

PREFAZIONE

Il presente lavoro è la continuazione di una mia prima memoria apparsa nel 1914, nella quale furono studiati ed illustrati i fenomeni dello sviluppo embrionale delle razze annuali del Filugello nella prima fase di attività embriogenetica, cioè dalla deposizione dell'uovo fino alla formazione di una stria germinale completa. In questa 2.^a memoria si illustrano le strutture ed i fenomeni riguardanti il lungo periodo di arresto dell'attività embriogenetica che dicesi diapausa. L'opera sarà completata fra breve da una terza memoria che studierà la terza fase dello sviluppo embrionale del Bombyce del gelso, cioè dall'inizio dell'incubazione alla nascita.

Le ragioni per cui una così lunga interruzione ebbe luogo fra la prima memoria e questa seconda, consistettero anzitutto nella guerra mondiale, la quale, chiamandomi nelle prime linee delle truppe mobilitate ad assolvere il mio primo dovere di cittadino fin dal marzo 1915 e per la intera durata del conflitto mondiale, interruppe per quasi 5 anni ogni mia attività scientifica. Successivamente, vicende interminabili, delle quali il far qui anche un fugace accenno costituirebbe offesa alla dignità della Scienza, mi resero impossibile, per parecchi anni ancora, di ricostituire intorno a me l'ambiente e l'attrezzatura di studio che erano indispensabili per proseguire l'opera interrotta. Non appena tali condizioni furono riconquistate, il lavoro è stato da me ripreso.

R. GRANDORI

R. GRANDORI

Lo sviluppo embrionale del Baco da seta

Memoria II.

LA DIAPAUSA

(con 18 tavole)

CAPITOLO I.

Formazione degl'invogli embrionali.

Benchè nella precedente memoria [9]* siano stati dettagliatamente descritti i fenomeni riguardanti la formazione della sierosa e dell'amnio, tuttavia non posso esimermi dal ritornare brevemente sull'argomento perchè, dopo la pubblicazione del mio lavoro, alcune delle mie conclusioni vennero fatte oggetto di discussione.

Nessuna controversia esiste sul fatto, da me dimostrato, che quando lo scudetto germinativo si separa dal blastoderma e lentamente si approfonda nella massa del tuorlo, non vi è formazione di pieghe dalle quali si originino gl'invogli embrionali al lato ventrale dell'uovo. Questo mio reperto è stato ampiamente confermato dalla Foà [3] la quale così si esprime: « la mancanza di pieghe è già stata giustamente osservata dal Grandori, il quale ha dimostrato che aveva torto il Tichomirowff, e con lui gli altri autori che parteciparono al suo modo di vedere, nel voler generalizzare le osservazioni di Kowalewsky ed estendere lo schema classico di formazione delle membrane embrionali a tutti i Lepidotteri ». E' dunque dimostrato e confermato che v'è un momento dello sviluppo embrionale dell'uovo del Filugello, che corrisponde circa alla 18.^a ora dopo la deposizione, in cui una porzione del blastoderma, differenziatosi in scudetto germinativo, si distacca dal rimanente dell'involucro blastodermico, incomincia ad approfondarsi nella massa del vitello, e in un primo momento rimane privo di ogni rivestimento esterno. Nel termine di poche ore si produce poi un duplice rivestimento, costituito dalla sierosa e dall'amnio.

E' sul modo di formazione di questi due foglietti che verte qualche divergenza di opinioni.

* I numeri in parentesi quadra rimandano all'indice bibliografico.

Completamento della sierosa

Lo spessore dello strato blastodermico, al momento in cui lo scudetto è bene individualizzato, ma non ancora distaccato, è molto maggiore nella parte che costituisce lo scudetto (zona embrionale) che non nel rimanente del blastoderma (zona extraembrionale). Appena lo scudetto si separa dalla zona extraembrionale e comincia ad inflettersi verso l'interno i suoi bordi, tutta la zona extraembrionale diventa sempre più fortemente assottigliata, e va assumendo rapidamente il caratteristico aspetto di sierosa, pur restando interrotta su tutta la zona embrionale; al disopra dei bordi di questa, incurvati verso l'interno, per breve tratto si sovrappongono i bordi della sierosa appiattita, e una larga zona centrale dello scudetto resta ancora scoperta.

Questa la condizione di cose che si verifica fra le 18 e le 20 ore dopo la deposizione.

In qual modo si ricompleta la sierosa ventralmente all'area embrionale?

Nel citato mio lavoro concludo che tale completamento avviene per ulteriore appiattimento delle cellule della zona extraembrionale del blastoderma e per giustapposizione di nuovi elementi provenienti dal vitello. Questa mia conclusione fu revocata in dubbio, e ad essa fu contrapposta l'altra conclusione che « la sierosa si completa dal lato ventrale per mezzo di gruppi di cellule che si distaccano dall'estremità anteriore e da quella posteriore dello scudetto germinativo » [3].

Sta di fatto che le cellule globose, isolate o a piccoli gruppi, scivolanti nell'angusto spazio fra la membrana vitellina e lo scudetto germinativo in via di approfondamento, sono state vedute dal Tichomirow, dalla Foà e da me. Restava da chiarire quale fosse la provenienza e quale il destino di queste cellule. Sul loro destino non v'è discussione, e tutti ammettiamo che esse vadano a ricostituire la sierosa interrotta, giustapponendosi agli orli della larga apertura lasciata dal distaccarsi e approfondarsi dello scudetto, e successivamente appiattendosi, fino a chiusura completa dell'apertura. La divergenza di opinioni sorge sulla questione dell'origine di queste cellule globose migranti.

La loro origine dalle sfere vitelline parve e pare a me ben dimostrata dai rapporti di posizione che parecchie di quelle cel-

lule globose hanno con le sfere vitelline, ed alcune figure ne avevo dato nel mio lavoro [9]. Ho voluto tuttavia ricercare, per dire discussioni e dubbi, stadi ancor più dimostrativi. Nella fig. 1 (Tav. I) è riportato un tratto di sierosa in via di completamento presso il limite dell'area extraembrionale; mentre tutta la sierosa è costituita di cellule molto appiattite, si veggono qui due cellule globose che vanno incorporandosi con lo strato della sierosa ed appiattendosi. Una di esse specialmente mostra in atto la sua derivazione dalla sfera vitellina contigua, poichè non se ne è ancora del tutto distaccata, e il suo citoplasma denso è ancora in continuazione diretta con quello a struttura reticolare della sfera vitellina alla quale è ancora saldata. L'altra cellula è in stadio di appiattimento più avanzato. Lo stesso dicasi della cellula di fig. 24 (Tav. VI). Le figure 22 (Tav. VI) e 17 (Tav. IV) mostrano cellule che non hanno più rapporti con sfere vitelline, ma stanno evidentemente entrando a far parte della sierosa ed appiattendosi. Ma il documento, secondo me, più irrefutabile che dimostra l'origine di queste cellule globose migranti è dato dalla fig. 15 (Tav. IV), nella quale l'origine stessa è colta, per così dire, in flagrante; nell'interno di una sfera vitellina una cellula globosa è completamente costituita e differenziata, e altre due stanno differenziandosi, e benchè i loro contorni non siano ben definiti, tuttavia una certa quantità di citoplasma denso si è già aggregata intorno ai due nuclei (altri nuclei centrali della sfera medesima si trovano in sezione successive, al centro di una zona di plasma reticolare. Una cellula globosa nella stessa figura si vede addossata alla superficie interna dello scudetto. Non v'è ancora traccia di mesoderma né di invaginazioni ectodermiche (trattasi di uova di razza *Gran Sasso*, nella quale talvolta a 60 ore dalla deposizione si è appena completata la sierosa e tutti i fenomeni dell'origine dell'ammio e del mesoderma si compiono nella maggior parte delle uova con notevole ritardo rispetto alle altre razze nostrane e più ancora rispetto alle razze cinesi). Anche la fig. 3 (Tav. I) mostra una cellula in atto di uscire da una sfera vitellina periferica e in atto di addossarsi alla sierosa, la quale non è ancora completata.

Evidentemente non si possono dare che due interpretazioni di queste condizioni di fatto riportate nelle suddette figure: o le sfere vitelline producono, con la moltiplicazione dei loro nuclei, cellule figlie che migrando fuori del territorio cellulare delle sfere madri vanno ad inserirsi tra le cellule della sierosa, oppure è questa che

perde un certo numero di cellule e le invia alle sfere vitelline. In altri termini, le cellule sporcenti dalla serosa nelle figure, 1, 17, 22, 24, o stanno per entrare a far parte della serosa o stanno per uscirne. Se ammettiamo la seconda spiegazione, cadiamo nell'assurdo, perchè qui assistiamo al *completamento* di un organo, e non già alla sua *demolizione*: lo vediamo aumentare in estensione, e non già diminuire; vediamo *creocere*, e non già *diminuire*, di *numero*, le cellule che lo costituiscono; e sappiamo che nessuno ha mai osservato *neppure una divisione*, diretta o indiretta, dei nuclei della serosa. Donde verranno dunque le nuove cellule che completano questo invoglio e accrescono il numero dei suoi elementi? Se non vogliamo proclamare il miracolo, mi pare che sia fuori di discensione la prima spiegazione, che cioè le descritte cellule globose stanno veramente entrando a far parte della serosa. E ancora: le cellule periferiche delle sfere vitelline di fig. 3 e di fig. 15, o sono figlie della sfera vitellina e stanno per abbandonarla, o sono cellule provenienti dall'esterno e penetranti in essa. Accettando la seconda spiegazione, cadiamo ancora nell'assurdo; quale organo mai va producendo elementi cellulari per inviarli alle sfere vitelline a divenire endocellulari in queste ultime? Ma se ciò avvenisse, noi dovremmo ad un certo momento trovare una vera invasione di cellule globose entro le sfere. E questo non si verifica mai. E' invece alquanto difficile sorprendere una cellula globosa già individualizzata entro una sfera o in atto di uscirne, e ciò perchè, verosimilmente, il fenomeno è alquanto rapido e sporadico; e noi, uccidendo l'uovo con un fissativo, abbiamo poche probabilità di cogliere qualcuna di queste strutture in atto. Tuttavia, perlustrando diligentemente molte uova di età precoce con obbiettivi ad immersione, si riesce a cogliere qua e là qualcuno di questi stadi significativi. Ma appunto la loro sporadicità depone contro l'ipotesi di una immigrazione nelle sfere e in favore di quella contraria.

Quando io sostenni il concetto avanzato da Tschomirowff, che le sfere vitelline dovessero considerarsi come sede di una proliferazione cellulare che partecipa all'embriogenesi, mi fu obbietto che le cellule globose migranti, da me raffigurate, sono molto diverse dalle sfere vitelline. Ma non si comprende perchè una cellula figlia di una sfera vitellina debba essere perfettamente simile a questa. La sfera vitellina è una *cellula sui generis*, e dal momento in cui ha assunto la caratteristica sua struttura, la riproduzione cellulare cambia totalmente fisionomia. Prima di quel momento

non c'erano *sfere vitelline*, ma blastomeri a citoplasma denso, immersi in un tuorlo granulare privo di organizzazione morfologica in territori cellulari; e allora i blastomeri si dividevano per cario-cinesi, producendo blastomeri figli simili alla cellula madre. Ma dopo costituite le sfere, queste sono cellule a citoplasma alveolare, e ricchissime di tuorlo, e le cellule figlie non portano seco che pochi e piccoli granuli di tuorlo, hanno citoplasma denso, e una mole che è decine di volte più piccola. E' naturalissimo perciò che esse non somiglino alla sfera vitellina madre. La proliferazione cellulare delle sfere vitelline è una *proliferazione sui generis*, e non è una bipartizione come quella di un batterio o di un'ameba.

Tutti gli studiosi di embriologia dei Lepidotteri, ed in particolare del Filugello, sono d'accordo nel constatare l'attivissima proliferazione dei blastomeri immersi nel vitello durante la prima giornata dalla deposizione, e la migrazione di un certo numero di blastomeri alla superficie a costituire il blastoderma. Così pure è accettato e dimostrato che le cellule della serosa, anche dopo il suo completamento al lato ventrale, e per alcuni giorni dopo questo completamento, aumentano di numero, pur senza che mai si moltiplichino. Ora, dopo i documenti qui raffigurati, mi pare assurdo negare che l'aumento numerico avvenga per opera delle cellule migranti dalle sfere vitelline e figlie di queste. E mi sembra assai strano ammettere che le cellule vitelline siano sede di attiva proliferazione prima dell'approfondarsi dello scudetto e dopo completata la serosa, mentre tanta riluttanza si abbia per ammettere altrettanta attività nel breve periodo intermedio. Perchè mai dovremo affermare che le cellule vitelline per un primo tempo proliferano, poi perdono per alcune ore tale capacità, per poi riacquistarla poco dopo, quando invece si vedono le cellule globose migranti originarsi in seno ad esse ed uscirne?

E' il dogma, che ancora oggi s'impone nelle scienze sperimentali! Esso dice che le cellule vitelline si devono considerare come materiale abortivo, destinato a degenerare e ad essere assorbito a profitto dell'embrione. C'è della verità e c'è dell'errore in questa affermazione. E' vero cioè che il detoplasma nutritivo abundantissimo che è immagazzinato nelle sfere vitelline è destinato ad essere assorbito fino all'ultimo granulo dall'embrione; ma ciò è ben diverso dall'affermare che anche l'unità vivente cellulare, che funge per lunghissimo tempo da serbatoio di questa sostanza nutritiva, debba considerarsi — *sempre e dovunque* — come una

cellula abortiva degenerante. Bisogna dimostrare che essa è in degenerazione, e di ciò non si è mai data nessuna prova. Al contrario, sta di fatto che queste cellule (eccezzuate alcune poche adiacenti alla stria germinativa) mostrano attività di moltiplicazione nucleare e tutti i caratteri di piena vitalità cellulare fino ad inculazione avanzata; poi una parte di esse viene gradatamente assorbita dall'embrione, ma una parte residua (*sacco vitellino*) resta inibita al momento del avvolgimento al termine dell'incubazione. Soltanto allora queste cellule vitelline superstiti perdono la loro struttura, degenerano e muoiono, e vengono assorbite. Ed anche sul quesito se i granuli vitellini debbano ritenersi semplice sostanza nutritizia inerte e priva di vita, vi è oggi molto da discutere.

