

Fig. 12. — Nucleo di sfera vitellina invaso dal *Nosema* e completamente disfatto. Uovo al 13° giorno di incubazione. Color. Ematossilina di Mallory (X 2000).

Fig. 13. — Parte di sezione di stria germinale a quattro mesi e mezzo dalla deposizione. Si noti, al centro della figura, il nucleo attaccato da due parassiti ed in parte disgregato. Color. Giemsa (X 2000).

TAVOLA II (V)

Fig. 14. — Porzione corticale di ganglio nervoso, di embrione al 13° giorno di incubazione, fortemente attaccato da *Nosema*. Color. Ematossilina di Mallory (X 1000).

Fig. 15. — Ampio vacuolo determinato dal *Nosema*, per avvenuta disgregazione della forte iperplasia inizialmente formatasi, nella parete intestinale di embrione al 15° giorno di incubazione. Color. Giemsa (X 900).

Fig. 16. — Parte di sezione di stria germinale, a quattro mesi e mezzo dalla deposizione, con spore vicine ai nuclei. Color. Giemsa (X 1500).

Fig. 17. — Parte di ganglio nervoso, di embrione al 15° giorno di incubazione con numerosi cumuli di *Nosema*: si noti il forte squilibrio fra quantità di plasma e nuclei. Color. Giemsa (X 1000).

Fig. 18. — Vaso dorsale fra ipoderma (in basso) e parete intestinale, invaso dal parassita. Da embrione al 13° giorno di incubazione. Color. Ematossilina di Mallory (X 1000).

Fig. 19. — Ipertrofia ed inizio di vascolizzazione in nucleo di sfera vitellina fortemente invaso da *Nosema*. Da uovo a quattro mesi e mezzo dalla deposizione. Color. Heidenhain (X 1000).

Fig. 20. — Spore in gruppetto ed isolate in stria germinale, a quattro mesi e mezzo dalla deposizione. Color. Heidenhain (X 1000).

Fig. 21. — Enorme vacuolo determinato da *Nosema* nel vitello intestinale di embrione al 15° giorno di incubazione. Color. Giemsa (X 1000).

## Lo sviluppo embrionale del Baco da seta

MEMORIA III<sup>a</sup>

### Sviluppo primaverile fino alla blastocinesi

#### INTRODUZIONE

Era mio divisamento completare con una terza ed ultima memoria lo studio dello sviluppo embrionale del Filugello, illustrandone le più importanti modalità morfologiche dal risveglio primaverile allo schiudimento. Senonchè, nello svolgimento del lavoro, al quale da circa due anni ho dedicato tutto il tempo disponibile, si andò accumulando tale quantità di osservazioni, di illustrazioni e di microfotografie, da rendere consigliabile una suddivisione della pubblicazione in due parti: la prima per illustrare lo sviluppo primaverile fino alla blastocinesi, e la seconda dalla blastocinesi alla nascita.

Il materiale che servì per questo studio fu costituito da uova di razze annue e bivoltine; tutti i lotti di uova adoperate per queste ricerche erano assolutamente indenni da infezione pebrinosa, e provenivano dalle più scelte partite di razze pure per riproduzione, fornitimi da accreditate ditte confezionatrici di seme-hachi (1). La tecnica seguita fu essenzialmente la stessa dei miei lavori precedenti [17, 27] per quanto riguarda le sezioni e la loro colorazione. Un'ampia illustrazione microfotografica volli aggiungere per questa parte dello sviluppo, specialmente per ciò che riguarda l'aspetto generale dell'embrione *in toto* e senza colorazione alcuna. A questa documentazione fotografica, che mancava nella letteratura dell'argomento (per embrioni *in toto*) ho dedicato le due tavole VIII e IX, nella convinzione che la conoscenza esatta dell'evolversi delle forme nei successivi momenti dello sviluppo primaverile possa rendere grandi servizi nella pratica, per la determinazione dell'età degli embrioni, della loro normalità (entro certi limiti), delle discronie che possono

(1) Rivolgo un sincero ringraziamento alle Ditte Fratelli ROCCA, MONTINI, MARSON, e in modo speciale ai Fratelli SBRACCA, i quali ultimi vollero cortesemente prestare la loro collaborazione a tal segno da eseguirlo sul posto la uccisione di lotti di uova appena estratte dal frigorifero mediante il fissativo spedito loro da Milano.

pronunciarsi in una partita di seme durante l'incubazione, e per altri quesiti pratici di cospicua importanza.

Per allestire i preparati adatti a fornire le microfotografie delle suddette due tavole occorsero parecchie settimane di lavoro. La tecnica adottata è indicata sommariamente nella spiegazione della tavola VIII. Il lavoro più penoso non era quello del sollevare metà del guscio dell'uovo facendo restare aderente ad un substrato l'altra metà che conteneva tutta la massa dell'uovo, bensì quello di asportare la sierosa, il tuorlo interposto fra sierosa e amnio, e quasi sempre anche l'amnio, mettendo l'embrione a nudo senza produrgli la minima lesione. Naturalmente gli embrioni venivano poi fotografati dall'alto, su fondo nero, mentre si trovavano sommersi in liquidi vari, ottenendo una illuminazione verticale con paraboloide annesso all'apparecchio microfotografico BUŞCH, oppure una illuminazione tangenziale mediante una lampada ad arco. Alcune microfotografie furono ottenute a luce trasmessa (figure 103-106, Tav. X).

#### CAPITOLO I.

##### *Ricerche precedenti.*

Mentre la prima parte dello sviluppo embrionale del Filugello, fino alla formazione di una stria germinale completa, fu oggetto di studio da parte di numerosi ricercatori, e così pure il periodo della diapausa estivo-autunnale-invernale è stata dettagliatamente illustrata, lo sviluppo primaverile possiede invece una ben scarsa letteratura. Gli Autori che se ne occuparono con lavori di ampia ricerca sono in ordine cronologico, TICHOMIROFF (1879, 1882, 1891), SELVATICO (1882) e TOYAMA (1902-903). Altri studiarono soltanto qualche frammento, come lo sviluppo di un solo organo in alcuni stadi embrionali avanzati (VERSON, 1909, per il vaso dorsale; VANEY e CONTE, 1911, per le gonadi; BEER, recentissimamente, ancora per le gonadi, 1932). Contributi alla conoscenza di questo periodo dello sviluppo embrionale avevo dato io stesso, descrivendo (1915) la giacitura e i movimenti dell'embrione negli ultimi giorni che precedono la schiusura delle uova, illustrando e descrivendo (1916) lo stadio di sviluppo che precede e che segue alla blastocinesi, mettendo in rapporto i movimenti di avvolgimento finale dell'embrione con lo sbianchimento, con i rumori di sericchio e con i salti delle uova al momento dello sbianchimento (1922). Un altro contributo ho dato

con la raffigurazione e sommaria descrizione di 7 stadi dell'incubazione, che corrispondono, per così dire, ad alcune pietre miliari dello sviluppo primaverile (1924). Recentemente ZANNI (1930) illustrò le principali fasi dello sviluppo embrionale di una razza polivoltina dalla deposizione alla nascita; ed io stesso raffigurai (1929) uno stadio iniziale dello sviluppo primaverile di altra razza bivoltina. Infine TINELLI (1930) raffigurò in un pregevole « Atlante microfotografico » alcuni più importanti stadi dello sviluppo primaverile, corredando le microfotografie con brevi cenni su alcuni fenomeni più notevoli dell'embriogenesi degli Insetti in generale.

Nonostante questi lavori, la conoscenza dell'intero sviluppo primaverile dell'uovo del Filugello restava ancora assai incompleta e frammentaria; molte conclusioni ed interpretazioni di Autori che lavorarono sull'argomento 30 e 50 anni fa erano errate od inesatte, e talune di esse venivano ripetute tali e quali anche da Autori recentissimi. Molte lacune restavano ancora da colmare, specialmente per quanto concerne i fenomeni che si verificano dopo la blastocinesi fino allo schiudimento.

Valeva quindi la fatica di sottoporre a nuovo e sistematico studio questa parte così importante dello sviluppo, nella certezza che da una più perfetta e completa conoscenza di essa sarebbero derivati, anche per l'industria, utilissimi contributi.

#### CAPITOLO II.

##### *Nomenclatura degli stadi embrionali.*

Nella letteratura embriologica del Filugello gli Autori hanno adottato criteri diversi per la denominazione degli stadi embrionali. La questione ha notevole importanza perchè l'adozione di criteri diversi produce errate valutazioni ed equivoci. È chiaro che una denominazione razionale degli stadi dovrebbe riferirsi a caratteri che l'embrione possiede in ciascuno stadio, e che siano di tal natura o di tal grado o misura da rendere impossibile confondere un dato stadio con qualsiasi altro, e da renderne agevole il riconoscimento.

I criteri che gli Autori hanno adottato per la denominazione degli stadi embrionali sono tre:

a) *criterio cronologico*, consistente nell'indicare gli stadi del primo periodo di sviluppo con il numero delle ore trascorse dal momento della deposizione dell'uovo, gli stadi dell'estivazione

con il numero dei giorni e mesi trascorsi dalla deposizione, gli stadi dell'ibernazione col numero dei giorni e mesi trascorsi dal momento del passaggio delle uova in frigorifero, e gli stadi dello sviluppo primaverile col numero dei giorni trascorsi dall'inizio dell'incubazione.

b) *critério dell'indicazione della data*, denominando ciascuno stadio col giorno e mese in cui ciascun embrione viene fissato (p. es. *embrione del 21 aprile, del 10 dicembre, ecc.*).

c) *critério morfologico*, indicando caratteri precisi dell'embrione in ciascuno stadio.

Quest'ultimo, che è veramente razionale e non permette, o riduce al minimo, gli equivoci tra gli studiosi, fu però il critério meno adottato.

Il critério della data è il più irrazionale di tutti, perchè, se non è detto quali siano le temperature subite dalle uova, in quale giorno si iniziò l'incubazione, e secondo quale schema di temperature essa si svolga, la indicazione « *embrione del 21 aprile* », o altra consimile, non indica nulla.

Anche il critério cronologico è manchevole, per due ragioni: anzitutto perchè esiste sempre una *eterocronia* più o meno spiccata nelle diverse uova di un qualsiasi lotto di seme, anche nelle uova di una stessa ovatura e frazione di ovatura che si sviluppano in identiche condizioni; e in secondo luogo perchè queste eterocronie possono accentuarsi notevolmente col variare delle condizioni d'ambiente, o esaminando razze diverse. Se tali eterocronie hanno piccolo valore per le prime tre fasi (segmentazione, estivazione, ibernazione), assumono ampiezza molto cospicua durante la 4ª fase, cioè nello sviluppo primaverile, e ciò in dipendenza del variabilissimo trattamento che le uova possono aver subito (durata e temperature del periodo preparatorio, andamento delle temperature d'incubazione), nonchè in funzione della razza. Ma anche a parità di tutte le condizioni, se noi uccidiamo col fissativo 10 uova di un qualunque lotto di seme ad un determinato stadio (per esempio al momento dello sbianchimento) hen difficilmente ne troveremo due che si possano dire — all'esame delle sezioni — veramente in identico stadio di sviluppo. E troveremo anzi assai sovente che fra le 10 uova ve ne saranno di quelle molto progredite, prossime a nascita, ed altre che avranno da poco superato la blastocinesi, distanziandosi le une e le altre in modo tale da valutarsi le rispettive nascite distanziate di parecchi

giorni. Le eterocronie sono tanto più ampie quanto più lo sviluppo primaverile s'inoltra; e ritengo che a determinare la variabilità della loro ampiezza contribuiscano non solo i fattori esterni, ma anche un diverso grado di *capacità individuale* di sviluppo, per effetto della quale ciascun embrione possiede una sua individuale *velocità di sviluppo*. E quindi, benchè nelle grandi masse di uova un gran numero di embrioni giungano a nascita nello stesso momento, tuttavia il prolungarsi delle nascite per 4-5 giorni attesta le variabilissime velocità di sviluppo che gli embrioni posseggono, anche mantenuti in identiche condizioni.

In pratica, nell'incubazione razionale, si hanno le prime nascite (*spie*) in un determinato giorno A, poi nascite abbondanti nei giorni B, C, D, ed ancora alcune nascite ritardatarie nei giorni E, F. Queste ultime sono trascurate dai coltivatori per ovvie necessità pratiche, ma non sono affatto trascurabili embriologicamente; e noi le dobbiamo tener presenti, ai fini del nostro ragionamento, per arrivare a stabilire che, anche con una incubazione razionale, si producono nella massa degli embrioni eterocronie così cospicue da dar nascite dal 18º al 23º giorno dall'inizio dell'incubazione, con una differenza massima di 6 giorni fra i primi e gli ultimi nati, vale a dire più di  $\frac{1}{4}$  della durata totale dell'incubazione.

Da queste considerazioni appare chiaro quanto sia fallace il critério cronologico per determinare lo stadio di sviluppo dell'embrione nella fase primaverile.

Ho cercato perciò di stabilire una denominazione razionale degli stadi, in base al grado di sviluppo reale raggiunto, e ho cercato di stabilire un rapporto fra questi stadi indicati con uno o più caratteri morfologici e quella serie cronologica che altri studiosi, ed io stesso, avevamo precedentemente adottato. Queste determinazioni, basate su lungo e paziente confronto dei preparati *in toto* e delle sezioni con le figure e descrizioni antecedenti di altri Autori e mie, si concretano nella annessa tabella, nella quale gli stadi sono indicati con lettere majuscole dell'alfabeto nella seconda colonna; i giorni d'incubazione, che a ciascuno stadio corrispondono nella prima colonna, rappresentano una *cronologia-tipo*, che si avvera solo per un certo numero di embrioni aventi una velocità di sviluppo media, e che si verificherebbe per tutti solo nell'ipotesi che fossero annullate le eterocronie individuali sopra ricordate.

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE DEGLI STADI EMBRIONALI		
Classi di incubazione	Posizioni degli arti	
—	A	Stria germinale ibernante.
1	B	Stria germinale con metameria del mesoderma e dell'ectoderma non ancora accennata, o incompleta.
2	C	Stria allungata; metta metameria del mesoderma e dell'ectoderma.
3	D	Stria allungata; segmenti della regione cefalica più sporgenti dei successivi.
4	E	Stria molto allungata; 3 segmenti toracici ben pronunciati con abbozzi degli arti; 11 segmenti addominali ben distinti.
5	F	Origine dei vasi malpighiani ben chiara; arti cefalici ben distinti; zampe toraciche ben distinte e prominenti, ma non ancora segmentate.
6	G	Embrione visibilmente raccorciato; segmenti cefalici ravvicinati; false zampe addominali abbozzate.
7	H	Embrione molto raccorciato; spine cefaliche ripiegate verso l'interno dell'uovo; segmenti cefalici molto ravvicinati.
8	I	Embrione molto raccorciato, che occupa metà della periferia dell'uovo e poco più; arti cefalici ben distinti; zampe toraciche distintamente triarticolate.
9	L	Embrione molto raccorciato, che occupa solo metà della periferia dell'uovo; arti cefalici pronunziatissimi; si contano ancora distintamente 11 segmenti addominali.
10	M	Embrione raccorciatissimo, molto più corto della semiperiferia dell'uovo; addome di 10 segmenti, l'ultimo dei quali deriva dalla fusione dell'11° col 10°; zampe addominali ben distinte e sporgenti sui segmenti addominali 3°, 6° e 10°.
11	N	Embrione raccorciatissimo, come allo stadio precedente, ma con le pareti dei fianchi completate; la regione addominale posteriore comincia a distaccarsi dalle periferie con leggera concavità verso l'interno, che prelude alla blastocinesi.
12	O	Blastocinesi flagante; curvatura dell'embrione ad S.
13	P	Blastocinesi appena superata; curvatura convesso-addominale ampia; permane una lieve curvatura convesso-ventrale nei segmenti cefalici e 1° toracico; lieve allungamento dell'addome.
14	Q	Blastocinesi perfettamente superata, ma non interamente compiuta; embrione non ancora adagiato con la superficie dorsale alla sferosa; notevole allungamento dell'addome.
15	R	Addome dell'embrione allungato fino a risalire a circa metà della lunghezza del lato ventrale dell'uovo.
16	S	Addome dell'embrione allungato fino a toccare l'estremo cefalico o quasi; conformazione a lettera U.
17	T	Estremità dell'addome che comincia ad inflettersi entro la cavità della grande curvatura embrionale (inizio del rinvoltimento; sbianchimento del seme).
18	U	Embrione strettamente avvolto a spirale e con estremo addome oltrepassante su uno dei fianchi il fondo della grande curvatura. Rinvoltimento compiuto; baccolino pronto alla nascita (schiodono le spie).

In tal modo caratterizzati, gli stadi sono sufficientemente raffrontabili senza pericolo di confusione e di errore. Noi faremo uso nel testo e nella spiegazione delle tavole di questa nuova denominazione con le prime 18 lettere majuscole dell'alfabeto, pur conservando, accanto ad essa, anche la indicazione del numero dei giorni d'incubazione, che era entrata nella consuetudine scientifica e pratica.

Dopo quanto abbiamo detto è superfluo notare che la tabella qui annessa non è uno schema rigido e valido in qualunque caso, bensì è valida soltanto per le comuni razze *Gialle indigene* e per quel tipo di andamento dell'incubazione che può dirsi *normale, consuetudinario e razionale*. E precisamente, lo schema presuppone che le uova, prima di iniziare la fase di incubazione propriamente detta, subiscano una fase preparatoria di 6 giorni, durante i quali la temperatura si fa gradualmente salire da quella di + 2° C. del frigorifero a quella di + 15° C. con la quale s'inizia l'incubazione propriamente detta. Presuppone altresì che la temperatura vada salendo di circa mezzo grado al giorno per i primi 12 giorni, sollevandosi così da + 15° a + 21° C.; a tale grado essa resterà poi per i quattro giorni successivi; al 17° giorno (*sbianchimento*) sarà sollevata a + 22° C., e al 18° (*spie*) sarà sollevata a + 23° C.

I numeri dei giorni d'incubazione indicati nella prima colonna della tabella vanno intesi nel senso di « termine della prima giornata », « termine della seconda »... « termine della 18° ». Ciò spiega perchè allo stadio A non corrisponde alcuna numerazione, intendendosi che detto stadio si presenta con i caratteri indicati nella 3° colonna al momento in cui le uova entrano nell'ambiente a +15°; allora si avrà, 24 ore dopo, lo stadio B (obscuro della prima giornata), e così via. Al 17° giorno (stadio T) si avrà lo sbianchimento, al 18° la nascita dei primi haolini.

Fortissime abbreviazioni dello sviluppo primaverile presentano le razze polivoltine, che danno nascite in 12 giorni circa, alle condizioni di temperatura dello schema surriscordato; presentano perciò tutti gli stadi ravvicinati, e la blastocinesi (stadio O) cade per esse al 7°-8° giorno anziché al 12°.

CAPITOLO III.

*Dal primo risveglio dell'embrione  
fino alla comparsa della perfetta metamorfosi primitiva.*

(Stadi A, B, C)

Al termine della diapausa, l'embrione di razza annuale (1) si presenta ancora allo stadio di stria germinale costituita di due foglietti, come fu raffigurata nella precedente memoria [27]. Il suo aspetto e la sua conformazione generale può variare alquanto, e basta il confronto della fig. 61 della Tav. XVIII del citato lavoro con la fig. 1 (Tav. I) qui annessa per dare un'idea di tali variazioni. Ma fondamentalmente si tratta di una stria germinale più o meno coartata, raccorciata o sinuosa, nella quale il mesoderma ha perduto la nitida sua disposizione metamorfica originaria, e si è disteso sulla superficie interna dell'ectoderma in modo irregolare, essendo avvenuta una fusione di metameri vicini in gruppi nei quali non si distinguono più i metameri primitivi, o si riconoscono assai imperfettamente (Tav. I, fig. 1). Talora queste fusioni hanno lieve estensione, e interessano una piccola parte della stria germinale, la quale può allora presentare un notevole numero di segmenti mesodermici ben distinti; ma per lo più le fusioni di questi segmenti sono molto estese, e qualche volta è tutto o quasi tutto il mesoderma che si distende in strato unico e di irregolare spessore sulla faccia interna dell'ectoderma.

Siffatte fusioni del mesoderma in gruppi di segmenti sul finire dell'ibernazione ci spiegano come il SELVATICO [51] abbia potuto, nonostante la scrupolosa diligenza delle sue osservazioni, affermare che sulla faccia interna dell'ectoderma alla fine dell'inverno si scorgono in tutto 17 rilievi che sono le piastrelle mesodermiche o muscolari, dandone anche una figura nella tavola III del suo lavoro.

(1) Tutte le osservazioni che andrò esponendo nel presente lavoro, senza alcun avvertimento per la razza di cui si tratta, si riferiscono alla cronologia della tabella soprapportata, e quindi a razze annue, salvo alcune osservazioni su razze bivoltine, per le quali si dà esplicita indicazione.

Le osservazioni di SELVATICO [51], TICHOMIROFF [54], TOMIYAMA [62] e mie [27], hanno concordemente dimostrato che il mesoderma, impari in origine, diventa pari, ciascun segmento scindendosi in una metà destra e una metà sinistra. Tale disposizione non sempre è netta in tutti i metameri; durante la diapausa rimane incostante, ma riappare netta al principio dell'incubazione (Tav. I, figg. 11 e 12).

Le due inflessioni dell'ectoderma, lievemente ma ben distintamente accennate nella stria germinale già a 36 ore dalla deposizione in corrispondenza al 1° e al 18° segmento mesodermico, e che rappresentano il primo abbozzo dello stomodeo e del proctodeo, durante la diapausa vengono quasi sempre cancellate; o se in qualche momento del lungo riposo embrionale ne appare ancora un qualche accenno, esso è mascherato dal pronunciarsi di ampie sinuosità della stria germinale. A svernamento finito ho riscontrato che nella maggior parte degli individui i due abbozzi di inflessioni non esistono più, e la superficie esterna dell'ectoderma si presenta a curvatura abbastanza regolare (Tav. I, fig. 1), oppure permangono sinuosità che non hanno nulla a che fare con tali abbozzi (27, tav. XVIII, fig. 61). Siffatto apparire di abbozzi di organi importantissimi quali l'intestino anteriore e posteriore nella seconda giornata della segmentazione dell'uovo, la loro cancellazione durante tutto il periodo della lunga diapausa e il loro riapparire dopo due giorni circa di incubazione, inducono a pensare che la condizione primitiva delle uova del fufelugo fosse quella di uno sviluppo ininterrotto per più generazioni fino ad un'ultima generazione autunnale le cui uova sono svernanti. Sarebbe cioè primitiva la condizione delle razze polivoltine, mentre sarebbe secondariamente acquisita quella delle univoltine, sotto l'azione della domesticità.

Le sfere vitelline al termine dell'ibernazione vanno perdendo la loro individualità cellulare, come fu già messo in evidenza nella precedente memoria (27, tav. XVIII, fig. 61) e come è qui rappresentato a fig. 1 della tavola I. Benchè rimangano sempre nettamente distinte le areole centrali a struttura reticolare e sghembe di granuli vitellini, con uno o più nuclei in ciascuna areola, si è perduta però la delimitazione periferica dei singoli territori delle sfere vitelline. Permane un'area centrale del tuolo a struttura reticolo-granulare, quale si riscontra per tutta la diapausa con caratteri di variabilità che furono già descritti in precedenti

lavori [27, 48], e a questa area principale microgranulare possono aggiungersene altre più piccole periferiche.

