

che abbandonandoli a sè stessi possano vivere. Il Dott. Antoni di Pisa, infatti, ha applicato il paradichlorobenzolo non solamente alle viti europee ma anche ad ibridi produttori diretti che avevano già sintomi di notevole deperimento, ed ha ottenuto di restituire anche questi a piena produttività.

Coloro che hanno ancora vigneto europeo e stanno assistendo ai deperimenti più o meno gravi, hanno tutto l'interesse ad applicare questo sistema curativo. Non elimineranno la fillossera, ma l'esercito distruttore sarà attenuato, la longevità della vite sarà accresciuta. E' impossibile profetizzare, con una sperimentazione di un solo anno, fino a qual punto possa giungere l'efficacia dell'insetticida nel prolungare la vita di vigneti fillosserati. Ma è certo che quanto più è prorogata la longevità del vigneto, tanto più il problema economico si avvicina alla sua soluzione.

Tutti sanno che la ricostituzione è un rimedio che molto assomiglia ad un disastro. Rinviare il disastro, ripartirlo in un grande numero di anni, anche quando la ricostituzione sarà inevitabile, e poterla effettuare gradatamente, è vantaggio economico di capitale importanza perchè conduce a risolvere col minimo danno la crisi.

EMILIO ZANINI

Lo sviluppo embrionale delle uova del Filugello di razza bivoltina

(CON 11 TAVOLE)

Introduzione

Lo sviluppo embrionale del Baco da Seta ha costituito oggetto di studio da parte di parecchi ricercatori, e segnatamente da parte del mio Maestro Prof. Remo Grandori, titolare della Cattedra di Zoologia Agraria e Bachioltura del R. Istituto Superiore Agrario di Milano.

Lo studio del Grandori venne però condotto quasi esclusivamente su uova di razza annua; iniziato nel 1913, questo lavoro attende ancora oggi d'essere completato in molte sue parti per opera del Maestro, e tale completamento vedrà presto la luce. Lo sviluppo embrionale nelle diverse generazioni delle razze Polivoltine doveva — secondo il di lui programma — formare oggetto di una memoria a sè da allegare allo studio suddetto.

«Io parto dall'ipotesi — così scriveva il Grandori nella introduzione alla memoria I.^a del citato lavoro — (1), che, essendo in tali razze lo sviluppo embrionale completo assai abbreviato in confronto di quello delle razze annuali (in queste si richiedono circa 4 giorni per la formazione della stria germinale allo stato invernale, a temperatura di 20° C. circa, eppoi all'incirca 18 giorni per il secondo periodo embrionale alla stessa temperatura; mentre invece nelle razze polivoltine sono sufficienti 13 giorni alla temperatura suddetta per l'intero sviluppo embrionale dal momento della deposizione delle uova al momento delle prime nascite dei bicolini), molto verosimilmente alcuni fenomeni dello sviluppo potranno riscontrarsi non in tutto e per tutto identici al modo col quale essi si svolgono nelle comuni razze annuali.

(1) GRANDORI R. - *Lo sviluppo embrionale del Baco da Seta*. Memoria I. - Le prime 42 ore di sviluppo dalla deposizione dell'uovo - Estratto dagli «Atti dell'Accademia Scientifica Veneto-Trentina-Istria» - Padova 1914.

.... Ma su tale argomento parleranno più estesamente le ricerche successive ».

Queste ricerche vennero da me iniziate nello scorso febbraio, per incarico del Prof. Grandori stesso, su materiale da lui in precedenza fissato in miscela cromo-acetica (soluzione acquosa di acido cromico all'1% parti 9, acido acetico glaciale parti 1) e conservato in alcool a 70°.

Si tratta della razza bivoltina giapponese « Awojiku » la quale, si noti, ha richiesto per lo sviluppo embrionale delle uova deposte dalle farfalle di prima generazione, soli 8 giorni per la nascita delle spie; dal 9° al 10° giorno sono poi avvenute le nascite complete. Le uova soggiornavano nei locali del Laboratorio ad una temperatura oscillante fra + 25° e + 27° C.

I risultati di questo mio studio embriologico, comparativi con quelli sulle razze annue sino ad oggi pubblicati, sono qui da me esposti e descritti secondo l'ordine seguito dal Grandori nelle sue opere, vale a dire tenendo per guida le età successive dell'embrione, misurate in ore e giorni trascorsi dal momento della deposizione dell'uovo.

Ho eredito opportuno di adottare questo metodo nella mia esposizione, allo scopo di mettere in maggiore rilievo quelle differenze di sviluppo che il Grandori aveva preconizzato e che io ho potuto verificare.

Mi si potrà muovere l' appunto d'essere ricorso troppo spesso alla stessa forma e in molti casi alle stesse parole del Maestro; ma io non vedo come in un simile studio si potesse fare altrimenti, quando le mie osservazioni coincidevano perfettamente con quelle del Grandori per le razze annue, e quando si tratta di segnalare e di descrivere fatti morfologici che presentano un perfetto parallelismo con quelli da lui segnalati.

Mi sia infine permesso di porgere al mio Professore un ringraziamento sincero per l'ausilio e la guida costante che egli volle prodigarmi in questo lavoro; guida ed ausilio a cui vado debitore di aver potuto condurre a termine in breve tempo queste non facili ricerche.

Generalità e tecnica

Eliminazione del guscio.

Sono note le grandi difficoltà tecniche che presentava, fino a pochi anni fa, la preparazione delle uova di molti Lepidotteri, e del baco da seta in particolare, per lo studio dello sviluppo embrionale, difficoltà dovute alla grande ricchezza di vitello di dette uova ed alla presenza di un corion molto resistente, difficile ad allontanarsi ed impossibile a sezionarsi.

Il Grandori per i suoi studi embriologici sulle razze annue seguì, in un primo tempo, il sistema dell'asportazione del guscio mediante aghi, previa inclusione in paraffina, sotto il microscopio binoculare, metodo questo seguito anche da altri studiosi di embriologia dei Bombicini e di altri Lepidotteri; ma in altri studi successivi usò invece il metodo della corrosione del guscio mediante il solfidrato di calcio (1).

Per i miei preparati ho voluto invece seguire il metodo di recente suggerito dalla Dott. Niceta, consistente nella corrosione del guscio mediante il *rusma* (2). Non posso negare d'aver trovato con quest'ultimo metodo, qualche difficoltà nella completa corrosione del guscio, specie negli stadi più avanzati. Da ripetute prove ho potuto assodare che per avere buoni risultati, specie con materiale già da tempo fissato, occorre fare agire il *rusma* talvolta per più di 15 minuti. Solo con un trattamento così prolungato sono riuscito ad ottenere delle ottime sezioni. Su materiale fresco, invece, il *rusma* ha azione prontissima e perfetta; possono bastare uno o due minuti, come io stesso ho potuto constatare applicando il *rusma* su uova vive di 36 ore dalla deposizione, che poi subito fissavo con miscela cromoacetica (3) e sottoponevo a lavaggio in acqua corrente per 20 ore circa. (Dovetti ricorrere per questo

(1) PIGORINI L. e GRANDORI R. - *Azione del solfidrato di calcio sul guscio delle uova dei Lepidotteri*. - Rendiconti Reale Accad. Lincei, Vol. XXXVII, fasc. 2, 1920.

(2) NICETA F. - *Contributo alla tecnica per lo studio delle uova degli insetti*. Atti della Soc. Ital. di Scienze Naturali. Vol. LXVIII - Milano 1929.

(3) Soluzione acquosa di acido cromico 1 % parti 9; acido acetico glaciale parti 1.

stadio a materiale dell'annata per esaurimento del materiale di 36 ore già fissato nel 1928 dal Prof. Grandori).

Altra difficoltà incontrai nella penetrazione della paraffina nella massa del tuorlo. Moltissime erano le uova che presentavano questo inconveniente della imperfetta penetrazione della paraffina. La causa di ciò va certamente ricercata nella ricchezza e compattezza del vitello che le uova bivoltine presentano in grado maggiore di quelle di razza annuale. Per ottenere buoni risultati, dopo ripetute iniezioni mal riuscite dovetti tenere dette uova per al meno mezz'ora a 35°-40° C. in miscela di benzolo e paraffina e per più di un'ora in paraffina pura alla temperatura di 65°-66° C. E ciò pure usando paraffina con punto di fusione a 56°-58° C.