Di ciò si parlerà al capitolo IV.

Per concludere sulla reintegrazione della serosa dopo l'approfondamento dello scudetto, ritengo abbastanza dimostrato che il fenomeno avviene a) per assottigliamento della parte extraembrionale del blastoderma; b) per immigrazione di cellule globose, figlie di sfere vitelline superficiali, che nella serosa si inseriscono in vari punti di essa, ma specialmente nella zona prossima agli orli dell'interruzione determinata dall'approfondamento dello scudetto; c) per migrazione di cellule globose, figlie di sfere vitelline, scivolanti fra lo scudetto e la serosa, che si appiattiscono e si giustappongono agli orli del blastoderma extraembrionale.

Origine dell'amnio.

Le obiezioni mosse alle mie vedute sulla reintegrazione della serosa si estendono anche alla formazione dell'amnio, che io amisi formarsi per opera di cellule vitelline migranti. Secondo Poà [3] questo foglietto si originerebbe dalle cellule dei bordi dello scudetto che ripiegandosi verso l'esterno, assottigliandosi e distendendosi sulla superficie ventrale dello scudetto, finirebbero col rivestirlo totalmente.

Dubitando delle mie conclusioni, e convinto che per dirimere una consimile divergenza di opinioni non c'è altro mezzo che riprendere in esame il problema con serena obiettività e studiarlo più a fondo, ho ripreso in esame il discusso fenomeno su lunga serie di preparati di varie razze, e ne riporto qui qualche documento.

La figura 4 (Tav. I) mostra una porzione di sezione trasversale di un embrione di razza Chinese Bianco a 36 ore dalla deposizione.

La serosa è già ricostituita (nella figura non è riportata), mentre l'amnio è ancora molto incompleto; si osserva una cellula globosa migrante che, insinuata nello spazio fra serosa ed amnio, ad un certo punto si è arrestata saldandosi con le cellule appiattite dell'amnio. Il suo grosso nucleo, simile a quello delle sfere vitelline e delle cellule globose che in esse si producono, il suo citoplasma a struttura densamente granulare, sono indici della sua provenienza dalle sfere vitelline. Per converso, la sua forma globosa e la sua posizione intercalare fra le prime due cellule della sottile falda amniotica, con l'enorme sporgenza che essa fa tra le due cellule dell'amnio fortemente appiattite, rendono, a mio modesto avviso, del tutto inverosimile l'ipotesi che questa cellula provenga dal graduale ripiegamento e appiattimento delle cellule estreme dello scudetto. Tale fenomeno dovrebbe condurre alla condizione di una falda amniotica risultante di cellule tanto più spesse quanto più sono vicine all'embrione, e tanto più appiattite quanto più ne sono lontane. Non altrimenti che così si può pensare un *graduato* appiattimento. Si potrà allora, guardando la suddetta figura, pensare che la prima cellula dell'amnio sia una cellula dello scudetto ripiegata all'infuori; ma quando, dopo di questa, ne segue una al massimo grado globosa, bisognerebbe — per salvare la teoria — ammettere una seconda ipotesi di sostegno alla teoria stessa, e cioè che le cellule costituenti l'amnio si appiattiscono dapprima eppoi possono ridiventare globose, fino a sembrar quasi che esse si separino dall'amnio di cui erano entrate a far parte; e ciò appare indubbiamente meno verosimile della tesi da me sostenuta.

La figura 6 (Tav. I) rappresenta la stessa condizione di cose di fig. 4, ed è tratta da una sezione trasversa di embrione di Chinese Bianco a 48 ore dalla deposizione. Qui il fenomeno è ancora più chiaro, perchè la grossa cellula globosa s'inserisce al principio della ripiegatura amniotica, e fa enorme contrasto con la grande sottigliezza che l'amnio ha già raggiunto. L'amnio è qui completo, come mostra la figura 5 della stessa tavola (che è tolta dallo stesso preparato), ma sottilissimo; la presenza di una cellula così grossa e globosa al principio della falda amniotica così assottigliata, non parla certo a favore del graduale appiattimento delle cellule estreme dello scudetto, bensì a favore dell'inserirsi su di essa di nuove cellule globose di origine vitellina. E ciò dimostra che — allo stesso modo che nella serosa le cellule che la costituiscono

aumentano di numero, anche molto tempo dopo la sua ricostituzione, per opera di movi elementi che vi inseriscono — anche l'amnio, dopo il suo completamento, riceve nuove cellule migranti del vitello.

La figura 10 (Tav. III) mostra essa pure una falda amniotica in via di costruzione (razza Chinese Oro, 30 ore dalla deposizione), in cui, lungi dal ravvisarsi un graduale appiattimento, si vede nelle prime due cellule amniotiche un graduale aumento di globosità.

Le figure 22 e 23 (Tav. VI) rappresentano sezioni trasverse di scudetti germinativi di razza Gran Sasso a 60 ore dalla deposizione. La sierosa è completa da molte ore, ma l'amnio non esiste ancora; numerose cellule globose si vedono insinuate nello spazio fra scudetto e sierosa. Esse hanno grandi nuclei, taluno dei quali presenta anche la vacuolizzazione caratteristica dei nuclei delle sfere vitelline a questa età. Che alcune di queste cellule migranti si saldino alla sierosa, come si vede in fig. 22, lo abbiamo già detto; ma si vede altresì chiaramente come alcune di esse si saldino anche ai bordi dello scudetto, proprio là dove si inizia (con grande ritardo e lentezza in questa razza indigena) la costruzione dell'amnio. Altra cellula globosa di evidente origine vitellina è rappresentata a fig. 19 (Tav. V), e trovasi in prossimità del bordo posteriore dello scudetto in uovo di razza Gran Sasso di 60 ore. Essa porta seco numerosi granuli vitellini ed ha un citoplasma che conserva ancora struttura alveolare, benchè a maglie piccolissime. Ha un grosso nucleo, identico a quello delle sfere vitelline. Pensare che questa cellula si origini dallo scudetto e non dalle sfere a me sembra assurdo.

Infine, la fig. 62 (Tav. XVIII) tratta da uovo di razza Gran Sasso a 36 ore d'età, mostra l'amnio in via di completamento sull'infossamento ectodermico, e proprio nell'area scoperta una cellula evidentemente migrante sta saldandosi alle cellule appiattite dell'amnio. Che essa provenga dallo scudetto mi pare inammissibile.

Concludendo, a me sembra che *la tanto discussa origine delle cellule migranti dalle sfere vitelline periferiche è sufficientemente dimostrata, e che esse hanno parte preponderante nel completamento della sierosa e nella costruzione dell'amnio, pur senza negare che alcune cellule estreme dello scudetto possano in piccola parte contribuire alla formazione di quest'ultimo invoglio embrionale al bordo anteriore e posteriore dello scudetto* (fig. 21, Tav. VI).

CAPITOLO II.

Origine del mesoderma

Senza rifare la storia delle varie opinioni e discussioni su questo importante argomento, mi limito a ricordare i punti più salienti.

Tutti gli autori sono ben d'accordo nel descrivere la formazione di un *solco primitivo* nello scudetto, germinativo; dalle porzioni più approfondate di questo solco di originerebbero sulla superficie interna dello scudetto, lungo la linea mediana ventrale, i cumuli mesodermici (foglietto inferiore, o endomesoderma), metamericamente disposti — secondo la maggioranza degli autori — fin dall'inizio della loro formazione.

Fra i vari autori, Tichomirowff sostiene per primo, specialmente nell'edizione francese del suo lavoro [34], che non solamente alle cellule del solco primitivo dovesi l'origine dei cumuli mesodermici, ma che ad esse si aggiungono cellule migranti dalle sfere vitelline. Più tardi io confermai [9] le vedute di Tichomirowff sulla origine mista del mesoderma. Nuove osservazioni della Foà [3] posero in dubbio queste vedute, benchè l'Autrice stessa, in fondo, non si discosti molto dalle mie stesse conclusioni, poichè così si esprime: « il mesoderma sembrerebbe perciò, almeno in parte, derivato dalla migrazione di cellule vitelline... Alcuni preparati parlano in favore di un'ipotesi ed altri in favore di quella contraria... Se si guardano le sezioni rappresentate dalle fig. 13 e 22, si è inclinati a credere che le cellule migrate secondariamente costituiscono l'accento del mesoderma ».

Dubitando che le conclusioni di Tichomirowff e mie potessero essere errate ho voluto ricercare se si potessero raccogliere documenti più significativi dallo studio di nuovi e più numerosi preparati di embrioni di diverse razze.

Nella razza Gran Sasso, in cui i fenomeni dell'approfondamento dello scudetto e della formazione dell'invogli nella maggior parte delle uova si compiono lentamente, si verifica in molte uova la presenza di una stria germinale ancora costituita esclusi-

vamente di ectoderma a 60 ore dalla deposizione. E questa stria può anche, a tale età, non essere approfondata affatto nel vitello, bensì conservarsi in posizione del tutto superficiale, aderente alla sierosa e ancor priva di amnio (Tav. V, fig. 18), oppure con tracce iniziali di questo involglio embrionale (Tav. VI, fig. 21). Formazione di solco mediano dell'ectoderma non si avverte ancora in queste uova; eppure si può già osservare in talune di esse la presenza di qualche iniziale raggruppamento di cellule alla superficie interna dello scudetto, che è impossibile interpretare altrimenti che come iniziali cumuli mesodermici (Tav. VI, fig. 21). In una sezione vicina a questa di figura 21 si osserva un gruppo di cellule non ancora così ravvicinate fra loro (Tav. V, fig. 20), e che indubbiamente rappresentano anch'esse un inizio di mesoderma. Donde si originano queste cellule? La figura 20 parla, a mio avviso, molto chiaramente per la loro natura di cellule globose originatesi dal vitello; e altri preparati della stessa razza e della stessa età dimostrano in modo indiscutibile l'origine di queste cellule dalle sfere vitelline, perchè mostrano cellule globose ancora facenti parte del territorio di sfere vitelline addossate alla superficie interna dello scudetto (Tav. IV fig. 15), o che già ne sono in parte fuoriuscite e vanno adagiandosi sullo scudetto.

Orbene, poichè in queste uova un solco ectodermico non è neppure minimamente accennato, due ipotesi sono possibili: o il solco si è già prodotto senza condurre affatto a produzione di piastriine mesodermiche, e gl'infossamenti ectodermici, dopo essersi formati e chiusi, si sono nuovamente distesi riformando uno strato unico e regolare (ciò che sembra assurdo, e che in ogni modo non avrebbe condotto a produzione di mesoderma); oppure gl'infossamenti devono ancora prodursi, e da essi deriveranno i centri delle piastriine mesodermiche, e questo appare accettabile. Ma in tal caso le cellule già migrate *in situ* non potranno non venire a far parte delle piastriine mesodermiche.

Anche nella razza Chinese Bianco ho potuto cogliere condizioni consimili, come è rappresentato a fig. 2 (Tav. I), nella quale il gruppo di cellule globose, includenti granuli vitellini, già adunatosi alla superficie interna dello scudetto a 36 ore di età, non ammette — a parer mio — alcun'altra derivazione che dalle sfere vitelline prossime allo scudetto, e non può avere nessun altro significato che quello di iniziale cumulo mesodermico. Gl'infossamenti ectodermici cominciano qui appena ad accennarsi, e la leg-

gera curva dell'ectoderma verso l'interno, in corrispondenza al punto in cui sono adunate le cellule globose di detta figura, rappresenta appunto l'inizio di uno degli infossamenti. Come negare che, approfondandosi qui l'ectoderma e formando un bottone mesodermico sporgente verso il gruppo delle cellule migranti, queste resteranno addossate al bottone d'origine ectodermica? La fig. 5 (Tav. I) mostra una sezione trasversale della stessa età e della stessa razza; si vede l'infossamento ben pronunciato dal lato esterno, poco sporgente al lato interno; e si vede altresì come gl'infossamenti possano risultare da una piega assai stretta, in corrispondenza alla quale i nuclei ectodermici si spostano dalla superficie interna. Questo fatto dei nuclei spostati verso il margine interno si nota anche nella fig. 2 che è tratta da una sezione sagittale; quindi non v'ha dubbio che il lievissimo incurvamento ectodermico di questa figura corrisponda ad un iniziale infossamento destinato a dare origine ad un bottone mesodermico. Ed è proprio su questo punto che sono adunate le cellule migranti. Se dunque la fig. 5 dimostra che l'infossamento ectodermico sta per produrre un rilievo che costituirà una parte del mesoderma, la fig. 2 dimostra che su questo rilievo si dispongono cellule d'origine vitellina.

Altro cumulo mesodermico è iniziato anche in fig. 14 (Tav. IV) che è tratta da un uovo di razza Gran Sasso di 36 ore. In questo uovo si nota una precocità di formazione di mesoderma, che è rara in questa razza. Di infossamenti ectodermici non v'è traccia. Una cellula globose si discerne nettamente, individualizzatasi in seno alla sfera vitellina molto disgregata prossima all'embrione. Un piccolo cumulo mesodermico è già formato; in altri punti della superficie interna dello scudetto si trovano cellule globose migranti isolate, quasi addossate, ma non ancora aderenti all'ectoderma, e che non possono derivare da infossamenti ectodermici che che ancora non esistono, e da uno strato con cui non hanno alcun rapporto di continuità.