Tale struttura dell'uovo completamente svernato si conserva senza apprezzabili mutamenti per tutta la prima giornata d'incubazione (stadio A) e per buona parte della seconda (stadio B); verso la fine della seconda giornata (stadio C) va delineandosi il primo mutamento importante nella struttura della stria germinale che ne indica chiaramente il risveglio e la ripresa di attività: e cioè la *ricomparsa della metameria*. Il mesoderma che erasi disteso sulla faccia interna dell'ectoderma, con fusione di più segmenti e talora di tutti, riappare nettamente distinto nei suoi 18 segmenti, e in corrispondenza a queste 18 sporgenze interne si pronunciano nell'ectoderma altrettante sporgenze esterne (Tav. I, figg. 2, 5, 6, 7; Tav. VIII, fig. 67; Tav. X, fig. 97). La metameria della stria germinale nel risveglio primaverile diventa quindi rapidamente duplice, cioè interessa entrambi i foglietti. Ma per quanto io abbia indagato, non mi risulta se il ricomparire della metameria mesodermica preceda l'apparire di quella ectodermica. Scrive il SELVATICO [51] che « le piastre mesodermiche, spingendo in fuori l'ectoderma, fanno apparire la striscia ondulata anche lungo la sua faccia ventrale ». A parte l'ipotesi di una *spinta in fuori* esercitata dalle piastrine mesodermiche, poco o nulla plausibile quando si pensi che le piastrine sporgono verso una massa semifluida di tuorlo semidisgregato e quindi non si comprende quale spinta meccanica esse potrebbero esercitare in senso opposto, le citate parole del SELVATICO farebbero credere che la metameria del mesoderma sia la prima ad affermarsi. In alcuni preparati si nota infatti, almeno nella regione addominale, che la metameria del mesoderma è spiccatissima e non vi corrisponde una altrettanto distinta metameria dell'ectoderma (Tav. I, fig. 6); in altri preparati si osserva invece una metameria ectodermica distintissima ed anche divenuta eteronoma, cioè con differenziazione notevole dei primi metameri cefalici in confronto agli ultimi addominali, ciò che starebbe ad indicare una più precoce affermazione della metameria ectodermica in confronto a quella mesodermica (Tav. I, fig. 7). Altri preparati infine mostrano un identico grado di sviluppo dell'una e dell'altra (Tav. I, fig. 5), e in alcuni si può anche osservare che quando è ancora imperfettamente delineata la metameria mesodermica, altrettanto imperfetta è ancora quella ectodermica, e proprio nella stessa

regione addominale posteriore l'una e l'altra vanno di pari passo delineandosi (Tav. I, fig. 2). Cosicchè è lecito concludere che verosimilmente i due fenomeni sono pressochè simultanei, ma talora può affermarsi più rapidamente l'uno oppure l'altro su tutta la stria o parte di essa, risultandone eterocronie in ogni caso assai piccole.

Un altro fenomeno che s'accompagna a quelli ora descritti è l'*allungamento della stria germinale*. Scrive il SELVATICO: « trasportando le uova del baco da sea già svernate ad una temperatura anche relativamente alta, cioè da 0° a 14°, 16°, durante alcuni giorni non notai mutamenti sensibili nell'aspetto generale della striscia. Però, dalla media di parecchie misure di strisce germinali in queste condizioni, mi risulterebbe che la loro lunghezza va leggermente aumentando ». E soggiunge poi che l'allungamento raggiunge circa 1/5 della lunghezza totale; e ciò si può ammettere che corrisponda approssimativamente a verità, se ci si riferisce allo stadio C del quale qui ci occupiamo. Ma occorre por mente che il fenomeno dell'allungamento non è esclusivo dei primi due giorni, ma si continua poi per altri tre giorni fino al 5°, cioè fino a raggiungere lo stadio F, dopo del quale si verifica un accorciamento. Quindi la misura dell'allungamento reale che la stria raggiunge allo stadio C non va confusa con la media di misurazioni compiute in epoche imprecise per tutto il periodo di allungamento, come appunto fece il SELVATICO. D'altra parte vi è una variabilità notevole di tale allungamento, dipendente dalla razza; e per una stessa razza traggono facilmente in errore di valutazione quelle differenze individuali di velocità di sviluppo di cui sopra ho fatto cenno.

L'allungamento è certo assai cospicuo allo stadio C, come risulta dal confronto della fig. 1 con le figg. 2, 5, 6, 7 (Tav. I), anche tenendo conto del diverso ingrandimento a cui sono disegnate.

Ma la stria germinale non solo s'allunga e diviene nettamente metamERICA, ma anche *ridiventa regolare nella sua conformazione e nella sua posizione rispetto ai poli dell'uovo*. È noto infatti che durante la diapausa essa può presentare sinuosità varie, numerose e profonde, e che può spostarsi da quella posizione caratteristica che essa aveva assunto all'epoca della sua prima formazione; ed invece di descrivere una lettera C con una curva concentrica al lato ventrale dell'uovo, presentando l'estremo cefa-

lico sotto al polo micropilare e quello caudale sotto il polo opposto, può spostarsi in modo da allontanare l'estremo cefalico dal polo micropilare risalendo in vario grado con l'estremo caudale sul lato dorsale dell'uovo (Tav. I, fig. 1), fino a portare talora i suoi due estremi a metà della lunghezza dei due lati lunghi dell'uovo e disporsi con la sua curvatura più o meno regolare concentricamente alla curvatura della calotta antimicropilare. Ma tali conformazioni e posizioni atipiche della stria germinale, che possono frequentemente osservarsi durante l'estivazione e l'ibernazione ed anche al termine di questa, vengono costantemente regolarizzate entro le prime due giornate d'incubazione, cosicchè, quando si afferma la metameria ectomesodermica (stadio C) ogni traccia di sinuosità è scomparsa e la posizione della stria è costantemente ritornata quella normale, cioè con l'estremo cefalico sotto il polo micropilare e l'estremo addominale al polo antimicropilare (Tav. I, fig. 5). Piccole variazioni individuali che presentano l'estremo cefalico più o meno infossato verso l'interno dell'uovo (Tav. I, fig. 5) o l'estremo addominale prolungantesi alquanto al di là del polo antimicropilare (Tav. I, fig. 6) sono in gran parte l'espresione del diverso grado di allungamento che di ora in ora subisce la stria, e non infirmano la legge generale.

Finalmente, anche nel vitello si notano segni di una ripresa di attività. Quella delimitazione dei territori delle sfere vitelline che al termine della diapausa era cancellata, ora ritorna, dopo le due prime giornate d'incubazione, a delinearsi ove più ove meno nitidamente (Tav. I, figg. 2, 5, 6). Inoltre, i nuclei delle sfere vitelline, che in piena ibernazione avevano una colorabilità assai tenue, ora hanno una colorabilità esaltata; essi hanno perduto la vacuolosità e le irregolarità di forme, talora spiccatissime, che presentavano allo stato ibernante [27, Tav. XIII e XVII] e si presentano con forme rotondeggianti e ricchi di cromatina in piccoli granuli uniformemente e densamente distribuiti in tutto il volume dei nuclei medesimi (Tav. I, fig. 8).

La cavità amniotica tende ad ampliarsi notevolmente (Tav. I, figg. 2, 5, 6) mentre al termine della diapausa l'amnio — astrazione fatta dalle ampie sinuosità della stria, entro le quali esso non s'introfletteva — aderiva per lo più alla superficie esterna ectodermica o ne era separato solo per qualche tratto da spazi sottilissimi (Tav. I, fig. 1).

Anche il fenomeno del ripiegamento dei bordi dell'ectoder-

ma, molto accentuato negli ultimi mesi dell'ibernazione e già descritto ed illustrato nella precedente memoria [27] è completamente scomparso alla seconda giornata dello sviluppo primaverile.

#### CAPITOLO IV.

#### *L'evoluzione morfologica esterna dell'embrione dalla comparsa della metameria primitiva (stadio C) fino allo stadio di massimo raccorciamento (stadio N).*

SELVATICO [51] diede per il primo una descrizione dell'evoluzione dell'embrione durante lo sviluppo primaverile; ma si tratta di una descrizione molto sommaria ed incompleta, con osservazioni riferite a stadi molto vagamente determinati. Così per esempio egli scrive che il processo che conduce l'embrione press'a poco allo stadio che qui sopra abbiamo descritto si compie nel Filugello in 12-14 giorni ad una temperatura di  $+ 14^{\circ}$  a  $+ 16^{\circ}$  C., il che sembra assai esagerato; e soggiunge che nei polivoltini « non dura che poche ore », ed anche questo sembra esagerato in senso opposto. Molte figure del lavoro del SELVATICO rappresentano embrioni di *Antheraea mylitta*, e ad esse vengono riferite per confronto parecchie altre di embrioni del Filugello. Manca insomma una cronologia dello sviluppo, tantochè molti stadi non sono meglio indicati che con la frase « un poco più avanzato del precedente »; e se si vuole riferire quelle figure ad un momento determinato dello sviluppo, bisogna valutarne i particolari morfologici e confrontarli con quelli della tabella sopra riportata. D'altra parte l'Autore non ci dà in quella memoria che 4 sole figure di embrioni *in toto* del Filugello (tutte le altre figure *in toto* si riferiscono alla *Antheraea mylitta*); e precisamente: una figura che rappresenta una stria germinale di cui non è indicata con esattezza l'età, ma che dal contesto si può capire che è una stria estratta dall'uovo al termine dello svernamento o al primo giorno dopo il trasporto delle uova a temperatura di preparazione (corrisponderebbe allo stadio A); una figura di embrione che può riferirsi al 9°-10° giorno circa d'incubazione (stadio L-M); un'altra di embrione raccorciato al grado massimo (stadio N); ed un'ultima figura di embrione che ha già fatto da tempo la blasto-

cinesi e ha quasi completato la parete dorsale (stadio R). Queste ultime tre figure sono molto esatte e ben fatte; ma esse rappresentano tre soli momenti dello sviluppo, e quindi non possono darci un'idea di tutta l'evoluzione morfologica dell'embrione in questo periodo.

TICHOMROFF [54] ha raffigurato, oltre a molte sezioni trasversali di embrioni di varia età per illustrare lo sviluppo di organi diversi, anche tre sezioni longitudinali sagittali che rappresentano tre stadi di sviluppo diversi da quelli illustrati dal SELVATICO, e cioè: uno stadio di 3 giorni di sviluppo primaverile, contenente una stria germinale alquanto allungata, con ectoderma non metamerico e mesoderma ancora imperfettamente metamerico, e che quindi è da giudicarsi ancora allo stadio B (fig. 17 a pag. 170 del citato lavoro); uno stadio di 10 giorni di sviluppo primaverile, contenente un embrione con stomodeo e proctodeo profondamente sviluppati, zampe toraciche prominenti ma non segmentate, e che può giudicarsi fra lo stadio F e lo stadio G (fig. 41 a pag. 209 del citato lavoro); e finalmente uno stadio di 11 giorni di sviluppo primaverile con embrione in piena blastocinesi (fig. 40, pag. 205 del lavoro citato), e che può riferirsi nettamente allo stadio O. Anche questi tre stadi rappresentano tre soli momenti, e non possono dare che un'idea frammentaria dell'evoluzione morfologica dell'embrione. Assai grande è poi il divario che esiste fra gli stadi della 2.a e della 3.a delle citate figure, divario che corrisponde a circa 5-6 giornate di sviluppo, mentre l'Autore riferisce la prima al 10° giorno e l'altra all'11°; prova evidente e ostessa della grande variabilità nella velocità individuale dello sviluppo e della fallacia del criterio cronologico in questo periodo. Infine tutte queste figure hanno il difetto di essere fortemente schematiche.

Ma nello stesso lavoro il TICHOMROFF ci dà anche parecchie figure di embrioni *in toto*, che si riferiscono a stadi dal 3° giorno dello sviluppo primaverile fino a blastocinesi compiuta. Queste figure rappresentano l'embrione visto dalla faccia ventrale, ed illustrano lo sviluppo degli arti cefalici e toracici e l'evoluzione morfologica generale dell'embrione. Tre figure infine rappresentano l'embrione, visto lateralmente, all'inizio della blastocinesi, a blastocinesi appena superata e a blastocinesi compiuta da almeno due giorni. Tutte queste figure sono assai confuse ed imprecise, almeno nell'edizione francese del lavoro di TICHOMROFF, e

molti particolari dello sviluppo degli arti e della metameria restano indecifrabili su di esse.

TOYAMA [62] raffigura soltanto 3 stadi di embrioni *in toto* durante lo sviluppo primaverile: il primo si riferisce ad un embrione « taken out on March 27 », e corrisponde a un dipresso allo stadio D; il secondo è anch'esso un embrione « taken out on March 27 », ma è già un po' accorciato, presenta ben sviluppati gli arti toracici e cefalici, e può riferirsi allo stadio G; il 3° si riferisce ad un embrione « taken from egg in April » (senz'altra indicazione), si presenta molto raccorciato, con arti segmentati, e corrisponde all'incirca allo stadio I. Astrazione fatta dalla raffigurazione degli arti, che è alquanto schematica (molto più esatto è a tale proposito il SELVATICO), queste poche figure non possono dare che una frammentaria illustrazione della evoluzione morfologica dell'embrione.

A tale illustrazione dedici perciò una notevole parte del mio lavoro, convinto che per la pratica industriale sia proprio questa la parte più importante. Due intere tavole (VIII e IX) sono ad essa dedicate, con 30 microfotografie (figg. 67-96).

Ho trascurato di illustrare con microfotografie l'aspetto della stria germinale al termine dello svernamento e nella prima giornata di sviluppo primaverile, perchè esso è già ben conosciuto dai lavori precedenti di altri Autori e miei, e perchè, data la semplicità della sua struttura in tali stadi, il suo aspetto complessivo è forse meglio apprezzabile con la studio delle sezioni già da me rappresentate in altro lavoro [27] e nell'annessa Tav. I.

\*\*\*

Lo stadio C (termine della 2.a giornata d'incubazione, Tav. VIII, fig. 67) presenta nettamente su tutta la lunghezza della stria una metameria omonoma, senza cioè che si distinguano ancora le regioni del corpo, con le sole eccezioni però del 1° metamero, anteriore, che forma una larga *espansione cefalica* sporgente su ambo i lati, e dell'ultimo metamero addominale che forma un'*analogia espansione caudale* un po' più piccola. Entrambe queste espansioni si formano fin dalla 2.a giornata della deposizione, e si conservano pressochè inalterate durante tutta la diapausa. Tutti gli altri segmenti della testa, del torace e dell'addome, a questo

stadio C, non lasciano distinguere caratteri che permettano di riconoscere la regione di loro pertinenza.

L'allungamento della stria è già bene evidente nello stadio C, e si continuerà poi — con una notevole variabilità individuale e di razza — fino allo stadio F (termine del 5° giorno d'incubazione).

\*\*\*

Nello stadio D (Tav. VIII, fig. 68) incomincia a manifestarsi un primo accenno della metameria eteronoma, consistente nel fatto di una più pronunciata sporgenza dei primi 4 segmenti (regione cefalica) sulla superficie ventrale dell'embrione. Le sporgenze sono duplici, pari e simmetriche, e cioè si ha una coppia di protuberanze per ciascun segmento; fotografando l'embrione lateralmente (fig. 68), se ne può ottenere raffigurata una sola. A questi primi 4 segmenti ne seguono altri 3 che sono e resteranno per tutta la vita embrionale e postembrionale i 3 segmenti del torace; anche questi mostrano lievi protuberanze ventrali, ma meno appariscenti di quelle dei segmenti cefalici; si può dire anzi che dal primo segmento cefalico al 3° toracico le protuberanze vanno facendosi sempre meno accentuate, finchè quella del 3° segmento toracico quasi non si distingue dalla modesta sporgenza arcuata dei segmenti addominali.

Ciò vuol dire che la differenziazione morfologica dei metameri embrionali procede dall'innanzi all'indietro, con una notevole precedenza dell'evoluzione del 1° segmento in confronto del 18°; tale precedenza si traduce in differenze sensibilissime nel grado di sviluppo delle due regioni estreme dell'embrione, e queste differenze andranno sempre più accentuandosi negli stadi successivi.

\*\*\*

Lo stadio E mostra una metameria eteronoma notevolmente più spiccata; le 3 regioni del corpo del futuro insetto si possono già riconoscere perchè i 3 segmenti toracici formano protuberanze molto accentuate nell'embrione visto di profilo (Tav. VIII, fig. 69); e queste protuberanze sono già i primi abbozzi delle zampe toraciche. Quindi la regione toracica si può subito individualizzare

a primo colpo d'occhio. Naturalmente, riconosciuta topograficamente la regione toracica, restano individualizzate anche le altre due: i 4 segmenti anteriori formano la regione cefalica, e gli 11 segmenti posteriori formano l'addome.

Una incertezza potrebbe sorgere, guardando la figura 69, sul limite fra il 3° segmento toracico e il 1° addominale, perchè in realtà i primi segmenti dell'addome embrionale sporgono ora quasi quanto il 3° toracico, sul quale l'abbozzo della zampa è quasi impercettibile. Ma la delimitazione netta sta nel confine anteriore del torace, fra questo e il 4° segmento cefalico. Ed allora, il gruppo dei primi 3 segmenti molto sporgenti costituisce indubbiamente la regione toracica, e quindi il confine posteriore di questa è facilmente determinabile.

Confrontando fra loro le figure 68 e 69, quest'ultima sembra a tutta prima un documento che contraddice la legge generale enunciata poco sopra (evoluzione morfologica che procede dall'innanzi all'indietro), perchè i segmenti cefalici fanno sporgenze assai meno pronunciate di quelli toracici. Ma ciò è una semplice apparenza, dovuta al fatto che l'allungamento degli arti cefalici si compie in senso laterale o obliquo, mentre gli arti toracici si allungano sul piano sagittale; ne consegue che negli embrioni visti di profilo, dopo superato lo stadio D, gli abbozzi degli arti toracici sono quelli che sporgono più visibilmente, mentre i segmenti cefalici fanno sporgenze anche meno sensibili che nello stadio precedente, perchè gli arti cefalici che si sono abbozzati sono cresciuti lateralmente. Di questa differenza di modalità di accrescimento dei due gruppi di arti fanno fede tutte le microfotografie degli stadi successivi.

I segmenti addominali sono, a questo stadio, molto nettamente individualizzati, e formano sporgenze mammellonari pari e simmetriche, senza però ancora alcun accenno delle future zampe addominali.

\*\*\*

L'allungamento graduale dell'embrione raggiunge il suo massimo allo stadio F; supponendo l'acron cefalico dell'embrione esattamente sotto il micropilo, come nella figura 70 (Tav. VIII), l'addome embrionale risale per circa 1/4 e al massimo 1/3 della semiperiferia dorsale dell'uovo. Molto più cospicuo è l'allunga-

mento massimo di certe razze bivoltine, nelle quali l'embrione, al 3° giorno d'incubazione (che corrisponde all'incirca allo stadio F delle razze annue) risale col suo addome tutta la metà posteriore della scapiferia dorsale dell'uovo, ed anche più (Tav. I, fig. 3). Il fatto fu già da me descritto in altro lavoro [26 bis].

Nello stadio F appare assai evidente l'allungamento degli abbozzi degli arti toracici; essi sporgono tutti e 3 assai notevolmente sul piano sagittale, i primi 2 più del 3°. Ma quest'ultimo, sebbene meno sviluppato e rivolto posteriormente, è tuttavia così bene individualizzato, da risultarne ben netto il confine fra regione toracica e addominale. Le tre regioni del corpo si individualizzano in questo stadio per caratteri peculiari di ciascuna, Tav. VIII, fig. 70), e cioè: la cefalica per i suoi abbozzi di arti sviluppati lateralmente, la toracica per i suoi 3 arti sporgenti sagittalmente, l'addominale per assenza di qualsiasi abbozzo su tutti i segmenti. Molto cospicua è qui divenuta l'espansione cefalica, la quale resta ben delimitata nel 1° segmento sviluppatissimo.

Il numero totale dei segmenti dell'embrione si conserva dunque di 18, precisamente come erano fin dal primo apparire del mesoderma metamerico nella seconda giornata dalla deposizione dell'uovo. Dopo una parziale cancellazione durante la diapausa, come abbiamo descritto [26], la metameria riappare identica, interessando anche l'ectoderma. Ai 18 segmenti mesodermici corrispondono esattamente, uno ad uno, i 18 segmenti dell'ectoderma, come è nettamente visibile su sezioni sagittali bene orientate (Tav. I, fig. 2, 5, 7). Non si comprende come mai ТИХОМИРОВ [54] sostenga, senza raffigurare alcun preparato che ne dia dimostrazione, che i segmenti mesodermici non corrispondono a quelli ectodermici, bensì sono intercalari a questi, e cioè ciascun segmento mesodermico corrisponderebbe alla metà posteriore di un segmento ectodermico e alla metà anteriore del successivo. La stessa cosa è riportata dal VERNON nel suo trattato [65], ed è recentemente ripetuta da TIRELLI [57]. Entrambi questi Autori soggiungono che la cosa è perfettamente spiegabile, perchè il mesoderma formerà i muscoli cutanei che vanno appunto da un segmento all'altro (1). Ma innanzi tutto vi sono numerosi muscoli cutanei che non vanno da un segmento all'altro; moltissimi altri, pur inse-

(1) TIRELLI, l. c., pag. 18.

rendosi coi due estremi a due segmenti contigui, hanno però il loro « ventre » muscolare pressochè interamente giacente in un segmento. Tali disposizioni saranno illustrate nella successiva memoria. Ricorderò infine che vi sono numerosi muscoli anulari che percorrono, con varie inserzioni, la intera periferia di ciascun segmento, e che restano interamente nel territorio di un segmento solo. E del resto, a parte ogni considerazione sullo sviluppo successivo, come negare la netta corrispondenza dei 18 segmenti mesodermici coi 18 segmenti ectodermici nei primi giorni dello sviluppo primaverile? Rimarrà da studiare esattamente lo sviluppo dei vari organi che dal mesoderma derivano, nonchè il modo secondo cui i mioblasti derivanti dalle cellule di ciascun cumulo mesodermico si estendono nei territori dei segmenti adiacenti ordinandosi a formare i muscoli; ma quella corrispondenza iniziale dei 18 segmenti è un fatto chiarissimo, che non si può discutere.

\*\*\*

Trascorso questo primo periodo di sviluppo primaverile, che nel caso tipico corrisponde alle prime 5 giornate di incubazione, l'embrione di razza annua ha raggiunto il suo massimo allungamento (stadio F, fig. 70, Tav. VIII). Nella successiva giornata incomincia a notarsi un coartamento dell'embrione che si traduce in un visibile raccorciamento. Questo è chiaramente apprezzabile nelle microfotografie delle figure 71, 72, 73, Tav. VIII; la prima di esse raffigura un embrione in cui il coartamento è ancora lieve (stadio intermedio tra F e G), le altre due mostrano embrioni con coartamento più spiccato (stadio G). Con esatte misurazioni si rileva che, mentre nello stadio F la regione cefalica occupava più di 1/4 della lunghezza totale dell'embrione, nello stadio G ne occupa meno di 1/4. Anche la regione toracica è alquanto coartata, e al coartamento si accompagna anche una minore sporgenza degli abbozzi degli arti toracici, i quali, benchè più allungati dello stadio precedente, si vanno sviluppando in senso antero-posteriore, facendo strettissimo angolo col'ectoderma del segmento successivo.

Sulla regione addominale, pur essa coartata, cominciano ad apparire i primi abbozzi delle false zampe addominali, in forma di lievi protuberanze pari e simmetriche sui segmenti 3°, 4°, 5°, 6° e 11° dell'addome. Nelle microfotografie in toto non è facile

mettere bene in evidenza simili primi abbozzi (figg. 71, 72, 73, Tav. VIII); tuttavia essi si discernono nella fig. 71 e 73 sui segmenti 4°, 5° e 6°, e nella fig. 72 sull'11° segmento dell'addome. Molto più chiaramente questi primi abbozzi si distinguono nei sopraindicati segmenti su una serie di sezioni sagittali bene orientate; le prominente degli archi ipodermici dei segmenti addominali sono tutte press'a poco uguali nello stadio F (Tav. X, fig. 98), mentre nello stadio G si discerne nettamente che al 1° e 2° segmento addominale pochissimo prominenti seguono il 3°, 4°, 5° e 6° assai più pronunciati (Tav. IV, fig. 27).

Scriva ТИХОМИРОВ [54, pag. 182] che gli abbozzi degli arti addominali sono ben visibili su tutti gli anelli addominali, eccettuato il primo. A riprova di ciò egli riproduce in una figura un embrione *in toto* in questo stadio, visto dalla faccia ventrale; ma da quella figura si può dedurre che i presunti abbozzi di arti sono soltanto le masserelle di tessuto mesodermico di ciascun segmento che nella colorazione *in toto* traspariscono attraverso il sottile ectoderma; tanto è vero che quegli ispessimenti che l'Autore ha riportato nella figura sui segmenti addominali dal 2° all'11°, non sono protuberanze circolari ben delimitate, ma larghe fasce che si estendono sui fianchi dell'embrione anche al disopra delle linee su cui si aprono gli stigmi. Sembra che, secondo questa affermazione di ТИХОМИРОВ, che 10 segmenti addominali embrionali, dal 2° all'11°, acquistassero abbozzi di false zampe in questo stadio, e che più tardi tali abbozzi si cancellerebbero sui segmenti 2°, 7°, 8°, 9° e 10°, mentre continuerebbero a svilupparsi sugli altri, dal 3° al 6° e 11°. Ma le mie osservazioni su embrioni *in toto* e su molte serie di sezioni non confermano l'affermazione dell'Autore russo.