Colorazione.

I coloranti da me adoperati furono, dopo qualche tentativo di colorazione con l'Ematossilina Heidenhain, l'Ematosilina Carazzi ed il Rosso Congo.

Per i primi stadi (sino alla 12.^a ora) migliore colorazione nucleare, sebbene sempre debole, ho ottenuto con l'Ematossilina Carazzi diluita (1); il tempo richiesto era di 24 ore circa. Per gli stadi successivi ho invece usato sempre l'Ematossilina concentrata, ed il tempo richiesto per la colorazione variava da 2-3 ore per gli stadi sino a 60 ore, mentre bastavano 10-20 minuti per gli stadi di 6-7-8 giorni.

In linea generale ho constatato che la colorazione delle sezioni di uova di questa razza bivoltina è assai meno facile di quella di uova di razze annuali; e la difficoltà è massima per gli stadi giovanili, mentre va decrescendo con l'avanzare dell'età delle uova. La elettività della sostanza nucleare per i colori basici è in queste razze bivoltine assai lieve, cosicchè una buona colorazione d'insieme è difficile ad ottenersi. Inoltre, mentre nelle razze annue è facile cancellare il colore basico diffusosi nel plasma e nel tuorlo mediante il Rosso Congo o l'Orange G, qui nelle uova bivoltine questa seconda colorazione di contrasto non si ottiene quasi affatto. Fu in seguito a queste osservazioni che adottai, per consiglio del Prof. Grandori, il metodo dell'Ematossilina Carazzi diluita.

(1) Questa diluizione aveva lo scopo di evitare la sovracolorazione del citoplasma cellulare e del vitello, che è inevitabile nei primi stadi di queste uova usando il colore alla concentrazione normale. Ottenevo la diluizione con 10 gocce di Ematossilina normale in 50 c.m.³ di acqua distillata.

con la quale si ottiene una più intensa fissazione del colore sulla sostanza nucleare ed una assai tenue diffusione del medesimo colore sul citoplasma e sul vitello.

Le sezioni vennero da me eseguite dello spessore di 6 micron secondo piani diversi, ma preferibilmente secondo il piano sagittale. Le sezioni vennero poi poste su vetrini leggermente spalmati di albumina glicerinata, ed asciugate in termostato alla temperatura di 35°-40° C. per tre ore al massimo.

Le prime 12 ore della segmentazione

Come nelle razze annue, così nelle razze bivoltine, l'uovo, appena deposto dalla farfalla, si presenta con entrambe le superficie dei fianchi perfettamente rigonfie. Più tardi, nelle razze annue, sulle superficie suddette appare un caratteristico avvallamento; nelle bivoltine invece la turgidezza delle due facce si conserva, e un avvallamento si pronuncia soltanto dopo alcuni giorni, ed è appena visibile.

Nelle sezioni, l'uovo anche a 2 ore dalla deposizione si presenta completamente ripieno di tuorlo.

Detto tuorlo, a somiglianza delle razze monovoltine, presenta una zona periferica a granulazioni minutissime ed una zona centrale a grosse granulazioni perfettamente sferiche (Tav. I, fig. D).

2 ore. — In tutte le sezioni da me eseguite, siano esse sagittali che trasversali, si riscontra questa struttura cosicchè si può senz'altro dire che, come le razze annuali, anche le razze bivoltine presentano lo strato periferico (blastema periferico) esteso senza interruzione su tutta la periferia dell'uovo, immediatamente addossato alla faccia interna della membrana vitellina.

Lo spessore però, si mantiene abbastanza regolare nelle diverse zone e ciò a differenza delle razze annuali.

Anche nelle razze bivoltine possiamo distinguere, con il Grandori, due strati nel blastema periferico: uno, immediatamente sottostante alla membrana vitellina, in cui le granulazioni formano uno straterello omogeneo, ed uno strato più interno, ben distinto dal tuorlo a grosse granulazioni, per la colorazione nucleare azzurra intensa ch'esso assume con l'Ematossilina Carazzi, o nera con l'Ematossilina Heidenhain, e costituito da granuli assai più

piccoli di quelli del tuorlo centrale. Le figg. 1 e 2 (Tav. I.) mostrano nettamente questa distinzione.

Per quanto riguarda il rapporto fra le dimensioni dei granuli centrali e quelli del blastema, i diametri di questi ultimi si possono, come grande media, ritenere di $1/4 - 1/5$ inferiori a quelli dei granuli centrali e cioè *più piccoli di quelli delle razze annue*.

Si verifica poi anche per le razze bivoltine, ed in maniera assai spiccata, quella differenza di comportamento di fronte ai reattivi, già registrata da Grandori per le razze annuali, fra i granuli del blastema periferico e quelli del tuorlo centrale. Questo ultimo con l'Ematossilina Carazzi si colora assai leggermente in azzurro, mentre intensa è la colorazione azzurra assunta dai granuli del blastema periferico (figg. 16, 20, 21, Tav. VIII). La spiegazione del fenomeno è stata intraveduta da Grandori ed esposta nella sua memoria sulla «Simbiosi ereditaria del Filugello» (1).

Nessun fatto nuovo mi è pertanto possibile di segnalare su questo punto.

Nelle sezioni di uova di 2 ore non mi è stato difficile di rintracciare i due primi blastomeri separati l'uno dall'altro, come si possono osservare in uova di razza annua della stessa età.

Detti blastomeri, in molte sezioni, si presentavano, a dire il vero, molto confusi e ciò a causa della colorazione poco differenziabile. In una sezione, però potei distinguere nettamente i due blastomeri, di forma sferoidale, posti sul piano sagittale dell'uovo in vicinanza del polo micropilare (fig. 1 - Tav. I), mentre in altre non potei scorgerne che uno soltanto, analogamente a quanto si verifica per le razze annue.

Si può quindi confermare che è appunto allo stadio di due ore circa che si compie nelle uova del Filugello la prima divisione che conduce alla formazione dei primi due blastomeri.

6 ore. — Sezioni eseguite su uova di 6 ore (fig. 2, Tav. I) mostrano chiaramente come, anche nelle razze bivoltine, i blastomeri si presentino al massimo grado polimorfi e quasi sempre ricchi di prolungamenti ameboidi (figg. 17 e 18, Tav. VIII). A cominciare però dall'epoca in cui si individualizza lo scudetto germinale (20^h ora) i blastomeri *riducono i loro prolungamenti ameboidi e si presentano frequentemente plurinucleati*, come nelle generazioni an-

(1) GRANDORI R. - *La Simbiosi ereditaria del Filugello*. - Atti del Reale Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti. Tomo LXXIX - Venezia 1920.

nue ritardate, sotto quella caratteristica forma di isolotti *stucizi*, con 2-3 nuclei, eccezionalmente sino a quattro nuclei come si può osservare nella fig. 19, Tav. VIII.

Tali isolotti multinucleati si possono osservare, anche in queste razze, in qualunque punto della massa del vitello, compresa anche la regione prossima al blastema. Viene così a confermarsi l'obiezione dei Grandori sulla supposta abbreviazione dello sviluppo che si verificherebbe nelle razze annue a generazione ritardata e che in realtà si verifica in quelle bivoltine.

Il prolungamento maggiore dei blastomeri è quasi sempre rivolto verso il centro dell'uovo, mentre la parte più grossa, contenente il nucleo, è rivolta verso la periferia.

A 6 ore il numero dei blastomeri è cresciuto, non però così notevolmente come nelle razze annue; detti blastomeri sono poi ancora piuttosto centrali, sebbene la loro tendenza, come lo dimostra la loro posizione, sia quella di migrare alla periferia (fig. 2, Tav. I).

12 ore. — Alla dodicesima ora in tutte le sezioni da me eseguite ho potuto notare la quasi completa formazione del blastoderma: la colorazione dei blastomeri, quando essi sono giunti alla periferia, diventa più intensa, e numerosi sono pure i blastomeri che restano nell'interno del tuorlo. Vi è qui notevole differenza con le razze annue, nelle quali il blastoderma può essere ancora notevolmente incompleto perfino alla sedicesima ora (fig. 3, Tav. I).

