

74. Alessandro FILIPPONI. — Accrescimento differenziale nei trofozoiti di *Gregarina dimorpha* (Sporozoa)(\*).

**Riassunto.** -- I trofozoiti di *Gregarina dimorpha*, dopo un primo brevissimo stadio epicitozoico ed un successivo breve stadio enterozoico solitario, precocemente si associano. Lo stadio biassociato perdura a lungo per tutto il restante periodo trofico.

L'A. ha studiato l'accrescimento relativo tra le seguenti coppie di grandezze:  $WP/LP$ ,  $WD/LD$ ,  $LP/LD$ ,  $WP/WD$ ,  $LP \times WP/LD \times WD$  in trofozoiti biassociati, considerando Primiti e Satelliti come due popolazioni distinte.

Sia nei Primiti che nei Satelliti l'accrescimento segue la formula generale proposta da HUXLEY per l'accrescimento relativo. Le costanti di accrescimento in entrambi le popolazioni si mantengono inalterate per l'intero stadio biassociato. In 9 dei 10 confronti stabiliti l'accrescimento relativo è allometrico.

Le costanti di accrescimento dei P. sono diverse da quelle dei S. La morfologia dei due individui di una stessa coppia va sempre più divergendo col progredire dell'accrescimento. Il dimorfismo tra P. e S. è appunto il risultato di un diverso accrescimento relativo.

In base ai risultati ottenuti l'A. discute sulla validità della formula di HUXLEY per l'accrescimento relativo dei Protozoi; sull'esistenza di un dimorfismo sessuale nelle Gregarine; e sul valore tassonomico dei dati biometrici dei trofozoiti delle Policistidee.

Per quanto è stato finora dimostrato, se un protozoo possiede una forma propria, le variazioni di forma durante l'accrescimento sono soggette alle stesse leggi dimostrate valide per l'accrescimento dei Metazoi: è questa una riprova dell'unicità del piano di organizzazione del mondo animale.

L'esistenza nelle Policistidee di un dimorfismo sessuale non ammette dubbi. Come presso i Metazoi, nello stesso gruppo possono coesistere specie con accentuato dimorfismo sessuale accanto ad altre che ne sono del tutto prive.

I trofozoiti delle Policistidee hanno un accrescimento illimitato e le loro 4 dimensioni principali si accrescono in genere allometricamente. Di conseguenza i dati biometrici dei trofozoiti, usati di solito dai Tassonomisti, non caratterizzano i trofozoiti. A questo scopo appaiono assai più efficaci le costanti di accrescimento e le equazioni di regressione.

---

(\*) Ringrazio il Prof. ADRIANO BUZZATI-TRAVERSO, Direttore dell'Istituto di Genetica dell'Università di Pavia per la lettura del manoscritto e le cortesi critiche segnalatemi.

**Résumé.** — L'A. a étudié l'accroissement relatif parmi les couples suivantes de grandeurs: WP/LP, WD/LD, LP/LD, WP/WD, LP. WP/LD. WD chez 254 trophozoïtes biassociés de *Gregarina dimorpha*.

Sur la base des résultats obtenus il discute sur la validité de la formule de HUXLEY pour l'accroissement relatif des Protozoaires, sur l'existence d'un dimorphisme sexuel dans les Grégarines et sur la valeur taxonomique des données biométriques des trophozoïtes des Grégarines.

**Summary.** — Association in trophozoites of *Gregarina dimorpha* occurs early after a most short *epicytozoic stage* and a successive short *enterozoic stage*. The *biassociative stage* lasts for the whole remaining trophic period.

The A. has studied the relative growth between the following sets of magnitudes: WP/LP, WD/LD, LP/LD, WP/WD, LP. WP/LD. WD in biassociated trophozoites. These were separated in two populations, viz. primitives and satellites.

The empirical formula proposed by HUXLEY for relative growth has been found to hold for primitives as well as for satellites. The differential growth-ratios remain constant over the whole range of sizes of animals of two populations. In nine out of ten comparisons the differential growth-ratios are significantly different from unity, i. e., the growth is heterogonic.

The differential growth-ratios of primitives are different from those of satellites. The forms of the two individuals of each association tend to diverge more and more while their size increases. The dimorphism between primitive and satellite (sexual dimorphism) is, in fact, the result of a different relative growth.

On the basis of the results obtained, the A. discusses (1) the validity of HUXLEY'S formula for relative growth in the *Protozoa*; (2) the existence of a sexual dimorphism in the gregarines; and (3) the taxonomic value of the dimensions of trophozoites in the *Polycystidea*.

(1) According to what has been so far demonstrated, the relative growth of *Protozoa* is subject to the same laws which have been proved to be valid for *Metazoa*.

(2) The existence of a sexual dimorphism in the *Polycystidea* cannot be doubted. Species with relevant sexual dimorphism may occur, in the same group, together with species in which dimorphism is not evident.

(3) The trophozoites of *Polycystidea* show unlimited growth; moreover the change in their dimensions is, as a rule, heterogonic. As a consequence, dimensions and ratios of trophozoites, usually employed by taxonomists, have no taxonomic significance. The differential growth-ratios and the equations of regression appear more useful for this purpose.

**Zusammenfassung.** — Der Verfasser hat das relative Wachstum in einer Population von Primiten und Satelliten von *Gregarina dimorpha* studiert.

Auf Grund der erhaltenen Resultate behandelt der Verfasser:

- 1) den Wert der Formel von HUXLEY für das relative Wachstum der Protozoen;
- 2) das Vorhandensein eines Geschlechts-Dimorphismus in Gregarinen; und;
- 3) den taxonomischen Wert der absoluten und relativen Masse der Trophoziten der Gregarinen.

---

La presenza, negli animali, di uno *stadio adulto* a dimensioni costanti e spesso di lunga durata, conseguente all'arresto dell'accrescimento, non è un fatto generale. In alcuni animali l'*accrescimento è illimitato*, essi cioè continuano ad accrescersi, sia pure con intensità decrescente, fino alla morte od alla loro divisione.

L'accrescimento, in linea di massima, è accompagnato da un *cambiamento continuo di proporzioni*, per cui i valori relativi, come quelli assoluti delle misure dell'intero organismo e dei suoi organi, durante l'accrescimento, sono funzioni del tempo. Per gli animali del primo tipo, i dati biometrici dell'individuo, una volta raggiunto lo stadio adulto, diventano delle *costanti*; per gli animali del secondo tipo, per l'intera durata della vita, essi rappresentano delle *variabili* dipendenti dal tempo.

Di conseguenza l'indice cefalico medio, ad esempio, di una popolazione umana ha un significato preciso, che giustifica, sotto questo aspetto almeno, il suo impiego come *carattere tassonomico*; al contrario l'indice medio del carapace di una popolazione di aragoste non ha lo stesso valore nè si presta allo stesso uso. In questo secondo caso o si ripiega allo *studio puramente descrittivo della forma*, o, volendo utilizzare i dati biometrici, è indispensabile individuare, nel caso che esista, la legge cui i continui cambiamenti di proporzioni ubbidiscono.