A questo stadio l'embrione mostra dunque ben sviluppati tutti gli arti delle tre regioni del corpo. Sulla regione cefalica, che consta nettamente di 4 segmenti, discerniamo, dall'avanti all'indietro, le seguenti paia di arti: sul 1° segmento le *antenne*, che sorgono ai lati esterni dei lobi cefalici e sporgono all'indietro; sul 2° segmento le *mandibole*; sul 3° segmento le *mascelle*, e sul 4° segmento il *labbro inferiore*. Tutti questi arti sono bene visibili nella fig. 70 (Tav. VIII), e rappresentano la testimonianza precisa dell'originario numero dei segmenti cefalici, che è di 4. Nel seguito dello sviluppo essi si perfezionano e si accrescono; ma sono sempre ben riconoscibili, nell'embrione visto

dalla faccia ventrale; nell'embrione visto lateralmente resta più tardi occultato soltanto il labbro inferiore, come diremo a suo luogo.

\*\*\*

Durante tutto il periodo di sviluppo finora descritto, mentre andavasi delineando la metameria e andavasi abbozzando gli arti, si svolgeva altresì una intensa moltiplicazione cellulare nello spessore dell'ectoderma e del mesoderma, per effetto della quale le pareti laterali del corpo dell'embrione andavansi completando. Il fenomeno è appena iniziato al 2° giorno d'incubazione, come si vede nella fig. 11 (Tav. II) e nella fig. 4 (Tav. I), e nell'embrione *in toto* le pareti laterali appaiono infatti pochissimo sviluppate (Tav. VIII, fig. 67). Ma osservando e confrontando fra loro le figure 67-87 (Tav. VIII-IX) si vede come quelle pareti vadano gradatamente costruendosi; e più chiaramente se ne ha l'idea con lo studio delle sezioni (cfr. figg. 4 e 11 con le figg. 17-20 e 24-26). La stria germinale perfettamente svernata si può paragonare ad una gondola ancor priva di sponde laterali; e durante i primi giorni dello sviluppo primaverile queste sponde o fianchi vengono lentamente costruiti dal basso all'alto, e si prolungheranno tanto da costituire anche il tetto, venendo a contatto in alto sulla linea mediana dorsale; e questa sarà la parete dorsale dell'embrione. Il processo non sarà completo però se non dopo la blastocinesi; esso si compie mediante il protendersi delle pieghe amniotiche longitudinali verso la linea mediana dorsale, e mediante l'avanzarsi delle pieghe cefalica e caudale. La formazione della parete ectodermica segue, gradatamente, con ritardo, la falda interna delle pieghe amniotiche.

Sulle pareti laterali, man mano che si formano, vanno pronunciandosi fin dallo stadio D (termine del 3° giorno di incubazione) e si accentuano nello stadio E (4° giorno) le piccole introflessioni ectodermiche che daranno luogo alle aperture stigmatiche del sistema respiratorio. Esse si formano, in numero di 11 paia, sui 3 segmenti toracici e sui primi 8 segmenti addominali, in posizione latero-ventrale e verso l'estremo posteriore di ciascuno dei detti segmenti. Nello stadio F (5 giorni di incubazione) queste introflessioni sono evidenti nelle sezioni, e sono già molto approfondite nell'interno dell'embrione, emanando già i rami tracheali principali (Tav. III, figg. 17-18, 24, 26). Come è

noto per gl'Insetti in generale e come fu già osservato in particolare nell'embrione del Filugello da TICHOMIROFF, due delle undici primitive paja di stigmi — e precisamente quelle del mesotorace e del metatorace — sono destinate a scomparire come tali, mentre resteranno e si svilupperanno perfettamente tutte le altre; ed è noto altresì che quelle due paja si trasformeranno più tardi in dischi imaginali delle due paja di ali. Gli Autori non accennano però all'epoca nella quale gli stigmi meso- e metatoracici si obliterano. Nelle mie sezioni risulta chiaramente che essi si conservano ben sviluppati come gli altri stigmi fino allo stadio M (circa 10 giorni d'incubazione); poi ciascuno dei 4 condottini che ai 4 stigmi viene a sboccare comincia ad assottigliarsi, e il loro lume a rimpicciolirsi. Al momento della blastocinesi i condottini esistono ancora, benchè più esili degli altri; l'obliterazione completa avverrà soltanto dopo compiuta la blastocinesi.

Tutte le altre 9 paja di stigmi si sviluppano ramificandosi sempre più profondamente nei rispettivi segmenti. Bene osservò il SELVATICO [51] che « un ramo costeggia la faccia ventrale ed è uno si spinge verso il dorso » (Tav. III, fig. 17), e che un altro ramo va verso la testa, e un altro ancora verso l'addome. « Questi e rami, che scorrono parallelamente ai fianchi dell'embrione, incontrano i rami analoghi derivanti dallo stigma successivo, e coi quali entrano in comunicazione; e così succedendo per « ogni sacco tracheale, in fine si forma il tronco laterale delle « trachee su ambi i fianchi ». Nulla vi è da mutare alla breve descrizione del SELVATICO; solo soggiungeremo che tutti questi principali rami tracheali si formano gradatamente dal 3° al 10° giorno dello sviluppo primaverile.

\*\*\*

Il raccorcimento dell'embrione si accentua nello stadio H (Tav. VIII, figg. 74-75); si accentuano le sporgenze dei singoli segmenti del corpo e divengono più pronunciate le insolcature che li delimitano l'uno dall'altro. Molto coartata si presenta la regione cefalica, che è ridotta a rappresentare circa 1/5 dell'intera lunghezza dell'embrione; press'a poco altrettanto occupa la regione toracica, cosicchè in questo stadio la testa e il torace presi assieme rappresentano i 2/5 della lunghezza totale dell'embrione, e gli altri 3/5 sono rappresentati dall'addome.

Caratteristico di questo stadio è assolutamente costante, benchè più o meno pronunciato nei vari individui, è il ripiegamento della regione cefalica verso l'interno, in maniera che i primi due metameri si affondano molto notevolmente nel tuorlo. Nessun inarcamento si nota invece negli ultimi articoli addominali (Tav. VIII, figg. 74 e 75).

Nello stadio I (Tav. VIII, fig. 76) il ripiegamento cefalico verso l'interno è cancellato, la testa ha ripreso la curvatura regolare. Gli arti sono tutti ben sviluppati, ed appare per la prima volta in quelli toracici una netta distinzione in 3 articoli.

Variazioni più o meno sensibili della giacitura dell'embrione nell'uovo rispetto all'asse del medesimo possono verificarsi nei diversi individui; la testa non sempre viene a corrispondere col suo *acron* esattamente sotto il polo micropilare: nelle figg. 70 e 74 tale corrispondenza è esattissima, meno esatta nelle figg. 68, 69, 71, 72, 73 e 75; cospicuo è lo spostamento dell'embrione di fig. 76. È da ritenere che tali spostamenti, finchè si verificano entro certi limiti e in stadi ancor lontani dalla blastocinesi, non abbiano alcuna importanza e possano regolarizzarsi in seguito, prima dello stadio M; ma se oltrepassano una certa ampiezza possono impedire la regolarità della blastocinesi. Ne ripareremo più avanti. Qui non si può a meno però dall'accennare subito che embrioni di giacitura normale, con la regione cefalica perfettamente situata sotto il polo micropilare, possono non essere in grado di compiere la blastocinesi (Tav. IX, fig. 96; Tav. X, fig. 102).

\*\*\*

Allo stadio L (fig. 77, Tav. VIII) l'embrione normale di razza annua è raccorciato e conformato in maniera da occupare più o meno esattamente la semiperiferia ventrale dell'uovo; cosicchè, tracciando idealmente nel preparato l'asse antero-posteriore dell'uovo, tutto l'embrione si trova nella metà ventrale dell'uovo stesso. Se nella citata figura l'estremo cefalico e caudale dell'embrione sembrano oltrepassare detto asse, occorre per mente che quel preparato *in toto* manca sul lato sinistro (lato dorsale dell'uovo) di buona parte del tuorlo sgretolato durante le manipolazioni, e manca di tutti gl'invogli. Nelle sezioni si riscontra con evidenza la descritta condizione di cose (Tav. IV, figg. 29, 33, 35). Naturalmente, nulla essendovi di matematico in biologia, e tanto

meno in embriologia, si possono avere oscillazioni notevoli nella giacitura e coartamento dell'embrione, in modo che la semiperiferia dell'uovo non sempre è occupata in modo esattissimo.

L'addome embrionale non rappresenta più — come nello stadio I — i  $3/5$  della lunghezza totale dell'embrione, ma appena la metà di questa, all'incirca.

Gli arti cefalici sono ora alquanto ravvicinati in seguito al raccorciamento dell'embrione, e sono sviluppati in direzione laterale un poco obliqua posteriormente (Tav. VIII, fig. 77). Le antenne invece, come si vede nella citata figura, si sono allungate in direzione antero-posteriore; spiccano sull'acron le due piccole prominente pari del *labbro superiore*.

Molto sporgenti, e ben distinti in articoli, spiccano sui segmenti della regione toracica i rispettivi arti; poco pronunciate sono invece ancora le zampe addominali nei preparati in toto; molto nettamente visibili esse appaiono in una sezione sagittale bene orientata sui segmenti 3°-6° dell'addome (Tav. X, fig. 99), mentre sull'ultimo segmento l'ispessimento ipodermico dell'ultima falsa zampa è meno appariscente perchè si continua con l'invaginazione proctodeale.

La segmentazione del corpo dell'embrione resta ancora quella degli stadi precoci: 4 segmenti cefalici, 3 toracici, 11 addominali. Vedremo che presto questa segmentazione subirà notevoli modificazioni.

\*\*\*

Nello stadio M l'embrione continua a raccorciarsi (Tav. VIII, figg. 78, 79, 80; Tav. IX, figg. 85, 86), e nello stadio N raggiunge il raccorciamento massimo (Tav. VIII, fig. 81; Tav. IX, figg. 82, 83, 84, 87, 88). A seconda della razza e degli individui, tale accorciamento tende ad un massimo giunto al quale l'asse longitudinale dell'embrione (supposto disteso e rettilineo) sia molto più corto dell'asse longitudinale dell'uovo. Le citate figure illustrano come questa condizione di cose venga gradatamente raggiunta negli stadi M ed N (10° e 11° giorno d'incubazione); e dimostrano altresì come la giacitura dell'embrione possa, anche quando si approssima all'accorciamento massimo, variare alquanto rispetto al punto fisso del polo micropilare. E mentre è tipica e regolare la giacitura degli embrioni di fig. 78 e 79 (Tav. VIII) e di figg. 82, 84, 85, 86 e 88 (Tav. IX) è alquanto atipica quella degli embrioni

di figg. 80 e 81 (Tav. VIII), i quali trovansi con la testa alquanto allontanata dal polo micropilare e l'addome che invade la metà dorsale dell'uovo.

Le sezioni riprodotte nelle figg. 51, 53, 57 (Tav. VI) dimostrano, senza bisogno di troppe parole, quale spiccatissimo accorciamento è capace di raggiungere l'embrione nelle razze *Awojuku* e *Brianza* alla vigilia della blastocinesi.

Un fatto importante si verifica nello stadio M, e lo contraddistingue: il 10° e l'11° segmento addominale si fondono insieme in un segmento unico, cosicchè l'addome risulta ora di 10 segmenti e l'intero embrione di 17 segmenti. Esaminando parecchi embrioni che per la loro conformazione generale, grado di raccorciamento raggiunto, siano riferibili allo stesso stadio M, se ne troveranno alcuni con addome di 11 segmenti (Tav. VIII, figg. 78 e 79; Tav. IX, fig. 86), ed altri con addome di 10 segmenti (Tav. VIII, fig. 80; Tav. IX, fig. 85); ciò dimostra che il fenomeno della fusione si compie nella 10ª giornata d'incubazione (andamento tipico).

Le pareti laterali del corpo sono completate, e nello stadio N è quasi interamente formata anche la parete dorsale; le figg. 47-50 della Tav. V (sezioni trasverse da diverse regioni del corpo di embrione in piena blastocinesi) dimostrano però che la proliferazione dell'ipoderma, anche al 12° giorno, giunge verso la parete dorsale soltanto fino ad una certa altezza, al disopra della quale sono soltanto le sottili pieghe amniotiche che si protendono per completare la chiusura del dorso dell'embrione.

Gli arti cefalici e toracici sono ora assai prominenti ed ingrossati, ed anche le false zampe addominali molto sviluppate e ben visibili anche negli embrioni in toto visti di profilo (Tav. VIII, fig. 80; Tav. IX, figg. 82 e 87).

Degli arti cefalici, molto ravvicinati per il forte raccorciamento dell'embrione, il più prominente è ora la mascella, che sembra l'ultimo arto cefalico posteriormente; ma in realtà esiste sempre il labbro inferiore, le cui due prominente pari si spostano verso la linea mediana e cominciano già a saldarsi in un pezzo unico; ed in seguito a tale spostamento, e all'allungamento notevole del pezzo mascellare col relativo palpo, questo nasconde il labbro inferiore a chi guarda l'embrione di profilo (Tav. IX, figg. 87, 88, 90).

Appartengono allo stadio N anche gli embrioni al massimo grado di raccorciamento e con un principio di concavità sulla

superficie ventrale addominale (Tav. IX, fig. 88; Tav. X, fig. 104). Tale accenno di concavità è il primo inizio della blastocinesi.

Giunto a questo stadio, l'embrione si presenta col suo corpo quasi interamente delimitato dalla parete esterna ectodermico-amniotica, ed avvolto quasi completamente nel sacco amniotico. In tale condizione egli deve per un breve periodo *apparentemente* arrestare il suo sviluppo per compiere la migrazione al lato dorsale dell'uovo, cioè quel movimento già ben noto nelle sue linee essenziali, e che va sotto il nome di *blastocinesi*. Ma l'arresto è solo apparente, perché, come vedremo, anche durante il piccolo viaggio da un lato all'altro dell'uovo, l'embrione si evolve notevolmente nei suoi organi interni.

#### CAPITOLO V.

#### Lo sviluppo degli organi interni.<sup>(1)</sup>

##### A) Tubo Intestinale.

##### STOMODEO E PROCTODEO

Le primitive introflessioni ectodermiche che rappresentano gli abbozzi dello stomodeo e del proctodeo nella stria germinale della 2ª giornata dalla deposizione, e che poi si cancellano durante la diapausa, come è detto al Capitolo III, tornano a riapparire con tutta evidenza sul 1° e 18° segmento dell'embrione alla 3ª giornata d'incubazione (stadio D); ma un primo piccolissimo accenno se ne può osservare in alcuni individui anche al termine della 2ª giornata, cioè allo stadio C (Tav. I, figg. 2 e 8). Nelle razze bivoltine le due introflessioni sono sempre già evidentissime nello stadio C, e ancor più pronunciate nello stadio D (Tav. I, fig. 3). La figura 8 della Tav. I mostra altresì come il primo abbozzo della introflessione stomodeale si pronunci esattamente nel bel mezzo del 1° segmento ectodermico, il quale è tutto rivestito sulla sua superficie interna dal 1° cumulo mesodermico. I due foglietti si corrispondono dunque esattamente; e l'abbozzo stomodeale si approfonda perciò in mezzo al sottostante cumulo mesodermico. La stessa cosa avviene nel 18° segmento per l'abbozzo del proctodeo.

(1) Per naturale connessione non si è potuto fare a meno, parlando della metameria e della struttura esterna dell'embrione, di trattare dello sviluppo del sistema respiratorio nel Capitolo precedente.

I due approfondamenti ectodermici si accentuano rapidamente nella 4ª e 5ª giornata d'incubazione, e si affondano nei sottostanti cumuli mesodermici rispettivi (Tav. II, fig. 10, 15, 16); il tessuto mesodermico, in corrispondenza ai fondi delle due introflessioni, in un primo periodo si stratifica sotto di essi, ma si assottiglia, come mostrano le citate figure, e in parecchi individui può notarsi già allo stadio F (5ª giornata) che il mesoderma del 1° e 18° segmento è stato perforato dall'approfondarsi delle due immaginazioni (Tav. II, fig. 16; Tav. IV fig. 31). Nettissimo appare il fatto alla 6ª giornata, cioè allo stadio G (Tav. IV, fig. 27, 28 e 32). E che al disotto del fondo delle invaginazioni non resti più nulla del tessuto mesodermico che primitivamente lo rivestiva, è dimostrato ben chiaramente dalla sezione di fig. 31 (Tav. IV) nella quale il fondo dello stomodeo risulta di un'unica strato di cellule ectodermiche.

Con ciò si spiega come, nelle sezioni sagittali, i due cumuli mesodermici del 1° e 18° segmento, in seguito all'approfondarsi dello stomodeo e del proctodeo in seno ad essi, appaiano come tagliati in due; le cellule di ciascuno dei due cumuli appaiono raccolte dorsalmente e ventralmente a ciascuna delle due invaginazioni in due masse separate; cosicchè, dallo stadio F in poi, si ha sulle sezioni sagittali una *porzione dorsale* e una *porzione ventrale* del mesoderma del 1° e 18° segmento.

La porzione ventrale del mesoderma del 1° segmento, tra il 5° e il 6° giorno (stadio F-G), si differenzia a sua volta in una parte anteriore e una posteriore, come mostra nettamente la fig. 16 (Tav. II) e la fig. 27 (Tav. IV); la porzione posteriore va aggregandosi in una masserella di tessuto omogeneo, a grosse cellule tondeggianti, che forma il *corpo subesofageo* (Tav. IV, fig. 27 e 32). Sulla natura e sulla ulteriore evoluzione di quest'organo diremo più avanti.

Mentre ciò avviene nel 1° segmento embrionale, fenomeni ben diversi si verificano nel 18°. Alla 4ª giornata (stadio E) il fondo del proctodeo manifesta i primi abbozzi di 6 estroflessioni, che si accrescono ricurvandosi in senso antero-posteriore e sono già notevolmente allungate nello stadio F, ossia nella 5ª giornata (Tav. IV, fig. 30; Tav. II, fig. 16; Tav. III, fig. 25). Sono questi gli abbozzi dei *tubi malpighiani*, in numero di 6 nella larva del Filugello, e che in tal numero si originano primitivamente nel modo descritto. TICHOPTROFF [54] scrive che i tubi

malpighiani si originano nell'embrione primitivamente in forma di 2 estroflessioni dell'intestino posteriore (condotti comuni), e in un secondo tempo ciascuna di queste si ramifica in 3 tubi, con una disposizione identica a quella che si ha poi nella larva. Gli stessi condotti comuni ha ravvisato HATSCHKE [32] nello stesso *Bombice*. TOYAMA [54] scrive invece che, secondo le sue osservazioni, i tubi malpighiani si originano come 3 separate paia di sporgenze cave fin dall'inizio, e ne dà buon documento con la figura di una sezione trasversale molto dimostrativa. Le mie numerose sezioni confermano i reperti dell'Autore giapponese. Si può anzi aggiungere che le 6 estroflessioni del fondo del proctodeo corrispondono ad altrettante scanalature longitudinali della parete epiteliale di tutto il tubo proctodeale; e cioè dai 6 sbocchi dei tubi malpighiani partono 6 dozze scavate longitudinalmente su tutta la lunghezza del tubo fino all'ano. Esse sono ben visibili nelle sezioni trasverse (Tav. III, fig. 25; Tav. V, fig. 41 e 42), e conferiscono a tali sezioni del proctodeo una figura stellata a 6 punte, ben diversa dalla corrispondente sezione dello stomodeo (Tav. V, fig. 49) che presenta 4 o 5 punte e pareti più o meno afflosciate.

Il fondo dell'invaginazione proctodeale si sposta sempre più in senso postero-anteriore e quello dell'invaginazione stomodeale in senso antero-posteriore (Tav. IV, fig. 27; Tav. VI, fig. 59, 58, 56). Anche il mesoderma del 18° segmento è stato perforato dall'approfondarsi del proctodeo, e le sue cellule avvolgono quindi il tubo proctodeale come un manicotto formante un rivestimento regolare (Tav. II, figg. 15 e 16; Tav. III, fig. 25; Tav. IV, figg. 27, 29, 30, 33, 35; Tav. V, figg. 40, 41, 42; Tav. VI, figg. 51, 53, 56-58; Tav. VII, fig. 64). I tubi malpighiani si allungano sempre più, decorrendo parallelamente al proctodeo (Tav. IV, fig. 29) e allo stadio L (9° giorno) hanno raggiunto l'11° segmento dell'addome e si sono già ripiegati ad ansa per rivolgersi anteriormente; l'ansa che essi fanno all'11° segmento è incontrata dalle sezioni di fig. 35 (Tav. IV) e 56 (Tav. VI).

Scrivono concordemente gli Autori che le due invaginazioni dello stomodeo e del proctodeo, approfondendosi, vanno incontro l'una all'altra. Sebbene ciò sia grossolanamente vero, perchè entrambe le introflessioni si approfondano nella massa del tuorlo verso la regione centrale, tuttavia quella frase non dà certo un'idea esatta delle direzioni secondo cui si sviluppano

i due approfondamenti e delle variazioni che esse presentano col progredire dello sviluppo. Una buona sezione sagittale che li tagli entrambi (Tav. II, figg. 15 e 16; Tav. IV, figg. 27) ci dimostra che allo stadio F (massimo allungamento) e allo stadio G (appena iniziato il raccorciamento dell'embrione) lo stomodeo si dirige verso il centro dell'ovo, mentre il proctodeo si dirige verso il 4° segmento addominale dell'embrione; gli assi dei due tubi, a questa età formano fra loro un angolo poco minore di un angolo retto. Negli stadi successivi, raccorciandosi sempre più l'embrione, le cose cambiano; allo stadio L (9° giorno) si possono avere i due tubi rivolti esattamente l'uno verso l'altro (Tav. X, fig. 99), oppure essi possono ancora formare angoli ragguardevoli (Tav. IV, figg. 33 e 35). Alla vigilia della blastocinesi le due invaginazioni si pretendono più o meno esattamente l'una verso l'altra, seguendo la curvatura generale dell'embrione. Nelle razze bivoltine, la cui stria germinale è lunghissima ancora nei primi giorni d'incubazione, lo stomodeo e il proctodeo si sviluppano in principio secondo una identica direzione, e col successivo enorme raccorciamento dell'embrione l'asse del proctodeo subisce una rotazione di 180°. Il confronto fra la figura 3 (Tav. I) e la figura 53 (Tav. VI) illustra il fatto in modo evidente.

Quanto più l'embrione si accorcia negli stadi G-N, tanto più lo stomodeo e il proctodeo si allungano; sulle loro pareti si distendono gli avvolgimenti del tessuto mesodermico derivanti dalle primitive piastrelle 1° e 18°. Allo stadio L essi sono lunghi circa un quarto della lunghezza totale dell'embrione (Tav. IV, figg. 33 e 35; Tav. X, fig. 99), considerando tale lunghezza rettilinea dall'apice del 1° segmento all'apice del 18°; allo stadio N (vigilia della blastocinesi) ciascuna delle due invaginazioni può occupare poco meno di  $\frac{1}{2}$  della lunghezza totale dell'embrione (Tav. VI, fig. 53), e tali rapporti si conservano durante la blastocinesi (Tav. X, fig. 100); ma talvolta invece lo sviluppo delle due invaginazioni non oltrepassa  $\frac{3}{4}$  della lunghezza dell'embrione anche alla vigilia e durante la blastocinesi (Tav. VI, fig. 57; Tav. VII, fig. 60). Vi sono, anche in questi rapporti di lunghezza, notevoli variazioni individuali. E' fuori di dubbio però che le due introflessioni, che oramai possiamo chiamare *intestino anteriore* e *posteriore*, crescono rapidamente negli stadi dell'allungamento dell'embrione e in un primo periodo del suo raccorciamento; meno rapidamente crescono quando esso si av-

vicina al raccorciamento massimo; possono contrarsi e raccorciarsi essi stessi durante la blastocinesi; e superata questa, tornano ad allungarsi rapidamente.