L'aspetto delle cellule blastodermiche è analogo a quello delle razze annue, sono cioè di forma più rotondeggiante che quadrangolare. Il prolungamento citoplasmatico, che era rivolto verso il centro dell'uovo nei blastomeri durante la migrazione superficiale, è quasi scomparso quando essi sono giunti alla superficie, e così pure gli altri prolungamenti. Sulla superficie esterna, rivolta alla membrana vitellina, le cellule blastodermiche sono perfettamente lisce, regolari, e, se si fa eccezione per quelle invase dai simbionti, solo qualche prolungamento rimane nella parte interna (fig. 21, Tav. VIII; fig. 22, Tav. IX).

Il particolare riportato a fig. 21 (Tav. VIII) mostra pure come, fra cellula e cellula blastodermica, permanga uno straterello costituito da finissime granulazioni che scomparirà solo in uno stadio più avanzato.

Interessante il fatto da me osservato di una più frequente di visione cariocinetica delle cellule blastodermiche, una volta raggiunta la posizione definitiva.

Ciò mi fa ritenere che la segmentazione, anche in queste uova bivoltine, sia in parte extravitellina. Le razze bivoltine si avvicineranno cioè alle razze annue a sviluppo ritardato già studiate dal Grandori. A 12 ore però nessuna zona della superficie del tuorlo rimane scoperta in questa razza, e ciò a differenza di quella annua a sviluppo ritardato.

Come nelle razze annue a sviluppo normale, anche per le bivoltine distinguiamo tre processi nettamente distinti e susseguentisi, come comprovano gli stadii ulteriori, e cioè:

- 1.^a) Formazione completa del blastoderma monostratificato;
- 2.^a) Individualizzazione dello scudetto germinativo da quello, e suo approfondimento verso l'interno;
- 3.^a) Susseguente stiramento e appiattimento delle rimanenti cellule del blastoderma, il quale si trasforma in sierosa ricompletandosi sul lato ventrale.

Formazione dello scudetto germinativo

La mancanza di materiale dello stadio di 18 ore non mi ha permesso di dimostrare, come ha fatto il Grandori per le razze annue, quella prima di differenziazione nello strato blastodermico primitivo, che conduce alla individualizzazione dello scudetto germinativo e consistente in un notevole aumento di spessore di quella parte di blastoderma che occupa il lato ventrale dell'uovo e che si estende notevolmente su tutti e due i fianchi del medesimo.

20 ore. — Sezioni di uova della 20.^a ora dalla deposizione, da me eseguite per la razza bivoltina, dimostrano infatti uno stadio di sviluppo embrionale alquanto avanzato. Lo scudetto germinativo non solo è perfettamente individualizzato, ma è già staccato dal resto del blastoderma e con i suoi bordi leggermente incurvati verso la massa del tuorlo. Le cellule della scudetto sono di spessore notevolmente superiore a quello delle cellule che ricoprono tutto il resto della superficie dell'uovo; dette cellule periferiche sono alquanto schiacciate e distanziate fra di loro e vanno costituendo appunto la membrana sierosa (fig. 4, Tav. II).

Lo scudetto germinativo è in questa razza molto allungato e notevolmente esteso sui due fianchi dell'uovo. Quanto mi appartiene mi sembra quindi per la razza bivoltina la denominazione di *scudetto* anziché di *placca* o *pietra* come molti chiamarono questo stadio precoce dello strato che è la prima origine dell'embrione.

Il particolare riportato a fig. 23 (Tav. IX) mostra nettamente l'avvenuto distacco dello scudetto germinativo e mette in evidenza la differenza di forma delle cellule di questo da quelle che sono rimaste a coprire la rimanente superficie dell'uovo. Una massa filamentosa citoplasmatica separa l'estremità dello scudetto dall'ultima cellula blastodermica. Come nelle razze annue, così per le bivoltine, si verifica, pertanto, una vera e propria rottura fra scudetto germinativo e rimanente strato blastodermico, ed in seguito a tale rottura lo scudetto subisce una spinta verso l'interno.

La fig. 24 (Tav. IX), corrispondente allo stadio di 21 ore, mostra l'accrescimento dell'involucro blastodermico al di sopra del lembo dello scudetto approfondito nel tuorlo; detto involucro costituisce, come si è detto, la *sierosa* che tende a ricoprire interamente lo scudetto germinativo stesso, formando un nuovo involucro sottilissimo e competamente chiuso.

In questo estendersi del lembo della sierosa sul lembo dello scudetto non si forma però, come non si forma neppure nelle razze annue, alcuna piega, e non esiste alcun raddoppiamento di strati.

24 ore. — A questo stadio si osserva un più accentuato sprofondamento dei bordi dello scudetto nell'interno del tuorlo, mentre il rimanente involucro blastodermico ha già completamente rivestito la superficie dell'uovo ed ha costituito la sierosa (fig. 5, Tav. II). Si inizia a questo stadio anche la formazione dell'ammio come si può rilevare dalla fig. 25 (Tav. IX).

Resta pertanto dimostrato che, anche nelle razze bivoltine, la porzione di blastoderma destinata a dare origine all'embrione si separa completamente, non appena essa è individualizzata, dal rimanente del blastoderma, destinato a dare origine alla sierosa.

Lo scudetto germinativo che si sprofonda rappresenta, nelle uova di razza bivoltina, come in quelle di razza annua, una prima porzione del medesimo, perchè quella calotta approfondata non è *tutta* la placca germinativa, bensì solo il primo nucleo di essa. L'aumento delle dimensioni dello scudetto avviene infatti, anche

nelle razze bivoltine, per giustapposizione di nuove cellule lungo tutto l'orlo della placca stessa. Le sezioni da me eseguite confermano in modo assai evidente l'asserzione del Grandori per le razze annue.

I particolari rappresentati nelle figg. 26 e 27 (Tav. IX) mostrano delle cellule vitelline appena uscite dalla massa del tuorlo che vanno a saldarsi con le cellule estreme della stria. Anche in queste razze bivoltine si deve registrare una maggiore intensità di giustapposizione di nuove cellule ai due estremi cefalico e caudale.

E' così che mentre la stria germinale occupava alla ventesima ora circa un terzo della periferia dell'uovo (fig. 4, Tav. II), quando alla 24.^a ora il processo di giustapposizione di cellule vitelline ai suoi estremi è finito, essa si estende — sempre sul piano sagittale — per circa la metà della periferia stessa, o poco meno (fig. 5, Tav. II), occupando cioè un semicerchio ventrale dell'uovo, o quasi.

L'origine della placca germinativa è quindi solo in parte blastodermica e in buona parte vitellina, come per le razze annue.

Solo qualche rara cellula, fuoriuscita dal tuorlo, ho potuto scorgere, nei preparati di 20 e 21 ore addossata alla superficie interna centrale dello strato germinativo. Ciò mi fa ritenere che assai limitato sia il processo d'accrescimento dello scudetto per mezzo di cellule che non si giustappongono ai suoi bordi ma si insinuano nello strato dello scudetto in punti diversi di esso.

Origine e formazione della serosa e dell'amnio

Allo stadio corrispondente al distacco dello scudetto germinativo dal blastoderma (18-20 ore) si nota, come per le razze annue, l'interruzione del blastoderma stesso al di sopra dell'embrione approfondatosi nel vitello (fig. 23, Tav. IX). In uova di 21 ore dalla deposizione si nota invece un notevole accrescimento del blastoderma che si appiattisce e tende a rivestire l'embrione (fig. 24, Tav. IX). In sezioni di uova di 20 ore ho potuto ancora osservare, fra lo strato germinativo e la serosa in via di reintegrazione, numerose cellule globose, con un nucleo perfettamente colorabile come quello delle sfere vitelline che solo a questo stadio vanno assumendo il loro aspetto caratteristico; cellule globose che erano state già osservate dal Grandori nelle razze annue. Le sezioni da

me eseguite confermano in modo assoluto quanto osserva il Grandori nel già ricordato studio, e cioè che queste cellule provengono dalla massa del vitello. Ciò si può asserire per l'evidente identità di forma e di struttura fra dette cellule e i blastomeri vitellini, dei quali conservano in parte il citoplasma filamentoso, solo un po' più addensato e un poco vacuolare (fig. 28 Tav. IX; figg. 29 e 30, Tav. X).

Sono appunto queste cellule quelle che tendono a ricostituire la porzione di serosa mancante saldandosi ai labbri della rottura o successivamente distendendosi ed appiattendosi.

