma suppongo che non dovrebbero differire assai da quelle dei bachi appena nati.

Infine ho cercato di stabilire se le cellule cilindriche e le caliciformi si potessero riconoscere ancora nel momento della muta, quando l'epitelio vecchio si distrugge e quello nuovo si va formando.

Come dimostra la fig. 10 di Tav. I, rappresentante l'intestino di un baco sezionato durante la prima muta, la differenza tra le une e le altre, nell'epitelio in via di distruzione è spiccatissima, più spiccata forse che in tutti gli stadi precedenti soprattutto per l'aspetto dei nuclei e per il grande spessore che ha assunto lo strato interno dei calici. Invece nei nidi germinali di cellule nuove (*c. nuo.*) che si vanno man mano sviluppando non ho potuto distinguere le due sorta di elementi, i quali come ho detto più indietro, forse si differenziano appunto in questo periodo da cellule originariamente uniformi.

* * *

Per studiare più intimamente la struttura dell'epitelio intestinale ho sezionato gli intestini isolati, fissati come ho detto, in liquido di Hermann, e li ho colorati con safranina e verde luce. Per questo scopo i più adatti si sono dimostrati i bachi della 5^a età, sia per le maggiori dimensioni dei loro elementi cellulari, sia per la maggior facilità di estrarre l'intestino senza alterarlo. Ho così potuto mettere in luce alcune particolarità, che mi sembra con-

fermino pienamente il modo di vedere di Deegener sul modo di funzionare delle cellule cilindriche e delle caliciformi, affatto indipendenti le une dalle altre.

Le cellule cilindriche, in una fase di attività moderata, quando il secreto è poco o nullo, si presentano come nella fig. 1 a Tav. II. Esse appaiono per lo più a clava, a volte però la base è meno ristretta che in quelle riportate nella figura. Il nucleo si colora fortemente in rosso, il protoplasma in rosa pallido. Nel protoplasma si distinguono assai nettamente delle fibrille colorite in verde; anche in verde si colorano i bastoncini che costituiscono il raddorio. In qualche preparato è possibile mettere in evidenza una serie di granuli alla base dei bastoncini, ma non sempre si vedono; credo che ciò dipenda dalla fissazione più o meno ben riuscita. Non posso stabilire se i bastoncini siano o no in rapporto colle fibrille; dai miei preparati questo rapporto non risulta, ma per decidere la questione occorre impiegare metodi speciali di colorazione, cosa che mi propongo di fare in seguito. Anche sul significato delle fibrille non è possibile pronunziarsi, senza ricerche speciali, poichè i vari autori che hanno studiato l'argomento in altre forme, ne hanno dato le interpretazioni più differenti. A proposito dei bastoncelli ho potuto confermare quanto del resto era già noto, che la loro lunghezza è in rapporto coll'altezza della cellula.

Quando l'eliminazione del secreto è molto intensa, allora il raddorio assume un aspetto differente (fig. 2). I bastoncelli non formano un orlo a spazzola, ma appaiono riuniti a gruppetti, tra un gruppetto e l'altro si fanno strada le goccioline di secreto (*se.*), che poi si distaccano via, ma conservano ancora per qualche tempo la loro forma tondeggiante, prima di fondersi insieme. Durante la secrezione attiva i nuclei restano sempre verso l'orlo libero della cellula, anzi qualche volta sembra che la cromatina venga eliminata e poi la cellula vada distrutta.

Le cellule a calice, in una fase di attività moderata si presentano come nella fig. 1. Hanno figura a calice aperto. I nuclei colorati in rosso stanno alla base, il protoplasma appare roseo con una rete verdastra, ma confusa, non evidente come le fibrille delle cellule cilindriche. La parete del calice è rivestita da quello che ho chiamato strato interno, il quale certamente non è il secreto della cellula. Il secreto può scorgersi nell'interno della cellula in forma di fini granuli, forse prodotti per coagulazione di

una massa omogenea; lo strato interno invece presenta a volte una sorta di striatura perpendicolare al lume della cellula; è costantemente più spesso verso la parte basale, e di mano in mano diventa sottile verso la parte apicale.