Finalmente la fig. 62 (Tav. XVIII) mostra una cellula molto accostata e quasi saldada alla superficie interna convessa dell'infossamento ectodermico ben pronunciato (razza Gran Sasso, 36 ore); evidentemente essa è una cellula globose di origine vitellina che è migrata sotto l'infossamento ectodermico e che rimarrà aderente ad esso. Come negare che essa è, come le altre consimili già descritte, figlia di sfere vitelline, e che alla costruzione del mesoderma queste cellule partecipano? Se non si vuole ammettere che

l'embrione produce cellule che ne fuoriescono, diventano globose o vanno a popolare il vitello, non c'è altra spiegazione plausibile. E l'ammettere che l'embrione invii cellule al vitello a me sembra assurdo.

Concludendo, e sciogliendo la riserva (1) fatta 15 anni or sono a pag. 85 del mio citato lavoro [9], ritengo abbastanza provato che il mesoderma in questa specie ha origine mista: una parte deriva certamente dagli infossamenti del solco longitudinale dello scudetto germinativo, e forma il nucleo delle piastri mesodermiche, e una parte deriva dalle cellule migranti dalle sfere vitelline prossime all'embrione. E lo ritengo dimostrato perchè queste cellule si vedono nella loro origine dentro le sfere, nel migrarne fuori, nell'accostarsi e saldarsi allo scudetto, prima, durante e dopo prodottisi gl'infossamenti ectodermici, proprio al disotto degl'infossamenti medesimi.

CAPITOLO III.

Le sfere vitelline

Alle pagine 68-72 del mio citato lavoro [9] avevo già dato una descrizione particolareggiata di quelle singolari individualità cellulari che vanno organizzandosi nella massa del tuorlo quando lo scudetto germinativo si approfonda, e conferiscono a questa massa vitellina una struttura tutta particolare, e cioè le sfere vitelline. Alla descrizione furono annesse numerose figure che rappresentano sfere vitelline completamente costituite.

In un successivo lavoro [12] descrivevo e raffiguravo in modo più nitido la sfera vitellina tipica di uovo sano in contrap-

(1) Terminavo la discussione sull'origine del mesoderma con le parole: « la dottrina della formazione mista delle piastri mesodermiche avanzata da Tichomiroff resta ancora a tutt'oggi ciò che di più prossimo al vero si possa accettare in proposito. Le mie successive ricerche faranno punto di partenza per metè a questo problema, che oggi devo lasciare qui per metè risolto e per metè ancora insoluto ».

posto a quella di uovo erodofaccido, e soggiungevo che pochissimo è il vitello che resta escluso dall'organizzazione delle sfere (1).

In altro lavoro infine [14] illustravo, con figure rappresentanti intiere sezioni sagittali e trasversali di uova nella prima giornata della segmentazione, gli aspetti e le modificazioni fondamentali che la massa vitellina assume in tale periodo (2). Risulta da queste illustrazioni che quando lo scudetto è appena individualizzato, ma non ancora approfondato (circa 16 ore dalla deposizione), il vitello conserva ancora — astruendo dal fatto della presenza di numerosi blastomeri in segmentazione — l'aspetto e la struttura che possedeva al momento della deposizione: vale a dire una massa di innumerevoli granuli vitellini di diversissima grossezza, nei cui spazi intergranulari si discernono, con l'aiuto di buoni obiettivi apocromatici ad immersione, sottilissime trabecole costituenti tutta una complicatissima rete di ooplasma. Tutta questa formazione, comprendente ooplasma, blastomeri, e una grande quantità di materiale vitellino granulare, può denominarsi e interpretarsi a giusta ragione come un vero *sincizio*.

Allorchè si approfonda lo scudetto (circa 20 ore dalla deposizione), la struttura della massa vitellina si modifica. Alla periferia dell'uovo, a ridosso della sierosa, vanno formandosi degli spazi chiari attorno ai blastomeri che trovansi *in situ*. Ciascun blastomero occupa il centro di questi spazi chiari, entro i quali a forte ingrandimento si discerne un sottile reticolo di plasma che non è altro che il citoplasma del blastomero, primitivamente denso, che si risolve in struttura reticolare; del primitivo citoplasma denso non rimane intorno al nucleo di ciascun blastomero che una piccolissima porzione. Questo stadio fu da me, con la massima precisione possibile, raffigurato a fig. 6, Tav. I del citato lavoro [14]. Successivamente il reticolo perinucleare di ciascun blastomero si completa fondendosi con le trabecole di ooplasma che esistevano nei sottilissimi spazi intergranulari, e un certo numero di granuli, disposti più o meno irregolarmente a strati sferoidali intorno allo spazio libero perinucleare, vengono inglobati in un reticolo che mette capo ad uno straterello sferoidale periferico. Si formano così le *sfere vitelline*, che non sempre sono

(1) L. c., pag. 30, Tav. II, figg. 26 e 28.

(2) L. c., pag. 8 - 9, Tav. I, figg. 1 - 6.

sferiche, ma di forma alquanto variabile e spesso irregolare, come io raffigurai nei citati lavori [9, 12, 14].

Questo fenomeno della *individualizzazione* delle sfere vitelline può essere alquanto rapido od anche piuttosto lento e ritardato. Di solito esso si inizia alla 20.^a ora, ed alla 30.^a è terminato; ma può ancora essere incompleto alla 60.^a ora, e queste discrepanze si possono verificare anche in una medesima razza e in uova figlie di una medesima farfalla (cfr. fig. 7, Tav. II, di razza Gran Sasso a 30 ore, con fig. 18, Tav. V, della stessa razza a 60 ore). In quest'ultima figura è evidente che, oltre al ritardo generale del fenomeno, vi è una spiccata differenza di comportamento fra il tuorlo periferico e la massa centrale: mentre nella prima le sfere vitelline sono già individualizzate, la massa centrale pare quasi che tenda a formare un unico grande sincizio a sé, in una unica grossissima sfera, che si distacca visibilmente dalla zona periferica. In realtà questa condizione di cose è transitoria, e nessun uovo dopo il 3.^o giorno dalla deposizione mostra una disposizione simile; e già in questa figura si nota che gli spazi chiari perinucleari cominciano a formarsi attorno ai blastomeri della zona centrale, specialmente intorno a quelli della periferia della zona. E ben presto si organizza in sfere tutta la massa centrale.

Un'organizzazione perfetta di tutti i granuli di vitello dell'uovo entro le sfere vitelline non si verifica mai; restano sempre qua e là aree riempite di granuli variamente raggruppati o sparsi, non inclusi in alcuna sfera.

La sfera vitellina tipica è avvolta da un sottilissimo strato di ectoplasma (Tav. II, fig. 9) e può considerarsi una vera unità cellulare; possiede al primo momento della sua formazione un solo nucleo, ma poi i nuclei si moltiplicano e possono essere numerosi (fino a 7 in una sola sfera). La divisione nucleare di questi elementi vitellini per gemmazione fu da me precedentemente descritta ed illustrata [9]. Aggiungo qui a figg. 31-32 (Tav. VIII) e a fig. 50 *a, b, c, d* (Tav. XIII) qualche nuovo documento che dimostra la divisione diretta di questi nuclei a 4 giorni dalla deposizione, a 50 giorni, e in piena ibernazione. Mai mi accadde di osservare una sola figura cariocinetica nei nuclei vitellini dopo la costituzione delle sfere.

Non sempre si ha una struttura tipica, nè una individualizzazione completa di ciascuna sfera. La fig. 7 (Tav. II) mostra sfere vitelline che non sono affatto delimitate; e se qui potrebbe

credersi che si tratti di incompiuta delimitazione per giovanile età dell'uovo (Gran Sasso, 30 ore), la fig. 33 (Tav. IX) è tratta da un uovo di 7 giorni della stessa razza, e pur mostra imperfettissima costituzione delle sfere. Per lo più restano incompletamente costituite le sfere adiacenti all'embrione, come ce lo dimostrano le figg. 8 (Tav. II), 14 e 16 (Tav. IV), 26 (Tav. VII), 37 e 40 (Tav. X), 41, 43, 44 (Tav. XI), e più o meno imperfette esse restano durante la diapausa inoltrata (Tav. XII - XVIII); ma talvolta vi sono sfere nettamente delimitate, anche a contatto dell'embrione, fin da età precoci (Tav. IV, fig. 15; Tav. VI, figg. 21 e 23).

Si osservano spesso strutture anormali, che più esattamente dovrebbero chiamarsi *atipiche*. La fig. 10 (Tav. III) mostra una sezione di uovo di razza Chinese Oro che possiede sfere vitelline costituite da un plasma reticolare-alveolare. A forte ingrandimento (Tav. III, fig. 11) si notano grossi alveoli nello spazio perinucleare e una struttura finemente reticolare nella zona periferica, cioè proprio l'opposto della struttura normale. Più strano è il fatto che in queste sfere non si riscontrano che rarissimi granuli vitellini. Devesi ritenere che la sostanza vitellina ha subito un processo di dissolvimento in minutissimi granuli che trovansi commisti al plasma cellulare, e che nella zona periferica di queste cellule si discernono a forte ingrandimento. Impossibile dire con sicurezza se questa anomalia, o *atipia*, pur limitata alle sole sfere vitelline, perché lo scudetto germinativo si presenta del tutto normale, sia indice di menomazione fisiologica dell'individuo; allo stato attuale delle nostre conoscenze però è autorizzato un qualche sospetto (1).

Siffatto dissolvimento del vitello in finissime granulazioni si riscontra talora in grado iniziale, con formazione di grossi alveoli nel citoplasma perinucleare (Tav. X, figg. 35 e 38). Talvolta i granuli vitellini inclusi nelle sfere a 4 giorni dalla deposizione possono essere pochi, piccoli e in unico strato periferico (Tav. VII, fig. 28).

Le sfere adiacenti alla serosa sono quasi sempre in parte saldate ad essa con le trabecole plasmatiche periferiche (Tav. I, fig. 3; Tav. VI, figg. 24 e 25). Le sfere adiacenti all'ammio sono

(1) Vedansi le anomalie da me segnalate nelle sfere vitelline di uova ereditarie flaccide [12] ed ivi raffigurate, e che hanno qualche analogia con queste.

pure in diretta continuità con le cellule di questo invoglio, specialmente a diapausa avanzata (Tav. XI, figg. 41 e 43). In tutti gli stadi poi si può agevolmente constatare, a forte ingrandimento e con obiettivo ad immersione, che esiste diretta continuità fra il reticolo plasmatico delle sfere semiaggregate adiacenti all'embrione e le cellule dell'ectoderma e del mesoderma (Tav. II, fig. 8; Tav. IV, figg. 14 e 16; Tav. V, fig. 20; Tav. VI, fig. 23; Tav. X, figg. 35, 37, 40; Tav. XI, fig. 44; Tav. XVII, fig. 49). Cosicché, riunendo assieme le osservazioni fatte su centinaia di preparati di ogni stadio, dalla deposizione fino a diapausa compiuta, credo di poter affermare che tutto l'ammasso delle sfere vitelline costituisce un *unico vasto sincizio*; una individualità cellulare esiste bensì, ma anche quando la delimitazione dei territori cellulari delle sfere è nettamente segnata da un esile straterello di ectoplasma, l'individualità cellulare è imperfetta per la presenza di innumerevoli ponti citoplasmatici intercellulari. L'individualità può essere imperfettissima nelle sfere adiacenti all'embrione, e può essere talora quasi o del tutto annullata (Tav. IV, figg. 14 e 16). Il sincizio si estende anche alle cellule dell'embrione e degli invogli.

Già nel 1912 il Rizzi [27] aveva osservato ed illustrato in numerose figure la disposizione per lo più periferica delle sfere vitelline nell'uovo, e la presenza, nell'area centrale, di un *liquido coagulato* (secondo la sua espressione). In alcune sue figure schematiche di sezioni trasversali di uova di parecchi giorni di età, quest'area di liquido trovasi in posizione eccentrica.

La Tonon [22] studiando migliaia di uova in diapausa, ha confermato che non sempre tutto il vitello appare costituito in sfere, «ma quasi sempre è costituito in parte da sfere vitelline, in parte da una sostanza non organizzata, che a forte ingrandimento si mostra finemente granulare, e che corrisponde alla sostanza fluida, semifluida o gelatinosa delle uova esaminate in toto».

Tuttociò è perfettamente esatto per le uova in diapausa, ed io ho voluto qui riportare parecchie figure che confermano ed illustrano la condizione di cose segnalata da questa diligente osservatrice e dal Dott. Rizzi (Tav. IX, fig. 33; Tav. XII, fig. 48; Tav. XIII, fig. 49; Tav. XIV, fig. 51; Tav. XV, figg. 53-54; Tav. XVI, fig. 55; Tav. XVII, fig. 58; Tav. XVIII, fig. 61). Resta soltanto da soggiungere che la differenza non consiste soltanto in

sfere organizzate (o più o meno disgregate) e sostanza finemente granulare, ma anche in granuli isolati più o meno numerosi che restano qua e là sparsi e non inclusi nelle sfere, anche quando vi è una perfetta organizzazione di queste. E resta altresì da soggiungere che la sostanza finemente granulare, studiata con obiettivi apocromatici ad immersione, mostra una struttura *reticolo-granulare*, non dissimile dal reticolo plasmatico delle sfere vitelline. Nelle sezioni sottili (4 micron) si discernono nettamente le trabecole di una fitta rete, e commisti ad esse una gran quantità di granulazioni minutissime, più o meno conglobate con le trabecole stesse (Tav. XVIII, fig. 63). Dopocì, sono inclinato a ritenere che la sostanza in questione non sia costituita da tuorlo disgregato, o lo sia soltanto in parte, mentre essenzialmente essa sia costituita da ooplasma. Il che appare del resto ben in accordo con quanto risulta dallo studio della struttura dell'uovo appena deposto, nel quale l'ooplasma reticolare è esteso a tutta la massa dell'uovo medesimo, come s'è detto più sopra. Avvalorata questa interpretazione il modo di comportarsi della sostanza suddetta di fronte ai coloranti: usando alcune doppie colorazioni (Ematossina Carazzi, Delafield, Emallume, eppoi Eosina, Orange G, Rosso Congo) il colore basico si diffonde sempre più o meno intensamente anche sul plasma cellulare dell'embrione, dell'invogli, delle cellule vitelline, ed anche sui granuli vitellini e sulle trabecole della sostanza reticolo-granulare estranea alle sfere. Successivamente, applicando la colorazione acida, il vitello dei granuli si tinge con questa, cancellandosi così, in tutto o in parte, la colorazione basica che precedentemente essi avevano assunto, mentre la sostanza reticolo-granulare non assume mai completamente il colore acido, bensì conserva, almeno in parte, quello basico, a perfetta somiglianza con il comportamento del citoplasma di tutti gli altri elementi cellulari dell'uovo. Insomma, tuttociò che è citoplasma assume una colorazione basica diffusa e lieve, e la conserva in tutto o in parte, mentre ciò che è deutoplasma assume subito la colorazione acida, con intenso e bellissimo contrasto, specialmente con l'Orange G. Questa identità di comportamento mi sembra essere una buona prova di identità di natura. Fa eccezione però il metodo di Heidenhain, col quale si tingono in nero anche i granuli di vitello, e con la decolorazione e successiva aggiunta del colore acido non si ottiene che una parziale cancella-

zione del colore basico nei granuli; nella sostanza reticolo-granulare il colore basico permane con intensità assai maggiore che sui granuli vitellini, e la sua struttura è messa in evidenza in modo perfetto.