Anche in questa razza le ultime cellule del labbro della serosa, in via di ricostituzione, sono costantemente le meno appiattite e le più globose, provviste di numerosi vacuoli, e nulla lasciano abitare sulla loro provenienza dal vitello (fig. 23, 24, Tav. IX).

Alla 24.^a ora la serosa è completa; dell'amnio invece, a questa età, non esistono che piccole tracce sui bordi dello scudetto, come per le razze annue; a differenza di queste ultime però, l'amnio non è completo alla 30.^a né alla 36.^a ora, ma, secondo le mie osservazioni, solo alla 40-42.^a ora.

Alla 24.^a ora si nota però, tra la parte ventrale dell'embrione e la serosa già ricompletata, qualche cellula migrante globosa, che va a formare l'amnio (fig. 31, Tav. X), con processo di giustapposizione e appiattimento simile a quello descritto per il completamento della serosa.

Le figure 22, 23, 24 e 25 (Tav. X) degli stadi di 30 e 36 ore vengono poi a confermare con documento evidente quanto dimostrava il Grandori per le razze annue, e cioè che l'amnio ha origine esclusivamente da blastomeri migranti dal vitello e la migrazione può compiersi attraverso la stria germinativa o girando intorno alle falde di questa a seconda che ciascun blastomero vada a formare rispettivamente la zona mediana o le zone periferiche dell'amnio.

Le sfere vitelline

La formazione delle sfere vitelline nelle razze bivoltine è perfettamente analoga a quella delle razze annue.

Sino alla 20.^a ora esse appaiono infatti costantemente come nuclei distintamente circondati da una piccola quantità di citoplasma di forma variabilissima e con prolungamenti ameboidi (figg.

17-18, Tav. VIII). A cominciare dalla 20.^a ora vediamo che queste cellule riducono il loro citoplasma, e si osservano molte cellule plurinucleate (fig. 13, Tav. VIII). Alla 24.^a ora osserviamo invece che il citoplasma di queste cellule comincia gradatamente a distendersi in una quantità di filamenti, la maggior parte dei quali si dispongono a raggiera, avente per centro il nucleo, ed irradiantisi verso la periferia di uno spazio chiaro che circonda questo. È però soltanto alla 30.^a ora che i granuli di vitello, dapprima uniformemente disseminati nell'interno dell'uovo, si riuniscono in masse secondarie per costituire le cosiddette « sfere vitelline », in modo da lasciare libero uno spazio sferico intorno al nucleo e formando intorno a tale spazio un rivestimento più o meno sferoidale.

Abbiamo cioè, anche nei bivoltini, delle cellule complete risultanti da uno o più nuclei, da un esilissimo straterello di citoplasma che li circonda, da numerosi filamenti citoplasmatici in parte raggiati ed in parte formanti reticolo, che pervadono tutto uno spazio chiaro, di forma non molto variabile, anzi quasi sempre sferica o sferoidale (eccezione fatta per quelle cellule a due o più nuclei nelle quali questo spazio può presentare forma ovoidale, talvolta molto allungata), completamente libero di granuli vitellini (fig. 6, Tav. III; fig. 36, Tav. X; fig. 37, Tav. XI); da altri numerosi filamenti citoplasmatici che sono la diretta continuazione dei precedenti, e che si insinuano fra l'uno e l'altro granulo vitellino, fino a raggiungere, formando un reticolato nelle cui maglie sono compresi i granuli vitellini, la periferia della sfera vitellina; ed infine da uno straterello di citoplasma che avvolge completamente all'esterno la sfera vitellina tutta intera.

Anche in queste razze troviamo poi che il reticolo citoplasmatico è più denso attorno al nucleo, e va diventando a maglie sempre più grandi verso la periferia.

Un fatto nuovo, che non trova riscontro nelle razze annue, è invece il seguente: *Le sfere vitelline, raggiunta la loro forma caratteristica alla 30.^a ora, vanno poi nuovamente trasformandosi gradualmente: alla 36.^a ora troviamo poche sfere vitelline, per lo più plurinucleate, ancora perfette, e le altre tutte scomposte (fig. 7, Tav. III); alla 48.^a ora poi ritroviamo i granuli vitellini uniformemente disseminati nell'interno dell'uovo come alla 20.^a ora, avendo tutte le sfere vitelline perduta la loro individualità cellulare (figg. 8 e 9, Tav. IV).*

Per quanto riguarda il modo di riproduzione, le mie osservazioni confermano che anche in queste razze bivoltine come per le razze annue, non si trovano figure cariocinetiche nei nuclei delle sfere vitelline dopo che esse si sono costituite come tali. La riproduzione avviene quindi per gemmazione nucleare, a cui succede la divisione diretta della cellula vitellina.

Origine del mesoderma

Il particolare riportato a fig. 38 (Tav. XI), corrispondente allo stadio di 30 ore, mostra nettamente, a meno che le cellule in esso rappresentate non si vogliano interpretare come cellule amniotiche in atto di attraversare la stria germinale, come la formazione del mesoderma si inizi, nelle razze bivoltine, fino dalla 30.^a ora. Le cellule amniotiche sono però, come lo dimostrano le figg. 27 e 29 (Tav. IX e X), più globose di quelle che si possono osservare nella fig. 38, cosicchè mi sembra si possa senz'altro interpretare le cellule addossate alla superficie interna dello scudetto in quest'ultima figura come l'inizio di un cumulo mesodermico.

36 ore. — In sezioni della 36.^a ora (fig. 7, Tav. III; figg. 39 e 41, Tav. XI) si può osservare l'avanzata formazione del mesoderma. Come per le razze annue, così nelle bivoltine, in corrispondenza a ciascuna delle zone nelle quali si va accumulando il mesoderma, i granuli vitellini assumono una disposizione speciale. Sono granuli piccoli che assorbono più intensamente dei granuli quello colore plasmatico e si tingono pure con i colori nucleari; inoltre, essi si dispongono in mucchietti conici sulla superficie interna o sulla linea mediana della stria germinale ad intervalli più o meno regolari. Tali conici (fig. 39, Tav. XI) hanno la base rivolta alla stria e l'apice verso il centro dell'uovo; e dall'apice si prolungano delle serie sottili dei medesimi granuli insinuantisi nei meati del vitello e dividenti fra loro le sfere vitelline, per lo più plurinucleate, che si addossano alla stria germinale. In seno a queste masserelle coniche di vitello che si ripetono metamericamente, si scorgono numerose cellule globose — evidentemente figlie delle sfere vitelline — che migrano a formare i mucchietti mesodermici.

L'origine, almeno in parte vitellina, dei cumuli mesodermici, viene pertanto confermata, anche per le razze bivoltine, dalle osservazioni dei preparati da me eseguiti.

Non si può però qui aggiungere, con il Grandori, che la formazione del mesoderma si inizi dopo la formazione della membrana amniotica, dato che la formazione del mesoderma si inizia alla 36.^a ora e la membrana amniotica si completa in queste razze assai tardivamente, e cioè soltanto alla 40-42.^a ora. In breve, vi è in queste razze una maggior precocità di sviluppo del mesoderma e un ritardo nel completamento dell'amnio in confronto alle razze annue.

Anche nelle razze bivoltine si denota assai spesso un'intima unione fra cumulo mesodermico e superficie interna dello strato ectodermico; ma, come osserva il Grandori per le razze annue, anche nelle bivoltine il cumulo mesodermico è quasi sempre formato, anche nella parte strettamente saldata alla stria, da cellule con nuclei sensibilmente più grandi di quelli ectodermici, è più o meno globose.

In qualche sezione, però, ho potuto anch'io constatare la perfetta somiglianza fra cellule dell'ectoderma e cellule vitelline costituenti il cumulo mesodermico contemporaneamente alla presenza di un soleo ectodermico discretamente accentuato; in molte altre sezioni invece la disposizione e i caratteri delle cellule mesodermiche in corrispondenza al soleo primitivo nello stadio di 36 ore (che dovrebbe essere il più significativo perchè il mesoderma è appena al suo inizio) indicano esclusivamente un'origine vitellina per le cellule costituenti i cumuli mesodermici (fig. 41. Tav. XI). Queste diverse disposizioni fanno ritenere che se l'origine del mesoderma è indubbiamente, nella massima parte, vitellina, debba essere, sia pure in piccola parte, d'origine ectodermica. Ciò conferma le vedute di Tichomiroff e di Grandori sulla formazione mista del mesoderma nel Filugello.