L'allungamento relativo delle due invaginazioni in rapporto ai metameri embrionali si può determinare con molta esattezza: allo stadio G lo stomodeo non si affonda oltre la linea trasversale divisoria fra 2° e 3° segmento cefalico (Tav. IV, fig. 27); allo stadio L, essendosi anche accorciato l'embrione e coartata la regione cefalica, il fondo dello stomodeo raggiunge la linea divisoria fra 4° segmento cefalico e 1° toracico (Tav. IV, fig. 35) od anche invade quest'ultimo (Tav. IV, fig. 33); alla vigilia della blastocinesi o durante la medesima esso invade anche il mesotorace (Tav. VI, fig. 53; Tav. VII, fig. 60 e 63) e talvolta giunge fino al metatorace (Tav. X, fig. 100); dopo la blastocinesi il fondo stomodeale resterà ancora, fino alla nascita, press'a poco all'altezza della linea divisoria fra meso e metatorace (Tav. VI, fig. 54) od anche un poco più all'innanzi (Tav. VII, fig. 66; Tav. X, fig. 101). Il proctodeo allo stadio F (Tav. II, fig. 16) risale col suo fondo nel territorio del 10° segmento addominale; allo stadio G supera appena il limite fra 10° e 9° segmento addominale (Tav. IV, fig. 27); allo stadio L il suo fondo raggiunge il limite fra 6° e 7° segmento addominale (Tav. IV, figg. 33 e 35), o può anche invadere un poco il territorio del 6° segmento addominale già nello stadio L, come mostrano le figure 56 e 58 della Tavola VI; press'a poco alla stessa altezza, sempre entro il 6° segmento addominale, esso si conserva alla vigilia della blastocinesi (Tav. VI, figg. 53 e 57), durante e dopo la stessa (Tav. VII, figg. 60 e 66; Tav. VI, fig. 54; Tav. X, figg. 100 e 101).

Notevole e caratteristica è la differenza di struttura esistente fra il fondo cieco stomodeale e quello proctodeale. Nei primi stadi della formazione delle due invaginazioni esse sono strutturalmente simili: lo strato ectodermico si ripiega e si continua in esse con uguale aspetto e spessore su tutta la parete della introflessione. Ma dopo lo stadio G, e cioè dalla 7ª giornata d'incubazione in poi, il fondo cieco stomodeale comincia ad assottigliarsi, e mentre si assottiglia si rigonfia in fuori, in modo da formare una specie di ampolla (Tav. IV, fig. 35; Tav. VI, figg. 53, 57 e 59) la quale si allarga negli stadi della blastocinesi (Tav. VII, figg. 63 e 66; Tav. X, figg. 100 e 101). Nulla

di simile si verifica sul fondo cieco proctodeale, il quale, come abbiamo visto, conserva una spessa parete mentre dà origine ai tubi malpighiani.

Altra caratteristica differenza anatomica fra stomodeo e proctodeo consiste nelle pliche longitudinali dell'epitelio stomodeale sporgenti nel lume del canale nella regione posteriore di esso (Tav. VII, fig. 66) e che conferiscono alle sezioni trasverse della sua parte più profonda l'aspetto stellato a 4 e talvolta a 5 punte (Tav. V, fig. 49); nel fondo cieco proctodeale si hanno invece soltanto le 6 scanalature corrispondenti ai 6 tubi malpighiani, come abbiamo sopra descritto (Tav. V, figg. 41-42). Inoltre la comparsa delle scanalature proctodeali è molto precoce, all'incirca allo stadio E, mentre invece le pliche del fondo stomodeale non appaiono ben pronunciate se non nell'embrione alquanto più avanzato (stadio L).

Le pliche longitudinali del fondo stomodeale sono il primo abbozzo della valvola *cardias* che regolerà, durante la vita larvale, l'ingresso degli alimenti nel mesointestino. La sottile parete del fondo dell'ampolla stomodeale andrà assottigliandosi sempre più, e dopo adempito ad una transitoria funzione di chiusura dell'orificio anteriore del mesenteron fra la blastocinesi e il avvolgimento, è destinata ad essere lacerata e a sparire, come fu già da me segnalato in altro lavoro [24]. Il fenomeno sarà appiamente illustrato nella successiva Memoria.

#### INTESTINO MEDIO.

L'origine della parete del mesenteron è una delle questioni più discusse nell'embriologia degli insetti; e nella stessa ristretta letteratura embriologica del Filugello si trovano opinioni diverse.

SELVATICO [51] descrive (in embrioni di età imprecisata, ma che dalle poche figure si può arguire siano sul 5° o 6° giorno d'incubazione, secondo il nostro schema-tipo) la formazione di due cordoni longitudinali pari che si formerebbero alla sommità delle due lamine ectodermiche laterali proliferanti sui fianchi dell'embrione, internamente all'ectoderma, ed accrescentisi verso il dorso dell'embrione stesso. Si tratta dello stadio raffigurato nella serie di sezioni delle figure 17-20 (Tav. III) del presente lavoro. L'Autore soggiunge che su questi cordoni compa-

iono cellule d'aspetto epiteliale che li rivestono superiormente, inferiormente e al lato interno; poi i cordoni si spostano medialmente, e mentre le cellule del cordone formano lo strato muscolare dell'intestino medio, le cellule epiteliali ne formano l'epitelio. Dunque: lo strato muscolare del mesenteron deriverebbe dai cordoni apicali delle lamine mesodermiche laterali; quanto all'origine dell'epitelio, l'Autore non si pronuncia affatto, perchè ci dice che le cellule epiteliali « compaiono » sui cordoni mesodermici, e null'altro.

ТИХОМИРОВ [54], dopo una lunga critica delle opinioni e delle conclusioni degli Autori che hanno studiato l'origine dell'intestino medio in vari insetti, descrive e raffigura la disposizione del mesoderma, dell'ectoderma, del sistema nervoso già bene individualizzato, ad uno stadio a cui attribuisce 10 giorni di età, ma che corrisponde all'incirca a quello descritto dal SELVATICO; e descrive la particolare disposizione di 3 serie longitudinali di sfere vitelline, due delle quali sono allineate sopra gli apici delle lamine mesodermiche laterali e una sopra la catena dei gangli nervosi. La disposizione è esatta, ed è quella da me qui raffigurata a Tav. III, figg. 17-20, nelle quali si vede il sistema nervoso che va formandosi, la sfera vitellina sopra di esso, le listerelle mesodermiche laterali e le altre due sfere vitelline costantemente disposte ai loro apici (fa eccezione l'apice sinistro nella figura 17, perchè quella sezione colpisce l'intervallo fra una sfera e l'altra sulla linea longitudinale). Agli apici delle listerelle mesodermiche, che ТИХОМИРОВ chiama *foglietto intestino-muscolare*, si formano i *bottoni mesodermici*, che corrispondono ai *cordoni mesodermici* longitudinali di SELVATICO; e sui bottoni si allineano le sfere, che in questo caso il ТИХОМИРОВ chiama *trabecole vitelline laterali*. E l'Autore soggiunge: « le rôle que jouent les trabécules vitellines latérales est extrêmement important: ils donnent naissance à l'épithélium de l'intestin moyen, épithélium qui se constitue des cellules de l'ectoderme secondaire, émanant de ces trabécules des cellules « vitellines » ».

Col nome di *endoderma secondario* l'Autore russo intende riferirsi alle cellule globose migranti fuori dalle sfere vitelline, e che partecipano attivamente all'organogenesi; mentre chiama *endoderma primitivo* l'insieme delle sfere vitelline.

Orbene, se la descrizione degli organi embrionali a questo

stadio è esatta, non si può però convenire con l'Autore sulle origini dell'epitelio del mesenteron. Preparati di numerose serie di sezioni trasverse di embrioni dello stadio F, G, L, M, O, mi hanno persuaso che l'Autore ha scambiato le cellule migranti (endoderma secondario) con le numerosissime *rosette* che rappresentano stadi riproduttivi e forme caudate del simbionte dell'uovo del Filugello (1). E' verissimo che nell'interno delle sfere vitelline delle *trabecole laterali* si scorgono un gran numero di corpicciuoli tondeggianti che si colorano fortemente; a questi sono i microrganismi simbiotici. A Tav. II, fig. 14, ho voluto riportare due sfere vitelline della trabecola longitudinale mediana, sovrastanti al sistema nervoso, per mostrare come siano infarcite di microrganismi. Ma le cellule migranti sono tutt'altra cosa; esse si presentano globose, per lo più a contorno festonato che conferisce loro un aspetto di piccole more, come è chiaramente rappresentato nella figura 36 (Tav. IV), 55 (Tav. VI) e 62 (Tav. VII). E' verissimo che durante l'epoca in cui si forma e si completa l'epitelio dell'intestino medio (dallo stadio F allo stadio O) si constata una vera pioggia di cellule migranti che invadono la cavità del corpo dell'embrione, come può vedersi nelle figure 19, 20, 24, 25 (Tav. III), e che vanno crescendo di numero negli stadi prossimi alla blastocinesi (figg. 38-42, Tav. V) e di blastocinesi in atto (figg. 47-50, Tav. V). Ma il punto delicato e difficile sta proprio nel decidere dove si originino queste cellule. Per poterlo decidere non c'è altro mezzo che constatare la loro formazione in atto, coglierle mentre si individualizzano in determinati territori. Or bene, la figura 21 (Tav. III), la fig. 36 (Tav. IV) e la fig. 55 (Tav. VI) mostrano in modo incontrovertibile la origine di cellule globose, moriformi, in seno alle sfere vitelline centrali o subcentrali dell'uovo; ma in seno alle sfere delle trabecole vitelline laterali, adiacenti ai due bottoni mesodermici, non ho potuto riscontrare nessuna cellula globosa in via di formazione. Non escludo che, studiando serie di sezioni ancor più numerose, una qualche cellula globosa non si possa riscontrare anche in quelle sfere; ma si tratterebbe di cosa eccezionale in confronto della intensità con cui tali cellule si origi-

(1) Per la estesa illustrazione di tali forme V. i miei precedenti lavori [21, 22, 23, 26, 27].

nano nelle sfere della zona centrale o subcentrale dell'uovo, mentre per TICHOMIROFF avverrebbe il contrario, e cioè « tous « les trois trabécules mentionnés des cellules vitellines servent « de centre à une formation très énergique de cellules de l'en- « toderme secondaire ». Queste sue parole mi convincono che egli ha interpretato per cellule migranti in via di formazione le varie forme del microrganismo simbiotico, a quel tempo sconosciuto. Non si comprende poi come mai l'Autore non attribuisca la stessa funzione epitelio-formativa alle sfere vitelline della trabecola impari ventrale, e come ad essa assegni invece la funzione di formare il nevilemma (?) e il corpo adiposo. Nè può accogliersi come esatta la di lui affermazione che la trabecola mediana scompare ben presto, perchè le sezioni trasverse di stadi anche avanzati (stadio M, 10° giorno, Tav. V, figg. 38-42) mostrano la trabecola mediana tuttora esistente, e se essa è in istolisi alquanto avanzata, specialmente nella regione addominale, altrettanto avviene delle due trabecole laterali. E quando più tardi le trabecole laterali vengono incluse nel mesointestino, anche i residui della trabecola mediana vengono con esse conglobati e inclusi (Tav. V, figg. 47-50, blastocinesi in atto).

Quanto allo strato muscolare del mesenteron, TICHOMIROFF ammette, come il SELVATICO, che esso derivi dai cordoni apicali delle lamine mesodermiche laterali, i quali ad un certo momento si distaccano dal restante mesoderma e si portano medialmente.

TOYAMA [62] critica le idee e le conclusioni di TICHOMIROFF, affermando che le cellule migranti delle trabecole vitelline laterali (che anch'egli ha riscontrato « corrispondenti in ogni particolare » a quelle descritte dall'Autore russo) « non hanno nulla a che fare con la formazione dell'epitelio del mesenteron ». Chiama *endoderma* l'epitelio dell'intestino medio, e dice che esso si origina da *abbozzi endodermici* che si formano e proliferano sui due fondi ciechi dello stomodeo e del proctodeo. Sul lato ventrale del fondo dello stomodeo si formano — secondo l'Autore — due *listerelle* (« *Vordere epithellamelle* ») che proliferano dall'innanzi all'indietro, e sul lato ventrale del fondo del proctodeo si formano due *listerelle* proliferanti dall'indietro all'innanzi (« *Hintere epithellamelle* »). Quindi tutto il tessuto dell'epitelio dell'intestino medio si andrebbe formando da *abbozzi endodermici di origine ectodermica* (tale è la terminologia adottata dall'Autore); le *listerelle* crescono formando dap-

prima la parete ventrale, poi quelle dei fianchi, poi la volta del mesointestino.

Quanto all'origine del foglietto muscolare del mesenteron, l'Autore ammette sostanzialmente la stessa origine dai cordoni laterali mesodermici, come gli altri Autori.

Riassumendo: i 3 Autori che hanno studiato a fondo l'argomento sono d'accordo sul modo di formazione del foglietto muscolare, ma per l'origine dello strato epiteliale hanno dato due teorie molto diverse: dalle cellule migranti, che debbono considerare vera e propria formazione endodermica; dalle lamine epiteliali del fondo stomodale e proctodale, che debbono considerare formazione tipicamente ectodermica, nonostante che il TOYAMA li chiami « abbozzi endodermici ».

Ho sottoposto a lungo ed accurato esame numerose serie complete di sezioni longitudinali e trasverse di embrioni degli stadi nei quali il mesenteron è in via di formazione, ed ecco quello che dalle mie osservazioni risulta. Nessun dubbio esiste sulla formazione di *cellule migranti* in numero sempre più copioso quanto più si avanza lo sviluppo dell'embrione dallo stadio F allo stadio O; vi sono momenti, quando l'embrione è prossimo alla blastocinesi, e più ancora durante la medesima, nei quali in una sola sezione sagittale (Tav. VII, fig. 60, di cui le fig. 62 e 63 rappresentano dettagli a forte ingrandimento) si contano più di un centinaio di cellule migranti, e parecchie decine se ne possono contare in una sola sezione trasversa (fig. 38-42 e 47-49, Tav. V). Un calcolo assai semplice, benchè molto approssimativo, ci conduce ad ammettere, in base ad una media di 30 cellule migranti per ogni sezione di 5 micron, l'esistenza di circa 6000 cellule migranti in un intero uovo allo stadio della blastocinesi; ed anche facendo una forte riduzione perchè le due regioni estreme dell'uovo, fuori del sacco amniotico, presentano pochissime cellule migranti, e perchè parecchie di queste compaiono in due sezioni successive, si arriva pur sempre ad una cifra di almeno 4000 cellule migranti, esistenti — si noti bene — in un dato istante, cioè quando uccidiamo l'uovo col fissativo. Se si potessero, nell'uovo vivo, seguire quelle 4000 cellule esistenti ad un dato momento fino alla loro destinazione o in qualche modo contrassegnarle, probabilmente, dopo un breve intervallo di poche ore, tutte avrebbero compiuto la loro migrazione e altrettante nuove cellule migranti si constaterrebbero nell'etu-

brione e nelle zone vitelline ad esso adiacenti, verificandosi cioè un flusso continuo di cellule nuove che sostituiscono lentamente le più vecchie man mano che queste migrano nella cavità generale dell'embrione.

Nelle 8 giornate di grande intensità della loro formazione è da ritenersi non troppo lontana dal vero, e forse inferiore, la cifra di oltre 50.000 cellule migranti che si formano in un uovo del *Filugello*. E' un vero esercito di minuscoli invasori, che invadono realmente la cavità generale del corpo dell'embrione, attraverso la larghissima apertura della parete del dorso che è ancora quasi tutta da costruire fino alla vigilia della blastocinesi, e poi attraverso l'apertura sempre più ristretta del foro ombelicale. In piena blastocinesi poi, non soltanto perchè è massima l'intensità di formazione delle cellule migranti, ma anche perchè il canale d'ingresso nell'embrione si restringe, osservando a sufficiente ingrandimento la zona del canale ombelicale, sembra di assistere ad una vera corrente che penetrando nell'embrione trascina con sé una moltitudine di cellule migranti; qualche cosa che ricorda molto suggestivamente la corrente sanguigna in un vaso, e la miriade di globuli che essa trasporta (Tav. VII, fig. 62).

E fin qui si tratta di fatti, su cui non si può discutere.

Un'altro fatto su cui non si può discutere è la proliferazione del tessuto ectodermico dei fondi dello stomodeo e del proctodeo, i quali producono sui due lati del loro fondo cieco una coppia di listerelle, le quali si avanzano, come ha descritto il TOYAMA, le une verso le altre (Tav. X, fig. 100, ove la sezione colpisce una sola delle listerelle ventrali) e si distendono sui due cordoni apicali delle lamine mesodermiche laterali. La disposizione che assume una delle listerelle epiteliali è indicata anche nelle figure 51 e 57 (Tav. VI) e nella figura 29 (Tav. IV); e in sezione trasversa di stadi alquanto precoci (etadio F, 5ª giornata) le listerelle proliferanti sui fondi ciechi dello stomodeo e del proctodeo si distinguono chiaramente e sono ben sviluppate, anche quando nelle sezioni trasverse che interessano la regione mediana dell'embrione, cioè nella zona centrale dove dovrà formarsi il mesenteron (tutta la regione toracica e i primi 5 segmenti addominali), non appare ancora alcuna traccia della futura parete dell'intestino medio. Più tardi i cordoni mesodermici si incurvano fortemente verso l'interno, e l'incurvamento procede dall'innanzi all'indietro; la serie di figure 17-20 (Tav. III) tolte

da sezioni di uno stesso embrione, dimostra infatti che un notevole incurvamento degli apici delle lamine mesodermiche laterali si riscontra già allo stadio F nel 5° segmento addominale (fig. 20) e così pure nel 2° segmento addominale (fig. 19) ma è ancora nullo nel torace (fig. 17-18).

Ad uno stadio più avanzato, i cordoni mesodermici si staccano dalle lamine laterali, si avvicinano alle lamelle epiteliali che nel frattempo proliferano dai due fondi dello stomodeo e del proctodeo, portandosi medialmente; allora lo strato epiteliale ectodermico si adagia su quello muscolare d'origine mesodermica, con la disposizione che si vede nella serie di figure 38-42 (Tav. V). Procedendo dall'addome verso la testa, all'altezza del 5° segmento addominale il taglio incontra il proctodeo presso il suo fondo e mostra le due listerelle laterali in rapporto diretto col fondo proctodeale di cui sono una emanazione (fig. 42); fra il 4° e il 5° segmento addominale le due listerelle divergono già (fig. 41) e si differenziano bene dal cordone mesodermico su cui sono adagiate; poco più innanzi la distinzione è più chiara (fig. 40), e nettissime sono poi le listerelle nel 2° segmento addominale (fig. 39) e nel mesotorace (fig. 38). Più anteriormente, a livello del proctoreo, si osserva una disposizione di cose simile a quella di fig. 42, e cioè le due listerelle provenienti dal fondo stomodeale.

A forte ingrandimento una delle listerelle del mesenteron ci mostra lo strato epiteliale ben differenziato da quello muscolare (Tav. V, fig. 44); quest'ultimo è formato di cellule compatte con nuclei tondeggianti, ammassate irregolarmente; il primo invece ha caratteri ben nitidi di un vero epitelio a cellule cilindriche vacuolizzate, con nuclei respinti verso la base e sensibilmemente più grandi di quelli del sottostante mesoderma; queste cellule epiteliali sono allineate regolarmente in unico strato, ed hanno la parte distale occupata da un grosso vacuolo. Allo stadio M nella regione toracica la sezione trasversa di ciascuna handellette non contiene più di una dozzina di cellule epiteliali.

Man mano che l'embrione continua il suo sviluppo, le due handellette vanno sempre più assumendo posizione latero-ventrale, e crescono sia verso la linea mediana ventrale che verso quella dorsale. Ben presto esse vengono a contatto sulla linea mediana ventrale, come mostra la figura 50 (Tav. V); ma, come giustamente aveva osservato ТИХОМИРОВ, l'epitelio cresce me-

no rapidamente della parete muscolare, e quindi prima si ha il completamento ventrale della parete muscolare, e poi il tessuto epiteliale va rivestendola internamente.

Queste mie osservazioni deporrebbero tutte per un'ampia e assoluta conferma delle conclusioni di TOYAMA, perchè infatti attribuiscono la formazione dell'epitelio del mesenteron alle listerelle derivanti dalla *Vordere-* e dalla *Hinterepithellamelle* dei fondi stomodeale e proctodeale.

E' verissimo che le listerelle si formano nel modo anzidetto. Ma se si studiano con grande attenzione alcune serie di sezioni trasverse degli stadi L, M, N, si può agevolmente constatare che quelle listerelle si completano non soltanto per proliferazione dei loro elementi, ma per giustapposizione ai loro bordi di numerose cellule migranti. Anzi, le figure cariocinetiche nell'epitelio delle listerelle sono ben rare, mentre invece assai frequenti sono le cellule migranti, dalla caratteristica struttura moriforme, che aderiscono ai loro bordi laterali; e non mancano stadi di trasformazione di queste cellule, che mentre aderiscono ai bordi delle listerelle epiteliali, conservano in parte la struttura di cellula migrante e in parte hanno già assunto quella di cellula ad unico vacuolo come quelle dell'epitelio al quale sono già in parte fuse.

Potremo allora concludere che erano giuste almeno in buona parte, le vedute di ТИХОМИРОВ?

Neppure questo si può affermare. L'Autore russo non parlò di cellule migranti in generale come sorgente delle cellule epiteliali del mesenteron, bensì solo di quelle che, a suo modo di vedere, si originerebbero dalle due trabecole vitelline laterali. Ho già esposto più sopra l'equivoco in cui egli è caduto. Non sono esclusivamente le cellule migranti dalle trabecole vitelline laterali (che non ne producono affatto) a dare origine all'intero epitelio del mesenteron, come vorrebbe l'Autore russo; bensì alcune di quell'enorme numero che se ne producono nella massa centrale del vitello invadono la cavità generale dell'embrione e vanno ad inserirsi o ad aggiungersi a quelle delle listerelle derivanti dai fondi dell'intestino anteriore e posteriore.

L'errore di ТИХОМИРОВ sta nell'aver dato valore eccessivo a qualche piccola osservazione di dettaglio, limitandosi a costruire su quella la sua teoria. Infatti, egli descrive « une cellule de l'endoderme secondaire qui vient de se delimitter de sa sphère

« vitelline et qui tend à se ranger à côté des autres cellules de l'épithélium intestinal ». E siccome quella cellula trovata adiacente ad una sfera vitellina della trabecola laterale, egli ammette senz'altro che si sia originata da quella sfera, mentre invece, a mio avviso, bisognerebbe dimostrare che entro quelle sfere delle trabecole laterali si vedono in vario stadio di formazione cellule migranti. Inoltre l'Autore trascura, agli effetti della costruzione dell'epitelio dell'intestino medio, tutta la immensa schiera di cellule migranti che scendono ad invadere l'embrione dalla massa del vitello extraembrionale, e che in quelle sfere si vedono con tutta facilità in diversi stadi della loro formazione. Neppure a queste, in ogni modo, si può attribuire l'intera formazione dell'epitelio del mesenteron, perchè soltanto alcune di esse vi contribuiscono, come sopra è già detto.

*L'epitelio del mesenteron ha dunque origine mista nel Figliuolo, e deriva per la maggior parte dalle listerelle ectodermiche proliferanti dai due fondi stomodeale e proctodeale, e in piccola parte dalle cellule migranti, di natura endodermica, provenienti dalle sfere vitelline extraembrionali.*

Le serie di sezioni trasverse di embrioni allo stadio di blastocinesi in atto dimostrano chiaramente che l'accrescimento delle listerelle del mesenteron verso la linea mediana ventrale le ha condotte appena, a questa età, a contatto su detta linea. Avviene dapprima la saldatura dello strato muscolare delle due handlette: lo spessore dello strato è molto sottile, in un primo tempo, sulla zona di saldatura (Tav. V, figg. 47 e 50), eppoi va uniformandosi allo spessore delle zone laterali dello strato stesso. Internamente le cellule epiteliali vanno poi completando il rivestimento.