Le Policistidee appartengono a questo secondo tipo di animali. I trofozoiti di questi Sporozoi dallo stadio di sporozoite in poi continuano il loro accrescimento fino all'istante in cui due individui di sesso diverso si chiuderanno in una stessa cisti per accingersi alla riproduzione gamica. Anche per le Policistidee, durante l'accrescimento, le proporzioni cambiano continuamente. Anzi, come ho dimostrato in precedenti lavori <sup>(1)</sup> i cambiamenti di proporzioni sono così rilevanti da destituire di ogni valore le pretese diagnosi fornite dai sistematici sulle misure di qualche esemplare.

Purtroppo, nel nostro caso, l'analisi puramente descrittiva della forma non sempre ci soccorre. Anzitutto incostanza di proporzioni equivale a *incostanza di forma*. Inoltre gli elementi formali *distintivi* individuabili negli stadi trofici sono, per lo più, così scarsi e inadeguati che una stessa descrizione, accurata quanto si voglia, può indiscriminatamente attribuirsi a trofozoi appartenenti a decine di differenti specie. E' questo il motivo per cui i sistematici sono stati costretti ad introdurre nelle diagnosi delle Policistidee, come caratteri tassonomici dei trofozoi, i valori delle quattro dimensioni fondamentali e dei loro rapporti.

Tenendo presente che buona parte delle Policistidee descritte ci sono note soltanto attraverso i loro trofozoi sarà facile convincersi come lo studio dell'accrescimento differenziale nelle Policistidee, vale a dire, il tentativo di definire la legge che esprima i continui cambiamenti di forma non solo si inquadri in un capitolo interessante della biologia generale ma assuma un'importanza capitale per la tassonomia del gruppo.

#### LA FORMULA DI HUXLEY PER L'ACCRESIMENTO RELATIVO.

HUXLEY (2) parte dai seguenti presupposti: l'accrescimento è un processo di automoltiplicazione della sostanza vivente; la sua velocità decresce col progredire dell'età; il processo stesso subisce le influenze delle condizioni ambientali.

Prendiamo in considerazione due dimensioni di una stessa Gregarina, ad esempio, la lunghezza del deutomerite che indicheremo con  $x$  e la lunghezza del protomerite che indicheremo con  $y$ . Conforme alle premesse, del resto molto verosimili, ora enunciate dovremmo supporre che  $\frac{dx}{dt}$  e  $\frac{dy}{dt}$ , e cioè le velocità di accrescimento all'istante  $t$  delle due dimensioni considerate debbano essere proporzionali contemporaneamente 1) ad una costante specifica di accrescimento in lunghezza del protomerite e del deutomerite (che chiameremo rispettivamente  $\pi$  e  $\delta$ ); 2) alle grandezze delle due dimensioni  $x$  e  $y$  ad ogni istante; e 3) ad un fattore generale ( $G$ ) dipendente dall'età dell'individuo e dalle condizioni ambientali, il quale fattore sarà identico per tutte le parti dell'organismo. Avremo allora che

$$\frac{dx}{dt} = \delta x G \quad \text{e} \quad \frac{dy}{dt} = \pi y G; \quad \text{per cui}$$

$$\frac{dy}{dx} = \frac{\pi y}{\delta x}, \quad \text{cioè} \quad \frac{dy}{y} = \frac{\pi dx}{\delta x}.$$

Integrando avremo  $\ln y = \frac{\pi}{\delta} \ln x + \ln b$ , cioè

$$y = b x^{\frac{\pi}{\delta}} \quad [1].$$

Sia  $b$  che  $\alpha (= \frac{\pi}{\delta})$  sono delle costanti:  $b$  rappresenta semplicemente il valore di  $y$  quando  $x = 1$ ;  $\alpha$  invece ha un significato biologico. Essa è la *costante di accrescimento* (differential growth-ratio) e rappresenta il rapporto tra le costanti specifiche della velocità di accrescimento rispettivamente di  $y$  e di  $x$ .

Se  $\alpha = 1$ , l'accrescimento di  $y$  e di  $x$  procedono con eguale rapidità: si parla allora di *accrescimento isometrico* (isogony). Se  $\alpha > 1$ , l'accre-

TABELLA I  
FREQUENZE DELLE LUNGHEZZE TOTALI (IN  $\mu$ )  
NEI VARI TIPI DI TROFOZOITI

Classi	E. solitari	Primiti	Satelliti
20-40	1		
40-60	3		3
60-80	5	3	28
80-100	7	10	25
100-120	2	16	29
120-140		8	10
140-160		11	12
160-180		17	13
180-200		18	3
200-220		6	1
220-240		9	
240-260		4	
260-280		10	
280-300		9	
300-320		6	
320-340		2	
340-360			
360-380			
380-400		1	
	18	130	124

scimento di  $y$  sarà più rapido di quello di  $x$ : avremo cioè un *accrescimento allometrico positivo* (positive heterogony). Infine se  $\alpha < 1$ , l'accrescimento di  $y$  sarà meno rapido di quello di  $x$ : *accrescimento allometrico negativo* (negative heterogony).

La [1] è la formula empirica proposta da HUXLEY (3) per l'accrescimento relativo. Essa si è dimostrata valida ormai in innumerevoli casi per l'accrescimento dei Metazoi, fu estesa da TEISSIER (4) all'accrescimento biochimico ed è merito di BUSCH (5) di averla per primo applicata all'accrescimento dei Protozoi, precisamente nel caso di due Policistidee.

Dalla [1] si ottiene

$$\log y = \log b + \alpha \log x \quad [2]$$

che è l'equazione di una retta. Se quindi il diagramma ottenuto mediante i logaritmi delle variabili è una retta la formula di HUXLEY può ritenersi valida per il caso considerato; ed il coefficiente angolare  $\alpha$  ci darà il valore della costante di accrescimento.

Se i valori della variabile sono desunti, anzichè da uno stesso individuo in successivi intervalli di tempo, da una popolazione di individui di differenti età, per ogni valore della variabile indipendente avremo evidentemente una serie di valori della variabile dipendente. La funzione che rappresenta il valore medio di  $y$  per ogni valore di  $x$  è definito come la *funzione di regressione* di  $y$  su  $x$  ed è rappresentata graficamente da una linea di regressione. Se questa linea è una retta la funzione di regressione sarà lineare. L'equazione della regressione lineare è data da

$$\hat{Y} = a + b (X - \bar{x}) \quad [3]$$

dove  $\hat{Y}$  è il valore medio di  $Y$  per ogni valore di  $X$ ,  $a$  è la media  $\bar{y}$  dei valori osservati della variabile dipendente,  $\bar{x}$  la media dei valori osservati della variabile indipendente, infine  $b$  è il *coefficiente di regressione* che, nel nostro caso particolare, ha lo stesso significato di  $\alpha$  della [1] e della [2].

#### NATURA E TRATTAMENTO DEL MATERIALE.

La scelta del materiale per una simile indagine è caduta su *Gregarina dimorpha* FILIPPONI 1947 (6) parassita di *Chlaenius vestitus* PAYK per due particolari caratteristiche del gregarinide: il forte scarto nelle variazioni delle proporzioni durante l'accrescimento (il rapporto LD/LP, ad esempio, oscilla da 2 a 8 nel solo stadio biassociato); ed un netto dimorfismo tra primitive e satellite, cioè tra i due individui di sesso diverso destinati a formare un'unica cisti.

Se l'accrescimento differenziale segue la legge espressa dalla [1] non sarà solo possibile calcolare le costanti di accrescimento, ma altresì analizzare il diverso comportamento tra i due sessi.