Quanto alla distribuzione delle sfere, per lo più nella zona periferica dell'uovo, e dell'area di sostanza finemente granulare nella zona centrale o subcentrale, non ho che da confermare le osservazioni di Rizzi e Tonon, e le citate figure ne danno ampia illustrazione; la figura 30 (Tav. VIII) illustra uno dei casi a cui accenna la Tonon, nei quali la sostanza finemente granulare è commista alle sfere vitelline bene organizzate, e cioè distribuita anche negli spazi fra sfera e sfera, senza che vi sia un'area delimitata di sostanza reticolo-granulare.

Già nel 1920 avevo raffigurato [14] granuli vitellini che a forte ingrandimento e con obbiettivi ad immersione non appaiono compatti, bensì si discernono costituiti da un ammasso di minutissime granulazioni (*l. cit.*, Tav. II, fig. 34-35), le quali appaiono alquanto diverse dalla struttura della sostanza reticolo-granulare dell'area centrale. Si tratta qui veramente di struttura finissimamente granulare, che la Tonon [23] ha recentemente confermato, e che si può mettere in evidenza col metodo dell'Ematossilina ferrica di Heidenhain, arrestando al giusto momento la decolorazione. Non è facile ottenere un egual grado di decolorazione in tutti i granuli; di solito anzi ve ne sono molti che restano nerissimi quando altri sono già decolorati. In quelli semidecolorati la struttura microgranulare è bene evidente, particolarmente negli stadi della prima giornata dalla deposizione, più difficilmente differenziabile negli stadi della diapausa.

Vi sono poi in tutti gli stadi, dalla deposizione fino al termine della diapausa, inclusi nelle sfere vitelline più o meno bene organizzate, e più ancora in quelle semidisgregate delle zone adiacenti all'embrione, numerosi granuli vitellini alterati nella forma che assumono alcuni colori basici (p. es. Ematossilina Carazzi) più intensamente di quelli di forma regolare. In molti casi al colore basico si sovrappone con intensità variabile anche il colore acido, risultandone una tinta mista; ma comunque, questi granuli deformati spiccano su tutti gli altri per una molto più intensa colorazione durante i primi due mesi circa di età dell'uovo. La differenziazione riesce bene specialmente col metodo dell'Ematossilina

Carazzi diluitissima (1), nella quale si lascia il preparato per 12 ore. Di questi granuli diversi da quelli normali si parla nel seguente capitolo.

CAPITOLO IV.

I microrganismi simbiotici

I granuli deformati sopradescritti mostrano, quasi sempre in posizione eccentrica, un vacuolo, e in questo vacuolo sta un microrganismo simbiotico (Tav. I, figg. 1, 2, 3.; Tav. II, fig. 8; Tav. IV, fig. 14 e 16; Tav. VI, fig. 25; Tav. VII, figg. 27 e 29; Tav. X, figg. 35, 37, 40; Tav. XI, figg. 41, 43, 44; Tav. XVIII, figg. 62-63) del quale è facilissimo riscontrare, nell'interno del granulo stesso, forme in riproduzione (Tav. VII, fig. 29 a, c; Tav. X, fig. 36 e 39). Molti di questi granuli si ritrovano, penetrati tali e quali nelle cellule embrionali e allogati in vacuoli (Tav. I, figg. 2 e 4; Tav. III, fig. 12; Tav. IV, fig. 14; Tav. IX, fig. 34).

Tali microrganismi simbiotici da me scoperti fin dal 1919, furono da me fatti oggetto di lavori speciali, ai quali rimando il lettore [13, 14, 15, 17]. Ma poiché detti lavori si riferiscono essenzialmente al comportamento dei microrganismi fino all'inizio della diapausa, mi resta qui da illustrare brevemente come essi si comportino durante il lungo periodo di riposo dell'embrione.

Nei citati lavori fu già descritto il progressivo affievolimento di attività riproduttiva dei microrganismi simbiotici nelle uova di razze annue allorché queste entrano in diapausa, cioè dal 4.^o al 7.^o giorno dalla deposizione. Fu messo in rilievo che tale attenuazione di attività del microrganismo perfettamente concomitante con l'entrata in riposo dell'attività embriogenetica, lascia fondatamente supporre che esista un nesso fra i due ordini di fenomeni, nel senso che il simbiote eserciti una stimolazione sull'embrione. Base di questa ipotesi è il fatto che nelle uova bivoltine a nascita immediata (cioè non svernanti), invece di verificarsi un graduale affievolimento di attività del simbiote, si verifica una esalta-

(1) Acqua distillata cm.³ 100, Ematossilina Carazzi normale 10 gocce.

zione di essa nel momento in cui l'embrione supera lo stadio corrispondente all'entrata in diapausa delle razze annue (48-60 ore).

Ho voluto qui illustrare, di pari passo con gli aspetti dell'embrione di diverse razze annue che sta per entrare in diapausa, e durante la diapausa, anche gli aspetti dei microrganismi e la loro distribuzione.

Le figg. 1-4 (Tav. I) mostrano l'aspetto e la distribuzione dei granuli vitellini contenenti le forme primitive del simbionte (*biogranuli*) nelle sfere vitelline periferiche di razza Chinesa Bianca a 36 ore dalla deposizione, e nelle cellule dello scudetto germinativo, allogati in vacuoli cellulari. La fig. 8 (Tav. II) mostra la loro presenza anche nel vitello non organizzato in sfere fra amnio e serosa di razza Gran Sasso a 30 ore dalla deposizione; e la fig. 9 alla stessa tavola riproduce una sfera vitellina prossima all'embrione di razza Chinesa Oro di 36 ore di età, nella quale sono contenuti due piccoli gruppi di simbionti caudati. Le figg. 12-14 (Tav. III) mostrano biogranuli e forme caudate penetrate nelle cellule ectodermiche di razza Gran Sasso a 36 ore, e per la stessa razza ed età dell'uovo le figure 14 e 16 (Tav. IV) illustrano quale ricchezza di biogranuli sia distribuita nel blastema subembrionale (vitello non organizzato in sfere). La fig. 25 (Tav. VI) mostra gli stessi particolari in una sfera periferica adiacente alla serosa in uovo di razza Chinesa Oro di 48 ore, e vi si discernono forme di simbionti in divisione e in atto di abbandonare il granulo deformato. Per la stessa razza ed età, la fig. 26 (Tav. VII) rappresenta l'estremo posteriore della stria germinale e della zona vitellina interna adiacente, in sezione un po' lontana dal piano sagittale (che non colpisce il mesoderma), e mostra l'enorme numero di forme caudate che vi sono disseminate. La stessa ricchezza di simbionti si verifica in tutto il blastema subembrionale per tutta la lunghezza della stria germinale, e l'addensamento dei microrganismi è maggiore nelle incisure fra un segmento mesodermico e l'altro. A 72 ore nella razza Chinesa Oro si trovano ancora qua e là simbionti endocellulari nel mesoderma e nell'ectoderma (Tav. IX, fig. 34), ed al 7.^o giorno le sfere semiaggregate adiacenti all'embrione mostrano ancora numerosi biogranuli (Tav. X, fig. 40). Così nella razza Gran Sasso a 4 giorni (Tav. X, figg. 35 e 37).

Inoltrandosi l'uovo verso la diapausa completa, la e florabilità del microrganismo diminuisce (Tav. X, fig. 39). In diapausa avanzata (Gran Sasso, 50 giorni, Tav. XI, fig. 41) la difficoltà di una

buona colorazione dei microrganismi è grandissima coi metodi ordinari, e soltanto con prolungatissimo soggiorno (24 ore) in Ematossilina Carazzi diluita ho potuto ottenere una buona differenziazione (Tav. X, fig. 44).

Il fatto sostanziale è questo: che dopo i primi 10 giorni dalla deposizione non si riscontrano più né biogranuli né forme caudate nelle cellule embrionali; fino a circa 2 mesi si riesce a discernere più o meno distintamente i microrganismi nei granuli deformati entro un alone. Più tardi i granuli deformati non assumono più quella tinta più secura che negli stadi anteriori li faceva differenziare facilmente da tutti gli altri granuli vitellini, cosicché si discernono a mala pena, e l'alone e il microrganismo sono altrettanto difficilmente differenziabili. Durante l'ibernazione è quasi impossibile discernere i biogranuli dai granuli normali; solamente con occhio lungamente esercitato si riconoscono i primi per le loro deformazioni, ma non v'è più alcuna differenza di colorabilità, né si discerne l'alone e il suo contenuto. Così fino al termine dell'ibernazione. Ma non appena le uova hanno soggiornato uno o due giorni a temperatura preparatoria dopo tolte dal frigorifero, i biogranuli tornano a differenziarsi nettamente e riappajano le forme caudate. Il ritorno dell'attività del microrganismo è specialmente intenso nelle razze bivoltine dopo la svernatura. Ne sarà data l'illustrazione in un successivo lavoro.

Quando videro la luce i miei primi lavori sui simbionti dell'uovo del Filugello, qualche critico non mancò di muovere obiezioni, mai però in sede di lavoro scientifico.

La prima obiezione è questa: sembra strano che nel vitello — ritenuto comunemente sostanza non viva, scaplice deutoplasma, sostanza nutritiva di riserva — possano trovarsi microrganismi veri e propri, cioè individualità viventi indipendenti che nulla hanno a che fare con alcuno degli elementi cellulari finora noti nell'uovo e nell'embrione. Questa obiezione si poteva forse fare venti anni fa. Ma oggi, dopo tutta la vasta messe di scoperte importantissime fatte sulle simbiosi intravulari — e basti citare, fra tutte le bellissime ricerche del Pierantoni [24, 25]; sui simbionti dell'uovo dell'*Icerya purchasi* — la suddetta affermazione è troppo in arretrato rispetto al progresso attuale delle nostre conoscenze sull'argomento per essere presa in seria considerazione.

La seconda obiezione era che io avessi scambiato per un nuovo microrganismo alcuni stadi del *Nosema bombycis*. Il fatto

che il mio primo lavoro sui simbioti del Filugello [13] usciva dalla R.^a Stazione Baccologica di Padova fondata e diretta a quell'epoca da Enrico Verson, e che tale lavoro era stato presentato al Reale Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti di Venezia dal Verson medesimo, avrebbe dovuto far nascere nei critici almeno il dubbio che, se non a me, almeno al Maestro (che vedeva i preparati e vagliava ogni manoscritto, parola per parola, prima di presentarlo) l'eventualità di un simile enorme abbaglio sarebbe passata per la mente, e doveva quindi rassicurarli che tale eventualità di errore era stata vagliata e assolutamente esclusa. Per di più, l'obbiezione dimostra che i miei lavori non erano stati letti, ma soltanto sfogliati, perchè nel più importante di essi [14] è detto (pag. 32) che il simbiote fu da me accertato in *tutte* le uova di 10 diverse razze provenienti dalle più svariate regioni d'Italia e di Francia, e alcune anche dalla Russia. E a pag. 38 si legge che « esso è assolutamente costante in *tutte* le uova del Bombyce del gelso ». Per prendere abbaglio con stadi del *Nosema bombycis* bisognava allora supporre — anche dato, e non concesso, che delle uova destinate allo studio non fosse stata accertata la assoluta sanità mediante la selezione microscopica, ciò che sempre io feci per tutto il materiale destinato a studi embriologici — che tutte le uova provenienti da così diversi paesi fossero infette al 100%! E ancora: basta guardare soltanto le figg. 7-3 della Tav. I del citato lavoro [14] per concludere che se in una minima porzione di una sola sezione del blastema periferico dell'uovo nella prima giornata dalla deposizione si trova un così gran numero di microrganismi, in un intero uovo se ne deve trovare qualche milione. E' mai ammissibile un'infezione di *Nosema* di tale intensità nel 100% delle uova? E' stato anche detto che alcuni stadi del simbiote rassomigliano molto da vicino a certi stadi del *Nosema*. Guardando i miei preparati e le mie figure confesso che non arrivo a comprendere quali forme del simbiote possano ritenersi somiglianti ad un qualsiasi stadio del *Nosema*. Alle spore mature con le due capsule polari, che nettissimamente a primo colpo d'occhio si riconoscono in una sezione di uovo infetto colorato col metodo di Heidenhain nelle prime giornate dopo la deposizione, nessuno potrà pensare di paragonare nè le forme primitive endogranulari del simbiote, nè le forme che io chiamo *caudate*. Alle pseudospore binucleate non si possono neppur lontanamente paragonare nè le forme caudate nè le forme endogranulari. Basta

un sommario confronto fra le mie figure 93 e 94 della Tav. III del citato lavoro con quelle bellissime a colori date recentemente dal Dott. Schreiber della R.^a Stazione Baccologica di Padova [28] per persuadersi di essere in presenza di due entità ben differenti.