Nelle cellule in grande attività (fig. 2) questo strato interno può apparire distaccato (forse per effetto della fissazione) ma si presenta sempre ben distinto, a volte come ripiegato.

Nelle cellule osservate a fresco in soluzione fisiologica appare evidentissimo e splendente. Se si prolunga l'osservazione in questo liquido finché l'epitelio si altera, si può notare che le cellule cilindriche e le caliciformi si distruggono in un modo differente: le cilindriche si rigonfiano, diventano sempre meno appariscenti, finché scompaiono; le caliciformi pure scompaiono, ma resta ancora per molto tempo distinguibile lo strato interno, come una membranella splendente tutta pieghettata.

La presenza dello strato interno, speciale delle cellule caliciformi, non può spiegarsi se si ammette che esse rappresentino cellule cilindriche svuotate del loro contenuto.

Ancora meno va d'accordo con quest'ipotesi il modo di presentarsi dell'epitelio intestinale sezionato tangenzialmente. Le fig. 4, 5 e 6 rappresentano appunto una serie di tali sezioni; non sono riportate tutte le sezioni consecutive per non moltiplicare il numero dei disegni, la fig. 4 è la più superficiale cioè la più esterna; tra la fig. 4 e la fig. 5 s'interpone una sezione non rappresentata, tra la fig. 5 e la fig. 6 se ne interpongono due, non rappresentate, ne seguivano ancora altre due prima di arrivare alla superficie interna dell'epitelio.

Nella fig. 4, subito al di sotto della muscolatura, si vede un bell'epitelio, ove le cellule sono quasi a contatto. Ognuna ha il suo nucleo colorito in rosso, circondato da protoplasma chiaro; al disotto del nucleo si comincia a vedere uno strato verde. Tutte queste cellule, così regolarmente disposte sono cellule caliciformi viste dalla base, al di sotto dei nuclei lasciano intravedere lo strato interno; le cellule cilindriche sono rappresentate solo dai tratti, spesso a figura di listerella, coloriti in verde, che stanno tra una cellula e l'altra.

Ho numerato cinque cellule caliciformi per seguirle facilmente in tutte le sezioni. Nella regione rappresentata nella fig. 5 vengono ad essere comprese soltanto le sezioni dei calici, che appaiono di diametro molto diverso; è evidente un rapporto di-

retto tra l'ampiezza del calice e le dimensioni della cellula, come pure collo spessore dello strato interno.

Questo strato forma una piega in corrispondenza al nucleo che sporge internamente, così in una sezione può apparire doppio (vedi cellula 5). Le cellule caliciformi sono ancora assai avvicinate le une alle altre.

Nella fig. 6 invece le sezioni dei calici delle 5 cellule numerate sono assai discoste tra loro; tutte quante sono molto più piccole che nella figura precedente, in ognuna lo strato interno è più sottile. Tra di esse compaiono ad un tratto i nuclei delle cellule cilindriche i quali sembrano assai diversi dai nuclei delle cellule caliciformi; dalle figure si direbbero molto minori, ma ciò dipende dal fatto che esse rappresentano sezioni trasversali di un ellisse allungato, mentre per il caso delle cellule caliciformi la sezione viene ad essere nel senso dell'asse maggiore. Dalle figure risulterebbe anche un'altra differenza consistente nella presenza dei nucleoli nei nuclei delle cellule cilindriche e nella mancanza di essi nei nuclei delle cellule caliciformi, ma questo carattere non si presenta costantemente. Due fatti però meritano di esser messi in evidenza e, cioè, la disposizione regolare e certamente non casuale che presentano le cellule caliciformi viste in sezione tangenziale e l'allineamento di nuclei delle cellule cilindriche. Questi fatti non si possono spiegare se non ammettendo che le une e le altre una volta differenziatesi conservino i loro rapporti reciproci; se i calici derivassero dalle cellule cilindriche dovrebbe continuamente avvenire una migrazione dei nuclei delle cellule cilindriche verso la base dell'epitelio, e un continuo spostarsi delle cellule caliciformi primitivamente formatesi per far posto alle nuove che si verrebbero via via aggiungendo ad esse, quindi il loro addossarsi e il loro restringersi. Invece si può dimostrare che esse di mano in mano aumentano di dimensioni. Si confrontino infatti la cellula N. 2 e la cellula N. 5 in tutte e tre le sezioni figurate. Nella prima sezione (fig. 4) comprendente le basi delle cellule ed i loro nuclei, la cellula N. 2 ha dimensioni minori, e nucleo minore della cellula N. 5; nella sezione 2^a (fig. 5) comprendente la parte più dilatata dei calici, ancora la cellula N. 2 è minore della N. 5; di più essa ha l'orlo interno poco ispessito, formando una curva regolare, la N. 5 ha l'orlo interno assai ispessito formante svariate pieghe; nella sezione 3^a (fig. 6) il calice della cellula N. 2 è già ridotto ad un collo sottile, quello della N. 5 è ancora allar-