I trofozoiti di *G. dimorpha* dopo un primo stadio presumibilmente *epicitozoico*, cadono liberi nel lume intestinale dell'ospite (*trofozoiti enterozoici solitari*); infine due individui di sesso diverso si associano dando origine a delle biassociazioni stabili (*trofozoiti enterozoici biassociati*), in cui ciascuno individuo della coppia (*primitive* e *satellite*) continua indipendentemente il proprio accrescimento fino all'istante in cui si incistano.

Il primo stadio è di breve durata: trofozoiti di 32  $\mu$  di lunghezza totale

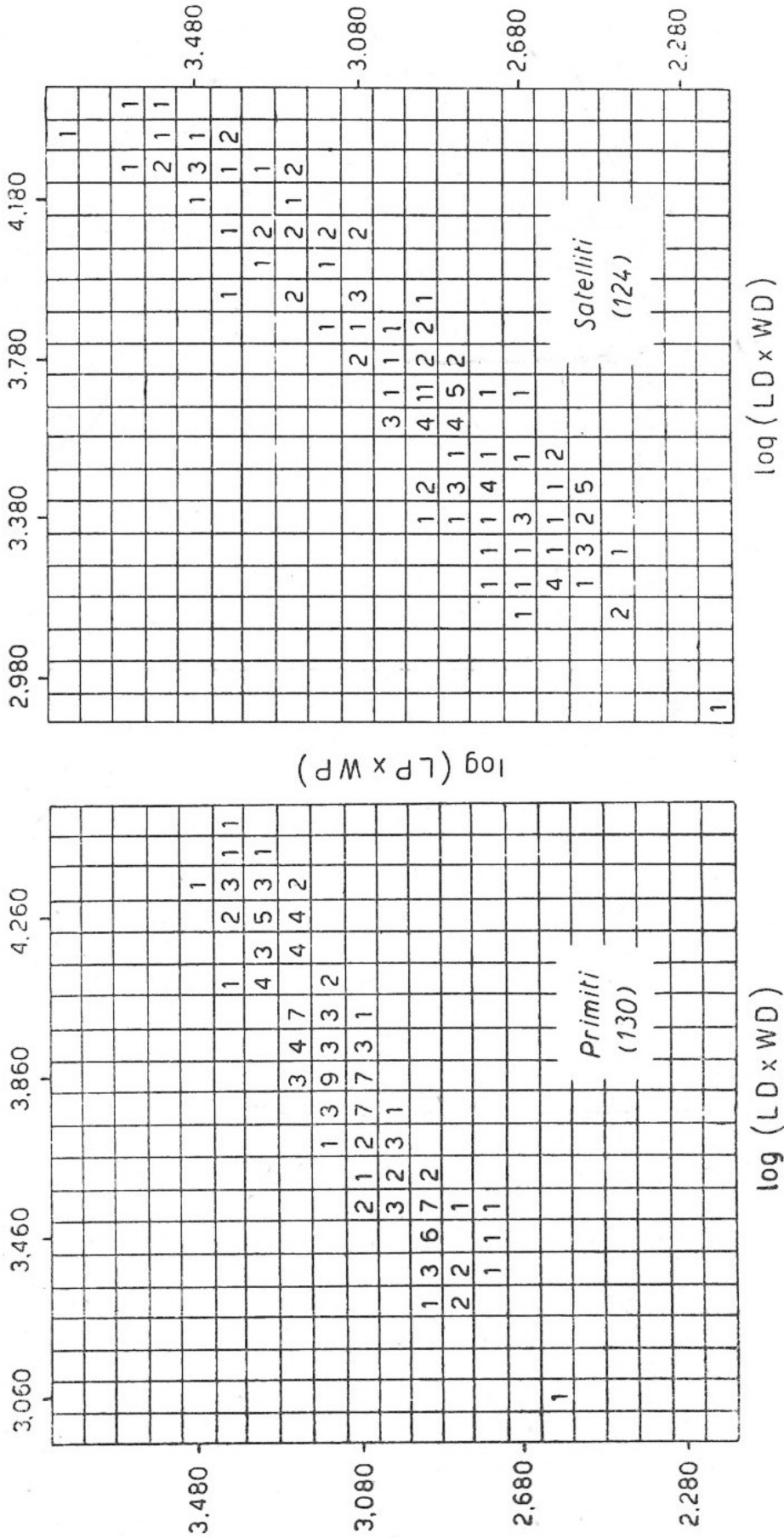


Fig. 1 - Tavole di correlazione tra  $\log(LD \times WD)$  e  $\log(LP \times WP)$  rispettivamente nei primiti e nei satelliti per mostrare la linearità della correlazione

sono già enterozoici. Anche il secondo stadio non dura a lungo: trofozoiti di  $47\ \mu$  di lunghezza sono già biassociati ed oltre i  $100\ \mu$  sono tutti praticamente biassociati. Il massimo trofozoite osservato raggiunge una lunghezza di  $392\ \mu$ : la maggior parte dello sviluppo si realizza quindi nel terzo stadio il quale prevale nettamente sugli altri due, occupando la maggior parte del periodo trofico.

Il materiale misurato è rappresentato da 290 trofozoiti di cui 18 solitari, 130 primiti, 124 satelliti. Esso proviene dalla dissezione di oltre 150 esemplari di *Chlaenius vestitus* raccolti in 20 successive catture nei pressi dell'ippodromo Capannelle (Roma). Il numero dei parassiti osservati nei singoli ospiti infetti va da poche unità ad un massimo di 20.

Tutti i parassiti furono fissati nella stessa soluzione di formolo picrico e misurati qualche ora dopo. Approssimazione nelle misure a meno di  $2\ \mu$ . Sono state prese per ciascun individuo le seguenti misure: lunghezza del protomerite (LP) dal setto all'estremità anteriore; larghezza massima del protomerite (WP); lunghezza del deutomerite (LD) dal setto all'estremità anteriore; larghezza massima del deutomerite (WD); lunghezza del deutomerite (LD) dal setto all'estremità posteriore; larghezza massima del deutomerite (WD); infine lunghezza totale (LT = LP + LD). Si tratta quindi in complesso di 1450 misure micrometriche originarie.

Allo scopo di fornire un ragguaglio esatto delle diverse grandezze dei parassiti misurati riporto nella Tabella I la distribuzione delle frequenze di lunghezze totali per gli individui appartenenti ai vari stadi.

Lo studio statistico è stato limitato ai soli trofozoiti biassociati, essendo troppo scarso il numero dei trofozoiti solitari. La fig. 2 riproduce un disegno schematico di una biassociazione di media grandezza eseguito alla camera lucida.