Stempell, nel suo classico lavoro sul parassita della pebrina [31], scrive che nell'uovo « essi si accumulano non alla periferia, ma nel centro dell'uovo, là dove meno disturbano il primo sviluppo dell'embrione ». Come si può conciliare tutto questo con la distribuzione delle forme primitive endogranulari dei simbioti *esclusivamente nel blastema periferico* nella prima giornata dalla deposizione? Più tardi le forme endogranulari si trovano quasi sempre distribuite nelle sfere vitelline periferiche, qualche volta anche nelle sfere centrali o subcentrali, ma *non mai esclusivamente accumulati al centro e mancanti alla periferia*.

Infine, con una buona colorazione di sezioni di uova corpuscolose nella seconda giornata dalla deposizione, col metodo di Heidenhain o con Ematossilina Carazzi o con Ematossilina al cloralo, chiunque può constatare la presenza di numerosissime spore mature, agglomerate in veri ammassi talvolta, nelle sfere vitelline centrali, e nelle medesime sezioni può confrontare queste forme con i simbioti. Costaterà che si tratta di due entità ben differenti, e passando ad esaminare sezioni di uova sicuramente indenni da pebrina trattate con identici metodi e della stessa età, troverà costantemente che mancano i parassiti e immaneabilmente sono presenti i simbioti. Concludere che è ancor da dubitare che simbiote e *Nosema* possano identificarsi, anche quando esaminando uova di madri assolutamente sane il *Nosema* non c'è e i simbioti ci sono, mi pare significhi — non dico rasentare — ma oltrepassare l'assurdo!

Nell'uovo di *Pieris brassicae* ho segnalato [15] e recentemente raffigurato [17] un simbiote di forma caudata, che esiste libero tra le sfere vitelline e endocellulari nelle medesime, entro le quali si riproduce. Tale simbiote è identico alle forme caudate del simbiote bombicino. Or bene, da questo dilemma non si esce: o la presunta grande somiglianza di forme del *Nosema bombycis* col simbiote del Filugello si riferisce alle forme caudate, oppure non si riferisce ad esse. Se non si riferisce ad esse, è evidente che *almeno le forme caudate* sono una entità nuova nell'uovo del filugello, da me scoperta, e si potrà discutere soltanto sull'interpretazione; oppure si riferisce proprio ad esse, ed allora bisogna-

rebbe forzatamente concludere che io sono giunto a scoprire un *Nosema pieridis*, ciò che io mi guardo bene dall'affermare. Anche queste argomentazioni riferentisi ai raffronti con la *Pieris*, conducono evidentemente o alla conferma delle mie vedute o all'assurdo.

E quanto ad interpretazione, come denominare il microrganismo immancabilmente presente nelle uova del Filugello, se non come *simbionte*? Fu fatta appunto anche questa obiezione: che un tal nome non fosse giusto, perchè all'idea di simbiosi si deve associare l'idea del mutuo vantaggio dei due organismi associati. Non è affatto vero; vi sono simbiosi mutualistiche e simbiosi non mutualistiche. E chi oserebbe dire, del resto, che nel caso speciale il mutuo vantaggio non vi sia? Per il microrganismo il vantaggio è fuori di discussione, perchè dall'ospite esso riceve nutrimento, sede e protezione dall'ambiente esterno. Mi pare abbastanza. Per quanto riguarda l'ospite, se pur non vi sono prove assolute, *more geometrico*, del vantaggio datogli dalla presenza del microrganismo, vi sono però i seguenti buonissimi indizi:

a) I granuli di vitello abitati dal simbionte vengono modificati, e questo è un fatto che si vede. Le mie figure del presente e dei precedenti lavori ne danno documentazione evidente. Questa azione modificatrice della sostanza vitellina è indubbiamente di natura chimica: assorbire vitello così modificato non può essere dannoso all'embrione, perchè questa modificazione esiste per tutte le uova, anche per quelle che danno raccolti perfettissimi. Che sia indifferente è difficile pensare, perchè le razze più robuste son quelle in cui questa modificazione è più intensa. Si potrebbe pensare che fosse indifferente soltanto quando si constatasse che vi sono razze o partite o uova di Filugello che danno esito ottimo senza possedere simbionti, il che non è. E' dunque probabile che l'azione sia utile.

b) La distribuzione delle forme endogranulari del simbionte esclusivamente nel blastema periferico nella prima giornata della segmentazione è un indizio di una funzione del simbionte collegata a quella respiratoria.

c) Lo spostarsi di tutti i biogranuli del blastema periferico sotto lo scudetto, allorchè esso si individualizza e si approfonda nel tuorlo al termine della prima giornata dalla deposizione, come è descritto ed illustrato in uno dei citati miei lavori [13], indica

che uno stretto rapporto fisiologico debba esistere fra l'embrione e i simbionti.

d) La penetrazione di biogranuli nelle cellule ed anche nei nuclei del blastoderma in stadi precocissimi, poi nell'ectoderma e nel mesoderma, e la penetrazione in questi foglietti delle forme caudate, indicano che una funzione il microrganismo esercita nel metabolismo delle cellule embrionali; funzione certo non dannosa, perchè tutti gli embrioni la subiscono, anche quelli che danno bozzoli perfettissimi.

e) Le razze bivoltine, ricchissime di simbionti nel vitello e nell'embrione, sono le più robuste; le razze annuali, specialmente le indigene, sono le più povere e più deboli.

f) Finchè l'embrione è in attività costruttiva, i simbionti sono in grande attività; di pari passo con l'entrata in diapausa si attenua l'attività del simbionte e spariscono le forme caudate. In piena diapausa, dopo 50 giorni dalla deposizione, sono in piena diapausa anche i simbionti. Al risveglio dell'embrione s'accompagna il risveglio del simbionte.

Questi argomenti, soprattutto il primo, mi sembrano costituire una buona testimonianza del vantaggio che l'embrione riceve dalla presenza del microrganismo.

E d'altra parte, come chiamarlo se non simbionte? Parassita no, perchè, sebbene esso rientri nel concetto del parassitismo in quanto trae l'alimento da sostanza organica di un altro essere vivo, vi sono troppi indizi per ritenere che le modificazioni da esso indotte in questa sostanza siano utili e forse necessarie all'ospite. E supponiamo pure, per un momento, che azione utile non vi sia; lo dovremo allora chiamare *parassita indifferente*. E fra parassitismo indifferente e simbiosi non mutualistica qual'è mai la differenza?

Da ultimo, quel che importa non è la più o meno sottile e precisa denominazione generica di un fatto nuovo che la ricerca scientifica ha svelato, ma che il fatto esista e sia ben provato.

Una quarta obiezione è stata fatta, e cioè che i simbionti non si vedono; e questa obiezione non può esser presa in considerazione, perchè è impossibile discutere *adversus negantem principia*.

Un'ultima obiezione. Si è detto che le mie vedute sconvolgono quanto si sapeva finora. Questa obiezione, che si riferisce, oltrechè alle mie conclusioni sull'attività delle sfere vitelline, anche

al concetto fino a poco fa dominante intorno ai granuli di vitello, trova risposta nella giusta affermazione del Pierantoni [26] in un recentissimo lavoro sui corpuscoli del tuorlo: « Io da parte mia osservo che la verità è una, e che non bisogna aver paura di dirla, anche se essa minaccia di sconvolgere tutte le precedenti vedute. D'altra parte i lavori si susseguono con frequenza vertiginosa, e tutti tendono ad affermare la stessa verità: i globuli del vitello sono entità isto morfologiche ben distinte, provviste di tutti gli attributi necessari per poter essere ritenuti veri organismi viventi, giusta quanto ha affermato per il primo nel 1923 Camillo Golgi ». Può sembrare perfino superfluo l'aderire all'affermazione dell'egregio collega, perchè ogni ricercatore deve avere come assioma e come stato d'animo fondamentale il concetto che in essa è contenuto. Se non fosse così, la conoscenza scientifica non sarebbe mai esistita, e noi potremmo chiudere i nostri laboratori.

Invece, nonostante queste affermazioni che hanno carattere antiscientifico, la scienza cammina trionfalmente. E se dai miei modestissimi lavori del 1914-20 furono date prove per dimostrare che le cellule vitelline non sono semplice materiale abortivo, bensì territorio di attiva proliferazione cellulare, e che nei granuli vitellini si annidano microrganismi viventi, da un gigante della biologia, Camillo Golgi [5], abbiamo appreso poco più tardi (1923) che gli stessi granuli vitellini devono considerarsi elementi viventi e non semplice sostanza nutritiva priva di vita. In essi il Golgi ha scoperto formazioni mitocondriali, confermate poi da parecchi altri ricercatori: formazioni queste che oggi sono ritenute, per generale consenso, costanti e necessarie nel protoplasma di tutte le cellule viventi. Pierantoni nel 1927 ha ottenuto [26] di riprodurre in coltura su piastre di agar, fino al 4.° innesto, magnifiche proliferazioni dei granuli vitellini di *Rana esculenta*.

Molte delle figure annesse al presente lavoro documentano che i granuli vitellini — siano essi abitati o no dal simbionte — penetrano tali e quali nelle cellule embrionali. Se ne vedono, alloggiati in vacuoli, d'ogni dimensione, e si riconoscono per la colorazione loro ch'è identica a quella della massa vitellina extraembrionale. Come interpretare questa penetrazione entro le cellule viventi dell'embrione se non come una vera e propria manifestazione vitale dei granuli vitellini?

E' una vera rivoluzione; anzi, rispetto a quella dei microrganismi simbiotici, è un'iperrivoluzione. Noi la accogliamo senza

alcun rimpianto di veder tramontare vecchie concezioni, bensì plaudendo con ammirazione ai ricercatori, che hanno strappato nuovi segreti alla Natura.

Le figure della Tav. IV del citato lavoro del Pierantoni, oltre a dimostrare con evidenza massima la riproduzione dei granuli vitellini in coltura, dimostrano anche la comparsa di un piccolo corpicciolo colorabile con Ematossilina ferrica nell'interno dei granuli (fig. 24 della tavola) che talora è alligato entro un alone chiaro. La somiglianza di queste figure coi biogranuli da me descritti fin dal 1920 si può dire una vera identità. Così pure le figure 27 e 29 di detta tavola rappresentano forme così somiglianti alle mie *forme caudate*, con nucleo a ferro di cavallo o tondeggiante, da far pensare che si tratti assai verosimilmente di entità perfettamente analoghe a quelle del simbionte hobbicino. Si tratta dunque di un microrganismo vivente che ha la sua sede entro granuli vitellini che sono alla lor volta organismi viventi; questi alla lor volta sono endocellulari nelle sfere vitelline che sono cellule viventi, la quali fanno parte di quel grande sincizio che è l'uovo in segmentazione. Quattro organismi, uno dentro l'altro! Concezione rivoluzionaria davvero, che farà gridare allo scandalo i critici, pavidi di toccare la vecchia concezione del materiale abortivo. Ma la natura è quello che è, e le nostre concezioni devono modificarsi man mano che l'ignoto è carpito dalle nuove conquiste.

Per portare nuovo contributo a questa concezione, ho intrapreso di recente tentativi di colture del tuorlo dell'uovo del Filugello su terreni diversi. Le prime prove di orientamento finora fatte non hanno dato risultato; il lavoro continua, e di esso verrà riferito a suo tempo.

CAPITOLO V.

Aspetti dell'embrione in diapausa

Stomodeo e proctodeo — Secondo Rizzi [27] il primo accenno di una lieve introflessione dello strato ectodermico, destinata a dare origine allo stomodeo, s'incomincia a notare a 50 ore dalla deposizione nelle uova di razza annua; e il primo accenno di una introflessione proctodeale sarebbe visibile soltanto ad 84 ore dalla deposizione.

Secondo le mie osservazioni, l'accento di queste due introflessioni può essere già ben visibile fra le 36 e le 42 ore dalla deposizione, e tale disposizione ho già raffigurato fin dal 1924 in altro lavoro [16]. Si tratta di introflessioni leggerissime, ma nettamente riconoscibili su sezioni sagittali perfettamente orientate. Vi possono essere però notevoli ritardi nelle diverse razze. Ma quel che importa è di notare che tali abbozzi delle due invaginazioni, costantemente visibili in età così precoce dell'embrione, sono destinate poi ad essere quasi sempre completamente cancellate allorché l'embrione entra in diapausa, o almeno le invaginazioni vengono falsate dal prodursi delle grandi sinuosità. Solo in taluni casi un accenno se ne può ancora riscontrare al principio della diapausa (Tav. IX, fig. 33); qualche volta però, in pieno ibernamento, le introflessioni possono ricomparire anche accentuatissime (Tav. XVI, fig. 56). Ma è da ritenere che qui non si tratta di progresso nella formazione dello stomodeo e del proctodeo, bensì di sviluppo delle ampie sinuosità che si producono in punti diversi della stria germinale, e che possono prodursi anche nelle posizioni estreme corrispondenti alle due introflessioni primitive. Così, p. es., nella fig. 35 sarebbe arrischiato interpretare la grande sinuosità posteriore della stria come un semplice approfondimento del proctodeo. Talvolta infine, in corrispondenza allo stomodeo, si forma un'escavazione che ha per fondo il cumulo mesodermico (cumulo orale) ed è ricoperta da uno strato molto assottigliato dell'ectoderma (Tav. XII, fig. 45). Analoga disposizione aveva già descritto, in stadi molto più precoci, anche il Rizzi [27].