gato con un orlo interno molto più spesso. Le altre cellule N. 3, 1 e 4 presentano i gradi intermedi tra quelli descritti. Un passaggio graduale tra tutti questi stadi partendo dal N. 2 per giungere fino al N. 5 si spiega molto bene coll'ipotesi che la cellula funzionando aumenti di volume ed accresca il suo strato interno di mano in mano che forma ed elimina il secreto; invece il passaggio inverso, dalla condizione presentata dalla cellula N. 5 a quella N. 2 secondo me non si potrebbe spiegare affatto.

Risulta perciò che le cellule caliciformi funzionano indipendentemente ed in modo diverso dalle cellule cilindriche. Questo modo di funzionare non corrisponde affatto a quello delle cellule caliciformi dell'intestino dei vertebrati, dove la cavità che contiene il secreto dapprima appare come un infossamento alla superficie libera, si estende poi sempre più verso la parte basale della cellula, ed il secreto esce dall'ampia apertura che si viene così formando. Inoltre nel baco da seta certamente il secreto non è mucoso come quello delle cellule caliciformi dei vertebrati, perchè non dà nessuna delle reazioni della mucina. Tutto ciò concorda con quanto dice il Deegener (4) (pag. 275). « In modo tutto diverso (dalle cellule cilindriche) si comportano le cosiddette cellule mucose, per le quali è più appropriato il nome di cellule caliciformi (*calicociti*) perchè il loro secreto (per lo meno nelle larve dei Lepidotteri) assolutamente non è mucoso. Mentre gli sferociti (cellule cilindriche) seppure forse non permanentemente, almeno nelle pause tra due fasi di secrezioni sono capaci di riassorbire, nelle cellule caliciformi secondo ogni apparenza abbiamo dinnanzi solo elementi discernenti. Il loro secreto comprime (*verdrängt bei vollständiger Füllung*) a completo riempimento quasi tutto il plasma, il quale poi avvolge come un sottile strato il vacuolo di secreto, mentre il nucleo della cellula di regola sta alla base. Nello svuotamento si produce nella superficie della cellula un'apertura (spesso non presente) attraverso la quale il secreto sgorga nel lume del canale. L'uscita non avviene repentinamente, ma a poco a poco, e il nucleo segue il vacuolo del secreto fino a metà della cellula, ma non oltre. Ognuna di queste cellule, come gli sferociti, è capace di ripetute emissioni di secreto ».

Il Deegener non distingue uno strato interno dal resto del protoplasma. Io ritengo che questo strato possa fino ad un certo punto paragonarsi al raddorio delle cellule cilindriche.

Non ha la stessa struttura, ma a volte sembra, che ho detto, presentare delle strie perpendicolari alla superficie libera, ha lo stesso comportamento del raddorio rispetto alle sostanze coloranti, e come si è detto indietro per il raddorio, ha un'altezza che varia in rapporto colle dimensioni della cellula.

In seguito alle mie ricerche sul baco da seta, devo anch'io concludere analogamente al Deegener per altre larve di Lepidotteri, che in queste forme il mesenteron presenta due sorta di cellule secernenti, diverse tra loro e non trasformabili le une nelle altre almeno nell'intervallo tra una muta e l'altra.