Mentre i bordi inferiori delle listerelle si saldano in questo modo, i bordi superiori crescono verso l'esterno e verso l'alto, giungendo a saldarsi alle lamine mesodermiche. Anche qui, come fu già descritto da SELVATICO e da ТИХОМИРОВ, lo strato muscolare cresce verso il dorso dell'embrione più rapidamente di quello epiteliale; ben presto i bordi superiori delle listerelle mesodermiche intestinali, che, come sappiamo si sono originate dai craccini superiori delle lamine mesodermiche laterali, si ricongiungono a queste che nel frattempo si sono estese verso il dorso seguendo l'accrescersi dell'ectoderma dei fianchi dell'embrione (Tav. V, figg. 47 e 50). Le ultime cellule dello strato muscolare

intestinale in alto si protendono a destra e a sinistra, assottigliandosi, e raggiungono in più punti anche l'ectoderma all'altezza in cui esso cessa di avere il suo normale spessore e si continua dorsalmente con le sottilissime cellule dell'amnio.

Giustamente dice TICHOMIROFF che a questo stadio (che egli definisce di 11 giorni dello sviluppo primaverile, e che corrisponde infatti allo stadio N-O) l'embrione si presenta, in sezione trasversa, come diviso in due piani da un diaframma che non è altro che la metà ventrale della parete dell'intestino medio. Soggiunge il TICHOMIROFF che, continuando lo strato muscolare a crescere sui due lati verso il dorso, va inglobando tutte le cellule vitelline che si trovano ancora nella cavità del corpo dell'embrione. Ed è giusto, ma non è soltanto la muscolare che, crescendo, opera tutto ciò, bensì anche l'epitelio, benchè cresca un poco in ritardo a ridosso della muscolare.

E in tale inglobamento, qual'è il destino delle trabecole vitelline laterali e di quella mediana? Le sezioni trasverse di embrioni allo stadio M (10 giorni d'incubazione, Tav. V, figg. 38-42) dimostrano che le sfere vitelline pertinenti a quelle trabecole in qualche regione del corpo si presentano ancora distinte (fig. 38), ma hanno perduto la netta delimitazione periferica e sono in via di disgregazione (cfr. fig. 38 con figg. 17-20 a Tav. III), e in qualche regione del corpo hanno perduto ogni individualità e si sono fuse in un'unica massa vitellina nella quale i contorni delle sfere delle trabecole sono irricognoscibili (Tav. V, figg. 39-42). In conseguenza di tale fusione, tutti i residui delle sfere della trabecola mediana vengono a conglomerarsi con quelli delle sfere delle trabecole laterali, cosicchè le listerelle del mesointestino, man mano che si avvicinano e si saldano sulla linea mediana ventrale, rivestono inferiormente questo conglomerato vitellino, senza che alcuna parte di esso ne rimanga escluso. Ed infatti, negli embrioni dallo stadio di blastocinesi (stadio O) in avanti, non si riscontra più alcun residuo di vitello ventralmente alla parete dell'intestino medio (Tav. V, figg. 47-50; Tav. VII, figg. 60, 63, 66; Tav. X, figg. 100-101).

*Entro l'intestino medio che si va formando resta racchiusa quella massa vitellina che formava le sfere delle trabecole laterali e della trabecola ventrale; e se ne ha una riprova nel fatto che il materiale vitellino racchiuso nel mesenteron allo stadio di blastocinesi in atto o appena superata (stadio O-P) è tempe-*

stato di una quantità grandissima di rosette di microrganismi simbiotici e di individui isolati in vari stadi, precisamente con gli stessi aspetti che si riscontrano nelle sfere delle trabecole (Cfr. fig. 14 della Tav. II, con fig. 61 della Tav. VII).

*Alla vigilia della loro inclusione nel mesenteron le sfere vitelline delle trabecole laterali e della trabecola mediana perdono la loro struttura caratteristica e si fondono in un conglomerato vitellino, il quale viene poi avvolto dalla parete del mesenteron e costituisce il vitello intestinale.*

Nel vitello intestinale si ritrovano ancora i granuli vitellini (Tav. VII, fig. 61), nonchè la sostanza fondamentale microgranulare che è così frequente in ampie aree del vitello in quasi tutti gli stadi dello sviluppo; ma non si riscontra più traccia della struttura reticolare che è caratteristica delle sfere vitelline extraembrionali nei primi giorni dell'incubazione, e che spesso si riscontra in queste ultime anche dopo la blastocinesi.

Abbiamo fin qui assistito alla formazione di una parte della parete del mesointestino, e cioè la parte ventrale, che si forma mentre la blastocinesi è in atto. Ma questa non è neppure la metà dell'intera parete cilindrica del mesenteron. Tutta la parte dorsale si dovrà formare dopo superata la fase più critica della blastocinesi, intendendo per fase critica quella in cui si raggiunge una perfetta curvatura concavo-ventrale quale è rappresentata dalla figura 66 (Tav. VII). Detta figura mostra infatti che a tale epoca la parete dorsale dell'intestino medio è ancora tutta da costruire. E ne vedremo le modalità nella Memoria successiva.

### B) Sistema nervoso.

SILVATICO [51] descrive e raffigura sezioni trasverse di embrioni di presumibile età di 3 giorni d'incubazione, nei quali comincia a pronunciarsi sulla linea mediana ventrale un solco longitudinale ectodermico; in embrioni più avanzati descrive sommarariamente l'approfondirsi del solco, dal quale si originano i gangli nervosi. Ma in realtà la sua descrizione non dà un'idea precisa e chiara dello svolgersi del fenomeno, e le illustrazioni sono un po' primitive.

TICHOMIROFF [54] ha dato una descrizione un po' più estesa dell'origine del sistema nervoso, ma il modo con cui il solco nervoso dell'ectoderma dà origine alla catena gangliare non è

affatto chiaro nelle sue figure nè nella descrizione; nè si comprende che cosa abbia voluto significare scrivendo che « le sillons nerveux, dans la région des commissures, ne participe aucune-ment à la formation du système nerveux », e che « le sillon nerveux n'entre dans la composition du système nerveux que par son fond ».

TOYAMA [62] accenna solo fuggevolmente alla comparsa della doccia neurale, e in qualche figura ne dà una rappresentazione un po' schematica, e limitatamente ad un solo stadio che può giudicarsi di circa 5 giorni d'incubazione (stadio F).

Il solco neurale, impari mediano, comincia in realtà a pronunciarsi lievemente fin dal 2° e 3° giorno d'incubazione (stadi B e C) tanto nelle razze bivoltine (Tav. II, figg. 11 e 12) come nelle annuali. Al 4° giorno (stadio D) lo spessore dell'ectoderma è notevole, e tutto uniforme; l'approfondimento si accentua in corrispondenza ai metameri dell'embrione, mentre resta assai tenue fra un metamero e l'altro. Val quanto dire che *si formano approfondimenti metamerici separati da zone meno approfondite; gli approfondimenti corrispondono ai futuri gangli della catena nervosa, e sono in numero di 17; e precisamente: 4 nella regione cefalica, 3 in quella toracica, e 10 nei primi 10 segmenti addominali.* Manca l'approfondimento sull'ultimo segmento dell'addome, e in questo non si forma alcun ganglio.

Allo stadio F ciascun approfondimento del solco neurale si è spinto verso l'interno in modo da insinuarsi per ampia zona mediana fra le due lamine mesodermiche laterali (Tav. III, figg. 19 e 20) e comincia a delaminarsi sui due lati, mentre il fondo di ciascun approfondimento non si delamina, bensì rimane formato di cellule cilindriche che sulle sezioni trasverse appaiono regolarmente disposte a ventaglio (fig. 20), coi nuclei bene allineati verso l'orlo convesso della piega ectodermica. Le porzioni laterali di ciascun approfondimento, prima ancora di delaminarsi, appaiono formate da un certo numero di cellule rotondegianti che si differenziano nello strato profondo dell'ectoderma che dovrà delaminarsi da quello superficiale; esse sono i *neuroblasti* descritti e raffigurati già da WHEELER [66] in sezioni trasverse di embrioni di *Xiphidium* (fig. 31, Tav. IV, 2° e 3° segmento cefalico). Quando si pronuncia la delaminazione che separa le masserelle di neuroblasti dal soprastante straterello ectodermico e le agglomera in due ammassi di neuroblasti, destro e si-

nistro, in ciascun segmento, si discerne subito nelle sezioni trasverse la sottile fessura di delaminazione che separa lo strato ectodermico dei fianchi dell'approfondimento in due strati: uno interno, assai spesso, che forma un grosso bottone cellulare per ciascun lato, il quale resta ancora aderente al fondo dell'approfondimento, ed uno straterello esterno assottigliatissimo (Tav. III, fig. 19). I due grossi bottoni cellulari laterali formano due gangli pari e simmetrici per ciascun segmento, che restano ancora per breve tempo saldati al fondo della doccia neurale a destra e a sinistra della serie di cellule a ventaglio (Tav. III, fig. 20), eppoi se ne distaccano perchè la delaminazione dell'ectoderma si estende sempre più profondamente anche nella zona del fondo degli approfondimenti (cellule a ventaglio) e allo stadio G diventa completa. Allora in ogni segmento, eccetto il 18°, troviamo sotto l'ectoderma un ganglio duplice e simmetrico che consta di una metà destra e una metà sinistra, unite fra di loro per mezzo di una larga fascia di cellule a ventaglio del fondo della doccia neurale; queste ultime, in seguito all'avvicinamento delle pareti dell'approfondimento ad angolo sempre più acuto, finiscono coll'esser tagliate fuori completamente dallo straterello ectodermico sottile: e così si delamina, per ultima, anche la zona del fondo, e tutte le cellule a ventaglio passano integralmente a far parte del ganglio nervoso, e precisamente ne costituiscono l'istmo di coalescenza sulla linea mediana (cfr. fig. 20 con fig. 19, Tav. III).

Questa zona mediana di coalescenza viene poi lentamente incorporata nelle due metà di ciascun ganglio, perchè le due metà si ravvicinano e tendono a fondersi in massa unica. Benchè a ciò non si arrivi mai, neppure nella larva, e una traccia della duplicità primitiva sussista sempre in tutta la catena gangliare, tuttavia la zona cellulare mediana sparisce poi totalmente perchè le sue cellule vengono ad allogarsi fra quelle delle due primitive masse destra e sinistra; e si formano così i gangli con la loro definitiva e tipica struttura: sostanza bianca (fibre nervose) nella zona mediana, e sostanza grigia (corpi cellulari) nella zona periferica (Tav. III, figg. 24 e 25; Tav. V, figg. 38-40, 42, 47-50). Le sporgenze panciute che le due metà di un ganglio formano verso il segmento vicino possono essere tanto pronunciate da far apparire il ganglio duplice su una sezione trasversa condotta in prossimità di una linea intersegmentale dell'embrione (Tav. V, fig. 48).

Scorrendo una serie di sezioni trasverse al momento della massima delaminazione che origina i gangli (stadio G), si osserva che l'approfondimento neurale appare più pronunciato in corrispondenza ai segmenti embrionali e meno pronunciato negli intersegmenti. In realtà ciò corrisponde non ad una reale alternativa di punti di maggiore infossatura con punti di infossatura minore; al contrario, il fondo delle cellule a ventaglio trovasi alla stessa profondità nei segmenti e negli intersegmenti, tantochè, in sezioni sagittali se ne possono incontrare lunghi tratti. Nella figura 33 (Tav. IV) la sezione, un poco obliqua, colpisce longitudinalmente la zona delle cellule a ventaglio nei segmenti 9° e 10° dell'addome. In sezioni sagittali meglio orientate se ne possono colpire lunghissimi tratti, che con tutta evidenza dimostrano come il fondo della doccia neurale, con le sue cellule caratteristiche, forma una zona cellulare a palizzata per tutta la lunghezza dell'embrione, eccettuato il 18° segmento, e che tale zona non presenta alcuna traccia di sinuosità che indichino avvallamenti maggiori o minori. Allora è evidente che la maggiore infossatura della doccia nei singoli segmenti e la minore profondità negli intersegmenti dipende dal semplice fatto della sporgenza che fanno i segmenti embrionali, e cioè lo strato ectodermico di tutta la parete ventrale, mentre ciò non si verifica negli intersegmenti. A ciò si aggiungono le sporgenze maggiori che fanno gli abbozzi delle zampe; e con ciò si spiega la differenza — a volte assai notevole — di profondità della doccia (cfr. fig. 19 con fig. 20, Tav. III).

*Il pavimento della doccia neurale, mentre è zona di coalescenza e di collegamento fra una metà e l'altra di ciascun ganglio in ciascun segmento, rimane per un breve tratto, in ciascun intersegmento, unico collegamento longitudinale fra gangli successivi, anche dopo avvenuta la delaminazione totale. È la condizione di cose che si vede nella figura 28 (Tav. IV). Ma questo stadio G è già quello in cui la catena nervosa è appena tutta delaminata e già si è iniziato il raccorciamento generale dell'embrione. Per conseguenza i brevissimi tratti intergangliari rappresentati dalle sole cellule del fondo della doccia, tendono ad annullarsi, e i gangli vengono ben presto a contatto fra di loro sulla linea longitudinale (Tav. IV, fig. 35; Tav. X, fig. 99).*

Mentre questo avviene, tutta la catena gangliare si allontana alquanto dallo strato ectodermico che l'ha generata e si

approfonda nella cavità generale dell'embrione (Tav. III, figg. 24 e 25).

Contrariamente alle affermazioni di TICHOMIROFF, concluderemo dunque che:

*La catena gangliare del filugello si origina da una doccia nervosa ectodermica sulla linea mediana ventrale; le pareti laterali della doccia producono neuroblasti, e le cellule del suo pavimento si differenziano in cellule a palizzata. Dalle masse dei neuroblasti si originano per delaminazione le due metà di ciascun ganglio, e la zona mediana di coalescenza, formata dalle cellule o palizzata del fondo, viene poi delaminata anch'essa e incorporata nei gangli.*

Quando il raccorciamento dell'embrione che prelude alla blastocinesi si estrinseca con la fusione del 18° segmento col 17°, come abbiamo descritto al Capitolo IV, i segmenti addominali diventano 10 in luogo degli 11 primitivi. Ma mentre avviene la fusione degli ultimi due segmenti addominali, avviene altresì la fusione degli ultimi due gangli nervosi addominali: il 10° ganglio addominale s'incorpora al 9°, e così l'ultimo ganglio della catena giace nel 9° segmento addominale divenuto penultimo. Perciò noi ritroviamo, anche allo stadio di massimo accorciamento dell'embrione, un ultimo segmento addominale privo di ganglio nervoso. La condizione di cose che precede queste fusioni è chiaramente rappresentata nella fig. 35 (Tav. IV) che si riferisce allo stadio L, nel quale l'embrione, pur essendo già notevolmente raccorciato, mostra ancora 11 segmenti addominali, di cui solo i primi 10 contengono un ganglio; e la condizione successiva alle fusioni è rappresentata nelle figure 53 e 57 della Tav. VI, nelle quali l'addome embrionale consta solo di 10 segmenti, di cui soltanto i primi 9 contengono un ganglio. Il 9° ganglio addominale della figura 53, sezionato su una delle due metà con taglio un poco discosto dal piano sagittale, è visibilmente più grosso, perchè risulta dalla recente fusione di 9° e 10° ganglio insieme. La fusione degli ultimi due gangli in atto è anche ben visibile nella figura 58 (Tav. VI) nella quale sono ancora bene evidenti tutti gli 11 segmenti dell'addome; il che dimostra che l'accorciamento della catena nervosa precede la fusione dei due ultimi segmenti dell'addome primitivo.

Anche durante la blastocinesi i segmenti dell'addome embrionale restano per lo più 10 (Tav. IX, fig. 90), ma l'8° e 9°

tendono a fondersi fra di loro; e di regola, prima che la blastocinesi sia perfettamente compiuta, questa fusione è completata nello stadio di blastocinesi superata (stadio P) o in quello di blastocinesi compiuta (stadio Q). Qualche volta allo stadio Q questa fusione dell'8° e 9° segmento addominale è ancora in atto (Tav. IX, fig. 94). Talvolta invece questa fusione può apparire anche precocemente (Tav. X, fig. 104). *A blastocinesi ben compiuta si ha dunque un addome embrionale di soli 9 segmenti. Ma in ogni caso accade che mentre avviene la fusione dei due suddetti segmenti addominali, avviene anche un nuovo raccorciamento della catena nervosa per fusione del 9° ganglio addominale con l'8°, e così l'ultimo e grosso ganglio della catena viene a giacere nell'8° segmento dell'addome, restando l'ultimo segmento privo di ganglio (Tav. X, fig. 100). Questa fusione gangliare può essere precoce o tardiva (sempre nell'epoca della blastocinesi), ed è contemporanea alla fusione dei segmenti addominali 8° e 9°, che contengono appunto i gangli che devono fondersi.* Questa variabilità del tempo in cui si verificano queste fusioni e la loro concomitanza sono dimostrate dal fatto che si riscontrano embrioni in flagrante blastocinesi con 9 gangli addominali ancora ben distinti e un 10° segmento privo di ganglio (Tav. VII, fig. 60), mentre altri embrioni in identico stadio hanno già soltanto 8 gangli addominali e un 9° ed ultimo segmento privo di ganglio (Tav. X, fig. 100).

Mentre si compivano le descritte fusioni all'estremo posteriore della catena gangliare e dell'embrione, analogo fenomeno si compiva verso l'estremo anteriore, e precisamente nei segmenti cefalici e gangli rispettivi. Il primo segmento cefalico col suo grosso ganglio sopraesofageo resta sempre ben distinto fino allo stadio L (Tav. IV, fig. 35), ma nei successivi stadi tendono sempre più a fondersi con esso i segmenti cefalici 2°, 3°, 4°; il loro ravvicinamento è già evidente nella citata figura e s'accen- tua più tardi, finché allo stadio di massimo raccorciamento dell'embrione distinguiamo soltanto un unico segmento cefalico (Tav. VI, figg. 53 e 57; Tav. IX, figg. 87-88; Tav. X, fig. 104) sul quale le appendici restano ad indicare i segmenti primitivi fusi assieme. Ma a differenza di quanto avviene nelle fusioni dell'estremo addome, che si compiono gradatamente, una alla volta, qui invece la fusione del 1° segmento col 2° 3° e 4° in un unico segmento cefalico avviene simultaneamente, benchè lentamente;

senza che si distinguano condizioni intermedie, si passa da 4 segmenti distinti dello stadio L all'unico segmento dello stadio N e successivi.

I gangli cefalici si comportano, nelle loro fusioni, in modo particolare, determinato dal fatto che qui una parte della catena è dorsale (ganglio sopraesofageo) e non partecipa alle fusioni, essendo separato dai gangli successivi dall'ampia introflessione dello stomodeo. *Le fusioni interessano esclusivamente i gangli 2°, 3° e 4° della catena, i quali gradatamente si avvicinano e si fondono in un'unica massa che diventa il definitivo ganglio sottoesofageo (Tav. VII, figg. 60, 63, 66; Tav. X, figg. 100-101).*

In definitiva, la catena gangliare, originariamente composta di 17 gangli, all'epoca della blastocinesi in atto (stadio O) è ridotta a 13 gangli; la suddivisione primitiva in regioni era di 4 gangli cefalici, 3 toracici, 10 addominali; la suddivisione definitiva, che si conserva immutata anche nella larva, è di 2 cefalici, 3 toracici, 8 addominali.

La sola regione che non subisce alcun mutamento nè fusione è quella toracica, la quale resta sempre la vera zona-guida nella topografia dell'embrione durante la sua evoluzione.

#### C) Ghiandole.

##### GHIANDOLE SERICIGENE.

Brevissime ed incerte notizie troviamo nella letteratura a proposito dell'origine di questi importantissimi organi nell'embrione. ТИХОМИРОВ [54] si limita ad affermare che esse hanno origine « simultaneamente alle trachee », senza punto precisare poi, neppure con larga approssimazione, il momento in cui hanno origine queste ultime. Nella di lui figura 42 sono erroneamente indicati come ghiandole salivari i due tubi che indubbiamente rappresentano le ghiandole sericigene, in un embrione che l'Autore definisce di 10 giorni di sviluppo primaverile; e ancora più erroneamente è indicato nella stessa figura come « corpo adiposo » l'ammasso di cellule grosse e del tutto caratteristiche che formano il *corpo subesofageo*. Questo organo non ha nulla a che fare col corpo adiposo, come diremo più avanti.

SERVATICO [51] ha ricercato lo sbocco delle ghiandole sericigene in sezioni longitudinali di embrioni di *Antheraea mylitta*, e non riuscì a formarsene una chiara idea.

Sulle sezioni trasverse di embrioni allo stadio F (5° giorno) ho potuto nettissimamente accertare che la parete ectodermica del 4° segmento cefalico forma due piccole inflessioni vicinissime l'una all'altra, a destra e a sinistra della linea mediana. Esse sono tanto vicine che sembrano quasi confluire in un unico sbocco. Le due inflessioni, immediatamente al disotto dello strato ectodermico, si prolungano in forma di sottili tubicini e divergono nella cavità del 4° segmento assumendo decorso curvo per abbracciare il 4° ganglio cefalico, e girando sul lato destro e sul sinistro del medesimo, si continuano rettilinei fino all'inizio del 1° segmento toracico, e qui terminano a fondo cieco.

In stadio più avanzato (stadio M, 10° giorno) i due tubetti sono alquanto cresciuti in lunghezza, e si possono agevolmente seguire sulle sezioni trasverse in tutta la regione toracica (Tav. V, fig. 38) nella quale essi assumono decorso pressochè rettilineo dall'avanti all'indietro, e quindi si ritrovano sempre nella stessa posizione in sezioni trasverse, e cioè ventralmente e un po' medialmente rispetto alle due bandarelle dell'intestino medio. Si prolungano per tutto il 1° segmento addominale, e al confine fra questo e il successivo segmento terminano a fondo cieco.

Allo stadio di flagrante blastocinesi (12° giorno, stadio O), i due tubi ghiandolari sono giunti fino ad invadere il 6° segmento addominale (Tav. V, fig. 50) e cessano a fondo cieco al limite fra 6° e 7° segmento addominale. Essendosi nel frattempo completata la parete ventrale del mesenteron, essi hanno assunto una posizione un po' diversa, risalendo lateralmente verso i fianchi del mesenteron, fino a trovarsi, nel 5° segmento addominale, subito sotto le ghiandole genitali che nel frattempo si sono formate (Tav. V, fig. 50). Il decorso dei tubicini sericigeni a questo stadio comincia già a mostrare qualche lieve sinuosità. Nel loro lume, che è sottilissimo, non si discerne ancora traccia alcuna di secrezione. Le pareti sono formate di cellule piccolissime, con nucleo bene evidente e sferoidale; in sezione trasversa 5-6 cellule formano l'intera parete della ghiandola.

Non si comprende, dopo quanto abbiamo descritto, come il TICHOMIROFF affermi che « les terminaisons des glandes séricigènes, au jour de la sortie de la larve, atteignent à peine les limites du huitième et neuvième anneau du corps ». Ciò significherebbe che al momento della nascita le ghiandole sericigene sarebbero ancora allo stadio di sviluppo che avevano al 10° gior-

no, prima cioè della blastocinesi. Qui evidentemente l'Autore russo è caduto in errore [54, pag. 213].

Al tempo in cui egli compiva i suoi studi non erano ancora stati compiuti dal VERNON le famose ricerche sulle ghiandole delle mute, e quindi si comprende come il TICHOMIROFF chiami *ghiandole complementari* le ghiandolette del De-Filippi annesse ai tubi escretori delle ghiandole sericigene nel punto ove questi confluiscono in un tubo escretore impari. L'Autore confessa di non essere riuscito ad accertarne la presenza nell'embrione, e le mie osservazioni confermano questo reperto negativo fino all'epoca della blastocinesi.