Lacune dei foglietti — La formazione di piccoli vacuoli cellulari, includenti granuli vitellini, specialmente nell'ectoderma, è stata osservata da tutti gli autori fin da stadi precoci. Quando l'embrione entra in dipausa completa, cominciano ad apparire lacunosità, talora assai ampie, tanto nell'ectoderma che nel mesoderma (Tav. XI, fig. 42), e permangono più o meno costanti anche a diapausa avanzata (Tav. XVI, fig. 56 e 57; Tav. XVII, fig. 59).

Aspetti del mesoderma — Quando i cumuli mesodermici sono appena formati, essi hanno l'aspetto di veri cumuli cellulari, sporgenti alla superficie interna della stria germinale e ben distinti

l'uno dall'altro (Tav. VIII, fig. 30). Tale aspetto si conserva per un primo periodo della diapausa; ma una delimitazione di tutti i 18 segmenti mesodermici in una sezione esattamente sagittale non sempre si conserva ben pronunciata, perchè, mentre le incisure fra un cumulo e l'altro arrivano in principio fino alla superficie dell'ectoderma, in seguito la base di ciascun cumulo si allarga e prende contatto con le cellule basali dei cumuli vicini. Restano tuttavia, anche a diapausa avanzata, delle incisure che in certe regioni del corpo dell'embrione permettono di riconoscere alcuni segmenti mesodermici (Tav. XIV, fig. 51 e 52); in altri casi le incisure sono visibili soltanto in parte, e cioè delimitano gruppi di 2-3 segmenti, mentre in altri casi il mesoderma appare disteso in foglietto quasi tutto della stessa altezza, con pochissime incisure (Tav. IX, fig. 33), od anche numerose (Tav. XII, fig. 48), ma non mai così regolari da rendere riconoscibili i 18 segmenti, neppure per gruppi (Tav. XVI, fig. 55; Tav. XVII, fig. 58). Al termine della diapausa tale condizione di cose si conserva, benché in qualche caso alcuni segmenti mesodermici possano riapparire abbastanza distinti l'uno dall'altro (Tav. XVIII, fig. 61). Una distinzione dei segmenti mesodermici abbastanza netta in tutte le età della diapausa si riscontra assai spesso nelle uova di razze chinesi (Oro e Bianco); la tendenza alla fusione è invece assai maggiore nelle razze indigene.

Le sezioni trasversali dell'embrione in diverse età della diapausa dimostrano che le piastre mesodermiche, originatesi come formazioni impari lungo la linea mediana dorsale della stria germinale, si conservano tali per un primo periodo della diapausa; tendono poi ad espandersi lateralmente a destra e a sinistra della linea mediana, cosicchè, mentre in principio il cumulo mesodermico sporge a forma di bottone occupando il $\frac{1}{2}$ medio della superficie ventrale, successivamente anche i $\frac{2}{3}$ laterali di questa superficie tendono ad esserne rivestiti (Tav. IX, fig. 34; Tav. X, fig. 35; Tav. XI, fig. 41; Tav. XII, fig. 46). Non solo; ma sovente si riscontra che il cumulo mesodermico tende a dividersi in due ali, destra e sinistra, ricoprenti la superficie interna dell'ectoderma, ad eccezione di un tratto mediano (proprio là dove primitivamente il cumulo faceva la maggiore sporgenza) che rimane scoperto. Tale disposizione era stata già raffigurata dal Toyama [41] nella fig. 26 della Tav. VIII del suo lavoro. Cosicchè il mesoderma, formazione tipicamente impari in origine, tende, almeno

in certe regioni del corpo dell'embrione, a divenire organo nettamente pari. All'inizio dell'incubazione ho riscontrato anch'io lo stesso fenomeno nettissimo nel Bovolino Chinese Bianco, e per la stessa razza raffigurai già [14] la stessa disposizione (Tav. IV, fig. 104 di quel lavoro).

Particolare interesse hanno le due estreme piastrine del foglietto inferiore, e cioè la 1.^a e la 18.^a, che alcuni autori chiamano *cumulo orale* e *cumulo anale* perchè in corrispondenza ad esse l'ectoderma si approfondirà per formare lo stomodeo e il proctodeo. Queste piastrine sono fin dal principio più vistose di tutte le altre; è sulla loro superficie interna, a contatto col tuorlo, che si riscontra il massimo affollamento delle forme caudate dei microrganismi simbiotici nella 2.^a giornata dalla deposizione (Tav. VII, fig. 26). Gli autori che hanno studiato l'origine di queste piastrine e l'organogenesi ulteriore, hanno attribuito ad esse un valore diverso da tutte le altre, e di ciò sarà discusso nella successiva memoria che studierà la 3.^a parte dello sviluppo embrionale (incubazione). Mi limito qui ad illustrare come si presentano queste due piastrine durante la diapausa. Effettivamente esse appaiono più cospicue delle altre 16 piastrine intermedie, ma per tutta la diapausa estivo-autunnale null'altro vi è di notevole che il loro maggiore sviluppo. Più tardi, in diapausa invernale, frequentemente mi è occorso di notare che le cellule del cumulo orale e di quello anale si continuano con un cono cellulare che s'insinua tra le sfere vitelline spingendosi a notevole profondità verso il centro dell'uovo (Tav. XVII, figg. 58 e 60. Questo cono non sempre è formato da cellule stipate e saldate fra di loro in tessuto compatto, ma talora risulta da cellule rotoldegianti e isolate (Tav. XVII, fig. 59; Tav. XIII, fig. 50). In quest'ultima figura si discerne chiaramente che parecchie di queste cellule, simili alle cellule migranti di cui si è già discusso per gli stadi precoci, sono incluse nei territori cellulari delle sfere vitelline semidissegregate adiacenti all'embrione. Giudico perciò trattarsi, non già di cellule che si distaccano dal cumulo mesodermico per migrare nel vitello (come alcuni autori hanno sostenuto); ma di cellule migranti dalle sfere vitelline verso i due cumuli mesodermici, e che appunto a questo fatto è dovuto l'accrescersi dei due cumuli orale e anale. Se si trattasse della migrazione dal mesoderma al vitello, noi dovremmo trovare, ad ibernazione finita, due cumuli orale ed anale, se non scomparsi totalmente, almeno molto rim-

piccioliti, il che non è. La fig. 61 (Tav. XVIII) mostra infatti che al termine dell'ibernazione le due piastrine mesodermiche estreme appaiono sempre la più cospicue, e il loro maggiore sviluppo è più cospicuo che non all'epoca della loro formazione. Appare perciò assai più verosimile che trattisi sempre di proliferazione delle sfere vitelline che inviano cellule figlie al cumulo orale ed anale.

Per quanto risulta dai miei preparati, questa attività nel territorio dei due cumuli estremi coincide con la ricomparsa di una più netta distinzione di tutti i cumuli mesodermici fra di loro, ed appare costante in embrioni di diverse razze (Gran Sasso, Ascoli, Chinese Oro, Chinese bianco) regolarmente svernanti in frigorifero in fine di gennaio e febbraio. Se ne conclude che, nonostante la bassa temperatura a cui le uova soggiornano, si verifica a tale epoca un tenue risveglio di attività, limitato peraltro ai fenomeni sopra descritti, senza ulteriori manifestazioni, come lo attesta lo stato della stria germinale ad ibernazione compiuta (Tav. XVIII, fig. 61).

Ripiegamento dei bordi dell'ectoderma — A cominciare dalla fine del 2.^o mese dopo la deposizione, e per tutta la durata della diapausa, la membrana amniotica non si presenta più così sottile e regolare come nei primi giorni, ma comincia a presentare in qualche tratto alcune irregolarità, nella maggior parte delle uova. Alcune cellule dell'amnio contraggono assai spesso rapporti di evidente continuità col citoplasma delle sfere vitelline giganti fra amnio e siorosa (Tav. XI, figg. 41 e 43), e i bordi laterali dell'ectoderma si ripiegano ventralmente nel modo rappresentato dalla figura 60 a (Tav. XVII). Tale ripiegamento si nota anche ai bordi dell'estremo cefalico e caudale della stria (Tav. XVI, fig. 57) ma non così accentuato e costante come per i bordi laterali. Le cellule amniotiche, primitivamente sottilissime, inspessiscono, dovendo ricoprire una superficie assai minore in seguito al ripiegamento dei bordi dell'ectoderma. Spesso questo coartamento è accompagnato da una profonda modificazione strutturale delle cellule amniotiche, le quali inviano numerose anastomosi citoplasmatiche alle cellule ectodermiche (Tav. XIV, fig. 52) e alle sfere vitelline (Tav. XI, figg. 41 e 43). Molto vistoso è questo fenomeno nei mesi invernali; raggiunge il massimo nei segmenti mediani dell'embrione, da cui è tratta la fig. 60 a, mentre è più attenuato verso gli estremi cefalico e caudale (Tav. XII, fig. 46). Si

comprende facilmente che in una sezione sagittale mediana perfettamente orientata, anche se il descritto ripiegamento è vistoso, si può ancora osservare un amnio sottile (Tav. XIV, fig. 52), mentre, quanto più la sezione si allontana dal piano sagittale, si osserva un amnio sempre più inspessito.

Spostamenti e coartamenti dell'embrione. — Fin dalla sua prima formazione ed appioppamento nel vitello, la stria germinale non si trova in posizione simmetrica rispetto al piano sagittale dell'uovo; come già altri autori avevano notato [2, 27], il piano sagittale dell'embrione non coincide con lo stesso piano dell'uovo ma fa un certo angolo con questo (Tav. II, fig. 7) perchè l'embrione è spostato verso uno dei fianchi dell'uovo. Ma mentre nelle fasi precoci quest'angolo può essere talvolta minimo o nullo (Tav. III, fig. 10) durante la diapausa avanzata l'angolo è più vistoso, come raffigurò il Rizzi [27]. Nel confermare il fatto debbo segnalare che anche in uno stesso embrione la serie di sezioni trasversali dimostra che l'angolo non sempre è uguale nelle diverse regioni dell'embrione, ma può variare notevolmente, e ciò significa che l'embrione può presentare sul suo asse longitudinale delle sinuosità in senso laterale.

Accentuatissime e variabilissime sono poi, in piena diapausa, le sinuosità in senso longitudinale. Già il Rizzi [27] aveva dato una figura di embrione sinuoso di uovo di razza indigena a 30 giorni di età (Tav. V, fig. 36 del citato lavoro). Sul significato di queste sinuosità egli scrive: «Dopo un mese dalla deposizione l'embrione perde la curva regolare che aveva conservata fin qui, e presenta delle pieghe che sono l'inizio dei futuri segmenti del corpo». A questa interpretazione non è possibile sottoscrivere, anzitutto perchè le pieghe della stessa figura del Rizzi sono 7, e quindi non hanno certamente il significato di un abbozzo della metameria larvale; eppoi perchè tali pieghe sono variabilissime di posizione, di numero e di ampiezza, e sono destinate ad essere cancellate, totalmente o parzialmente, all'inizio dell'incubazione.

La Tonon [38, 39] ha dato alcune figure di strie germinali in piena diapausa, le quali, benchè schematiche, danno una chiara idea delle pronunciatissime sinuosità e della variabile posizione dell'embrione. Le mie osservazioni confermano quelle della citata Autrice, e le figure qui annesse ne danno ampia illustrazione (Tav. IX, fig. 33; Tav. XIII, fig. 49; Tav. XIV, fig. 51; Tav. XV, figg. 53,

54; Tav. XVIII, fig. 61). Va notato che le sinuosità non sono caratteristiche soltanto dell'uovo in piena estivazione o ibernazione, ma possono apparire già notevoli al 7.^o giorno dalla deposizione (Tav. IX, fig. 33). E ha notevole interesse il fatto che, mentre le razze indigene presentano le massime sinuosità (figg. 33, 49, 51, 53, 54 e 61), le razze cinesi invece presentano una regolarità assai maggiore (figg. 48 e 55) o addirittura perfetta (fig. 58). Non posso escludere che, con l'esame di un maggior numero di preparati, si possano riscontrare strie sinuose anche nelle razze cinesi; ma ha un significato il fatto che quasi tutte le uova di razza indigena in diapausa avanzata presentano una stria più o meno sinuosa e quasi sempre con sinuosità pronunciatissime, mentre nessuna di quelle di razza cinese mi ha presentato sinuosità più spiccate di quelle riportate nelle figure 55 e 56 (Tav. XVI).

L'amnio non sempre segue la superficie delle pieghe, come ha osservato la Tonon [38, 39]; in generale si verifica che quando le pieghe sono poco ampie e poco profonde, l'amnio le segue da vicino, mentre quando sono piuttosto strette e profonde non le segue, e vi resta disteso al disopra, come la corda tesa al suo arco.

Solitamente, pur pronunciandosi pieghe anche profonde e numerose nella stria, la sua posizione rispetto ai due poli dell'uovo non è complessivamente alterata, e cioè l'estremo cefalico corrisponde al polo micropilare, e l'estremo caudale al polo antimicropilare. Nelle razze cinesi, pur conservando la stria una curvatura regolare, l'estremo caudale si prolunga verso il lato dorsale dell'uovo assai più che nelle razze indigene, risultandone, specialmente nel Chinese Oro, una conformazione grossolanamente a lettera L (Tav. XII, fig. 48). Ma talvolta si hanno posizioni fortemente aberranti, in cui i due estremi della stria vengono a corrispondere ai due lati dell'uovo anzichè ai due poli (Tav. XIII, fig. 49).

Queste giaciture, talvolta così strane, non sono indice di anomalia, ma sono perfettamente normali; si possono denominare *atipiche* per la loro differenza più o meno spiccata dalla conformazione e giacitura della stria germinativa appena formatasi.

Vacuolizzazione della sierosa — Durante l'ibernazione numerose uova di svariate razze mi hanno presentato vacuosità cospicue nelle cellule della sierosa (Tav. XVIII, fig. 64). I grossi vacuoli fanno aumentare fortemente lo spessore dello strato cellulare, con

sporgenza verso l'interno. Quando i vacuoli si producono fra il nucleo e il margine cellulare esterno, il nucleo viene respinto verso l'interno, come mostra la citata figura. Il pigmento bruno non invade, di regola, la cavità dei vacuoli, o solo in misura minima. In uno stesso uovo si possono contare, sulla serie delle sezioni, parecchi di questi ingrossamenti vacuolosi, i quali sembrano caratteristici dell'avanzata ibernazione, non avendosi mai riscontrati nel periodo antecedente nè durante l'incubazione.