I cumuli mesodermici che nelle razze annue alla 36.^a ora sono nettamente visibili in numero di 18, separati fra di loro da brevi intervalli, sono invece, nelle bivoltine, in piccola parte completamente formati, per essere completi solo a 42 ore. Così pure l'amnio, come si è visto, è completo solo alla 42.^a ora. Anche le due piccole inflessioni dello strato ectodermico, primi accenni dell'apertura boccale ed anale all'estremità anteriore e posteriore della stria germinale nelle razze annue, sono appena percettibili nelle razze bivoltine (fig. 7, Tav. III).

A 36 ore infine, la stria germinale, anzichè essere completamente immersa nella massa del tuorlo, come nelle razze annue, si

trova ancora per buona parte aderente alla serosa e solo con i suoi bordi immersi nel tuorlo stesso (fig. 7, Tav. III).

Contrariamente ad ogni previsione quindi, per quanto riguarda l'amnio e l'approfondimento dell'embrione, lo sviluppo anzichè essere accelerato è ritardato in confronto ai due corrispondenti processi delle razze annue.

42 ore. — A 42 ore (fig. 8, Tav. IV), l'embrione è completamente immerso nella massa del tuorlo; i 18 cumuli mesodermici sono interamente formati, come pure interamente costituito è l'amnio. E' pure bene visibile l'introflessione ectodermica stomodaele. Le sferette vitelline sono appena distinte fra di loro. Nel complesso lo stadio di 42 ore corrisponde a quello di 36 ore delle razze annue quando queste entrano in diapausa; ma qui nelle bivoltine vi è già a questo stadio una metamorfia pronunciata nell'ectoderma, segnatamente nella regione toracica e addominale anteriore.

Dalle 48 ore dalla deposizione alla blastocinesi

Sezioni praticate in uova di razza bivoltina allo stadio di 48 ore (fig. 9, Tav. IV) denotano subito una differenza assai sensibile dal precedente stadio di 42 ore. La stria germinale si presenta notevolmente allungata ed assottigliata; le estremità cefalica e caudale, a 42 ore profondamente ricurve ed immerse nella massa del tuorlo, hanno subito una specie di distensione ed ora la stria germinale occupa quasi $\frac{1}{5}$ della periferia dell'uovo, sempre sul piano sagittale. L'ectoderma sul lato ventrale presenta diverse sporgenze, di cui tre più accentuate delle rimanenti e più prossime all'estremo cefalico che non a quello addominale. Sono questi gli abbezz delle tre paia di zampe toraciche.

La metamorfia ectodermica è quindi evidente anche in questo stadio il quale si può raffrontare con quello delle razze annue al 2.^o 3.^o giorno d'incubazione. Le cellule vitelline hanno perduto completamente il loro aspetto caratteristico, ma più numerosi sono i nuclei visibili nella massa del tuorlo. Gli accenni del proctodeo e dello stomodeo sono completamente scomparsi (fig. 9, Tav. IV).

A 60 ore l'embrione delle razze bivoltine si può perfettamente raffrontare a quello delle razze annue alla 5.^a giornata d'incubazione (fig. 10, Tav. V).

Le zampe toraciche sono nettamente delineate.

Le prime quattro prominenze ectodermiche pertinenti alla regione della testa, costituita da quattro metameri (abbozzi delle antenne, delle mandibole, delle mascelle e del labbro inferiore), sono pure ben distinte fra loro. Le sporgenze dell'addome invece non sono ancora tutte bene pronunciate. Le introflessioni ectodermiche, costituenti gli abbozzi del proctodeo e dello stomodeo, sono in questo stadio, abbastanza visibili. — come pure ben distinto è il cumulo mesoendodermico anteriore.

Ma lo sviluppo più accelerato si deve registrare nel breve spazio di tempo che passa dallo stadio di 60 a quello di 96 ore.

Mancanza di materiale mi ha impedito di fare delle sezioni in un tempo intermedio a questi due, e di potere così seguire passo per passo la formazione dei principali organi dell'embrione, come è stato dimostrato per le razze annue. Allo stadio di 96 ore infatti l'embrione ha compiuto una rapida e cospicua evoluzione, e sta già facendo la blastocinesi. La catena nervosa gangliare è completa, ed è bene visibile la fossetta della parete ectodermica nel segmento cefalico, che rappresenta l'origine del futuro tubo escretore delle ghiandole della seta (fig. 11, Tav. V). Così pure ben distinti sono i gangli sopra- e sottoesofageo ed il corpo subesofageo.

Blastocinesi

L'embrione del baco da seta di razze annue, allorchè si sviluppa in condizioni normali, si dispone a compiere la blastocinesi all'11-12° giorno d'incubazione. E mentre nei precedenti giorni, finchè cioè la blastocinesi è ancora lontana, l'embrione è molto allungato ed occupa più della metà della periferia dell'uovo, giungendo anche fino ad occuparne $\frac{2}{3}$, all'avvicinarsi del momento della blastocinesi esso si raccorcia molto notevolmente fino a che, quando sta per iniziare il movimento, ne occupa soltanto $\frac{1}{3}$ e poco più, in ogni caso sempre meno della metà». (1) Questo per le razze annue, come ha dimostrato il Grandori. Nelle razze bivoltine, come si è dianzi accennato, mancando il periodo della diapausa, questo fenomeno avviene al 4.° giorno dalla deposizione delle uova, ma le modalità secondo le quali la blastocinesi si compie sono pressochè le stesse che nelle razze annue.

(1) GRANDORI R. - *Anomalie nell'embriogenesi del Bombyx mori*. - Atti del R. Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti, Venezia 1916.

Una differenza riguarda il *raccorcamento dell'embrione*. Questo raccorcamento non è certo così notevole come per le razze annue. L'embrione che prima della blastocinesi occupava i $\frac{2}{3}$ della periferia dell'uovo, ora ne occupa forse un po' più della metà e non già $\frac{1}{3}$, come nelle razze annue.

Da un attento esame delle sezioni si può inoltre rilevare un ripiegamento quasi elicoidale dell'embrione, all'estremità caudale, nella massa del tuorlo, e ciò spiega come la sezione da cui è tratto il disegno da me riprodotto (fig. 11, Tav. V) non potesse comprendere per intero l'intestino posteriore e la catena nervosa gangliare.

L'embrione, pure essendo lungo e voluminoso, di ben poco raccorciato rispetto a quello di 60 ore, riesce tuttavia a compiersi egualmente bene la blastocinesi come lo dimostra il successivo stadio di 5 giorni a blastocinesi compiuta (fig. 12, Tav. VI).

Altra differenza è la seguente:

La parete ventrale del corpo durante la blastocinesi, anzichè presentarsi sottilissima, come nelle razze annue, si presenta di già notevolmente ispessita.

Per quanto riguarda invece lo sviluppo dei rimanenti organi vi è perfetta analogia con le razze annue, cioè:

a) La parete dorsale del corpo è quasi totalmente costituita per il ravvicinarsi delle due pieghe che fa la membrana amniotica alla superficie dorsale dell'embrione, e l'orificio ombelicale è alquanto ristretto come nelle razze annue.

b) Le invaginazioni stomodale e proctodale sono anche qui notevolmente approfondite, tanto da spingersi l'una incontro all'altra per poco meno di $\frac{1}{3}$ della lunghezza totale dell'embrione; ai fondi ciechi delle due invaginazioni si salda l'epitelio della zona ventrale dell'intestino medio. Nella fig. 11 (Tav. V) detto epitelio, anzichè apparire ininterrotto, come in realtà esso è, presenta una soluzione di continuità in prossimità dell'invaginazione stomodale, e ciò per la ragione sopra esposta.