#### COSTANTI DI ACCRESCIMENTO E LORO ATTENDIBILITÀ.

Per poter dare un quadro completo dei cambiamenti di forma durante l'accrescimento in *G. dimorpha* sono state studiate le seguenti regressioni:

- 1) Larghezza protomerite, WP: lunghezza protomerite, LP
- 2) Larghezza deutomerite, WD: lunghezza deutomerite, LD
- 3) Lunghezza protomerite, LP: lunghezza deutomerite, LD
- 4) Larghezza protomerite, WP: larghezza deutomerite, WD
- 5)  $LP \times WP$  :  $LD \times WD$

Nei primi quattro casi si mettono a raffronto i termini dei quattro rapporti fondamentali usati dai sistematici nelle diagnosi delle Policistidee;

TABELLA 2

COSTANTI STATISTICHE PER L'ACCRESIMENTO DIFFERENZIALE DI *Gregarina dimorpha* FILIPPONI

X	Y	A - Primiti (N = 130)						B - Satelliti (N = 124)						$b_A - b_B$	$s_{A \cdot B}$
		$\bar{x}$	$\bar{y}$	b	$s_b$	$s_{y \cdot x}$	$\Sigma x^2$	$\bar{x}$	$\bar{y}$	b	$s_b$	$s_{y \cdot x}$	$\Sigma x^2$		
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)	(16)
log LP	log WP	1,4708	1,6154	0,8703	0,0479	0,0473	0,9689	1,2906	1,6490	1,1748	0,0722	0,1098	2,3139	0,3035	0,1014
log LD	log WD	2,1560	1,7092	0,6051	0,0236	0,0523	4,9299	1,9181	1,7884	1,3125	0,0439	0,0720	2,6859	0,7074	0,0475
log LD	log LP	2,1560	1,4708	0,3742	0,0210	0,0466	4,9299	1,9181	1,2906	0,7107	0,0540	0,0885	2,6859	0,3365	0,0533
log WD	log WP	1,7092	1,6154	0,6271	0,0288	0,0411	2,0409	1,7884	1,6490	0,9232	0,0169	0,0387	5,2601	0,2961	0,0329
log (LD×WD)	log (LP×WP)	3,8698	3,1255	0,5087	0,0116	0,0657	12,3522	3,7103	2,9406	0,8494	0,0306	0,1192	15,1036	0,3407	0,1160

l'ultimo confronto ci permette una valutazione dell'accrescimento relativo in superficie delle sezioni massime del protomerite e del deutomerite. In ogni caso la costante di accrescimento esprime la frazione di accrescimento della prima dimensione per l'accrescimento di una unità nella seconda.

I singoli valori micrometrici originari furono sostituiti con i loro logaritmi decimali. Con questi si compilarono delle tavole di correlazione. Tutti i logaritmi delle dimensioni che compaiono nei primi quattro confronti furono raggruppati in classi con intervallo  $i = 0,04$ ; per l'ultimo confronto è l'intervallo di classe  $i = 0,08$ . Primiti e satelliti furono trattati come due popolazioni distinte.

La regolarità delle distribuzioni delle frequenze in ciascuna delle 10 tavole ottenute è di per sè sufficiente a garantirci della linearità della regressione, come risulta, ad esempio dalle due distribuzioni riprodotte nel testo (fig. 1).

Per il calcolo delle costanti statistiche si è seguito lo SNEDECOR (7) (Sez. 8.9 e sez. 6) al cui manuale, per non appesantire eccessivamente di formule l'esposizione, rimando, essendo d'altronde a portata di tutti in ogni laboratorio. I valori calcolati sono riportati nella Tabella II.

I coefficienti di regressione  $b$  che, nel nostro caso, rappresentano le costanti di accrescimento sono indicati rispettivamente per i primiti ed i satelliti nelle colonne (5) e (11). Nelle colonne (6) e (12) si danno i valori di  $s_b$  che è l'errore standard del coefficiente di regressione. Esso ci permette di stabilire la significatività statistica di  $b$ . Quello che a noi maggiormente interessa è di provare l'attendibilità dello scarto di  $b$  dall'unità che, come si è detto, rappresenta la condizione di *isometricità*. Volendoci servire del criterio  $t$  di « Student » dovremo comparare il valore di  $t$  dato da

$$t = \frac{b - 1}{s_b} \quad [4]$$

con i valori di  $t$  dati dalla tavola (vedi SNEDECOR tav. 3.8) (8) per  $P = 0,05$  o  $P = 0,01$  e  $n$  (gradi di libertà) = 128 (per i Primiti) e 122 (per i Satelliti).

Assumendo come limiti fiduciali  $P = 0,05$  tutti i valori di  $b$  sono significativamente diversi dall'unità; per  $P = 0,01$  solo il primo valore della colonna (11) ne verrebbe escluso. In altri termini, per detto valore la probabilità che il suo scarto dall'unità dipenda dalla causalità della distribuzione delle misure studiate è inferiore al 5% ma non è inferiore all'1%; in tutti gli altri casi invece tale probabilità è sempre inferiore all'1%. Dunque almeno in 9 dei 10 confronti stabiliti siamo senza dubbio in presenza di un accrescimento allometrico.

ACCRESIMENTO DIFFERENZIALE E DIMORFISMO SESSUALE.

Un dimorfismo tra primite e satellite, nel caso di *G. dimorpha*, può essere sostenuto anche solo in base ad una caratteristica formazione presente nel satellite e non nel primite, la ventosa di accoppiamento (9). Essa si forma sulla parte anteriore del protomerite del satellite all'inizio della

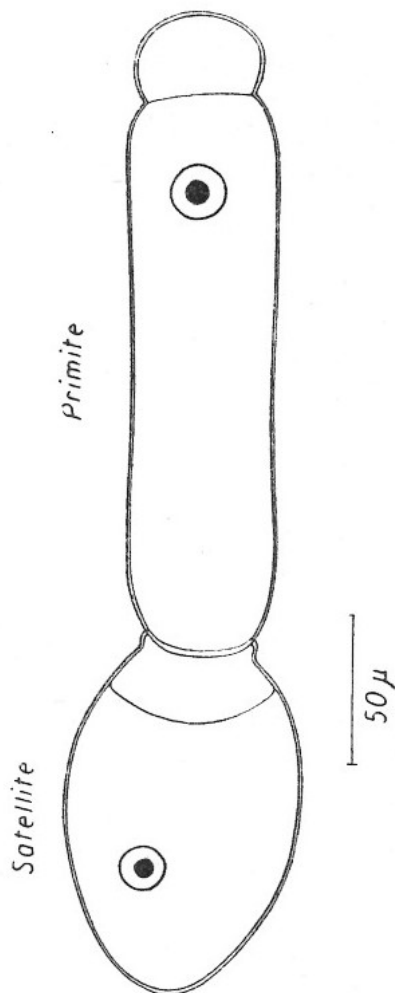


Fig. 2 - Biassociazione di media grandezza di *G. dimorpha* fissata in formolo pierico e disegnata alla camera lucida.

biassociazione e rimane inalterata *in vivo* anche se si distacca il satellite dal primite. Ma osservando la biassociazione della fig. 2 appare chiaramente come tutti i rapporti tra le quattro dimensioni fondamentali siano molto diversi nei due biassociati. E' questa seconda caratteristica che ora ci interessa. Deve essa considerarsi un attributo dell'intera popolazione?