• • •

Lo stadio di diapausa compiuta è rappresentato alla fig. 61 (Tav. XVIII); essa indica il tipo di embrione perfettamente svernato, ma naturalmente non vuol esser indicato come uno schema invariabile. Altri preparati presentano una stria svernata del tutto priva di sinuosità, conformata a lettera L, od anche una conformazione a lettera C più o meno simile a quella che la stria possedeva originariamente. L'area occupata da sostanza a struttura reticolo-granulare è sempre presente, e per lo più la superficie interna dell'embrione è in contatto più o meno ampio con essa. Le sfere vitelline adiacenti all'embrione sono pochissime, e per lo più contengono un solo strato periferico di granuli vitellini. Talora non restano presso la superficie interna dell'embrione che residui frammentari di sfere vitelline.

Da tutto quanto abbiamo esposto risulta che, sebbene sia spesa interamente, per tutto il lungo periodo della diapausa, una vera e propria attività embriogenetica, tuttavia non è totalmente spento qualche accenno di ripresa di attività, almeno nella massa delle cellule vitelline. Questi accenni si rivelano nella attività riproduttiva dei nuclei di queste ultime, e nella produzione di cellule migranti nei territori circostanti al cumulo orale e al cumulo anale. A prescindere da questi tenui accenni, l'embrione, nonostante che presenti curvature, sinuosità e spostamenti, non progredisce affatto nel suo sviluppo.

Il compito del presente lavoro è con ciò terminato, e confido che abbia raggiunto lo scopo prefisso, che era quello di dare una sufficiente illustrazione delle strutture dell'uovo del Filugello di razze annue durante la diapausa.

Bibliografia

1. — BOBRETZKY N. — Ueber die Bildung des Blastoderms und des Keimblätter bei den Insekten — Zeitschr. wissensch. Zool., Bd. 31, 1878.
2. — FOÀ A. — Confronto tra i primi stadi evolutivi del baco da seta nelle uova a schiusura normale e in quella a schiusura estemporanea per l'azione dell'elettricità — Rendic. Istit. Bacol. di Portici, Vol. 3^a, 1919.
3. — idem. — Osservazioni sullo sviluppo del baco da seta fino alla formazione della stria germinativa — Ibid., Vol. 3^a, 1919.
4. — idem. — Come si presenta il Nosema bomycis nelle uova del baco da seta dalla deposizione alla schiusura — Informazioni Seriche, Anno X. n.° 14, 1923.
5. — GOLGI C. — Intorno alla struttura ed alla biologia dei cosiddetti globuli (o piastrine) del tuorlo — Mem. R. Ist. Lombardo di Scienze e Lettere, Vol. 22-23, Milano, 1923.
6. — GRABER W. — Vergleichende Studien über die Keimhüllen und die Rückenbildung der Insekten — Denkschr. Kais. Acad. Wiss. Wien, Bd. LV, 1888.
7. — idem. — Vergleichende Studien über die Embryologie der Insekten, und insbesondere der Musciden — Ibid., Bd. LVI, 1889.
8. — idem. — Vergleichende Studien am Keimstreif der Insekten — Ibid., Bd. LVII, 1890.
9. — GRANDORI R. — Lo sviluppo embrionale del Baco da Seta — Memoria I.^a: Le prime 42 ore dalla deposizione dell'uovo. — Atti Accad. Veneto - Trentino - Istriana, Serie III, Anno 7^o, Padova, 1914; anche in Annuario R. Staz. Bacologica Padova, Vol. XLI, 1915.
10. — idem. — La segmentazione dell'uovo fecondato di Bombyx mori sottoposto a svernamento artificiale subito dopo la deposizione — Annuario R. Staz. Bacol. Padova, Vol. XLIII, puntata 1, 1919.
11. — idem. — Intorno ad alcune questioni embriologiche sul baco da seta recentemente discusse — Ibid., 1919.
12. — idem. — Differenze morfologiche nell'ovocite e nell'uovo di Bombyx mori sano e malato di flaccidezza — Redia, Vol. XIV, Firenze, 1920.
13. — idem. — La simbiosi ereditaria nel Bombyx mori — Atti Reale Istit. Veneto di Scienze, Lettere ed Arti, Tomo LXXIX, Parte II, Venezia, 1919-20.
14. — idem. — La simbiosi ereditaria del Filugello — Atti R. Ist. Veneto di Scienze, Lettere ed Arti, Tomo LXXIX, Venezia, 1919-20.
15. — idem. — Microrganismi simbiotici in Pieris brassicae e Apanteles glomeratus — Rendic. R. Accad. Lincei, Vol. XXIX, Serie 5.^a Semestre I. Roma, 1920.

16. — GRANDORI R. — *Il Filugello e le industrie baccologiche* — Luigi Trevi-
sini editore, Milano, 1924.
17. — idem. — *Microrganismi simbiotici nell'uovo di Pieris brassicae* —
Rendic. R. Accad. Lincei, Vol. IX, Serie 6.a, Semestre I, Roma, 1929.
18. — GRASSI G. B. — *Intorno allo sviluppo delle api nell'uovo* — Atti
Accad. Gioenia di Sc. Nat. Catania, Serie III, Vol. 18.^a, 1884.
19. — HEYMONS R. — *Die Embryonalentwicklung von Dermapteren und
Orthopteren, monographisch bearbeitet* — Iena, 1895.
20. — LÉCAILLON A. — *Sur les feuillets germinatifs des Coléoptères* —
C. R. Accad. des Sciences, Tome 125, Paris, 1897.
21. — NOBILE M. — *Contributo alla conoscenza della formazione e della
struttura dei globuli del tuorlo in uova di Rana esculenta e Gallus gallus* —
Atti Accad. Gioenia di Sc. Nat. Catania, 1927.
22. — PAILLOT A. — *Sur le cycle évolutif du Nosema bombycis, parasite
de la pébrine du ver à soie* — C. R. Soc. Biol., Tome XCIX, 1928.
23. — FIGORINI L. e TONON A. — *Ricerche morfologiche e fisiologiche nelle
sfere vitelline dell'uovo del Bombyx mori* — Arch. Farmacol. Sper. e Sc.
affini, Roma, 1927.
24. — PIERANTONI U. — *Studi sullo sviluppo d'Icerya purchasi Mask.* —
Parte I.a: *Origine ed evoluzione degli elementi sessuali femminili.* — Arch.
Zool. Ital., Vol. V.^a, Napoli, 1912.
25. — idem. — *Studi sullo sviluppo d'Icerya purchasi Mask.* — Par-
te III.a: *Osservazioni di embriologia.* — Ibid., Vol. VII, Napoli, 1914.
26. — idem. — *I corpuscoli del tuorlo e la loro cultura in agar.* —
Mem. R. Accad. Lincei, Classe Sc. Fis., Mat. e Nat., Serie VI, Vol. II,
Roma, 1928.
27. — RIZZI M. — *Sullo sviluppo dell'uovo di Bombyx (Sericaria) mori L.
nel primo mese dalla deposizione.* — Redia, Vol. VIII, Firenze, 1912.
28. — SCHREIBER B. — *I metodi di ricerca del Nosema bombycis delle uova
del Baco da seta in diapausa.* — L'Industria Baccologica, Anno III, n. 8,
Milano, 1929.
29. — SCHWANGART F. — *Zur Entwicklungsgeschichte del Lepidopteren.*
— Biol. Centralblatt, Bd. XXV, 1905.
30. — SELVATICO S. — *Sullo sviluppo embrionale dei Bomicini* — An-
nuario R. Staz. Bacol. Padova, Vol. IX, 1882.
31. — STEMPPEL W. — *Ueber Nosema bombycis Nägeli, nebst Bemerkun-
gen über Mikrophotographie mit gewöhnlichem und ultraviolettem Licht* —
Arch. für Protistenkunde, Bd. XVI, Jena, 1909.
32. — STRINDBERG H. — *Embryologische Studien an Insekten* — Zeitschr.
Wiss. Zool., Vol. 106, 1913.
33. — idem. — *Ueber die Bildung und Verwendung der Keimblätter bei
Bombyx mori* — Zool. Anzeiger, XLV Bd., n.^o 13, 1915.
34. — TICHOMIROFF A. — *Développement du ver à soie du mûrier (B. mori)
dans l'oeuf.* — Laboratoire d'études de la soie, Lyon, 1891.

35. — TIRELLI M. — *Sviluppo embrionale del filugello illustrato fotogra-
ficamente* — Le Seterie d'Italia, Anno III, n.^o 1, Milano, 1928.
36. — idem. — *Fisiologia degli Insetti — Fenomeni chimici e chimico-
fisici nell'uovo del Bombyx mori L., Viscosità, stratificazione; struttura e fun-
zione delle sfere vitelline.* — Atti della Pontificia Accad. delle Scienze Nuovi
Lincei, Anno LXXXIII, 1929.
37. — idem. — *Nota di tecnica sulla fissazione e colorazione delle sfere
vitelline* — Mem. Soc. Entom. Ital., Vol. V.
38. — TONON A. — *Variabilità dei caratteri embriologici nell'uovo di fi-
lugello durante la diapausa* - Nota 1.^a — Annuario R. Staz. Bacol. Padova,
Vol. XLIV, 1925.
39. — idem. — *Variabilità dei caratteri embriologici nell'uovo di filugello
durante la diapausa* - Nota 2.^a — Ibid., Vol. XLV, 1927.
40. — idem. — *Le sfere vitelline nell'uovo di filugello* - Nota di tecnica
— Ibid., Vol. XLV, 1927.
41. — TOYAMA K. — *Contribution to the study of Silk-Worms. - I. On the
Embryology of the Silk-Worms* — Bull. of the College of Agricult., Tokyo
Imp. Univ., Vol. V, 1902.
42. — VANEY C. et CONTE A. — *Recherches sur le développement de l'oeuf
en vitelline du ver à soie* — Labor. d'études de la soie, Lyon, 1908-10.
43. — idem. — *Evolution du vitellus dans l'oeuf du ver à soie* — Ibid.,
Lyon, 1919.
44. — VERNON E. — *Il Filugello e l'arte di governarlo* — Soc. Ed. Libraria,
Milano, 1917.

Spiegazione delle Tavole

TAVOLA I.

Fig. 1. — Parte periferica di una sezione sagittale di uovo di *Chinese bianco* di 36 ore di età in prossimità dell'interruzione lasciata dall'approfondarsi dello scudetto germinativo. Sono disegnate solo in parte le sfere vitelline adiacenti alla sierosa. Illustra l'origine vitellina di cellule migranti a far parte della sierosa ($\times 510$).

Fig. 2. — Regione mediana dello scudetto germinativo e zona vitellina adiacente, in sezione sagittale di uovo di *Chinese bianco* a 36 ore di età. Illustra l'origine vitellina di cellule migranti a formare l'inizio del mesoderma, prima dell'approfondarsi delle introflessioni ectodermiche ($\times 510$).

Fig. 3. — Sfere vitelline adiacenti alla sierosa in altra sezione dello stesso uovo di fig. 1. Illustra l'origine vitellina di una cellula migrante, che fa parte ancora del territorio cellulare di una sfera, ma è in atto di uscirne ($\times 510$).

Fig. 4. — Sezione trasversale del bordo laterale di scudetto germinativo di *Chinese bianco* di 36 ore d'età. Mostra una cellula migrante a formare l'ammio ($\times 555$).

Fig. 5. — Sezione trasversale di stria germinale di *Chinese bianco* a 48 ore di età, mentre si approfonda l'infossamento ectodermico che dà origine a parte del mesoderma ($\times 510$).

Fig. 6. — Sezione trasversale del bordo laterale di scudetto germinativo di *Chinese bianco* a 48 ore di età (dallo stesso preparato di figura precedente). Mostra una cellula migrante a formare l'ammio ($\times 510$).

TAVOLA II.

Fig. 7. — Sezione trasversale di uovo di razza *Gran Sasso*, a circa uguale distanza dai due poli, a 30 ore dalla deposizione ($\times 90$).

Fig. 8. — Parte di sezione sagittale di uovo di razza *Gran Sasso* di 30 ore di età, mostrante la struttura del vitello compreso fra la sierosa e lo scudetto. Amnio non ancora formato ($\times 600$).

Fig. 9. — Sezione di sfera vitellina di uovo di *Chinese oro* a 36 ore di età. Mostra simbrionti caudati presso uno dei nuclei e presso la periferia ($\times 600$).

TAVOLA III.

Fig. 10. — Sezione trasversale di uovo di *Chinese oro* a 30 ore di età. Mostra una particolare struttura che possono assumere le sfere vitelline, e una cellula migrante a formare l'ammio ($\times 90$).

Fig. 11. — Particolare, a forte ingrandimento, di due sfere di figura precedente ($\times 600$).

Fig. 12. — Parte di sezione sagittale di scudetto germinativo di razza *Gran Sasso* a 36 ore di età. Mostra granuli vitellini e biogranuli endocellulari ($\times 600$).

Fig. 13. — Sezione trasversale del bordo laterale di scudetto germinativo di razza *Gran Sasso* a 36 ore di età. Mostra simbrionti caudati endocellulari ($\times 600$).

TAVOLA IV.

Fig. 14. — Parte mediana di sezione sagittale di scudetto germinativo di razza *Gran Sasso* a 36 ore di età. Mostra l'inizio di un cumulo mesodermico (l'unico accenno di mesoderma che esiste in tutto lo scudetto) e una cellula migrante dal vitello. Gli approfondamenti ectodermici non sono ancor pronunciati ($\times 300$).