#### GHIANDOLE SALIVARI

Anche sull'origine di queste ghiandole la letteratura ci dà ben poche notizie. SELVATICO [51, pag. 107 e segg.] sembra ritenere che ghiandole salivari e ghiandole sericigene siano la stessa cosa, e difatti, mentre dà qualche incerta notizia sull'origine di queste ultime, non fa alcun cenno sull'origine delle prime. TICHOMIROFF [54] scrive che non potè stabilire con certezza l'epoca della loro formazione, nè potè vedere l'inflessione ectodermica che dà loro origine; soggiunge che al 10° giorno dello sviluppo primaverile esse hanno l'aspetto di sacchi larghi e corti situati al lato mediale delle mandibole.

Le sezioni trasverse di uno stadio corrispondente a quello accennato da TICHOMIROFF (stadio M) mi hanno dimostrato la presenza delle ghiandole salivari decorrenti in forma di due esili tubetti a ridosso delle lamine mesodermiche dei segmenti cefalici 3° e 4°; esse si originano da due inflessioni ectodermiche del segmento mascellare (3° segmento) ad uno stadio di circa 7 giorni dello sviluppo primaverile.

#### GHIANDOLE IPOSTIGMATICHE

Di questa formazione ghiandolare nell'embrione del Filugello parla soltanto il TICHOMIROFF [54] il quale la denomina semplicemente *corpo ghiandolare*. In una figura che rappresenta una sezione trasversa della regione addominale di un'embrione di 11 giorni di sviluppo primaverile, l'Autore riporta un gruppo di cellule che per il loro aspetto, la loro posizione rispetto allo stigma e all'ipoderma, non possono interpretarsi altro che come

ghiandole ipostigmatiche. Sono quelle ghiandole, prive di condotto escretore, che VERNON descrive [65] giacenti « disposte a gruppi, un po' al disotto e all'indietro degli stigmi addominali, « differenziate dall'ectoderma in età embrionale ancora poco « inoltrate ».

Si tratta di cellule di mediocri dimensioni, di forma grossolanamente poliedrica, stipate fra di loro, che costituiscono al disotto delle aperture stigmatiche addominali altrettanti organi ghiandolari; come è noto, il VERNON [65] non esita a considerarli vere e proprie ghiandole a secrezione interna.

La descrizione del TICHOMIROFF non precisa l'epoca in cui questi piccoli ammassi di cellule ghiandolari appaiono: vagamente egli accenna che esse cominciano a delimitarsi quando già il sistema nervoso si è da lungo tempo distaccato dall'ectoderma. A me risultò da numerose sezioni che nello spessore della parete ectodermica dei segmenti addominali sul lato destro e sinistro s'incominciano a notare allo stadio L (9 giorni) alcune cellule più grosse delle altre, nella zona compresa fra l'introflessione degli stigmi e la zona ventrale. Nel successivo stadio M tali cellule si sono separate dall'ectoderma, delaminandosi, e hanno formato gruppi numerosi nelle posizioni suddette (Tav. V, fig. 39, e a più forte ingrandimento in fig. 43). È esatta l'osservazione di TICHOMIROFF che tali cellule restano aderenti allo strato ectodermico che le ha generate, e che quest'ultimo resta assottigliato per un certo tempo, e talora assai fortemente, in seguito alla loro delaminazione (Tav. V, fig. 43).

#### CORPO SUBESOFAGEO.

Con tale denominazione intendesi quell'ammasso cospicuo di cellule grandi, rotondeggianti e di aspetto tutto particolare che trovansi fin da età precocissime dello sviluppo primaverile ventralmente allo stomodeo, presso il suo fondo cieco, e più o meno aderenti ad esso.

Come già descriveremo a suo luogo, il mesoderma del 1° segmento cefalico viene ad essere spostato verso l'interno eppoi perforato dall'approfondamento stomodeale; quella placca mesodermica che viene a trovarsi ventralmente allo stomodeo resta indifferenziata allo stadio D (Tav. II, fig. 10), ma allo stadio E (4° giorno) si è già differenziata quasi sempre dalla placca una

porzione profonda, più o meno isolata dal rimanente mesoderma, che si può già chiamare senz'altro *corpo subesofageo* (Tav. II, fig. 16) che diviene sempre più evidente e individualizzato nei successivi stadi fino alla blastocinesi (Tav. IV, figg. 27, 31, 32, 33, 35; Tav. VI, fig. 51-54, 56-59; Tav. VII, figg. 63, 66; Tav. X, figg. 99-101). Dopo la blastocinesi il piccolo organo, che allo stato attuale delle nostre conoscenze non possiamo interpretare altrimenti che come una ghiandola a secrezione interna, subisce una continua involuzione, e nel bacolino pronto allo schiudimento sarà ridotto ad un misero rudimento. Indubbiamente quindi esso spiega la sua funzione soltanto durante il periodo embriogenetico che va dalla formazione dello stomodeo fino alla blastocinesi, o poco oltre.

Le sezioni delle figure 48 e 49 (Tav. V) e 63 (Tav. VII) mostrano a medioere ingrandimento la posizione dell'organo e la caratteristica disposizione delle cellule che lo formano. Sono cellule tondeggianti, arrossate l'una all'altra alla rinfusa, con nucleo di forma un po' irregolare; sono alquanto più grandi delle cellule migranti (endoderma secondario di TICHOMIROFF) e si comportano verso i coloranti con una spiccata elezione del citoplasma verso i colori acidi come l'Eosina, il Rosso Congo e l'Orange G. Questo solo fatto fa differenziare spiccatamente e fa subito riconoscere il corpo subesofageo nei preparati di sezioni. Il citoplasma di queste cellule non è vacuolizzato, ma denso e grossolanamente granuloso; ben differente dunque da quello delle cellule migranti che presenta ampi vacuoli che conferiscono alla cellula il noto e caratteristico aspetto moriforme e bollosa. Basta confrontare fra di loro nella sola figura 63 (Tav. VII) i due tipi di cellule — quelle migranti isolate e moriformi con quelle del corpo subesofageo — per convincersi come i due tipi siano ben distinti e caratteristici.

Non si comprende come TICHOMIROFF abbia potuto dare di questo corpo l'erronea interpretazione di *dlobe du corps adipeux* soggiungendo che « cette espèce de corps adipeux tire aussi son « origine de l'entoderme secondaire; nous remarquons avec évidence que les cellules de ce dernier se rapprochent du complexus « des cellules graisseuses mentionnées, et, pour ainsi dire, se transforment sous nos yeux en celles-ci ». Col corpo adiposo, che comparirà molto più tardi, molto tempo dopo la blastocinesi, nulla ha a che fare quest'organo che è già ben formato al 5° giorno,

cioè 7 giorni prima della blastocinesi. E in quanto al vedere la trasformazione delle cellule di endoderma secondario in cellule del corpo subesofageo, la cosa va intesa *cum grano salis*. Le mie osservazioni su un gran numero di serie complete di sezioni mi dimostrano in modo incontrovertibile che *l'origine prima del corpo subesofageo è nettamente mesodermica*, dalla porzione più profonda ventrale della piastra mesodermica del 1° segmento cefalico. Questo primo ammasso cellulare è già differenziato con peculiari caratteri al 5° giorno, e la differenziazione deve essere anche di natura chimica, perchè il citoplasma reagisce spiccatamente con determinati colori. Le sue cellule non si moltiplicano mai, nè per mitosi nè per amitosi, e tuttavia la massa cellulare si accresce. Un accurato studio delle sezioni negli stadi compresi fra la 5ª e la 10ª giornata fornisce le prove del sopravvenire di cellule migranti che vanno a saldarsi con quelle marginali del corpo subesofageo. Particolarissimo è il fatto che tali cellule migranti destinate ad inglobarsi al corpo subesofageo subiscono la modificazione chimica caratteristica dell'organo prima ancora di inglobarsi ad esso; e si riconoscono perciò queste cellule sopravvenienti e se ne può stabilire il destino quando sono soltanto avvicinate alla ghiandola, perchè si presentano ancora moriformi e vacuolose e già assorbono intensamente i colori plasmatomi come le cellule della ghiandola originarie del mesoderma.

In conclusione, *l'origine del corpo subesofageo è mista: in parte dal mesoderma del 1° segmento, in parte dalle cellule migranti, di natura endodermica.*

#### D) Cellule del sangue.

Della grande quantità di cellule migranti libere che appaiono nella massa del vitello negli stadi dello sviluppo primaverile e invadono la cavità generale dell'embrione, e del loro caratteristico aspetto abbiamo già detto a proposito dell'origine dell'intestino medio; e abbiamo già visto quale numero strabiliante se ne produca durante tutto lo sviluppo. E quale importanza esse abbiano anche negli stadi precoci di sviluppo fino alla formazione della stria germinale, fu già da me messo in evidenza nelle precedenti memorie [17, 27].

TICHOMIROFF [54] molto prima di me aveva affermato il grande valore delle cellule migranti nell'organogenesi; e non posso

a meno dal riportare le di lui conclusioni essenziali a questo riguardo:

« J'ai pu me convaincre que les cellules vitellines participent « au début du développement à la formation du mésoderme, dans « les stades ultérieurs au corps adipeux, à l'épithélium de l'inté- « stin moyen et des corpuscules du sang; c'est pourquoi je crois « avoir le droit de soutenir actuellement que les sphères (cellules) « vitellines des insectes, ayant évidemment partout la même ori- « gine que chez le ver à soie, représentent l'endoderme ».

È questo il concetto che io ho ampiamente svolto, illustrato e confermato nelle mie precedenti memorie e nel presente lavoro. Benchè convinto, da ingente materiale di preparati e da 16 anni di studio, di questa verità fondamentale della attiva partecipazione delle cellule vitelline all'embriogenesi per mezzo delle cellule migranti loro figlie, non ho mancato di rimanere nella più stretta obiettività, cercando di sottoporre a critica severa la convinzione dell'illustre zoologo russo e mia. E ho già messo in evidenza come egli abbia dato eccessivo valore all'attività organogenetica delle cellule migranti quando ha attribuito loro per intero la formazione dell'epitelio del mesenteron e del corpo subesofageo, mentre per questi due organi il loro contributo è soltanto parziale.

Se si astrae da questi due punti, tutto il resto delle vedute di TICHOMIROFF sul valore delle cellule migranti è perfettamente giusto. E in modo speciale mi sembra giusta la sua affermazione che *le sfere vitelline coi loro prodotti cellulari rappresentano l'endoderma degli insetti.*

Sarebbe superfluo, dopo tutta la documentazione delle figure qui annesse, insistere per dimostrare che un complesso di cellule così ricche di manifestazioni vitali come le sfere vitelline, da cui emanano continuamente migliaia di cellule figlie, ed entro cui pullulano milioni di microrganismi simbiotici, non può ancora oggi considerarsi, alla stregua delle conoscenze di 50 anni fa, un *materiale abortivo*. E' perfettamente giusto chiamare endoderma il complesso delle sfere vitelline e delle cellule loro figlie. Esso non corrisponde *morfologicamente* al concetto di *foglietto*? Ciò non ha alcuna importanza per la embiologia generale attuale.

Giusta è la conclusione del TICHOMIROFF sulla derivazione del corpo adiposo e delle cellule del sangue dalle cellule migranti; l'uno e le altre sono cioè di origine endodermica. Ne parleremo

diffusamente nella successiva Memoria, giacchè fino allo stadio della blastocinesi le cellule migranti destinate a formare il corpo adiposo o a diventare cellule del sangue conservano ancora i loro caratteri primitivi; ma possiamo fin d'ora convincerci come allo stadio della blastocinesi (Tav. VII, figg. 60, 62, 63, 66) una grande quantità di cellule migranti abbiano già invaso la cavità generale dell'embrione, e moltissime si affollino all'ombelico per penetrarvi (fig. 62); e sono appunto queste cellule penetrate nella cavità generale, ed altre che vi penetreranno fino al momento della chiusura dell'ombelico, che diventeranno cellule del sangue e cellule del corpo adiposo.

Fanno strano contrasto a queste conclusioni sul valore delle cellule migranti le idee del TOYAMA [62]. Egli distingue nel tuorlo:

a) *vitellofagi*, cioè le sfere vitelline, e ne dà una descrizione molto sommaria non scevra di confusioni e inesattezze; chiama vitellofago la sfera vitellina come entità cellulare, ma poi con lo stesso nome intende il solo nucleo di essa, i cui fitti e fini granuli di cromatina chiama addirittura cromosomi (1); nega ai vitellofagi qualsiasi partecipazione all'embriogenesi, ed ammette molto semplicisticamente che essi «degenerare in situ and finally undergo dissolution» [l. c., pag. 90];

b) *cellule migranti dall'ectoderma*, piccole ellissoidali, che si distaccherebbero dall'ectoderma e che HEDER [33] chiamò *paraciti*; neppure queste avrebbero alcuna parte all'embriogenesi, ed anzi anche queste «finally dissolve away»;

c) *cellule migranti dal cumulo orale*, che deriverebbero dal disintegrarsi di questa formazione; e anche queste, dopo aver vagato nella massa del tuorlo, «finally dissolve»; è singolare come l'Autore affermi, senza invocare ombra di prova, che tali cellule «have the function of liquefying the yolk and conveying it to other portion of the egg, and they finally dissolve;... some of these free cells pass out from the body of the embryo and wander about the extraembryonal yolk-mass»;

d) *cellule del sangue*, vacuolizzate e debolmente colorantis, e queste sono indubbiamente le cellule migranti descritte da TICHOMIROFF, da me e da altri; ma il TOYAMA non ammette un'origine vitellina di queste cellule, bensì afferma che esse derivano dal mesoderma.

e) *cellule degeneranti*, che però non sono cellule del-

l'embrione o del vitello del Filugello, bensì forme di riproduzione del microorganismo simbiotico. Dalla breve descrizione che ne dà l'Autore, accompagnata da qualche sommaria raffigurazione, si comprende che egli aveva sott'occhio le forme da me raffigurate e descritte in precedenti lavori e anche nella qui annessa fig. 14 (Tav. II); ma l'Autore interpretò le forme a rosetta come cellule degeneranti e i microorganismi isolati come granulazioni derivanti dal dissolvimento di quelle.

In complesso, delle 5 sorta di cellule, una sola avrebbe un valore, secondo l'Autore giapponese, e tutte le altre degenererebbero e si dissolverebbero.

Dalle prove date dalle ricerche di TICHOMIROFF e mie risulta invece che le cellule vitelline sono sede di continua proliferazione cellulare nei periodi di attività embrionale; che le cellule della categoria b e c di TOYAMA sono indubbiamente anch'esse cellule migranti originatisi dalle sfere vitelline; che le cellule del sangue hanno anch'esse la stessa origine; e le cellule *degeneranti* sono rosette di microorganismi simbiotici (1).

#### E) Apparato riproduttore.

SILVATICO [51] diede alcune brevissime notizie sulle gonadi embrionali del Filugello; lo stadio più precoce in cui egli le osservò è quello in cui «l'intestino medio sta per chiudersi sul dorso», e ciò corrisponderebbe ad uno stadio di blastocinesi flagrante o già superata (stadio O e P). L'Autore descrive le gonadi come «due cumuli di cellule rotonde nucleate», che più tardi «seguono il movimento di chiusura dell'intestino «medio e si racconano fra loro sul dorso». Ma non precisa affatto l'origine dei due organi nè il primo momento della loro comparsa, e neppure la loro posizione esatta nell'addome embrionale.

TICHOMIROFF [54] ha trovato e raffigurato le gonadi in uno stadio che è indubbiamente di blastocinesi in atto, ma scrive che «tale età l'organo «peut être pris pour une simple agglomération de cellules du mésoderme;... les cellules qui serviront à la formation des produits sexuels... ne diffèrent guère du mé-

(1) Sul comportamento dei microorganismi simbiotici dell'uovo del Filugello durante lo sviluppo primaverile seguirà prossimamente una Memoria a parte.

soderme qui les entoure». Questi gruppi di cellule trovansi al limite fra l'intestino medio e quello posteriore, vengono rivestiti dal mesoderma, ma l'Autore non ci dice donde derivino.

L'origine delle cellule germinali nell'embrione degli Insetti e del Filugello in particolare è argomento quanto mai controverso, e formò oggetto di numerosissimi studi. Recentissimo è lo studio di BEER [3] che ha raccolto la poderosa bibliografia dell'argomento (220 lavori), alla quale rimando il lettore. Qui esulerebbe dai limiti del presente lavoro il riprendere a fondo la questione, e mi limito perciò a riassumere lo stato attuale della medesima secondo i più recenti lavori.

Secondo ISHIWATA [37], si formerebbero le cellule germinali libere e disseminate nel mesoderma di tutti i segmenti dell'embrione prima della blastocinesi; esse andrebbero poi agglomerandosi in due masserelle ovali ai lati del vaso dorsale nel 5° segmento addominale, e tale formazione sarebbe manifesta prima della blastocinesi, « quand l'embrion se raccourcit ». Numerosi Autori hanno affermato di aver riconosciuto come cellule germinali gruppi di cellule in diverse posizioni in embrioni assai precoci, ed anche nel filugello RIZZI [48] ha descritto un piccolo cumulo di cellule, addossate alla stria germinale di poche ore di età, come gruppo di cellule germinali.

Tutte queste osservazioni hanno un solo difetto: e cioè che manca qualsiasi prova che questi gruppi di cellule siano effettivamente cellule germinali.

Ed anche dato, ma non concesso, che la prova si potesse raggiungere, queste osservazioni non ci dicono ancora nulla sulla origine di quelle cellule libere che poi si raggrupperebbero e formerebbero la parte essenziale delle gonadi.

Per restare ai fatti, io non posso vedere in quelle cellule globose che RIZZI ha descritto nella stria germinale del filugello niente altro che cellule migranti che a quegli stadi precocissimi contribuiscono a formare il mesoderma e null'altro. Per dimostrare che esse formeranno le gonadi, bisognerebbe seguirle da quel momento fino alla comparsa di tali organi, cioè per tutta la diapausa e prima fase della incubazione, e mettere assieme le prove sicure che le cellule ritenute germinali primitive, attraverso tutto questo lunghissimo periodo, sono sempre quelle stesse che formano poi le gonadi embrionali. Tutta questa dimostrazione manca completamente. E quindi, stando ai soli fatti ben

visibili, diremo che le gonadi riconoscibili come tali si osservano nettamente in embrioni di stadio L-M, cioè 2-3 giorni prima della blastocinesi, e si formano nel 5° segmento addominale. Ma a tale stadio, come ha descritto BEER [3] esse risultano già costituite da cellule germinali e da cellule di rivestimento; quindi si può ammettere che la loro individualizzazione cominci anche allo stadio I, quando le bandcellette dell'intestino medio sono in via di formazione dalle lamelle del fondo dello stomodeo e proctodeo. Ben visibili esse diventano allo stadio della blastocinesi (stadio O) su sezioni trasverse (fig. 50, Tav. V) in forma di due masserelle ovali situate sui fianchi del 5° segmento addominale e addossate alla superficie interna delle lamine mesodermiche. Nello stadio M il loro riconoscimento nella stessa posizione è più difficile, perchè le due masserelle si trovano sepolte nello spessore del mesoderma e non sono differenziabili in seno a tutta la massa di questo tessuto se non in pochi casi e con molta incertezza. In stadi più giovani io non potei mai ravvisarle.

Dato il punto di loro formazione, io sono alquanto esitante ad accettare la conclusione di TICHOМИROFF il quale ammette che la parte essenziale delle gonadi deriverebbe dall'endoderma secondario, cioè da cellule migranti. A tale sua affermazione l'Autore non reca prove di fatto, ma soltanto il sostegno di argomentazioni assai discutibili.

Assai più obbiettivo mi sembra l'ammettere quello che vediamo, e cioè che le gonadi si originano in seno al tessuto mesodermico, e sono quindi da considerare un loro derivato diretto.

#### F) Pieghe dell'amnio.

TICHOМИROFF descrisse per primo [54] le pieghe che fa la membrana amniotica poco prima della blastocinesi e negli stadi successivi, chiamandole *trabecole* e dandone delle raffigurazioni schematiche e molto primitive. Non si può convenire con lui quando afferma che è difficile trovare nuclei nelle trabecole amniotiche, mentre invece essi si riscontrano numerosi e bene evidenti (Tav. V, figg. 47-50; Tav. X, fig. 101); nè si può accettare la sua affermazione secondo la quale queste trabecole giungerebbero fino alla sierosa, costituendo dei legami diretti fra i due invogli embrionali. Neppure una sola volta mi avvenne, studiando migliaia di sezioni, di riscontrare che le trabecole amnio-

tiche si prolunghino fino alla sierosa. Inoltre, nelle figure dell'Autore russo, queste trabecole son disegnate in modo da apparire semplici prolungamenti protoplasmatici delle cellule dello strato amniotico, mentre in realtà non sempre è così: vi sono prolungamenti semplici del protoplasma di una cellula amniotica (Tav. V, figg. 47-48), e in tali casi si riscontra quasi sempre alla base del prolungamento il nucleo appiattito della cellula da cui esso enana; ed altri prolungamenti invece che sono vere e proprie addoppiature, come mostra la figura 50 della Tavola V, nella quale l'isolotto amniotico che vedesi in basso è la sezione della piega amniotica soprastante. Sono questi vere dita di guanto, per così dire, estroflessioni tubulari dell'amnios. Una triplice piega mostra la figura 47 della stessa Tavola V, altra grossa piega mostra la figura 101 della Tavola X. Interessante anche la struttura, assai frequente in stadi prossimi alla blastocinesi, riportata nella figura 64 a Tavola VII, ove i prolungamenti dell'amnio appartengono al primo tipo, ma sono multipli; qui si constata con tutta evidenza che trattasi di cellule amniotiche emettenti prolungamenti protoplasmatici numerosi ed anche anastomizzati.

Non è difficile spiegare l'origine dei prolungamenti conformati a piega od estroflessione digitiforme. E' fuori di dubbio che le cellule amniotiche non presentano mai figure cariocinetiche e neppure di divisione diretta. E' pure indubitato che la superficie della membrana amniotica aumenta sempre più mentre l'embrione si sviluppa durante l'incubazione, e da uno stadio in cui avviluppa strettamente la sola superficie ventrale della stria germinale (Tav. I, fig. 1) deve arrivare ad avvolgere quasi interamente l'embrione durante la blastocinesi (cfr. con fig. 60 a Tav. VII), e poi lo dovrà continuare ad avvolgere interamente quando esso continuerà ad accrescersi e ad allungarsi (cfr. con fig. 54, Tav. VI), finchè poco prima del rinvoltimento esso sarà tanto aumentato di volume da essere disteso sotto la sierosa sviluppando una superficie uguale a questa, cioè all'intera superficie dell'uovo. Tutto questo enorme aumento di superficie che anche con grande approssimazione si può calcolare di parecchie decine di volte superiore a quella primitiva, si opera per mezzo di nuove cellule che sopraggiungono dal vitello e vanno a saldarsi allo strato amniotico (Tav. VII, fig. 62). Ma se ora si pensa che l'embrione, dopo un primo periodo nel quale si allunga, va raccorciandosi fortemente; se si confronta l'ampiezza minima della

cavità amniotica negli stadi di allungamento (Tav. II, figg. 10 e 15) e quella massima degli stadi di accorciamento (Tav. IV, figg. 51 e 53); si comprenderà come la parete amniotica resti distesa e senza pieghe per tutto il periodo di accrescimento, e la cavità amniotica si presenti assai più ampia a raccorciamento finito, e si comprenderà come a quest'epoca di massimo accorciamento e durante la blastocinesi la membrana amniotica — ormai eccessivamente sviluppata per avvolgere un embrione impiccolito — cominci a presentare delle addoppiature. Difatti è a quest'epoca che le pieghe amniotiche si sviluppano; durante la blastocinesi si ingigantiscono specialmente le pieghe pertinenti alla superficie ventrale dell'embrione, e ciò è dovuto senz'alcun dubbio come vedremo nel capitolo successivo, allo spostamento dell'embrione dal lato ventrale dell'uovo a quello dorsale. Dopo la blastocinesi le pieghe gradatamente spariscono, ed anche questo si spiega pensando che l'amnio, sospinto e rigonfiato dal nuovo accrescersi dell'embrione, deve nuovamente aumentare in superficie fino ad eguagliare lo sviluppo della sierosa, ed anche a superarla quando si pensi che esso avvolge anche il sacco vitellino che resta racchiuso nella cavità delimitata dalla curvatura dell'embrione a mo' di lettera U negli stadi avanzati.