Supponiamo che le varie dimensioni nel primite e nel satellite posseggano delle differenti costanti di accrescimento; ne risulterebbe che le proporzioni e quindi la forma dei due biassociati andrebbero sempre più divergendo col progredire dell'accrescimento. Se quindi i valori di  $b$  calcolati per le due popolazioni risultassero effettivamente diversi, noi non solo saremmo autorizzati a rispondere positivamente alla domanda sopra formulata, ma avremmo ad un tempo dimostrato attraverso quale mecca-

nismo questo dimorfismo si esplichì. Statisticamente il problema si risolve analizzando se la differenza tra i corrispondenti coefficienti di regressione delle due popolazioni, i primiti (A) ed i satelliti (B) sia o meno significativa. Ciò può venir deciso, servendoci del criterio  $t$ , utilizzando la stessa tavola del paragrafo precedente, noti i valori di  $t$  ed  $n$ , dove

$$t = \frac{b_A - b_B}{s_{A-B}}; \quad n = (N_A - 2) + (N_B - 2) \quad [5]$$

La seconda delle [5] rappresenta i gradi di libertà;  $s_{A-B}$  è lo scarto quadratico della differenza tra i coefficienti di regressione delle due popolazioni. La miglior stima di  $s_{A-B}$  secondo FISCHER<sup>(10)</sup> è data da

$$s_{A-B} = \sqrt{\frac{s^2}{\sum x_A^2} + \frac{s^2}{\sum x_B^2}} \quad (*) \quad [6],$$

dove

$$s^2 = \frac{\sum d_{y,x^2_A} + \sum d_{y,x^2_B}}{(N_A - 2) + (N_B - 2)} \quad [7];$$

i due termini al numeratore della [7] sono le somme dei quadrati degli scarti dalla regressione e sono stati calcolati secondo la formula dello SNEDECOR<sup>(11)</sup>

$$\sum d_{y,x^2} = \sum y^2 - (\sum xy)^2 / \sum x^2 \quad [8].$$

I valori dei termini che compaiono a numeratore e denominatore della prima delle [5] sono riportati rispettivamente nelle colonne (15) e (16). Tutti i valori di  $t$  calcolati secondo le [5] superano nettamente i valori di  $t$  per  $P = 0,01$ , con  $n = 250$ : e cioè in ognuno dei confronti stabiliti la probabilità che le differenze tra i corrispondenti valori di  $b$  per i primiti e i satelliti siano dovute alla scelta a caso dei campioni è sempre inferiore all'1%.

Volendo parafrasare il laconico eloquio dei numeri in termini descrittivi potremmo condensare i risultati di questa prima fase della nostra indagine statistica nelle seguenti affermazioni.

1) L'accrescimento delle varie dimensioni in *G. dimorpha* segue la formula generale proposta da HUXLEY per l'accrescimento relativo.

2) Le costanti di accrescimento in *G. dimorpha* si mantengono inalterate per l'intero stadio biassociato.

3) Primiti e satelliti posseggono delle costanti di accrescimento diverse per cui la morfologia dei due individui di una stessa coppia va sempre

(\*) In questa formula e nelle successive si indica con  $x$  e  $y$  rispettivamente le differenze  $\bar{X} - \bar{x}$  e  $\bar{Y} - \bar{y}$ .

più divergendo col progredire dell'accrescimento. Il dimorfismo tra primiti e satelliti è appunto il risultato di un diverso accrescimento relativo.

4) Sia nel primitive che nel satellite il protomerite si accresce meno rapidamente del deutomerite (accrescimento allometrico negativo). L'allometria è più accentuata nel primitive che nel satellite. L'accrescimento disarmonico interessa sia le lunghezze che le larghezze delle due porzioni della gregarina, e le prime in misura più intensa che le seconde.

5) Nel primitive l'accrescimento in lunghezza del deutomerite è più rapido del suo accrescimento in larghezza per cui il deutomerite va sempre più allungandosi in direzione assiale. Sebbene in grado minore, avviene altrettanto per il protomerite.

6) Nel satellite al contrario l'accrescimento in lunghezza del deutomerite è meno veloce del suo accrescimento in larghezza: cioè il deutomerite diviene sempre più tozzo col progredire dell'accrescimento. Per quanto riguarda il protomerite si può ritenere che la rapidità di accrescimento in lunghezza e in larghezza si equivalgano.

#### EQUAZIONI DI REGRESSIONE ED ESATTEZZA DELLA PREVISIONE.

Ci siamo finora occupati di un solo parametro della [3], il coefficiente di regressione  $b$ . Da quanto si è detto risulta che, nel nostro caso particolare esso altro non è che l'equivalente statistico della costante di accrescimento  $\alpha$  della [1] e della [2], di cui possiede lo stesso significato biologico. Ma anche l'equazione di regressione stessa rappresenta, nel nostro caso, l'equivalente statistico della [2] e quindi della [1]. Essa ci permette di prevedere il valore medio della variabile dipendente per ogni valore della variabile indipendente. Nella Tabella II colonna (3), (4), (5) e (9), (10), (11) sono riportati i valori calcolati per i parametri della [3] nei 10 confronti studiati. Sostituendo nella [3] ad  $Y$  e ad  $X$  le sei grandezze esaminate avremo rispettivamente per i primiti ed i satelliti le seguenti formule:

#### PRIMITI

$$(a) \log WP = 1,6154 + 0,8703 (\log LP - 1,4708)$$

$$(b) \log WD = 1,7092 + 0,6051 (\log LD - 2,1560)$$

$$(c) \log LP = 1,4708 + 0,3742 (\log LD - 2,1560)$$

$$(d) \log WP = 1,6154 + 0,6271 (\log WD - 1,7092)$$

$$(e) \log (LP.WP) = 3,1255 + 0,5087 [\log (LD.WD) - 3,8698]$$

[9]

SATELLITI

$$\begin{aligned}
 (a') \log WP &= 1,6490 + 1,1748 (\log LP - 1,2906) \\
 (b') \log WD &= 1,7884 + 1,3125 (\log LD - 1,9181) \\
 (c') \log LP &= 1,2906 + 0,7107 (\log LD - 1,9181) \quad [9] \\
 (d') \log WP &= 1,6490 + 0,9232 (\log WD - 1,7884) \\
 (e') \log (LP.WP) &= 2,1406 + 0,8494 [\log (LD.WD) - 3,7103]
 \end{aligned}$$

Il valore medio della variabile dipendente è una quantità statistica di cui possiamo determinare i limiti fiduciali, stabilendo così l'esattezza della previsione. Ci serviamo questa volta dell'integrale della probabilità. Accontentandoci del limite significativo corrispondente a  $P = 0,05$  e noto il valore dello scarto quadratico medio  $s_{\hat{Y}}$ , assumeremo come limiti fiduciali del valore predetto di  $\hat{Y}$

$$l_1 = \hat{Y} + 2 s_{\hat{Y}} \quad l_2 = \hat{Y} - 2 s_{\hat{Y}} \quad [10]$$

Per stabilire quindi i limiti fiduciali ricercati ci basterà conoscere il valore di  $s_{\hat{Y}}$ . Nel caso particolare in cui  $X$  corrisponda al valore medio  $\bar{x}$ ,  $\hat{Y}$  sarà eguale ad  $\bar{y}$  ed

$$s_{\bar{y}} = s_{y.x} / \sqrt{n} \quad [11],$$

dove  $s_{y.x}$  è lo scarto quadratico medio dalla regressione di  $y$  su  $x$  ed è dato da

$$s_{y.x} = \sqrt{\frac{\sum d_{y.x}^2}{N-2}} \quad [12];$$

ma per ogni altro valore di  $X$  il valore predetto di  $\hat{Y}$  è soggetto a due cause di errore indipendenti, relative alla media  $\bar{y}$  ed al coefficiente di regressione  $b$ ; la sua varianza è quindi eguale alla somma delle varianze di  $\bar{y}$  e di  $bx$ , per cui

$$s_{\hat{Y}} = s_{y.x} \sqrt{1/n + x^2/\sum x^2} \quad [13].$$

E' possibile definire anche i limiti fiduciali per un valore singolo  $Y$  corrispondente ad un dato  $X$ . La previsione in questo caso è piuttosto azzardata: alle due varianze ora considerate occorre aggiungerne una terza, la varianza di  $Y$ . Il suo scarto quadratico medio sarà dato dunque da

$$s_Y = s_{y.x} \sqrt{1 + 1/n + x^2/\sum x^2} \quad [14].$$

I valori di  $s_{y,x}$  e di  $\Sigma x^2$  occorrenti per il calcolo delle [10], [12] e [13] son riportati nella Tabella II colonne (7), (8) e (13), (14).