Si conferma così quanto il Grandori ha esposto per le razze annue: «Allo stadio corrispondente alla blastocinesi una esile (nel caso nostro *spessa*) zona ventrale è completamente costituita; le zone laterali sono in via di costituzione; la zona dorsale manca del tutto. Ma in nessun caso il vitello si insinua attraverso le soluzioni di continuità presentate dall'epitelio dell'intestino medio; esso rimane sempre nettamente delimitato sulla linea ove questo epitelio si va formando, come se l'epitelio fosse completo. Si costi-

trisce insomma una sorta di cilindro di vitello, appoggiato ai due fondi ciechi del proctodeo e dello stomodeo, a ridosso del quale si va modellando l'opitelio del « mesenteron » procedendo dalla linea mediana ventrale verso quella mediana dorsale. Cosicché mai si riscontrano globuli vitellini o frammenti di essi nella cavità laterale dell'embrione normale in questa età ».

c) Per quanto riguarda la giacitura e le dimensioni dell'embrione in rapporto a quelle dell'uovo è da notarsi, anche per le razze bivoltine, la caratteristica conformazione a mo' di lettera S che prelude agli ulteriori movimenti che completeranno la blastocinesi; ma voglio ancora qui ricordare il *maggior sviluppo dell'embrione* in raffronto delle razze annue; per cui, se si immaginasse distesa la sua curvatura ad S, *sorpasserebbe di certo, e notevolmente, l'intero asse longitudinale dell'uovo*.

In altre parole, qui nella blastocinesi si ha con grande chiarezza la dimostrazione di una legge che si verifica in tutte le età embrionali del bivoltino in paragone con quelle delle razze annuali, legge che si può così esprimere:

Mentre l'asse antero-posteriore e la periferia dell'uovo sono più corti nel bivoltino che nell'annuale, l'embrione bivoltino in confronto con quello annuale in ciascuna età è più corto, ma non nella stessa proporzione che corre fra gli assi e le periferie delle uova dei due tipi di razze.

Dalla blastocinesi alla schiusura

A rivolgimento appena compiuto (5.^o giorno nelle razze bivoltine, 12.^o giorno nelle razze annue ad incubazione normale) l'embrione è notevolmente allungato (fig. 12, Tav. VI), tanto da occupare quasi l'intera periferia dell'uovo, e ciò comprova le mie vedute sul maggiore allungamento dell'embrione in raffronto alle razze annue, in tutti gli stadi.

Credo poi di non essere lontano dal vero nell'affermare che l'accrescimento dell'embrione avviene, sia pure in piccola parte, anche durante la blastocinesi; e ciò in relazione alla particolare disposizione dell'embrione stesso, nella massa del tuorlo durante detto fenomeno. La curvatura che presenta l'embrione a blastocinesi compiuta, è unica, ma non definitiva, come dimostrano le figure degli stadi seguenti; essa è invertita rispetto a quella che

precede il rivolgimento, dimodoché ora l'embrione è rivolto con la faccia ventrale verso il centro dell'uovo e quella dorsale verso la periferia, mentre prima vi rivolgeva quella ventrale; cosicché le zampe toraciche e le false zampe addominali vengono ora a convergere verso il centro dell'uovo stesso. L'intestino medio, sul piano sagittale, si presenta completo; nessuna soluzione di continuità, fatta eccezione dell'ombelico, si ha a riscontrare nell'epitelio dell'ipoderma dorsale; non esistono più contatti fra vitello intestinale e quello extraembrionale che è relegato ormai tutto al di fuori dell'apertura ombelicale. Si è pure quasi completamente formato il vaso dorsale, ancora però aperto dorsalmente in corrispondenza dell'ombelico. La catena nervosa è completa. L'aorta dorsale in diretta continuazione del vaso pulsante, nel torace e nella testa, è pure formata. L'intestino anteriore e posteriore sono allungati, ristretti e completamente vuoti. L'ammio avvolge la cavità amniotica che circonda tutto l'embrione. Lo sbocco delle ghiandole sericigene è bene individualizzato e l'ipoderma presenta uno spessore notevole.

Al 6.^o giorno dalla deposizione (13.^o giorno d'incubazione nelle razze annue a sviluppo normale) ad un giorno cioè di distanza dalla compiuta blastocinesi, un notevole ed ulteriore sviluppo si può osservare nell'embrione (fig. 13, Tav. VI). E' nota la descrizione che il Grandori (1) diede di questo stadio per le razze annue: « Sezioni di uova fissate alla 13.^a giornata d'incubazione contenevano un embrione che, avendo già da tempo compiuta la blastocinesi, giaceva con la superficie dorsale convessa verso la periferia dell'uovo e la ventrale concava rivolta verso il centro, ove si raccoglievano le zampe toraciche e quelle addominali. L'estremità anteriore dell'embrione non era ancora ad immediato contatto con quella posteriore, ma ben piccolo spazio separava queste due estremità, spazio che era ancora occupato da un sottile istmo di sostanza vitellina che rinviva il grosso sacco vitellino centrale con la piccola calotta vitellina ancora visibile verso il polo micropilare ed addossata alla siera in quella regione subpolare ». Questa descrizione, come mostra la fig. 13 (Tav. VI), si può ripetere esattamente per le razze bivoltine alla 6.^a giornata dalla deposizione.

(1) R. GRANDORI - *Giacitura dell'embrione bombicino nell'uovo dalle ultime tre giornate di incubazione, e fenomeni che vi si connettono*. - Annuario della R. Stazione Bacologica di Padova, Vol. XLII, Padova, 1917.

L'apertura ombelicale è a questo stadio perfettamente chiusa e la parete dorsale dell'embrione interamente formata. L'intestino medio è pieno quasi interamente di vitello conservante la stessa struttura e colorabilità del vitello extraembrionale (vitello che si trovava sul posto di formazione dell'intestino medio già prima della blastocinesi). E' invece totalmente privo di vitello l'intestino anteriore e quello posteriore che si presentano ora assai più allargati dello stadio precedente; il posteriore è quasi suddiviso in due porzioni da una strozzatura delle pareti intestinali, e l'anteriore in diretta comunicazione con l'esofago. La sierosa è ancora completa, e pure completo, sebbene ridotto ad una sottigliezza estrema, è l'annio che avvolge il vitello centrale in un sacco tutto chiuso.

L'intestino medio è separato da quello anteriore e posteriore per mezzo di due sottilissime membrane divisorie che non sono altro se non i due fondi, molto assottigliati, delle invaginazioni del proctodeo e dello stomodeo saldati ai due estremi del meso-intestino. L'ipoderma si presenta ora distintamente pieghettato, e sulle pieghe si inseriscono i peli. Sono pure ben distinguibili le ghiandole sericigene, i tubi malpighiani, il tessuto adiposo ed i leucociti. I gangli nervosi sono tutti perfettamente costituiti, di forma globosa e poco distanziati gli uni dagli altri. Più grosso si presenta il ganglio sopranoesofageo e più piccolo di tutti il ganglio frontale. Ben distinto è pure lo sbocco delle ghiandole sericigene.

Studiando numerose uova di razza annua che erano state fissate alla 13.^a giornata di incubazione, il Grandori poteva osservare un embrione giacente in maniera assai diversa da quella descritta precedentemente: « Il corpo dell'embrione, — scrive il Grandori — non era foggiato a lettera U, bensì avvolto su tre segmenti, compiendo così non più una sola *grande curvatura* lungo la curvatura del polo antimicropilare dell'uovo, ma una grande ed una *piccola curvatura*; la grande rimaneva nella stessa posizione come nelle uova con embrione meno avanzato nello sviluppo e piegato semplicemente ad U; la piccola curvatura, nuova del tutto, si produceva fra il 6.^o e 7.^o segmento addominale dell'embrione, in maniera da invaginare entro la concavità della lettera U, precedentemente occupata dal sacco vitellino centrale, tutta la rimanente parte dell'addome ».