* * *

Conclusioni. — Dal confronto dell'intestino medio dei bachi da seta sani, con quello dei bachi da seta malati di flaccidezza risulta, che mentre nei primi si distinguono due aspetti differenti delle cellule epiteliali, cioè cellule a forma cilindrica, e cellule a forma di calice, nei secondi le cellule in forma di calice sono ridotte, alterate o quasi completamente scomparse, mentre le cellule cilindriche, sono ancora più o meno bene conservate. Anche nell'intestino dei bachi malati di flaccidezza e mancante degli elementi a forma di calice, si verifica per qualche tempo la produzione di succo gastrico.

Questo risultato porta per conseguenza la discussione sul significato dei due aspetti delle cellule epiteliali del mesenteron. Se debbono considerarsi come stadi diversi di una sola sorta di cellule, si deve ammettere che nella flaccidezza il meccanismo della secrezione del succo gastrico, sia talmente alterato da modificare in modo del tutto diverso dall'usuale l'aspetto delle cellule destinate a tale funzione; se invece si ha a che fare con due formazioni differenti, si deve concludere che una delle due (le cellule caliciformi) viene attaccata più prontamente dell'altra dall'agente, ancora incognito, che produce la malattia.

Nei bachi appena nati, che non hanno preso alcun nutrimento, l'intestino medio presenta già le due sorta di cellule, alternate quasi regolarmente le une alle altre, coi nuclei allineati in due file corrispondenti ciascuna ad una delle due sorta di elementi; negli embrioni fissati il giorno precedente a quello della nascita non si distinguono ancora le due sorta di cellule nell'epitelio dell'intestino medio, ma i nuclei vi si vedono già disposti in due file.

Nei bachi della prima età, fissati in vari periodi della digestione, da un quarto d'ora a 11 ore dopo il pasto, si distinguono sempre le due sorta di cellule senza poter stabilire tra di esse gradi di passaggio, però nei bacolini uccisi 11 ore dopo il pasto, alcuni tratti dell'epitelio dell'intestino hanno le cellule caliciformi ridotte di numero e alterate di forma. Nei bachi fissati durante la muta possono riconoscersi molto bene le due sorta di cellule nell'epitelio che ha già funzionato e va distruggendosi, non si distruggono ancora nei nidi germinali.

Negli intestini di bachi della 5ª età, isolati, e fissati con miscele a base di acido osmico, si mettono in luce evidente strutture differenti per le cellule cilindriche e per quelle caliciformi. Tanto i vari modi di presentarsi delle cellule cilindriche, quanto i vari aspetti delle cellule caliciformi, accuratamente studiati, non possono venir interpretati come stadi di passaggio tra l'una e l'altra sorta di elementi, ma forniscono la base all'ipotesi che entrambe funzionino per proprio conto e in modo diverso; che entrambe abbiano una funzione secernente, e, forse, soltanto gli elementi cilindrici, anche una funzione assorbente. Ciò coincide con quanto ha stabilito il Deegener per le larve di Lepidotteri, la *Cetonia aurata*, il *Gryllotalpa*, gli *Effemeridi*, gli *Eschnidi*.

Il fatto che alcuni insetti si comportino tanto diversamente dagli altri riguardo alla struttura del tubo intestinale a dir vero appare assai strano e a tutta prima inconcepibile, ma probabilmente la divergenza è meno assoluta di quello che sembra. Forse le due sorta di cellule si differenziano da un'unica sorta in determinati periodi, per esempio durante le mute (ipotesi che coincide coll'opinione espressa dal Nazari), forse anche negli altri insetti esistono due sorta di cellule, ma meno nettamente distinguibili.

Se nella flaccidezza del baco da seta una delle due sorta di cellule secernenti va distrutta mentre l'altra è ancora in grado di funzionare, il succo gastrico dovrà esistere ancora, ma avrà proprietà differenti: ciò si accorda col fatto ben noto che nei bachi flaccidi la reazione del succo gastrico, invece di essere alcalina, va di mano in mano alterandosi, fino a diventare nettamente acida.

LETTERATURA CITATA.