Vogliamo ora renderci conto in pratica della esattezza delle previsioni. Supponiamo di avere un gruppo di primiti di *G. dimorpha* in cui  $LD = 230 \mu$  e quindi  $\log LD = 2,362$ . Mediante le [9] noi possiamo prevedere sia il valore del  $\log LP$  (9 c) sia quello del  $\log WD$  (9 b); e per entrambi le grandezze, utilizzando la [13] e la [14] potremo determinare i limiti fiduciali sia per i valori medi che per i valori singoli.

Per il  $\log LP$  abbiamo  $x = 0,206$ ,  $s_{\hat{y}} = 0,0059$ ,  $s_y = 0,0525$ ; il valore medio di  $\log LP$  è eguale a  $1,5479 \pm 0,0118$ ; i valori singoli di  $\log LP$  sono dati da  $1,5479 \pm 0,1050$ . In altri termini se noi affermiamo che la media dei valori di  $\log LP$  è compresa tra 1,5361 e 1,5597 (e quindi  $LP$  compreso tra  $34,3 \mu$  e  $36,2 \mu$ ) oppure che i valori singoli di  $\log LP$  sono compresi tra 1,4429 e 1,6529 (e quindi  $LP$  compreso tra  $27,7 \mu$  e  $44,9 \mu$ ) noi abbiamo 95 probabilità su 100 di essere nel giusto.

Per il  $\log WD$  abbiamo,  $x = 0,206$ ,  $s_{\hat{y}} = 0,0066$ ,  $s_y = 0,0525$ : il valore medio di  $\log WD$  è eguale a  $1,8339 \pm 0,0132$ ; i valori singoli di  $\log WD$  sono dati da  $1,8339 \pm 0,1178$ . La media dei valori di  $\log WD$  è dunque compresa tra 1,8207 e 1,8471 ( $WD$  compreso tra  $66,1 \mu$  e  $70,3 \mu$ ) ed i valori singoli di  $\log WD$  sono compresi tra 1,7161 e 1,9517 ( $WD$  compreso tra  $52 \mu$  e  $89,4 \mu$ ).

La previsione è dunque ottima per quanto riguarda i valori medi; ma in questo caso deve ritenersi soddisfacente anche per i valori singoli. Infatti dicendo ad esempio che i valori di  $LD/LP$  variano nei primiti da 2 a 8, dato un primito con  $LD = 230 \mu$  i valori che avremmo potuto prevedere per  $LP$  sarebbero compresi tra  $28 \mu$  e  $115 \mu$ .

#### UTILIZZAZIONE DELLE REGRESSIONI NELLA TASSONOMIA DELLE POLICISTIDEE.

Abbiamo affermato nell'introduzione che negli animali ad accrescimento limitato le misure dell'individuo restano invariate per tutto lo stadio adulto, per cui anche ogni rapporto tra quelle misure sarà costante.

Poichè un carattere tassonomico dev'essere anzitutto un attributo della intera popolazione, noi possiamo assumere la media dei valori calcolati in una popolazione come caratteristica di questa. La giustificazione statistica risiede nel fatto che la media aritmetica soddisfa alla legge dei minimi quadrati e deve ritenersi come il valore più probabile. Con ciò non si intende sostenere che ogni carattere biometrico medio dell'adulto rappresenti un buon carattere tassonomico, la capacità discriminativa del carattere dipendendo inoltre dalla sua variabilità. E' vero però che in ogni caso le medie delle misure assolute e dei loro rapporti desunte da popolazioni

di adulti sono sempre comparabili tra loro, qualunque sia l'età dei singoli individui osservati.

E' proprio questa condizione essenziale che non si verifica nel caso di animali ad accrescimento illimitato, come le Policistidee. Mancando di uno stadio adulto noi ci troveremo sempre a dover comparare individui in accrescimento. I valori assoluti delle misure di ogni individuo variano con l'accrescimento. I valori dei rapporti tra misure si manterranno costanti solo nel caso particolare in cui le due misure messe a raffronto posseggano un accrescimento isometrico; in ogni altro caso i valori medi dei rapporti, come quelli delle misure desumibili da una popolazione scelta a caso dipenderanno dallo stadio più o meno avanzato di accrescimento raggiunto dai singoli individui componenti il campione esaminato.

Ma supponiamo di aver dimostrato la validità della formula di HUXLEY per l'accrescimento degli animali in questione. Invece di mettere a raffronto due grandezze di uno stesso individuo mediante il loro rapporto e di calcolare la media dei rapporti ottenuti per l'intera popolazione, calcoliamo, secondo i procedimenti seguiti in questo lavoro, le funzioni di regressione di una delle due grandezze sull'altra. In sostanza sia il rapporto che la regressione hanno lo stesso scopo, quello di permetterci la previsione dei valori di una delle grandezze, noti che siano i valori dell'altra. Se non ch'è nel caso dell'accrescimento allometrico, la regressione non incorre negli inconvenienti sopra segnalati per il rapporto medio. La funzione di regressione non dipende infatti dalla distribuzione di frequenza della variabile indipendente. E' interessante inoltre ricordare che la somma dei quadrati degli scarti dalla regressione è un minimo e cioè che la regressione, come la media, soddisfa alla legge dei minimi quadrati.

Da un punto di vista teorico possiamo quindi affermare che le equazioni di regressione da noi calcolate ci offrono lo strumento statistico più atto a rappresentare le relazioni tra due dimensioni durante l'accrescimento; e che conseguentemente, nel caso di accrescimento illimitato, il calcolo delle regressioni dev'essere considerato il metodo più adeguato di utilizzare i dati biometrici della popolazione come caratteri tassonomici.

Esaminiamo quali possibilità pratiche di impiego ci offra il calcolo delle regressioni per la Tassonomia delle Policistidee.

Sia segnalata la presenza di gregarine in esemplari di *Chlaenius vestitus* di altra provenienza. Se raccogliamo un campione dei parassiti sufficientemente grande e procediamo al calcolo delle 10 regressioni come si è fatto nel presente caso, le deduzioni che potremo trarre saranno inequivocabili. O le costanti di accrescimento e i valori medi delle regressioni rientrano nei limiti fiduciali qui stabiliti o no: nel primo caso i due

campioni apparterranno alla stessa popolazione; nel secondo caso essi rappresentano due differenti popolazioni.