*Adunque le pieghe amniotiche si possono ricondurre a cause di pura e semplice meccanica dello sviluppo, dipendenti dal rapporto fra la superficie dell'amnio e quella, variabile, dell'embrione che esso riveste, nonchè dal movimento dell'embrione durante la blastocinesi.*

## CAPITOLO VI

### La blastocinesi.

Quando l'embrione ha raggiunto nell'uovo il massimo accorciamento che abbiamo descritto, esso incomincia a compiere il movimento che dicesi *blastocinesi* o *rivoltimento*. Quasi tutti gli Insetti compiono movimenti embrionali, ma con modalità diversissime nei diversi gruppi; e i movimenti hanno ampiezza assai variabile: WHEELER [66] ha descritto in *Xiphidium* un vistosissimo e duplice viaggio che l'embrione compie spostandosi dapprima dal lato ventrale dell'uovo a quello dorsale, e tor-

nando poi, dopo un certo tempo, a spoetarsi sul lato ventrale; vi sono invece insetti che compiono movimenti di blastocinesi minima, consistente nel girare dell'embrione intorno al proprio asse senza spostamenti apprezzabili, ed altri infino non compiono blastocinesi di sorta.

Nei Lepidotteri la blastocinesi, senza essere un viaggio duplice e vistosissimo, è però un movimento di cospicua entità. L'embrione, accresciutosi per i primi 11 giorni circa dello sviluppo primaverile in *posizione ventrale* nell'uovo (1) e con una conformazione *convesso-ventrale* (2), passa ad una *posizione dorsale* nell'uovo (3) assumendo una conformazione *concavo-ventrale* (4) e *convesso-dorsale*.

Benchè alcuni Autori abbiano dato sommarie descrizioni della posizione iniziale e di quella finale dell'embrione del Filugello, e alcuni abbiano anche descritto posizioni intermedie, tuttavia non possediamo ancora nella letteratura una descrizione e illustrazione completa delle modalità dell'interessantissimo fenomeno.

Un'idea certamente errata della blastocinesi dei Lepidotteri ebbe il SELVATICO [51]; egli non ne dà descrizione alcuna, ma accenna al fenomeno in due punti del suo lavoro. A pag. 99 scrive che « l'embrione, rotto l'amnios, non si trova ancora in « immediato contatto col tuorlo di nutrizione ». L'osservazione si riferisce ad uno stadio di blastocinesi da poco superata (stadio P o Q), ma è errata, perchè *l'amnio non viene affatto lacerato nel movimento di blastocinesi, bensì solo molto più tardi, insieme alla sierosa, al momento dello sbianchimento*. A pag. 107 scrive ancora che « qualche tempo dopo avvenuto il rivolgimento, si « trova l'amnios, in continuazione col foro ombelicale, disteso « sul dorso dell'embrione e ricadente lungo i fianchi di questo « in una falda semplice, la quale oltrepassato l'embrione, con un

(1) Cioè disposto lungo il lato ventrale dell'uovo.

(2) Cioè con una curvatura tale che la faccia ventrale dell'embrione è quella convessa, la quale è rivolta verso l'esterno, e la faccia dorsale è quella concava ed è rivolta verso il centro dell'uovo.

(3) Vale a dire va a disporsi lungo il lato dorsale dell'uovo.

(4) E cioè la curvatura diviene tale che la faccia ventrale dell'embrione diviene concava ed è rivolta al centro dell'uovo, mentre la faccia dorsale diventa convessa e si addossa alla sierosa del lato dorsale.

« bordo frastagliato si perde nel tuorlo, essendosi l'amnios già « disciolto nella regione ventrale. Se l'embrione al momento in « cui compie la rivoluzione intorno al proprio asse longitudinale « avesse avuto lungo il ventre l'amnios o lacerato e rattenuto in « qualche modo dalla sierosa, nel girare sopra sè stesso avrebbe « trascinato i resti dell'amnios su un solo lato in una falda dop- « pia ». E qui appare chiaro che l'Autore interpretava il movi- « mento di blastocinesi non già come uno *spostamento dell'embri- « one da un lato all'altro dell'uovo*, ma come un movimento sem- « plicissimo di un *mezzo giro dell'embrione sul proprio asse lon- « giudinale* che avrebbe portato la sua faccia ventrale verso il « centro dell'uovo e quella dorsale verso la periferia senza che « l'embrione si spostasse da quella posizione nella quale aveva « compiuto la prima parte del suo sviluppo. Concetto, questo, mol- « to lontano dal vero.

TICHOBRÖFF [54] ha dato una breve descrizione della forma- « zione della parete del dorso dell'embrione al momento della « blastocinesi, ed ha raffigurato in modo molto schematico lo sta- « dio di blastocinesi in atto, allorchè l'embrione è giunto a metà « del suo viaggio e trovasi ricurvo a mo' di lettera S; è lo stadio « che corrisponde esattamente alla figura 100 qui annessa (Tav. « X). Ma l'Autore non si diffonde poi a descrivere la blastocinesi « e le sue modalità, bensì aggiunge poche notizie sullo spostamento « del vitello del lato dorsale dell'uovo e sulla chiusura completa « dell'ombelico embrionale; e mostra di non avere un esatto con- « cetto delle modalità della blastocinesi quando scrive che in que- « sto stadio « la partie antérieure de l'embriion s'est encore plus « repliée sur le dos que cela n'était à une stade plus récent ». Non si tratta di un ripiegarsi della testa sul dorso, bensì dello « spostarsi di tutta la regione toracica e addominale verso l'interno « dell'uovo, e ciò fa apparire un certo angolo fra la testa e il « corpo dell'embrione, angolo che prima non c'era perchè tutto il « corpo dell'embrione aveva un'unica curvatura regolare; ma la « testa non si è affatto spostata dalla posizione primitiva.

Tutte queste erano le osservazioni che si possedevano al- « lorchè il VERNON scriveva nel suo trattato [65] sulla blastocinesi « le succinte notizie seguenti: « finita la chiusura del dorso in sul « 12° giorno, l'embrione si accinge a compiere un primo atto « d'indipendenza. Arrovesciando la testa sul dorso e inflettendo « e la coda sul ventre, esso atteggiassi ad S; e rjesce, arrabattandosi

« nella contorsione, a lacerare l'amnios e a dare la volta. Dopo questo *riavvolgimento*, l'embrione tiene il dorso applicato alla « curvatura del guscio e il ventre ripiegato verso il centro dell'uovo, al contrario della stria germinale la quale sporgeva e convessa sulla faccia ventrale, e alla dorsale rientrava concava ».

Lacerazione dell'amnio, dunque, arrabattamento e contorsione dell'embrione, concetto cioè molto dinamico della blastocinesi che l'illustre Maestro di Padova non si era formato con studi propri, bensì sulla scorta delle assai manchevoli descrizioni di SELVATICO e di TICHOMIROFF.

TOYAMA, nel suo studio embriologico [62] non si occupò affatto della blastocinesi.

TIRELLI [57], riassumendo e discutendo le conoscenze attuali o le interpretazioni del significato della blastocinesi — e di ciò parleremo più avanti — afferma che « in generale nella « blastocinesi si ha un vero e proprio movimento dell'embrione, « ben netto, con la conseguente lacerazione dell'amnio ». La parola *movimento* va intesa in questo caso *cum grano salis*, come vedremo; e in quanto alla lacerazione dell'amnio sappiamo che l'affermazione non corrisponde a verità.

In un mio breve studio del 1916 [27 bis] sulle fallanze di alcune uova allo schiudimento, ho messo in evidenza come il fenomeno del raccorciamento dell'embrione prima della blastocinesi « debba verosimilmente essere messo in rapporto col fatto « incontrastabile che esso è sommarmente utile all'animale nei « movimenti che esso si accinge a compiere ». E davo di ciò la riprova illustrando sezioni di embrioni che per aver ripreso l'accrescimento in lunghezza prima che la fase critica della blastocinesi fosse superata, o per non essersi sufficientemente accorciati, non avevano potuto completare il movimento, ed erano stati trovati dopo molti giorni ancora ricurvi a lettera S ed incapaci di completare lo sviluppo e di giungere a nascita. Successivi contributi davo in altro lavoro recente [28] nei riguardi della stretta connessione tra blastocinesi e fallanza allo schiudimento; una breve descrizione del modo come la blastocinesi avviene in questa specie avevo dato già nel 1924 [25, pag. 56-57], rimandando una dettagliata illustrazione e discussione al lavoro che oggi vede la luce.

Le mie osservazioni, condotte per lunghi anni su migliaia di uova di svariatissime razze, in preparati in toto e su sezioni,

mi hanno permesso di accertare intorno all'interessante fenomeno le modalità che qui riassumo.

Quando il raccorciamento dell'embrione è massimo (Tav. IX, fig. 87), la curvatura della sua parete ventrale comincia ad un certo momento a presentarsi non più regolarmente concentrica a quella del lato ventrale dell'uovo, bensì diviene rettilinea nella regione dal 4° al 10° segmento addominale (Tav. IX, fig. 88) come se una spinta verso l'interno fosse esercitata su questa regione per opera di un corpo piatto che si appoggiasse sulla faccia ventrale dei suddetti segmenti. Poco più tardi il fenomeno si accentua, e la regione addominale posteriore non è più rettilinea, bensì diventa concava verso l'interno (Tav. IX, figg. 89-91; Tav. VII, fig. 60; Tav. X, fig. 100), pronunciandosi il fondo di tale concavità sulla linea fra 6° e 7° segmento dell'addome. Le cose procedono come se su tale linea si esercitasse una spinta verso l'interno di un corpo contundente che leggermente tendesse ad affondarsi nel corpo dell'embrione, il quale cede più in quel punto che nelle zone vicine, e si ripiega. Questa prima fase del fenomeno, quando le uova sono conservate ed incubate a perfetta regola d'arte, si verifica con una straordinaria precisione e simultaneità alla 12ª giornata d'incubazione, tantochè, aprendone anche parecchie decine di una stessa partita fissata a tale stadio, si trovano quasi tutti gli embrioni in stadio di blastocinesi in atto, più o meno avanzata, ed è rarissimo trovarne qualcuno che non l'abbia affatto iniziata o l'abbia del tutto superata. Inoltre, aprendo uova di un lotto fissato al 11° giorno, gli embrioni sono tutti in stadio di raccorciamento più o meno prossimo a quello massimo; e quelli di un lotto di 13 giorni hanno quasi tutti superato la blastocinesi. *Le atrocronie insomma sono fino a questo stadio relativamente piccole, sempre nelle condizioni di perfetta conservazione delle uova e perfetta incubazione.*

Si giunge così a quel caratteristico stadio O che era già sommarariamente conosciuto col nome di stadio a lettera S per la caratteristica conformazione dell'embrione (Tav. IX, figg. 89-91; Tav. X, fig. 100; Tav. VII, fig. 60). Adesso, per l'incurvamento avvenuto nella regione addominale, l'embrione occupa la zona centrale dell'uovo, e può distinguersi in una regione anteriore (testa, torace e primi 3 segmenti addominali) che si conserva ancora convesso-ventrale, ed una regione posteriore

divenuta concavo-ventrale (segmenti addominali dal 4° al 10°). In questo stadio di blastocinesi in atto l'8° e il 9° segmento addominale divengono quasi indistinguibili l'uno dall'altro, e si fondono insieme (Tav. X, fig. 100); talora, come già dicemmo, tale fusione avviene all'inizio della blastocinesi (Tav. X, fig. 104), talora invece avviene in ritardo; nella fotografia di fig. 94 (Tav. IX) si vede la fusione ancora incompleta dell'8° e 9° segmento addominale.

L'erroneità dell'affermazione di SELVATICO e TICHOMOFF circa la lacerazione dell'amnio è dimostrata a luce meridiana dalle figure 47-50 della Tav. V, dalle figure 60 e 66 (Tav. VII) e dalle figure 100 e 101 (Tav. X). Le figg. 47-50 sono tratte da sezioni trasverse di uno stesso embrione (V. Spiegazione delle tavole) a livello di diversi segmenti del corpo; la posizione dell'embrione nelle prime 3, con le zampe alquanto ravvicinate al lato ventrale dell'uovo, confrontata con la posizione dell'embrione nella fig. 50 che colpisce il 5° segmento addominale molto allontanato dal lato ventrale dell'uovo e spostato invece verso il lato dorsale, dimostra che trattavasi di un embrione in piena blastocinesi conformato ad S. Orbene, se si osserva la disposizione e struttura dell'amnio in dette figure, si constata innanzi tutto la sua integrità assoluta in tutti i segmenti del corpo; si osservano le trabecole amniotiche in forma di vere pieghe, come abbiamo già descritto; e si osserva che la membrana amniotica segue l'embrione nel suo spostamento, tantochè, con maggiori o minori irregolarità, una doppia curvatura ad S si può riscontrare nella sezione longitudinale della membrana amniotica che riveste l'embrione sul lato ventrale e — ormai quasi completamente — anche su quello dorsale (Tav. VII, fig. 60; Tav. X, fig. 100). Le pieghe ed isolotti amniotici che si formano frequentissimi sul lato ventrale dell'embrione in blastocinesi (Tav. V, figg. 47-50) e specialmente nella regione addominale (fig. 50), dimostrano che l'embrione, nello spostarsi con l'addome verso l'interno, spinge ed avvicina l'una contro l'altra le due lamine della piega amniotica dorsale (fig. 60, 100) che difatti sono quasi a contatto fra di loro e sono risalite a formare quasi tutta la parete dorsale dell'embrione, mentre trae seco, con tutta la cavità amniotica, la lamina amniotica ventrale. Ne consegue che, essendo i numerosi prolungamenti protoplasmatici (o zaffi o trabecole amniotiche) insinuati fra le

sfere vitelline della zona ventrale ed anastomizzate con il plasma di queste, l'amnio della zona ventrale non cede facilmente alla trazione esercitata dall'embrione che si affonda nella massa centrale dell'uovo, ed anzi, nei punti, ove le trabecole amniotiche sono più fortemente anastomizzate col plasma delle sfere vitelline, l'amnio cede pochissimo o punto alla trazione, e così si spiega con tutta evidenza l'allungarsi enorme delle trabecole e la formazione degli isolotti (Tav. V, fig. 50). Questi ultimi sono appunto cavità amniotiche secondarie, formate dall'accollarsi delle pieghe amniotiche più lunghe durante la retrazione dell'embrione dal lato ventrale, e possono poi amplificarsi e permanere anche dopo superata da molto tempo la blastocinesi (Tav. VII, fig. 66; Tav. X, fig. 101).

La condizione di cose dello stadio a lettera S va poi modificandosi per l'accentuarsi della concavità ventrale della regione addominale, come mostra la figura 92 della Tavola IX. Qui oramai la regione toracico-cefalica non conserva che ben poco della sua conformazione primitiva convesso-ventrale; è accaduto che la spinta verso l'interno sulla superficie ventrale dell'embrione non è rimasta limitata alla regione dal 4° al 10° segmento addominale, ma si è estesa ai segmenti anteriori, compresi il 2° e 3° toracico.

Confrontando fra loro le due figure 90 e 92 della tavola IX (stadio O e stadio P) si constata con tutta evidenza che nell'intervallo di tempo, abbastanza breve, che passa fra queste due posizioni consecutive dell'embrione, viene superato il momento critico della blastocinesi. Se supponiamo che l'embrione di fig. 90 riprendesse ad allungarsi nella conformazione che ha raggiunto, prima che si estenda ai segmenti anteriori la concavità ventrale, è evidente che l'allungamento non farebbe che rendere sempre più pronunciate le due pieghe della lettera S, determinando una ripiegatura dell'embrione su due angoli sempre più acuti, e rendendo impossibile all'embrione di raggiungere la curvatura definitiva. Se invece la concavità ventrale si estende appena ai primi segmenti addominali e al 3° e 2° toracico, e l'embrione riprende il suo accrescimento in lunghezza soltanto quando ha raggiunto la conformazione di fig. 92, tutto procederà normalmente, e l'embrione potrà assumere un'unica nuova curvatura convesso-dorsale. Si giungerà cioè allo stadio Q (Tav. VII,

fig. 66; Tav. IX, figg. 93-95), in cui la blastocinesi è nettamente superata ma non interamente compiuta.

Spieghiamo perchè debbasi così definire lo stadio Q. Le citate figure dimostrano che quando l'embrione raggiunge la sua nuova curvatura definitiva e regolare, esso è ancora più o meno lontano con la sua superficie dorsale dalla sierosa del lato dorsale dell'uovo. Fra il dorso dell'embrione e la periferia s'interpone ancora uno strato di vitello talora assai vistoso (fig. 94). Perchè il movimento dell'embrione sia finito, esso deve adagiarsi strettamente con le pieghe amniotiche dorsali sotto la sierosa, e non deve più restare traccia di vitello fra questa e quelle. Una tale situazione di cose non si raggiunge che allo stadio R, e ne parleremo nella Memoria successiva.

Le sfere vitelline durante la blastocinesi hanno cominciato a perdere la loro individualità. I loro confini sono divenuti incerti e spesso sono cancellati; i loro nuclei permangono ben colorabili, continuano a riprodursi per divisione diretta, i nuclei figli assumono forme bizzarre e polimorfe (Tav. VII, fig. 65). Grande è in questo stadio l'attività produttrice di cellule migranti nella massa del vitello extraembrionale, e si direbbe che tutta questa massa, divenuta unico sincizio, non fa che continuamente produrre cellule che affluiscono all'embrione (Tav. VII, fig. 62).

Si è ritenuto dagli Autori che lo stadio della blastocinesi rappresenti un arresto nei fenomeni generali dell'organogenesi, essendo l'embrione impegnato in un movimento di vitale importanza che si compie sotto l'impero di fattori spaziali delicatissimi. Possiamo ritenere esatta questa conclusione? E quanto dura un tale fenomeno e l'arresto che esso determinerebbe?

I fatti osservabili dimostrano che, per quanto cronologicamente simultanea sia la blastocinesi nelle uova di uno stesso lotto razionalmente trattato, piccole eterocronie individuali si riscontrano; perciò dissi più sopra che si tratta di una relativa simultaneità. Esaminando gran numero di uova di uno stesso lotto fissato al 12° giorno di incubazione, una gran parte degli embrioni si trovano allo stadio O, ma sono rari quelli che sono conformati a lettera S; molti hanno appena iniziato la curvatura addominale, oppure sono già allo stadio P (fig. 92). Però, embrioni a foggia di lettera S invano si cercherebbero in un lotto di 13 giorni o di 11 giorni, tratti dalla stessa partita. Eterocronie

piccole, dunque, fino a questo stadio, come abbiamo detto. Nei lotti di 14 giorni ed oltre si trovano eterocronie sempre più spiccate; al 14° giorno la massima parte degli embrioni non si è ancora adagiata completamente col dorso sulla sierosa, e uno strato di vitello deve ancora essere scacciato da quella regione dorsale (Tav. IX, figg. 93-95).

Dal complesso di queste osservazioni e da quanto ormai sappiamo sull'importanza del raccorciamento embrionale e dello spostarsi dell'embrione con tutta la parete amniotica, possiamo già concludere che il movimento della blastocinesi deve essere lento, e deve occupare verosimilmente all'incirca un'intera giornata (24 ore) soltanto dal momento in cui si pronuncia la prima concavità addominale fino a quando si raggiunge la conformazione ad S, e circa un'altra giornata deve occorrere per passare alla conformazione concavo-ventrale completa (stadio Q).

Possiamo altresì dedurre dalle surriferite osservazioni che il movimento blastocinetico si distingue in due fasi: la prima va dal primo inarcamento addominale al superamento del punto critico, e la seconda va dal punto critico al completo adagiarsi del dorso dell'embrione sulla sierosa. La prima fase richiede un giorno, la seconda circa 3 giorni.

Troppo lungo dunque sarebbe l'arresto, anche a volerlo considerare limitato soltanto alla prima giornata sopra indicata, cioè fino al superamento di quello che abbiamo chiamato il momento critico.

E' verissimo che in tale giornata l'embrione non cresce affatto in lunghezza, e resta più corto dell'asse longitudinale dell'uovo. Ma si tratta soltanto di arresto di accrescimento longitudinale, non già di arresto nell'organogenesi. Tutt'altra conclusione ci impone invece lo studio delle sezioni nei due stadi. Basta uno sguardo di confronto fra le figure 52 e 53 della Tavola VI per vedere come l'organogenesi sia notevolmente progredita nella giornata della blastocinesi. Durante questo periodo si completa quasi del tutto la parete dei fianchi e del dorso dell'embrione, per mezzo di un restringersi continuo della larga apertura lasciata dalle falde amniotiche laterali, cefalica e caudale, venendo così a delimitarsi sul dorso dell'embrione un'apertura sempre più stretta che mette ancora in comunicazione la cavità del corpo dell'embrione con il vitello extraembrionale; tale apertura è l'ombelico, che permane ancora lungamente dopo

la blastocinesi (Tav. VI, fig. 54). Si completano altresì le pareti dei fianchi e del dorso dell'intestino medio (Tav. VI, fig. 52), e raggiungono lo sviluppo definitivo la metameria embrionale e il sistema nervoso. Questo confronto sommaro fra lo stadio che precede e quello che segue il rivolgimento embrionale, convalida la nostra conclusione che il fenomeno debba occupare un tempo notevole, come sopra precisato. La descrizione dettagliata della evoluzione dei singoli organi nell'embrione durante il movimento farà parte della Memoria successiva, giusta il programma esposto al principio del presente lavoro.

Riassumendo, possiamo dire che il *movimento della blastocinesi nel Bombyx mori* consiste in un lento spostamento dell'embrione dal lato ventrale al lato dorsale dell'uovo, effettuato non già per attività muscolare (perchè non esistono a tale epoca neppure mioblasti in formazione) ma per la contrattilità generale dei tessuti embrionali. Non vi sono perciò movimenti bruschi nè lacerazioni dell'amnio. Dalla curvatura primitiva l'embrione passa a quella definitiva mantenendo la testa al polo micropilare e l'estremo addome al polo antimicropilare, e in maniera che il piano sagittale di simmetria dell'embrione coincide invariabilmente con quello sagittale dell'uovo. Le sfere vitelline della zona centrale e dorsale dell'uovo, man mano che l'embrione si sposta, vengono lentamente rimosse dalla loro posizione e si spostano ventralmente all'embrione.

\* \* \*

Resta qui da accennare brevemente alle ipotesi emesse dagli Autori per spiegare la blastocinesi. E qui constatiamo la povertà... francescana dell'indagine scientifica quando cerca di spiegare le cause intime e la finalità di un fenomeno biologico.

Sostenne il WHEELER [66] che l'embrione deve ad un certo momento spostarsi dalla posizione fino ad allora occupata nell'uovo per andare in cerca di un nuovo territorio vitellino da sfruttare, che sia meno inquinato dai prodotti catabolici del ricambio che si sono accumulati nel territorio da lui abitato per lungo tempo. Tale ipotesi è stata però fortemente criticata, perchè non si può pensare che manchi nella massa del tuorlo la possibilità della diffusione dei prodotti catabolici dell'embrione, dimodochè essi debbano restare localizzati vicino a lui anzichè

permeare tutta la massa vitellina con intensità pressochè uguale dovunque; inoltre vi sono insetti che non compiono quasi affatto blastocinesi, e non si può pensare che gli embrioni di molte specie inquinino la zona di vitello ove abitano e quelli di altre specie non la inquinino. Recentemente io stesso esposi queste obiezioni critiche [27 bis], e più tardi anche il TIRELLI [57] ritenne inaccettabile l'ipotesi sopraccennata.

Lo studio di questi fenomeni suggerisce assai spontanea l'ipotesi che il fattore spaziale rappresenti il fattore determinante della blastocinesi, e in tal senso io avevo emesso in un precedente lavoro [27 bis] una mia ipotesi: che cioè l'embrione e non possa giungere a completo sviluppo senza compiere la blastocinesi perchè, se rimanesse con le zampe toraciche e addominali rivolte verso il guscio, esse, tenendo lontana la superficie ventrale dell'embrione dalla parete dell'uovo, renderebbero inattuabile un esteso spazio periferico; al contrario, e compiuta la blastocinesi, le zampe del lato destro, divaricate e da quelle del lato sinistro, accolgono nella loro apertura quella porzione dell'addome che viene negli ultimi giorni ad introflettersi entro la grande curvatura dell'embrione foggiate ad U, ... e questa disposizione conduce evidentemente ad un più completo sfruttamento di tutto lo spazio disponibile entro il guscio dell'uovo.