Fig. 15. — Sezione di sfere vitelline adiacenti alla superficie interna dello scudetto germinativo di uovo di razza *Gran Sasso* a 60 ore di età (dello scudetto è schematizzata la superficie interna; una sfera è disegnata solo in parte). Mostra una cellula migrante addossata allo scudetto, e altre in formazione entro una sfera. Non esiste ancora traccia di approfondamenti ectodermici ($\times 600$).

Fig. 16. — Sezione di una parte del vitello adiacente alla superficie interna dello scudetto di razza *Gran Sasso* a 36 ore di età, per mostrarne la struttura e i biogranuli ($\times 600$).

Fig. 17. — Parte di sezione della regione periferica di uovo di razza *Gran Sasso* a 60 ore di età. Mostra cellule di recente immigrate a far parte della sierosa ($\times 550$).

TAVOLA V.

Fig. 18. — Sezione esattamente sagittale di uovo di razza *Gran Sasso* a 60 ore di età. Lo scudetto non mostra ancora traccia di infossamenti ectodermici. Sierosa completa; amnio mancante. Zona periferica del vitello organizzata in sfera, zona centrale non organizzata ($\times 90$).

Fig. 19. — Cellula migrante presso il bordo posteriore dello scudetto germinativo di uovo di razza *Gran Sasso* a 60 ore di età. Ha grande nucleo simile a quelli delle sfere vitelline organizzate, citoplasma densamente reticolare, e contiene inclusi numerosi granuli vitellini ($\times 750$).

Fig. 20. — Porzione mediana di sezione sagittale di scudetto germinativo di uovo di razza *Gran Sasso* e zona adiacente, a 60 ore di età. Mostra un gruppo di cellule migranti a formare l'inizio del mesoderma. Sierosa completa, amnio mancante; non v'è ancor traccia di infossamenti ectodermici ($\times 250$).

TAVOLA VI.

Fig. 21. — Come la figura precedente. La formazione dell'ammio è appena iniziata; esiste già un cumulo mesodermico ($\times 90$).

Fig. 22. — Parte di sezione sagittale di scudetto germinativo di razza *Gran Sasso* a 60 ore di età, mostrante il bordo posteriore dello scudetto e cellule migranti, a grandi nuclei, insinuatasi fra scudetto e sierosa. Amnio ancora mancante ($\times 600$).

Fig. 23. — Come la precedente (*Gran Sasso*, 60 ore). Cellule migranti fra scudetto e sierosa; amnio mancante ($\times 440$).

Fig. 24. — Sezione di una sfera vitellina adiacente alla s'erosa (*Gran Sasso*, 60 ore); mostra una cellula della sierosa di recente venuta a farne parte ($\times 550$).

Fig. 25. — Sezione di una sfera vitellina semidisgregata adiacente alla sierosa, di razza *Chinese oro* a 48 ore di età. Mostra forme di riproduzione del simbiote nei granuli vitellini ($\times 600$).

TAVOLA VII.

Fig. 26. — Sezione sagittale del bordo posteriore di stria germinativa di razza *Chinese oro* a 48 ore di età, con adiacente zona di vitello. Mostra la moltitudine di simbioti caudati ($\times 600$).

Fig. 27. — Sezione di sfera vitellina semidisgregata adiacente all'embrione di razza *Chinese oro* di 4 giorni di età ($\times 600$).

Fig. 28. — Sezione di sfera vitellina isolata entro la sostanza vitellina centrale a struttura reticolo-granulare, da uovo di razza *Gran Sasso* a 4 giorni di età ($\times 450$).

Fig. 29. — Biogranuli con simbioti, dalla zona adiacente alla stria germinativa di uovo di razza *Chinese oro* di 4 giorni di età. Tutti appaiono costituiti da sostanza finissimamente granulare; b e c contengono forme in divisione ($\times 1720$).

TAVOLA VIII.

Fig. 30. — Sezione sagittale mediana di uovo di razza *Corsa* di 6 giorni di età. 18 cumuli mesodermici bene evidenti, benché in parte fusi alla base ($\times 90$).

Fig. 31. — Sezione di sfera vitellina della regione centrale di uovo di razza *Gran Sasso* a 4 giorni di età. Nuclei vacuolizzati e in divisione diretta ($\times 750$).

Fig. 32. — Come la precedente ($\times 750$).

TAVOLA IX.

Fig. 33. — Sezione sagittale mediana di uovo di razza *Gran Sasso* a 7 giorni di età. Mostra una stria germinativa sinuosa e a curvatura accentuata ($\times 90$).

Fig. 34. — Sezione trasversale di stria germinativa di razza *Chinese oro* a 72 ore di età. Mostra simbioti endocellulari nell'ectoderma e nel mesoderma ($\times 600$).

TAVOLA X.

Fig. 35. — Sezione trasversale di stria germinativa di razza *Gran Sasso* a 4 giorni di età, e sfere vitelline adiacenti ($\times 600$).

Fig. 36. — Biogranulo di uovo di razza *Gran Sasso* a 60 giorni di età, mostrante il simbiote in via di divisione in 4 individui figli ($\times 1720$).

Fig. 37. — Sezione di sfera vitellina semiaggregata nella zona fra amnio e sierosa (l'ectoderma è schematizzato) in uovo di razza *Gran Sasso* a 4 giorni di età. Biogranuli numerosi; struttura del citoplasma reticolare ($\times 600$).

Fig. 38. — Sezione di sfera vitellina bene individualizzata dello stesso uovo di fig. 30 (razza *Corsa*, 6 giorni di età), mostrante la struttura alveolare del citoplasma ($\times 600$).

Fig. 39. — Biogranuli con simbiote in vari stadi di divisione, in uovo di razza *Gran Sasso* a 10 giorni di età ($\times 1200$).

Fig. 40. — Sezione di sfera vitellina adiacente alla superficie interna dell'ectoderma embrionale in uovo di razza *Chinese oro* a 7 giorni di età ($\times 600$).

TAVOLA XI.

Fig. 41. — Parte di una sezione trasversale di uovo di razza *Gran Sasso* a 50 giorni di età, mostrante la stria germinativa e il vitello circostante. Una sfera vitellina fra amnio e sierosa mostra la diretta continuità del suo citoplasma reticolare con le cellule amniotiche. Biogranuli in tutte le sfere ($\times 410$).

Fig. 42. — Sezione trasversale di stria germinativa di razza *Gran Sasso* a 60 giorni di età, mostrante le lacunosità dell'ectoderma ($\times 312$).

Fig. 43. — Sezione di amnio e di parte del vitello adiacente alla sua superficie esterna, in uovo di razza *Gran Sasso* a 60 giorni di età. Mostra la continuità del citoplasma delle sfere vitelline semidisgregate con quello delle cellule amniotiche, e le anastomosi plasmatiche, che dall'amnio si protendono nella cavità amniotica ($\times 860$).

Fig. 44. — Sezione trasversale di stria germinativa di razza *Gran Sasso* e di una sfera vitellina adiacente a 50 giorni di età ($\times 600$).

TAVOLA XII.

Fig. 45. — Sezione sagittale dell'estremo anteriore di stria germinativa, e sfere vitelline adiacenti, di razza *Chinese bianco* a 5 mesi dalla deposizione. Mostra l'assottigliamento ectodermico in corrispondenza alla primitiva inflessione stomodeale ($\times 155$).

Fig. 46. — Sezione trasversale di stria germinativa di razza *Chinese oro* in prossimità dell'estremo cefalico, all'inizio della svernatura (9 gennaio). Mostra il ripiegamento dei bordi laterali ectodermici verso l'amnio e l'estendersi del mesoderma fino a rivestire quasi tutta la superficie interna dell'ectoderma ($\times 208$).

Fig. 47. — Porzione mediana di sezione sagittale, lontana dal piano di simmetria, di stria germinativa di razza *Chinese bianco* a 5 mesi dalla deposizione. Mostra le sfere vitelline adiacenti all'embrione, con citoplasma reticolare in diretta continuità con le cellule ectodermiche ($\times 312$).

Fig. 48. — Sezione sagittale mediana di uovo di razza *Chinese oro* di 5 mesi di età. Mostra l'ampia zona di ooplasma a struttura reticolo-granulare in contatto con gran parte della superficie interna dell'embrione, e le poche sfere vitelline rimaste ad esso adiacenti ($\times 90$).

TAVOLA XIII.

Fig. 49. — Sezione sagittale mediana di uovo di razza *Ascoli* in piena ibernazione (22 febbraio). Mostra la posizione atipica e le sinuosità della stria germinativa ($\times 80$).

Fig. 50. — Sezione sagittale dell'estremo cefalico di stria germinativa di razza *Ascoli* in piena ibernazione (22 febbraio). Mostra un gran numero di cellule migranti nell'area vitellina adiacente al cumulo orale ($\times 208$).

Fig. 50 a — Un nucleo di sfera vitellina della zona centrale di uovo di razza *Gran Sasso* a 50 giorni di età, che sta per dividersi in 3 nuclei figli ($\times 800$).

Fig. 50 b, c, d — Nuclei in divisione, in sfere vitelline della zona centrale di uovo di razza *Chinese bianco* in piena ibernazione (22 febbraio). Mostrano, come la figura precedente, che si tratta di divisione diretta ($\times 860$).

TAVOLA XIV.

Fig. 51. — Sezione sagittale di uovo di razza *Ascoli* in piena ibernazione (22 febbraio). Mostra le sinuosità della stria germinativa ($\times 80$).

Fig. 52. — Sezione sagittale mediana del $\frac{1}{2}$ posteriore della stria germinativa di uovo di razza *Chinese Oro* in piena ibernazione (28 gennaio). Mostra cumuli mesodermici perfettamente distinti l'uno dall'altro, e le anastomosi fra amnio ed ectoderma ($\times 208$).

TAVOLA XV.

Fig. 53. — Sezione sagittale, non perfettamente orientata, di uovo di razza *Majella* verso la fine dell'ibernazione (18 marzo). Mostra le sinuosità della stria germinativa e il ripiegamento dell'ectoderma verso l'amnio ($\times 80$).

Fig. 54. — Come la precedente, di uovo di razza *Brianza* in piena ibernazione (28 gennaio). Mostra le vistose sinuosità della stria germinativa ($\times 80$).

TAVOLA XVI.

Fig. 55. — Sezione sagittale mediana di uovo di razza *Chinese bianco* in piena ibernazione (28 febbraio). Mostra i cumuli mesodermici saldati in uno strato continuo, benché di irregolare spessore ($\times 90$).

Fig. 56. — Sezione sagittale dell'estremo cefalico di stria germinativa di razza *Chinese bianco* in piena ibernazione (28 gennaio). Mostra la primitiva invaginazione stomodale molto amplificata e approfondata; verosimilmente non si tratta di approfondamento stomodale soltanto, ma di amplificazione dovuta ad una sinuosità dell'ectoderma ($\times 200$).

Fig. 57. — Come la precedente, da uovo di razza *Chinese bianco* (28 gennaio). Mostra il ripiegamento del bordo anteriore dell'ectoderma verso l'amnio ($\times 155$).

TAVOLA XVII.

Fig. 58. — Sezione sagittale mediana di uovo di razza *Chinese bianco* in piena ibernazione (28 gennaio). Mostra il cumulo cellulare che si protende da una piastrina estrema del mesoderma; i cumuli sono in parte distinguibili, benché fusi alla base ($\times 84$).

Fig. 59. — Sezione sagittale dell'estremo cefalico di stria germinativa di razza *Chinese oro* in piena ibernazione (28 gennaio). Mostra le cellule migranti del cumulo orale ($\times 200$).

Fig. 59 a — Aspetto dei nuclei vitellini in uova di razza *Gran Sasso* di 10 giorni di età ($\times 800$).

Fig. 60. — Estremo della stria germinativa di fig. 58 a più forte ingrandimento. Mostra le cellule migranti a formare il cumulo che si protende dal mesoderma ($\times 200$).

Fig. 60 a — Sezione trasversale a circa metà distanza dai due estremi di stria germinativa di razza *Chinese oro* in piena ibernazione (22 febbraio). Mostra il vistoso ripiegamento dei bordi laterali dell'ectoderma verso l'amnio ($\times 290$).

TAVOLA XVIII.

Fig. 61. — Sezione sagittale mediana di uovo di razza *Corsa* al termine dell'ibernazione (toito dal frigorifero il 5 aprile e immediatamente fissato). Mostra due sinuosità che nulla hanno a che fare con gli approfondimenti dello stomodeo e proctodeo, dei quali non vi è più traccia; i segmenti mesodermici sono in parte distinguibili e in parte fusi ($\times 80$).

Fig. 62. — Sezione trasversale di stria germinativa e zona vitellina adiacente di uovo di razza *Gran Sasso* a 36 ore di età. L'infossamento ectodermico comincia a pronunciarsi; sulla superficie interna ectodermica, in corrispondenza dell'infossamento, è addossata una cellula migrante d'origine vitellina. L'amnio è incompleto sulla zona mediana dove si pronuncia l'infossamento, e quivi si scorge una cellula globosa migrante d'origine vitellina ($\times 230$).

Fig. 63. — Porzione della zona di sostanza a struttura reticolo-granulare occupante la regione centrale di uovo di *Chinese bianco* ibernante (28 gennaio), al margine della zona, dove essa confina con le sfere organizzate ($\times 525$).

Fig. 64. — Aspetti delle vacuolosità della sierosa dell'uovo in ibernazione (razza *Chinese bianco*, 28 gennaio). ($\times 525$).

Fig. 65. — Aspetti di sfere vitelline in piena ibernazione, da uovo di *Chinese bianco* (28 gennaio). Mostra i nuclei con pochi e piccoli granuli di cromatina, il citoplasma perinucleare a struttura granulare e quello periferico alveolare ($\times 525$).

Fig. 66. — Aspetto delle cellule della sierosa normali, a 10 giorni dalla deposizione, in uovo di razza *Corsa*. Mostra il pigmento addensato su due strati, esterno ed interno ($\times 525$).