Esiste però una particolarità biologica nelle Gregarine che ci permette di addivenire a delle conclusioni molto probabili con assai minore fatica. L'ingestione di una sola oocisti del parassita da parte dell'ospite assicura in esso la presenza di 8 gregarine; inoltre l'ingestione contemporanea di molte oocisti è il caso più frequente <sup>(12)</sup>. Sebbene solo una parte dei parassiti pervenuti nell'ospite raggiungeranno la maturità, dissezionando intestini di ospiti infetti non è difficile rinvenire gruppetti di parassiti coetanei, all'incirca della stessa grandezza. Sarà sufficiente in questo caso limitarci a misurare i pochi esemplari di eguale grandezza rinvenuti in un solo ospite, sostituire nelle [9] i logaritmi medi della variabile indipendente, controllare infine se la media dei logaritmi della variabile dipendente rientra nei limiti fiduciali sopra stabiliti.

Abbiamo visto nel paragrafo precedente come il metodo statistico ci permetta di valutare i limiti fiduciali anche per un valore singolo della variabile dipendente. La previsione è invero molto aleatoria e da un punto di vista statistico poco consigliabile. Eppure dovendo confrontare il materiale da noi osservato con altre specie di Gregarine precedentemente descritte per le quali, caso purtroppo frequente, tutte le notizie trasmesse si riducono alle misure di un unico trofozoite, o di 3 o 4 trofozoi di dimensioni diverse, il calcolo dei limiti fiduciali per i valori singoli della regressione è l'unico metodo che possa permetterci una qualche deduzione orientativa. Sostituendo nelle [9] i logaritmi dei valori micrometrici riferiti dagli AA. noi abbiamo infatti la possibilità di 10 confronti per ogni trofozoite.

#### DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.

Lo studio dell'accrescimento differenziale nei trofozoi di *G. dimorpha* ci pone di fronte a tre problemi che, sebbene di natura diversa, sono, nel nostro caso, strettamente connessi tra loro e cioè: 1) la validità della formula di HUXLEY per l'accrescimento relativo nei Protozoi; 2) l'esistenza di un dimorfismo sessuale nelle Gregarine; 3) il valore tassonomico dei dati biometrici dei trofozoi delle Policistidee. Esaminiamoli partitamente.

1) La formula di HUXLEY era già stata applicata con successo da BUSH <sup>(13)</sup> all'accrescimento differenziale di due Policistidee, *Actinocephalus amphoriformis* BUSH 1928 e *Gregarinoidea locustanae* FANTHAM 1925. Contro una serie ormai rilevante di lavori sull'accrescimento differenziale nei Metazoi era questo, per quanto mi consta, l'unico studio

sull'accrescimento relativo dei Protozoi. Con *G. dimorpha* le specie di Protozoi per cui si è dimostrata valida la formula di HUXLEY salgono a tre.

Lo studio dell'accrescimento relativo dei Metazoi aveva permesso di utilizzare la [1] in due tipi di accrescimento che, per intenderci, potremmo chiamare *quantitativo* (variazione dei rapporti in peso e in volume tra un organo ed il resto dell'organismo; oppure variazione dei rapporti tra peso dei vari componenti biochimici e peso secco dell'organismo) e *morfologico* (variazione delle proporzioni lineari). I Protozoi non rappresentano certo un materiale comodo per ricerche del primo tipo; tuttavia non esiste *a priori* alcuna ragione che limiti l'applicabilità della formula all'accrescimento quantitativo di un gruppo con esclusione di altri. Non altrettanto si può dire per l'accrescimento morfologico. Evidentemente la possibilità di determinare la legge delle variazioni di forma durante l'accrescimento presuppone nell'organismo oggetto di studio l'*esistenza di una forma propria*, per cui molti Protozoi ne verranno esclusi. Sarà possibile almeno nelle Policistidee determinare in ogni caso delle costanti di accrescimento con sufficiente grado di attendibilità? Indubbiamente le Policistidee posseggono una forma propria; ma come io stesso segnalai <sup>(14)</sup> a proposito di *Gregarina larvarum* FILIPPONI 1951 la stabilità di forma nelle Gregarine può essere diversa da specie a specie, dipendendo dalla consistenza dell'epicito e del sarcocito che non è sempre la stessa. E' quindi prevedibile che la variabilità nelle proporzioni per individui di eguale grandezza possa differire da una specie all'altra e che in alcuni casi possa raggiungere valori tali da rendere prive di significato le costanti calcolabili. Va però osservato a questo proposito che le misure da noi eseguite sono soggette a due fonti di variabilità, quella intrinseca agli individui della popolazione e quella che risulta dalla diversa reazione di ogni individuo al tipo di fissativo usato <sup>(15)</sup>. Esperimentando fissativi più adatti, o meglio ancora soluzioni isotoniche narcotizzanti è possibile diminuire l'influenza di questa seconda causa di variabilità, migliorando di molto i risultati. Ad ogni modo le limitazioni prospettate non infirmerebbero la generalizzazione della formula di HUXLEY. Possiamo allora concludere sulla base dei dati sperimentali finora accertati che quando un Protozoo possiede una forma propria, le variazioni di forma durante l'accrescimento sono soggette alle stesse leggi dimostrate valide per l'accrescimento dei Metazoi. E' questa un'ennesima riprova della unicità del piano di organizzazione del mondo animale.

Per quanto ci risulta dai Metazoi le costanti di accrescimento possono a volte cambiare repentinamente durante l'ontogenesi. Si è visto come in *G. dimorpha* sia nel primito che nel satellite le costanti di accrescimento restino invariate per tutta la durata dello stadio biassociato. Identica consta-

tazione è stata fatta da BUSH (16) per *Gregarinoides locustanae*. Ma cosa avviene delle costanti di accrescimento di una Policistidea nel passaggio da uno stadio all'altro del periodo trofico? Ed ancora, è sempre vero che almeno durante uno stesso stadio le costanti di accrescimento restino invariate? Un caso di cambiamento nelle costanti di accrescimento è stato segnalato da BUSH (17) in *Actinocephalus amphoriformis*. In questa specie lo stadio epiciticozoico può protrarsi per la maggior parte del periodo trofico; segue uno stadio enterozoico solitario probabilmente di breve durata; infine la biassociazione precede immediatamente l'incistamento. Il cambiamento nelle costanti di accrescimento, secondo BUSH, si verifica quando i trofozoiti hanno raggiunto i 671  $\mu$  di lunghezza totale. Purtroppo l'A. non precisa se oltre tale grandezza i trofozoiti siano già tutti enterozoici. In tal caso avremmo che almeno durante il primo stadio le costanti permangono invariate. Il fatto ci interessa anche da un punto di vista pratico, in quanto le possibilità di applicazione delle regressioni, prospettate nel paragrafo precedente, verrebbero aumentate se almeno durante uno degli stadii trofici le costanti di accrescimento restassero immutate.

Lo studio dell'accrescimento differenziale dei Protozoi è appena agli esordi e non è da meravigliarsi se i problemi che si affacciano siano più numerosi di quelli risolti. Ritengo peraltro che proprio le Policistidee ci offrano un campo particolarmente fertile per lo studio di questi problemi.