Ora tale stadio corrisponde perfettamente a quello di 7 giorni nelle razze bivoltine. E poichè la nascita dei bivoltini da me studiati si è verificata al 9.^o e 10.^o giorno, e la partita di uova di

razza annua studiata dal Grandori diede nascite al 16.^o giorno d'incubazione, si può concludere che *nelle razze bivoltine il rinvoltimento avviene due o tre giorni prima della nascita, come nelle razze annue.*

Come il Grandori ha fatto rilevare per le razze annue, così per le bivoltine, si verifica, nelle uova di 7 giorni, il fenomeno del *ravvolgimento elicoidale*. Nella giacitura ad U di 6 giorni l'embrione giace in modo che il proprio piano sagittale coincide con quello sagittale dell'uovo; nella giacitura su tre segmenti invece ciò non si verifica. Le figg. 14 e 15 (Tav. VII) lo dimostrano assai evidentemente. Nella sezione, non perfettamente *sagittale*, rappresentata dalla fig. 14, appaiono i due segmenti della grande curvatura embrionale e un accenno del terzo segmento della piccola curvatura, ma non è visibile l'ultima parte dell'intestino medio né quello posteriore. Nella sezione perfettamente *sagittale* rappresentata dalla fig. 15 (Tav. VII), corrispondente allo stadio di 8 giorni, non appare invece il terzo segmento. La figura stessa fa però intuire quale sia la posizione dell'embrione in quest'ultimo stadio. Come rilevava il Grandori, la parte posteriore dell'addome è non solo invaginata fra i due altri segmenti, ma è *ritorta*, deviando dal piano di simmetria sagittale; *si tratta di un vero rinvoltimento elicoidale molto più accentuato, per insufficienza di spazio, di quello osservato al momento della blastocinesi.*

Per quanto poi riguarda il grado di spostamento del 3.^o segmento addominale sul piano sagittale dell'uovo, le figure da me riportate, per le razze bivoltine, vengono pienamente a confermare le vedute del Grandori esposte a pag. 98-99-100-101 dell'opera già citata (V. Nota a pag. 129).

Lievi differenze mi sembra invece di dovere registrare per quanto riguarda la giacitura ed il grado di sviluppo della testa e del torace al momento della schiusa. Se nella fig. 15 (Tav. VII) dello stadio di 8 giorni si tira infatti il piano longitudinale mediano perpendicolare a quello sagittale, si trova che la testa non giace completamente nella metà dell'uovo opposta a quella dove giace la piccola curvatura embrionale, bensì una buona parte viene a trovarsi nella stessa metà dell'uovo ove trovasi detta piccola curvatura.

Ciò fa ritenere che lo sviluppo della piccola curvatura nell'embrione micropilare dell'uovo, pure raggiungendo con la sua convessità l'estremo cefalico dell'embrione, non sia tale da porre un

netto ostacolo all'anteriore sviluppo della superficie dorsale cefalica. L'apertura boccale viene così a trovarsi, al momento della schiusa, alquanto spostata dal polo micropilare del guscio, come si può rilevare anche dall'erosione fatta dal bacolino nascente sul guscio stesso, erosione che è appunto *leggermente* spostata dalla posizione simmetrica rispetto al micropilo.

Nelle uova di 7 giorni il sacco vitellino centrale è completamente scomparso, ed al suo posto si trova la porzione posteriore dell'addome; con il vitello è pure scomparso l'amnio che lo avvolgeva ed è scomparsa la membrana sierosa. Si presenta invece infarungo di vitello l'intestino anteriore (eccetto l'esile tubo faringeo) che prima era vuoto e che ora ha un calibro maggiore di quello dell'intestino medio, ma costituito da un tubo a pareti sottilissime in confronto di quest'ultimo, e che occupa quasi tutta la cavità dei primi due segmenti toracici. Così pure è rigonfio di vitello tutto l'intestino medio, ed anche quella prima parte d'intestino posteriore che precede la stretta piega che si produce in corrispondenza alla piccola curvatura embrionale. Tale regione corrisponde a quella che appare ben distinta nella fig. 13 (Tav. VI), fra il diaframma che separa l'intestino medio dal posteriore e la strozzatura delle pareti di quest'ultimo, poco oltre la metà della sua lunghezza.

Il rimanente dell'intestino posteriore, sino all'ano, come pure il sottile tubo faringeo sono invece sgombri da vitello; ma tale disposizione non si conserva sino alla nascita, poichè allo stadio di 8 giorni il vitello ha invaso ogni spazio libero nella regione della testa. L'inghiottimento del vitello centrale è dunque avvenuto evidentemente a questo stadio di 7 giorni. Rotto l'involucro amniotico del sacco vitellino, il vitello è spinto ad occupare tutti i più angusti spazi disponibili, come si verifica per le razze annue. Le sottili divisioni che separavano l'intestino medio dall'anteriore e dal posteriore sono lacerate, come bene dimostra la fig. 14 (Tav. VII), ed ogni spazio è riempito, eccezione fatta per la seconda concamerazione dell'intestino posteriore, e, in un primo tempo, per il tubo faringeo, come si è sopra detto. Così il vitello si introduce nell'esile spazio periferico che intercede fra il guscio corneo dell'uovo e la cuticola della superficie dorsale dell'embrione, come pure fra le introflessioni più esili della cuticola fra metamero e metamero del corpo dell'embrione alla sua superficie ventrale, ed infine nella bocca, nella faringe e nell'esofago, attraverso cui il vitello discende

nella cavità intestinale della regione toracica precedentemente vuota. Si osserva tuttavia ancora un notevole spazio vuoto fra la bocca dell'embrione e la convessità della piccola curvatura embrionale; detto spazio però è destinato, come dimostra la fig. 15 (Tav. VII) dell'8.^o giorno, allo sviluppo ulteriore della testa.

Prima dell'inghiottimento il vitello centrale extraembrionale e quello intestinale conservano, come nelle razze annue, la loro struttura primitiva identica a quella del vitello alla fine della prima giornata dalla deposizione. Ma durante l'inghiottimento tanto il vitello extraembrionale quanto quello intestinale perdono la loro struttura cellulare, i nuclei cominciano ad impallidire, i granuli di eromatina non si distinguono più, e ciascun nucleo appare come una macchia colorata con uguale intensità in ogni suo punto. I granuli del vitello poi perdono la loro individualità e si fondono fra di loro per formare una massa unicolore e di struttura omogenea o a granulazioni finissime (figg. 14-15, Tav. VII).

Non abbiamo però da registrare, come nelle razze annue, quella precocità di regresso istolitico, plasmatico e nucleare, del vitello extraembrionale in raffronto a quello dell'intestino medio. Nelle razze bivoltine, al 7.^o giorno, il vitello extraembrionale e quello dell'intestino medio appaiono perfettamente identici come si è sopra descritto. L'amnio viene egualmente inghiottito assieme al vitello che esso avvolgeva, e la stessa sorte subisce la sierosa che a 7 giorni è scomparsa. Alcune cellule della sierosa disfatta si trovano entro il lume dell'intestino medio e del canale esofageo. Tre giorni prima dello schiudimento quindi, come rilevava il Grandori per le razze annue, è avvenuto per opera dell'embrione l'inghiottimento della sierosa, dell'amnio avvolgente il vitello centrale, e del tuorlo centrale stesso (fig. 15, Tav. VII).

Allo stadio di 8 giorni l'embrione ha raggiunto il suo completo sviluppo. — Lo spazio visibile nello stadio precedente, fra la bocca e la convessità della piccola curva addominale, è scomparso — il costipamento del bacolino nell'uovo è massimo; la posizione definitiva del bacolino è raggiunta. L'orlo anteriore dell'epitelio dell'intestino medio è spostato anteriormente per le vuotarsi e raggrinzarsi graduale dell'intestino anteriore che fungeva da serbatoio temporaneo. L'ampia cavità a pareti esilissime, che si osservava nello stadio precedente, è ora quasi scomparsa per formare quell'imbuto cavo che è noto sotto il nome di *proventricolo*.

Sono scomparsi i frammenti di vitello fra guscio e superficie dorsale dell'embrione che si rilevavano nello stadio precedente, e la deglutizione del materiale vitellino è ormai completa. La massa di vitello, spingentesi sino alla seconda concamerazione dell'intestino posteriore, ed occupante ogni spazio libero all'estremità cefalica, è ora perfettamente omogenea, leggermente striata nel senso dell'asse longitudinale dell'uovo. Tutti gli organi hanno raggiunto il loro completo sviluppo, e la testa, notevolmente ingrossata, è spinta un po' verso lo stesso lato dell'uovo ove trovasi la piccola curvatura addominale. Il bacolino è ormai pronto per la nascita, e vedrà la luce il giorno successivo.