1. BERLESE, A. — Gli Insetti, loro organizzazione, sviluppo ecc. — Società Editrice Libreria, Milano, 1909.
 2. BORDAS, L. — L'appareil digestif et les tubes de Malpighi des larves de Lépidoptères. — Ann. Sc. nat. Zool., Vol. 14, 1911.
 3. DEGENER, P. — Beiträge zur Kenntnis der Darmsekretion. — I. parte: *Deilephila euphorbiae*. Arch. f. Naturgesch. 75 Jahrg. 1. Bd, 1909. — II. parte: *Macrodytes (Dytiscus) circumcinctus*. Ibid. 76 Jahrg. 1. Bd, 1910.
 4. DEGENER, P. — Der Darmtraktus und seine Anhänge. — In Handbuch der Entomologie di Chr. Schröder - Verlag von Gustav Fischer. Jena, Bd. I, 1913.
 5. JORDAN, H. e STEUDEL A. — Über die sekretive und absorptive Funktion der Darmzellen bei Wirbellosen, insbesondere bei Insekten. — Verh. deutsch. zool. Gesell., 1911.
 6. NAZARI, A. — Ricerche sulla struttura del tubo digerente e sul processo digestivo del *Bombyx mori*. — Ricerche fatte nel Lab. di Anat. Norm., Roma, Vol. 7, 1899.
 7. PORTIER, P. — Digestion phagocytaire des chenilles xilophages des Lépidoptères. — C. R. Soc. Biol., Paris, 70, 1911.
 8. STEUDEL, A. — Absorption und Secretion in Darm von Insekten. — Zool. Jahrbücher. Abt. f. Zool. u. Phys., XXX Bd., 1913.
 9. VERNON, E. — La evoluzione del tubo intestinale del filugello. — Atti del R. Istituto Veneto di scienze lettere ed arti. Tomo VIII, ser. VII, 1897 e 98.
 10. VERNON, E. — Il Filugello e l'arte di governarlo. — Società editrice libreria, Milano, 1917.
-

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE.

Significato delle abbreviazioni per tutte le figure.

- c. ca.* = cellule caliciformi.
- c. ci.* = cellule cilindriche.
- c. nuo.* = cellule nuove.
- c. ?* = cellule indeterminate.
- mu.* = muscolatura.
- n. c. ca.* = nucleo cellule caliciformi.
- n. c. ci.* = nucleo cellule cilindriche.
- p. sie.* = pigmento della sierosa.
- per.* = peritrofica.
- rab.* = rabdorico.
- se.* = secreto.
- str. in.* = strato interno.

Microscopio Koristka.

Tav. I.

- Fig. 1. — Frammento di intestino medio di baco della 5^a età, sano. Sezione trasversale in corrispondenza al 6° segmento addominale. Oc. 1 ob. 8.
- » 2. — Frammento di intestino medio di baco della 5^a età, malato di flaccidezza. Sezione e ingrandimento come in fig. 1.
 - » 3. — Frammento di intestino medio di un altro baco della 5^a età malato di flaccidezza. Sezione e ingrandimento come in fig. 1.
 - » 4. — Frammento di intestino medio di un terzo baco della 5^a età malato di flaccidezza. Sezione e ingrandimento come in fig. 1.
 - » 5 e 6. — Frammenti di intestino medio di baco appena nato che non ha ancora ingerito foglia. Sezione longitudinale. Oc. 4 comp. ob. 1/15 imm. omog.
 - » 5. — Verso la metà della lunghezza dell'intestino.
 - » 6. — Verso la parte posteriore.
 - » 7. — Frammento di epitelio dell'intestino medio di un bacolino della 1^a età che ha ricevuto un solo pasto e in seguito è rimasto digiuno 11 ore. Sezione e ingrandimento come nelle fig. 5 e 6.
 - » 8. — Frammento di epitelio dell'intestino medio di un bacolino della 1^a età, fissato 1/4 d'ora dopo il secondo pasto. Sezione e ingrandimento come nelle fig. 5 e 6.

- » 9. — Frammento del mesenteron dell'embrione di un baco da seta nel giorno precedente alla nascita. Sezione e ingrandimento come in fig. 5 e 6.
- » 10. — Frammento del mesenteron di un baco durante la prima muta. Sezione e ingrandimento come in fig. 5 e 6.

Tav. II.

Tutte le figure rappresentano frammenti di intestino medio di bachi della 5^a età, collo stesso ingrandimento. Oc. 4 comp. ob. 1/15 imm. omog.