2) L'ipotesi dell'esistenza nelle Gregarine di un dimorfismo sessuale inteso nello stesso senso che attribuiamo al termine parlando di Metazoi fu prospettato per la prima volta da LÉGER e DUBOSCQ (18) a proposito di alcune specie di *Stenophora*. L'ipotesi fu a torto rigettata. Ecco come la WATSON (19) faceva il punto sull'interessante questione. « While sexual dimorphism is a factor to be looked for among gregarines, it has never been definitely proven for a single species. There may be a difference in sexes among the sporonts, but if so, this difference seems to be of chemical nature or of such slight morphological significance as to have been generally overlooked; and it should be evident among all or most of the members of same family rather than confined to a few species only ».

Successivamente un secondo caso di dimorfismo sessuale, per me evidentissimo, fu repertato da FOERSTER (20) in *Gregarina cis* FOERSTER 1938; ma l'A. stesso lo propose in forma dubitativa. Infine altri tre casi furono da me segnalati in *Gregarina dimorpha* (21), *Gigaductus macrospora* FILIPPONI 1848 (22) e *Gigaductus elongatus* (MORIGGI 1943) (23). Se gli argomenti da me addotti nei tre lavori ora citati non fossero stati convincenti, nessuno, spero, vorrà negare al presente studio statistico il valore di quella « riprova definitiva » che la WATSON esigeva. Primiti e satelliti di *G. dimorpha* sono morfologicamente diversi ed il loro dimorfismo è il risul-

tato di differenti costanti di accrescimento proprie dei due individui della coppia.

Il BUSH (24) non potè mettere in evidenza delle differenze significative tra primiti e satelliti di *Gregarinoides locustanae*. Ciò significa solo che nell'ambito della stessa famiglia noi possiamo trovare specie con accentuato dimorfismo sessuale, accanto a specie in cui tale dimorfismo non esiste affatto; esattamente al contrario di quanto la WATSON, non si capisce bene in base a quali presupposti, pretendeva. Del resto il dimorfismo sessuale nei Metazoi dimostra un comportamento perfettamente analogo.

3) Tre dati di fatto incontestabili e da cui non possiamo prescindere caratterizzano lo stato attuale della tassonomia delle Policistidee: 1) Gran parte delle specie descritte ci sono note soltanto attraverso i loro stadi trofici; 2) i tassonomisti, a corto di caratteri morfologici distintivi per i trofozoiti, sono stati indotti a introdurre nelle loro diagnosi le quattro dimensioni fondamentali ed i loro rapporti; 3) quando non ci si limiti alla misura di un unico individuo, le medie di solito riportate sono state dedotte da 3 o 4 esemplari.

Per quanto risulta da questo lavoro, i trofozoiti delle Policistidee hanno un accrescimento illimitato e le loro 4 dimensioni si accrescono in genere allometricamente. Di conseguenza i dati biometrici usati dagli AA. hanno un valore puramente illusorio.

Ho sostenuto altrove (25) la necessità di estendere lo studio morfologico a tutte le principali fasi del ciclo biologico ed in altro lavoro (26) ho suggerito la metodologia più efficace per riuscirvi. Il completamento del ciclo biologico ci permetterà senza dubbio di individuare dei buoni caratteri tassonomici; ma non risolve il problema della caratterizzazione dei trofozoiti, problema che ha la sua importanza anche per la necessità pratica di confronto con altre specie precedentemente descritte.

Orbene lo studio dell'accrescimento differenziale ci ha dimostrato che esiste una maniera adeguata di utilizzare i dati biometrici dei trofozoiti come caratteri tassonomici. Infatti non solo le *costanti di accrescimento* ma anche le *equazioni di regressione* possono essere utilizzate come efficaci criteri diagnostici, in tutti quei casi almeno in cui sia permessa una previsione sufficientemente esatta. Si può obiettare che il calcolo delle regressioni è troppo laborioso; mentre un carattere tassonomico deve possedere tra i suoi requisiti una certa « praticità di impiego ». L'obiezione è effettivamente grave. Peraltro qui non si contrappone un laborioso metodo statistico ad altri metodi egualmente efficaci e di più facile impiego. Si vuol solo segnalare un metodo che se pur laborioso, appare per il momento l'unico efficace, quando non sia possibile individuare nei trofozoiti qualche elemento morfologico veramente diagnostico. Del resto la « praticità » di

un carattere tassonomico è relativa; al contrario una cosa è assolutamente certa e cioè che il problema della caratterizzazione dei trofozoiti non si risolve ripudiando i caratteri veramente diagnostici solo perchè difficili, per sostituirli con altri senza dubbio facili ma niente affatto diagnostici.

Ecco, ad esempio, come DUFOUR descriveva *Gregarina hyalocephala*: « oblungo-conica; cephalothorace (= protomerite) hemispherico diaphano, abdominis (= deutomerite) quartam partem subadaequante ». Dopo quanto risulta qui dimostrato non è irriverente affermare che diagnosi come questa (e sono numerose) poco differiscono dalla semplice segnalazione della presenza di una gregarina nell'ospite esaminato.

Roma - Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Parassitologia.

#### B I B L I O G R A F I A

- (<sup>1</sup>) Rend. Acc. Naz. Lincei, [8], 2, VI, 864 (1947); Riv. Parass., 12, 99 (1951).
- (<sup>2</sup>) Problems of relative growth, Methuen, London (1932), pag. 6.
- (<sup>3</sup>) Nature, 114, 895 (1924).
- (<sup>4</sup>) Trav. Stat. Biol. Roscoff, 9, 29 (1931).
- (<sup>5</sup>) Ann. Natal Mus., 7, 195 (1933).
- (<sup>6</sup>) Rend. Acc. Naz. Lincei, [8], 2, VI, 856 (1947).
- (<sup>7</sup>) e (<sup>8</sup>) Statistical Methods, Iowa State College Press, 4<sup>a</sup> ed. (1948).
- (<sup>9</sup>) FILIPPONI A.: Rend. Acc. Naz. Lincei, [8], 2, VI, 856 (1947).
- (<sup>10</sup>) Statistical Methods for Research Workers, Edinburg, 7<sup>a</sup> ed. (1938).
- (<sup>11</sup>) Statistical Methods, Iowa State College Press, 4<sup>a</sup> ed. (1948) pag. 118.
- (<sup>12</sup>) FILIPPONI A.: Rend. Ist. Sup. Sanità, 14, 116 (1951).
- (<sup>13</sup>) Ann. Natal Mus., 7, 195 (1933).
- (<sup>14</sup>) e (<sup>15</sup>) Riv. Parass., 12, 101 (1951).
- (<sup>16</sup>) e (<sup>17</sup>) Ann. Natal Mus., 7, 207 (1933).
- (<sup>18</sup>) Arch. Zool. expér. [4], 1, 339 (1903).
- (<sup>19</sup>) Illinois Biol. Monogr., 2, III, 64 (1916).
- (<sup>20</sup>) Zeitsch. Parasitenkde, 10, 193 (1938).
- (<sup>21</sup>) Rend. Acc. Naz. Lincei, [8], 2, VI, 861 (1947).
- (<sup>22</sup>) Arch. Zool. It., 33, 298 (1948).
- (<sup>23</sup>) Rend. Ist. Sup. Sanità (in corso di stampa).
- (<sup>24</sup>) Ann. Natal Mus., 7, 206 (1933).
- (<sup>25</sup>) Riv. Parass., 10, 206 (1949).
- (<sup>26</sup>) Riv. Parass., 12, 158 (1951).