Spiegazione delle Tavole

Spiegazione delle lettere

| | |
|--|--|
| <i>am.</i> — amnio. | <i>cc.</i> — ectoderma. |
| <i>ao.</i> — aorta. | <i>cm.</i> — epitelio de l'intestino medio. |
| <i>bl.</i> — blastoderma. | <i>gf.</i> — gauglio frontale. |
| <i>bm.</i> — blastomeri vitellini. | <i>gn.</i> — globuli del sangue. |
| <i>bp.</i> — blastema periferico. | <i>gsp.</i> — gauglio sopracrofago. |
| <i>ca.</i> — cellule globose migranti a formare l'amnio. | <i>gsr.</i> — ghiandole sericigene. |
| <i>cem.</i> — cellule amniotiche. | <i>gst.</i> — gauglio sottocefago. |
| <i>cop.</i> — cellule migranti a formare l'amnio ed in via di appiattimento. | <i>ia.</i> — intestino anteriore. |
| <i>cov.</i> — cavità amniotica. | <i>ia.</i> — intestino medio. |
| <i>cb.</i> — cellule blastodermiche. | <i>ip.</i> — intestino posteriore. |
| <i>cm.</i> — cellule globose migranti dal vitello a formare il mesoderma. | <i>ipd.</i> — ipoderma. |
| <i>co.</i> — con il vitello più colorabili segmenti i segmenti mesodermici. | <i>ix.</i> — invaginazione ghiandole sericigene. |
| <i>ca.</i> — cellule globose migranti a formare la sierosa. | <i>mv.</i> — membrana vitellina. |
| <i>cl.</i> — cellule globose migranti dal vitello a completare l'amnio o la sierosa dove sono ancora incompleti. | <i>oc.</i> — oesofago. |
| <i>cv.</i> — cellule vitelline. | <i>om.</i> — ombelico. |
| <i>cat.</i> — catena nervosa caudale. | <i>p.</i> — peli. |
| <i>cu.</i> — cumuli mesodermici. | <i>sp.</i> — scheletto germinativo. |
| | <i>sf.</i> — sfere vitelline. |
| | <i>st.</i> — sierosa. |
| | <i>st.</i> — stria germinale. |
| | <i>vc.</i> — vacuoli cellulari. |
| | <i>vd.</i> — vaso dorsale. |
| | <i>ve.</i> — vitello extraembriionale. |
| | <i>vi.</i> — vitello intestinale. |
| | <i>vm.</i> — vasi multighigiani. |

TAVOLA I.

Fig. 1. — Sezione sagittale di uovo di 2 ore dalla deposizione (è rappresentata solo una metà della sezione) che mostra lo strato periferico di vitello a granulazioni minutissime e il tuorlo centrale a grosse granulazioni (Ingr. 90 diam.).

Fig. 2. — Come la precedente, a 6 ore dalla deposizione (Ingr. 90 diam.).

Fig. 3. — Come le precedenti, a 12 ore dalla deposizione (Ingr. 120 diam.).

TAVOLA II.

Fig. 4. — Sezione sagittale di uovo a 20 ore dalla deposizione (Ingr. 100 diam.).

Fig. 5. — Come la precedente, di uovo alla 24.ª ora dalla deposizione (Ingr. 100 diam.).

TAVOLA III.

Fig. 6. — Sezione trasversale di uovo alla 30.a ora dalla deposizione. Lo scudetto germinale giace sul lato ventrale dell'uovo, asimmetricamente rispetto al piano sagittale (Ingr. 90 diam.).

Fig. 7. — Sezione sagittale di uovo a 36 ore dalla deposizione. Si inizia la formazione dei cumuli mesodermici. (Ingr. 90 diam.).

TAVOLA IV.

Fig. 8. — Sezione sagittale di uovo a 42 ore dalla deposizione. Si pronuncia la metamorfia dell'ectoderma (Ingr. 90 diam.).

Fig. 9. — Sezione sagittale di uovo a 48 ore dalla deposizione. (Ingr. 90 diam.).

TAVOLA V.

Fig. 10. — Sezione sagittale di uovo a 60 ore dalla deposizione. (Ingr. 90 diam.).

Fig. 11. — Sezione sagittale di uovo a 96 ore dalla deposizione. Stadio di blastocinesi in atto (Ingr. 90 diam.).

TAVOLA VI.

Fig. 12. — Sezione sagittale di uovo a 5 giorni dalla deposizione (Ingr. 90 diam.).

Fig. 13. — Sezione sagittale di uovo a 6 giorni dalla deposizione (Ingr. 90 diam.).

TAVOLA VII.

Fig. 14. — Sezione sagittale, un po' obliqua, di uovo a 7 giorni dalla deposizione (Ingr. 90 diam.).

Fig. 15. — Sezione sagittale di uovo a 8 giorni dalla deposizione. Embrione maturo, pronto allo schiudimento (Ingr. 90 diam.).

TAVOLA VIII.

Fig. 16. — Particolare della zona periferica di uovo a 2 ore dalla deposizione (Ingr. 900 diam.).

Fig. 17-18. — Blastomeri, in uovo di 6 ore dalla deposizione (Ingr. 900 diam.).

Fig. 19. — Isolotto - sincizio vitellino in uovo di 20 ore dalla deposizione. (Ingr. 1200 diam.).

Fig. 20. — Particolare del blastema periferico in uovo di 6 ore dalla deposizione (Ingr. 900 diam.).

Fig. 21. — Come la precedente, in uovo di 12 ore dalla deposizione. (Ingr. 900 diam.).

TAVOLA IX.

Fig. 22. — Come le due precedenti, in uovo di 12 ore dalla deposizione. (Ingr. 1200 diam.).

Fig. 23. — Particolare mostrante il distacco dello scudetto germinale dal blastoderma e le cellule della sierosa in via di ricostituzione in uovo di 20 ore dalla deposizione (Ingr. 900 diam.).

Fig. 24. — Particolare illustrante l'accrescimento dell'involucro blastoder-

mico trasformantesi in sierosa all'esterno dello scudetto germinale in uovo di 21 ore dalla deposizione (Ingr. 235 diam.).

Fig. 25. — Particolare illustrante l'inizio della formazione dell'amnio in uovo di 24 ore dalla deposizione (Ingr. 235 diam.).

Fig. 26. — Accrescimento della stria germinale: cellule migranti dal vitello che si saldano ai bordi della stria, in uovo di 21 ore dalla deposizione (Ingr. 235 diam.).

Fig. 27. — Accrescimento della stria germinale e formazione dell'amnio; si vedono le cellule globose migranti in uovo di 21 ore dalla deposizione. (Ingr. 235 diam.).

Fig. 28. — Particolare illustrante la formazione della sierosa all'esterno della stria germinale in uovo di 20 ore dalla deposizione. Cellule globose microgranuli. (Ingr. 235 diam.).

TAVOLA X.

Fig. 29. — Particolare illustrante la formazione dell'amnio per opera delle cellule globose migranti dal vitello in uovo di 20 ore dalla deposizione. (Ingr. 235 diam.).

Fig. 30. — Altro particolare illustrante la ricostituzione della sierosa in uovo di 20 ore dalla deposizione. (Ingr. 235 diam.).

Fig. 31. — Cellula migrante che va appiattendosi e va a costituire l'amnio in uovo di 24 ore dalla deposizione. (Ingr. 235 diam.).

Fig. 32. — Particolare di cellula amniotica, in uovo di 30 ore dalla deposizione. (Ingr. 235 diam.).

Fig. 33. — Cellula appena uscita dal tuorlo, migrante a formare l'amnio in uovo di 30 ore dalla deposizione (Ingr. 235 diam.).

Fig. 34. — Cellule migranti in atto di attraversare la stria germinale per la formazione dell'amnio, in uovo di 30 ore dalla deposizione (Ingr. 235 diam.).

Fig. 35. — Cellula amniotica sul lato dorsale della stria germinale in uovo di 30 ore dalla deposizione (Ingr. 235 diam.).

Fig. 36. — Sfera vitellina b'nucleata in uovo di 30 ore dalla deposizione. (Ingr. 675 diam.).

TAVOLA XI.

Fig. 37. — Sfera vitellina tipica, mononucleata, a 30 ore dalla deposizione. (Ingr. 900 diam.).

Fig. 38. — Cellule mesodermiche addossate alla stria germinale in uovo di 30 ore dalla deposizione (Ingr. 675 diam.).

Fig. 39. — Stere vitelline e piccoli granuli di vitello all'atto della formazione del mesoderma, in uovo di 36 ore dalla deposizione (Ingr. 235 diam.).

Fig. 40. — Come la precedente; particolare dell'amnio, in uovo di 36 ore dalla deposizione (Ingr. 235 diam.).

Fig. 41. — Cumulo mesodermico in corrispondenza del solco primitivo, in uovo di 36 ore dalla deposizione (Ingr. 235 diam.).