- Fig. 1. — Baco sano. Sezione longitudinale.
- » 2. — Baco sano. Sezione trasversale.
 - » 3. — Baco malato di flaccidezza. Sezione longitudinale in un tratto dell'intestino corrispondente a quello di fig. 1.
 - » 4, 5 e 6. — Sezioni tangenziali di mesenteron di baco sano. La fig. 4 rappresenta la sezione più superficiale; tra la fig. 4 e la fig. 5 si intercala una sezione, non rappresentata, tra la fig. 5 e la fig. 6 se ne intercalano due, non rappresentate.
- Sono numerate progressivamente da 1 a 5, cinque cellule caliciformi per seguirle più facilmente più facilmente nelle varie sezioni.

57141



Fig. 1.



Fig. 2.

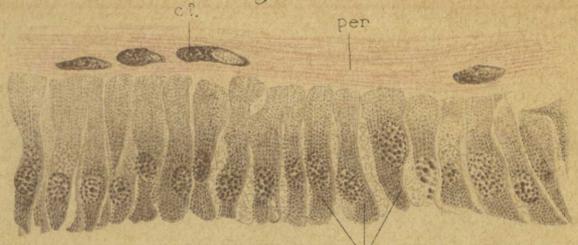


Fig. 3.

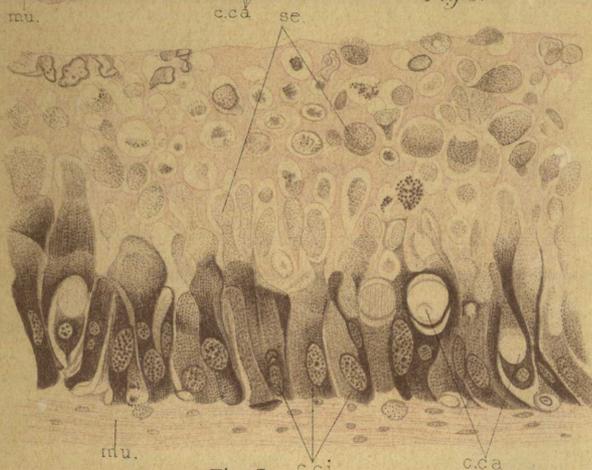


Fig. 4.



Fig. 5.

Fig. 6.

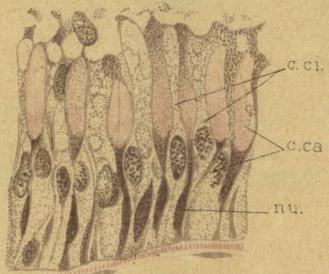
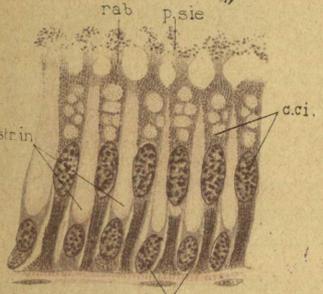


Fig. 7.

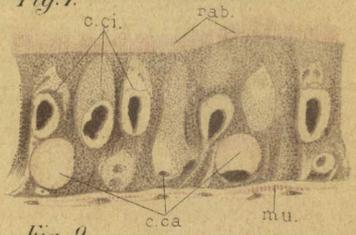


Fig. 8.

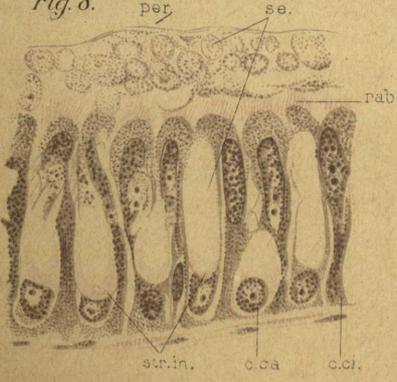


Fig. 9.

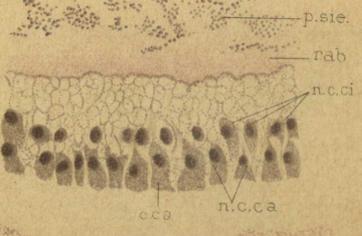


Fig. 10.