Ma io stesso criticavo subito la mia ipotesi soggiungendo che non si conciliavano con essa le osservazioni sui disturbi che certi embrioni subiscono per non poter superare la blastocinesi, la quale in ogni caso, anche negli embrioni sani e normali, si verifica molto tempo prima che all'embrione faccia difetto lo spazio per l'ulteriore accrescimento. Ma forse non è questo un motivo sufficiente per respingere senz'altro l'ipotesi sopraccennata.

Ricorda il TIRELLI [57] l'opinione di alcuni Autori secondo i quali, in alcuni casi, la blastocinesi non sarebbe un movimento, spontaneo o no, dell'embrione; bensì « la vicenda stessa del processo morfogenetico, il completarsi ed il chiudersi delle « lamine cellulari ecto-, meso- ed endodermiche per formare il « sacco somatico ed il mesenteron, fanno sì che insensibilmente « la convessità della faccia ventrale si perda e passi invece alla « dorsale ». Non occorrono molte parole per dimostrare che questa è una illusione di spiegazione; essa ricorda irresistibil-

mente quella di antichi filosofi che si appagavano nell'affermare che l'oppio fa dormire perchè possiede *virtus dormitiva*. Infatti questa presunta spiegazione della blastocinesi si potrebbe identificare con quest'altra: l'embrione cambia forma e posizione perchè, mentre si costruisce il suo corpo e il suo intestino medio, deve cambiar posizione e forma. Bisognerebbe dimostrare perchè mai la parete del corpo e del mesenteron non potrebbero completarsi restando l'embrione nella sua conformazione convesso-ventrale!

Una nuova spiegazione della blastocinesi è stata data dal TIRELLI nel citato lavoro. Egli parte dalla constatazione che il lato ventrale dell'embrione è il primo a costituirsi e procede poi nella sua evoluzione embriogenetica con velocità maggiore di quella del lato dorsale, anche alla ripresa dello sviluppo primaverile. Fin qui si tratta di fatti sui quali non cade dubbio. Soggiunge l'Autore che ciò avviene perchè « la parte ventrale « dell'embrione è convessa, ed occupa quindi una superficie assai maggiore di quella che occupa e potrà occupare il lato « dorsale, permanendo immutata la posizione dell'embrione . . . « La maggior quantità di spazio disponibile permette il precoce « differenziamento e la più rapida organogenesi del lato ventrale; perchè possa completarsi il dorsale, in ritardo rispetto « al primo, bisogna che esso possa disporre a sua volta dello « spazio necessario. Quindi l'inversione della curvatura dell'embrione, che offre al lato dorsale una superficie più ampia, « mentre il lato ventrale, ormai differenziatosi, si limita, ripiegandosi in una superficie più ristretta ».

È ormai ben dimostrato dall'embriologia sperimentale che i fattori spaziali che l'Autore invoca hanno indubbiamente un grandissimo valore nello sviluppo embrionale. Lo stesso fatto del raccorciamento dell'embrione che incomincia 6 giorni prima della blastocinesi, e per effetto del quale l'embrione si coarta fino ad occupare nell'uovo una lunghezza lineare che è  $\frac{1}{2}$  della primitiva, ed anche meno, è indubbiamente in rapporto con la necessità dell'embrione di compiere il movimento della blastocinesi in condizioni tali da essere più corto dell'asse longitudinale dell'uovo. Questa interpretazione spaziale-meccanica del vistoso raccorciamento pre-blastocinetico dell'embrione, fu già da me affermata in un lavoro di molti anni or sono [27 bis] nel quale furono illustrate le anormali giaciture embrionali e le fal-

lanze a schiudimento che conseguono alla blastocinesi imperfettamente compiuta, anche nelle uova normali e razionalmente conservate. Nel presente studio ho mostrato che esiste un vero momento critico della blastocinesi, perchè da minime variazioni del rapporto fra la lunghezza dell'embrione curvato ad S e quella dell'asse longitudinale dell'uovo, nonché da minime variazioni fra la cronologia dell'andamento di quelle curve e quella della ripresa di crescita longitudinale, dipendesse la normalità o l'anormalità della giacitura definitiva dell'embrione, e la sua vita o la sua morte. Tuttociò rientra senza dubbio nell'ambito delle condizioni spaziali che continuamente governano i fenomeni dello sviluppo.

Non si può nascondere però che, mentre l'accorciamento assiale preblastocinetico dell'embrione e il superamento del punto critico nello svolgimento delle curve ad S ci appaiono riferibili a necessità spaziali con molta evidenza, non altrettanto evidente persuasività ci presenta la considerazione che la convessità della parete ventrale conferisce ad essa maggiore spazio e che da ciò deriva la sua maggior velocità di sviluppo. Specialmente nei primi stadi del risveglio primaverile a cui accenna l'Autore, se ci facciamo a considerare la struttura della stria embrionale al termine dello svernamento (Tav. I, fig. 1) o poco più tardi (Tav. I, figg. 2-3 5-7), ed anche a stadi inoltrati del suo allungamento (Tav. II, fig. 10), pur riconoscendo che la superficie ventrale ectodermica che guarda la cavità amniotica è più estesa di quella interna mesodermica, la differenza di estensione è però così piccola che difficilmente si può ravvisare in essa la causa spaziale che permette un più rapido differenziarsi della prima in confronto della seconda. Quindi, fino a quando la parete ventrale dell'embrione consta di un semplice ectoderma e quella dorsale di un mesoderma strettamente addossato ad esso, la differenza fra lo sviluppo della superficie concava e di quella convessa non sembra avere grande importanza come fattore spaziale.

Più tardi invece, negli stadi che immediatamente precedono la blastocinesi, la parete ventrale dell'embrione è veramente in grande progresso e ha dato luogo a organi svariati, mentre invece quella dorsale manca quasi totalmente; qui il raffronto dello sviluppo spaziale interessa non più due foglietti addossati fra loro e di superficie quasi uguale, bensì le due

pareti del corpo dell'embrione; una assai progredita e che possiamo ritenere completa, l'altra che non si è ancora formata. Ed è evidente che la prima ha uno sviluppo in superficie assai superiore alla seconda, o per dir meglio, assai superiore alla superficie che è riservata allo sviluppo della seconda fino allo stadio di raccorciamento massimo. Si deve anzi aggiungere che questa differenza nelle possibilità spaziali di sviluppo fra parete ventrale e parete dorsale è aggravata, nei 6 giorni che precedono la blastocinesi, da due fatti: 1°) il forte sviluppo del 1° e 18° segmento in spessore, in seguito all'approfondarsi dello stomodeo e proctodeo, rende sempre più limitata la superficie che resterebbe a disposizione della futura parete dorsale dell'embrione, se essa dovesse formarsi restando immutata la posizione dell'embrione stesso (Tav. VI, figg. 51, 53, 57); 2°) il raccorciamento dell'embrione, che limita e restringe ancora di più la superficie riservata alla parete dorsale. Ed è quindi perfettamente plausibile la spiegazione del TIRELLI, che riconduce a fattori spaziali l'inversione della curvatura che l'embrione raggiunge con la blastocinesi e che permette alla parete dorsale di disporre di una superficie di sviluppo adeguata.

Certamente questa spiegazione, come tutte le ipotesi e dottrine biologiche, ci lascia sempre nel dubbio; il quale, in questo caso, consiste nel quesito: perché una maggiore possibilità di estensione in superficie debba significare anche maggior velocità di sviluppo. Vediamo che i due fatti sono paralleli, concomitanti; ma possiamo esser certi che il primo è causa determinante del secondo?

Non ne abbiamo prove; se le avessimo, la spiegazione della blastocinesi data dal TIRELLI non sarebbe più una ipotesi, ma un fatto di fisiologia embrionale ben dimostrato. Ma allo stato attuale delle nostre conoscenze dobbiamo affermare che la teoria spaziale della blastocinesi (TIRELLI, 1930) è la più razionale ipotesi che possediamo sull'importante fenomeno, e poggia su risultati di embriologia sperimentale che le conferiscono indiscutibile fondamento scientifico.

A fattori spaziali debesi ricondurre anche il coartamento preblastocinetico dell'embrione e l'importanza vitale dello svolgimento delle curve ad S nel momento critico della blastocinesi (GRANDORI, 1916, 1932).

## Bibliografia

1. — BALBIANI - Note sur la reproduction des Pucerons. Compt. Rend., T. 62, 1866.
2. — BOBRETSEY - Ueber die Bildung des Blastoderms und des Keimbältes bei den Insekten. Zeitschr. Wissensch. Zool. Bd. 31, 1878.
3. — BIER S. - Lo sviluppo delle ghiandole genitali nell'embrione e nella larva del Filugello - I. L'embrione. - Queste Bollettino, Vol. IIP, 190431.
4. — BÜTSCHLI - Zur Entwicklungsgeschichte der Biene. Zeitschr. Wissensch. Zool. Bd. XX.
5. — DAWIDOFF - Traité d'embryologie comparée des invertébrés. Masson & Cie éditeurs, Paris, 1928.
6. — FOI A. - Confronto tra i primi stadi evolutivi del baco da seta nelle uova a schiusura normale e in quelle a schiusura contemporanea per azione dell'elettricità. Rend. Ist. Bac. di Pericci, Vol. 3°, 1919.
7. — IDEM - Osservazioni sullo sviluppo del baco da seta fino alla formazione della stria germinativa. Ibid., Vol. 3°, 1919.
8. — IDEM - Come si presenta il *Nosema bombycis* nelle uova del baco da seta, dalla deposizione alla schiusura. Informaz. Sericib., Anno X°, n. 14, 1923.
9. — FRIEDRICH - Untersuchungen über die Entstehung der Keimbältes und Bildung des Mitteldarms der Käfer. Nova Acta Acad. Leop. Carol., T. 85, 1906.
10. — GÄHN M. - Ueber die Embryonalhöhlen der Hymenopteren und Lepidopterenembryonen. Mém. Acad. St. Pétersb., VII s., t. XIV, n. 15.
11. — IDEM - Beiträge zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte bei Insekten. Zeitschr. wiss. Zool., Bd. XIX.
12. — GOLOI G. - Intorno alla struttura ed alla biologia dei cosiddetti globuli (o plasmine) del tuorlo. Mem. R. Istit. Lomb. Scienze e Lettere, Vol. 22-23, Milano, 1923.
13. — GRABER W. - Vergleichende Studien über die Keimbältes und die Rückenbildung der Insekten. Denkschr. Kais. Acad. wiss. Wien, Bd. LV, 1888.
14. — IDEM - Vergleichende Studien über die Embryologie der Insekten und insbesondere der Musciten. Ibid., Bd. LV1, 1889.
15. — IDEM - Vergleichende Studien am Keimstrifen der Insekten. Ibid., Bd. LVIII, 1890.
16. — GRANDORI R. - Studi sullo sviluppo embrionale del *Bombyx mori*. - Nota preliminare. - Atti Acc. Veneto - Trentino - Istriana, Serie III, anno 6°, Padova, 1913.
17. — IDEM - Lo sviluppo embrionale del baco da seta. Memoria I. - Le prime 42 ore dalla deposizione dell'uovo. - Atti Acc. Veneto - Trentino - Istriana, Serie III, Anno 7°, Padova, 1914; anche in: Annuario R. Stazione Bac. Padova, Vol. XLI, 1915.
18. — IDEM - La segmentazione dell'uovo fecondato di *Bombyx mori* sottoposto a svernamento artificiale subito dopo la deposizione. Ann. R. Staz. Bac. Padova, Vol. XLIII, puntata 1, 1919.

19. — IDEM - *Intorno ad alcune questioni embriologiche sul baco da seta recentemente discusse*. Idib., Vol. XLIII, puntata 1, 1919.
20. — IDEM - *Differenze morfologica nell'ovocite e nell'uovo di Bombyx mori sano e malato di stoccolenza*. Redia, Vol. XIV, Firenze, 1920.
21. — IDEM - *La simbiosi ereditaria nel Bombyx mori*. Atti Reale Ist. Veneto di Scienze, Lettere ed Arti, Tomo LXXIX, Parte II, Venezia, 1919-20.
22. — IDEM - *La simbiosi ereditaria del Fügello*. Atti Reale Ist. Veneto di Scienze, Lettere ed Arti, Tomo LXXIX, Venezia 1919-20.
23. — IDEM - *Microrganismi simbiotici in Pieris brassicae e Apanteles glomeratus*. Rendic. R. Accad. Lincei, Vol. XXXI, Serie 5<sup>a</sup>, semestre I, Roma, 1920.
24. — IDEM - *Giacitura dell'embrione del Baco da seta nell'uovo di avanzata incubazione*. Atti Reale Istit. Veneto di Scienze, Lett. ed Arti, Tomo LXXIV, Parte 2<sup>a</sup>, Venezia, 1915.
25. — IDEM - *Il flugello e la industria bacologica*. Luigi Trevisani, editore, Milano, 1924.
26. — IDEM - *Microrganismi simbiotici nell'uovo di Pieris brassicae*. Rend. R. Accad. Lincei, Vol. IX, Serie 6<sup>a</sup>, Semestre I, Roma, 1929.
- 26 bis — IDEM - *Studi embriologici sulle razze polivoltine del Bombyx del Gelo*. Ibidem, Roma, 1929.
27. — IDEM - *Lo sviluppo embrionale del Baco da seta*. Memoria II. *La diapausa*. Questo Bollettino, Vol. I, 1928-29.
- 27 bis — *Anomalie nell'embriogenesi del Bombyx mori*. - Atti Reale Istit. Veneto di Scienze, Lett. ed Arti, Tomo LXXV, Parte 2<sup>a</sup>, Venezia, 1916.
28. — IDEM - *Studi sulle nascite delle larve del Bombyx mori*. Questo Bollettino, Vol. II, Milano, 1931.
29. — GRASSI G. B. - *Intorno allo sviluppo delle api nell'uovo*. Atti Acc. Giovinia di Sc. Nat. Catania, Serie III, Vol. 18<sup>a</sup>, 1884.
30. — GRIMM O. - *Embryologie du Phryxius pubis*. Bull. Acad. des Sc. de St. Pétersb., T. XIV, 1869.
31. — IDEM - *Die ungeschlechtliche Fortpflanzung einer Chironomus - Art und deren Entwicklung aus dem unbefruchteten Ei*. Mémoires des Sc. de St. Pétersb., T. XV, 1870.
32. — HAYDICHK II. - *Beiträge zur Entwicklung der Lepidopteren*. Jen. Zeitschr., Bd. 11.
33. — HEIDER K. - *Die Embryonalentwicklung von Hydrophilus piceus*. Jena 1889.
34. — HEYMONS R. - *Die Embryonalentwicklung von Dermapteren und Orthopteren, monographisch bearbeitet*. Jena, 1895.
35. — HECKING H. - *Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten*. Zeitschr. wiss. Zool., 54 Bd. 1892.
36. — KOWALIEWSKY A. - *Embryologische Studien an Würmern und Arthropoden*. Mémoires Acad. des Sc. de St. Pétersb., T. XVI, 1871.
37. — ISHIWATA S. - *Sur le sexe de l'oeuf du ver à soie*. Zool. Anz. Bd. XLIII, 1913.

38. — LÉCARLON A. - *Sur les feuilles germinatifs des Coléoptères*. C. Rend. Acad. des Sciences, Tome 125, Paris, 1897.
39. — LUCKERT R. - *Zur Kenntnis des Generationswechsels und der Parthenogenese bei den Insekten*. Moleschott's Untersuch., Bd. IV, Heft IV.
40. — METSCHNIKOFF E. - *Embryologische Studien an Insekten*. Zeitschr. wiss. Zool., Bd. XVI, 1866.
41. — NAUCK - *Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Muceden*. Zeitschr. wiss. Zool., Bd. 70, 1901.
42. — NOBILE M. - *Contributo alla conoscenza della formazione e della struttura dei globuli del tuorlo in uova di *Rana esculenta* e *Gallus gallus**. Atti Acc. Giovinia di Sc. Nat. Catania, 1927.
43. — PAILLOT A. - *Sur le cycle évolutif du *Nosema bombycis* de la pébrine du ver à soie*. C. R. Soc. Biol., Tome XCIX, 1928.
44. — PIGNINI L. e TOMER A. - *Ricerche morfologiche e fisiologiche nelle sfere vitelline dell'uovo del Bombyx mori*. Arch. farmacol. Sper. e Sc. affini, Roma, 1927.
45. — PIERANTONI U. - *Studi sullo sviluppo d'*Icerya purchasi**. Mask. Parte 1<sup>a</sup>: *Origine ed evoluzione degli elementi sessuali femminili*. Arch. Zool. Ital., Vol. V, Napoli, 1912.
46. — IDEM - *Studi sullo sviluppo d'*Icerya purchasi**. Mask. Parte II: *Osservazioni di embriologia*. Ibid., Vol. VII, Napoli, 1914.
47. — IDEM - *I corpuscoli del tuorlo e la loro coltura in agar*. Mem. R. Acc. Lincei, Classe Sc. fisiche, matematiche e naturali, Serie VI, Vol. II<sup>a</sup>, Roma, 1928.
48. — RIZZI M. - *Sullo sviluppo dell'uovo di Bombyx (Sericois) mori L. nel primo mese della deposizione*. Redia, Vol. VIII, Firenze, 1912.
49. — SCHREIBER B. - *I metodi di ricerca del Nosema bombycis delle uova del baco da seta in diapausa*. L'industria bacologica, Anno III, N. 8, Milano, 1929.
50. — SCHWANGART F. - *Zur Entwicklungsgeschichte der Lepidopteren*. Biol. Centralblatt., Bd. XXV, 1905.
51. — SELVATICO S. - *Sullo sviluppo embrionale dei Bombycini*. Ann. R. Stat. Bae. Padova, Vol. IX, 1882.
52. — STERNBERG H. - *Embryologische Studien an Insekten*. Zeitschr. wiss. Zool., Vol. 106, 1913.
53. — IDEM - *Ueber die Bildung und Verwendung der Keimbälger bei Bombyx mori*. Zool. Anzeiger, Bd. XLV o. 13, 1915.
54. — TICHOMIROFF A. - *Développement du ver à soie du mârier (B. mori) dans l'oeuf*. Laboratoire d'études de la soie, Lyon, 1891.
55. — TIBELLI M. - *Sviluppo embrionale del flugello illustrato fotograficamente*. Le steserie d'Italia, Anno III<sup>a</sup>, N. 1, Milano, 1928.
56. — IDEM - *Fisiologia degli Insetti - Fenomeni chimici e chimico-fisici nell'uovo del Bombyx mori L., Viticosità, stratificazione, struttura e funzione delle sfere vitelline*. Atti della Pontificia Acc. delle Scienze dei Nuovi Lincei, Anno LXXXII, Roma, 1929.
57. — IDEM - *Atlante microfotografico delle embriologia degli Insetti (Bombyx mori)*. Bergamo, Istit. Italiano Arti Grafiche, 1930.

58. — *IDEM* - Note di tecnica sulla fissazione e colorazione delle sfere vitelline. Mem. Soc. Entom. Ital., Vol. V.

59. — TOMON A. - Variabilità dei caratteri embriologici nell'uovo di *flugello* durante la diapausa. Nota 1<sup>a</sup>, Ann. R. Staz. Bac. Padova, Vol. XLIV, 1925.

60. — *IDEM* - Variabilità dei caratteri embriologici nell'uovo di *flugello* durante la diapausa. Nota 2<sup>a</sup>, *Ibid.*, Vol. XLV, 1927.

61. — *IDEM* - Le sfere vitelline nell'uovo di *flugello*. Nota di tecnica. *Ibid.*, Vol. XLV, 1927.

62. — TOTAMA K. - Contribution to the study of Silk-Forms. I. On the Embryology of the Silk-Forms. Bull. of the College of Agric. Tokyo Imp. Univ., Vol. V, anno 1902.

63. — VANEY C. e CANTÉ A. - Recherches sur le développement de l'oeuf unicoléine du ver à soie. Labor. d'études de la soie, Lyon, 1908-10.

64. — *IDEM* - Evolution du vitellin dans l'oeuf du ver à soie. *Ibid.*, Lyon, 1919.

65. — VERNON E. - Il *flugello* e l'arte di governarlo. Soc. Ed. Libreria, Milano, 1917.

66. — WIEKLEK - Contribution to Insect Embryology. Journ. of Morph., Vol. VIII, Boston, 1893.

67. — WEISMANN A. - Entwicklung der Dipteren. Zeitschr. wiss. Zool., Bd. XIII.

68. — ZADWACH G. - Untersuchungen über die Entwicklung und den Bau der Gliederthiere. I. Heft: die Entwicklung der Phryganidoneiden. Berlin, 1854.

## Spiegazione delle Tavole

### TAVOLA I.

Fig. 1. — Sezione sagittale di uovo di razza *Corsu* al termine dello svernamento (X 70).

Fig. 2. — Sezione sagittale di uovo di razza *Corsu* al 2° giorno d'incubazione; mostra un piccolo abbozzo della introflessione stomodaeale (X 85).

Fig. 3. — Sezione sagittale (alquanto lontana dal piano di simmetria) di uovo di razza *Bisoltino Chinese bianco* al 3° giorno di incubazione (X 100).

Fig. 4. — Sezione trasversale che interessa la regione addominale di stria germinale di uovo di razza *Bisoltino Chinese bianco* di giorni 2½ di incubazione (X 300).

Fig. 5. — Sezione sagittale di uovo di razza *Corsu* al 2° giorno di incubazione (X 105).

Fig. 6. — Sezione sagittale di uovo di razza *Gran Sasso* al 2° giorno d'incubazione. La sezione è un poco obliqua rispetto al piano sagittale; molte prossime ad esso nella regione cefalica, alquanto più lontana nella regione addominale (X 90).

Fig. 7. — Sezione sagittale della stria germinale dello stesso uovo di fig. 5, un po' lontana dal piano di simmetria, per mostrare la metameria dell'ectodema (X 160).

Fig. 8. — Sezione sagittale della regione cefalica della stria germinale dello stesso uovo di fig. 6, a più forte ingrandimento, per mostrare il piccolo abbozzo dell'introflessione stomodaeale e il cumulo orale. Tra questa sezione e quella di fig. 6 intercorrono 7 sezioni di 6 micron. (X 180).

### TAVOLA II.

Fig. 9. — Sezione trasversale di uovo di razza *Gran Sasso* al 5° giorno di incubazione, a livello del 4° segmento cefalico dell'embrione (X 200).

Fig. 10. — Sezione sagittale di uovo di razza *Corsu* al 4° giorno d'incubazione. La sezione fa un piccolo angolo col piano sagittale; coincide perfettamente con esso a livello dello stomodaeo, ma si allontana un poco dal piano di simmetria posteriormente, e perciò il protoceco non è visibile in questa sezione, mentre è ben pronunciato nelle sezioni vicine (press'a poco quanto lo stomodaeo), (X 95).

Fig. 11. — Sezione trasversale di stria germinale di uovo di razza *Bisoltino Chinese bianco* al 2° giorno d'incubazione, a livello del 3° segmento addominale; mostra la disposizione asimmetrica del mesoderma (X 300).

Fig. 12. — Come la precedente, da uovo della stessa razza, nel 3° giorno d'incubazione. Il mesoderma forma due accumoli pari e simmetrici, che si fondono sulla linea mediana. Numerose rosette di microrganismi simbiotici nella zona del vitello subembrionale (X 420).

Fig. 13. — Piccola parte della stessa sezione di fig. 6 (uovo di razza *Gran Sasso* al 2° giorno d'incubazione) a più forte ingrandimento, per mostrare i particolari di struttura delle cellule del cumulo orale (X 500).

Fig. 14. — Sezione di due sfere della trabecola vitellina mediana di uovo di razza *Gran Sasso* al 5° giorno d'incubazione. Queste sfere sono invase da numerosi microrganismi simbiotici che si moltiplicano attivamente; i nuclei di queste sfere vitelline (due per ciascuna sfera nella sezione) sono deformati, ma ancor ricchi di cromatina (X 600).

Fig. 15. — Sezione sagittale di uovo di razza *Corca* al 5° giorno di incubazione. Il piano della sezione è orientato in modo da coincidere col piano sagittale di simmetria lungo l'asse antero-posteriore dell'uovo, e perciò colpisce in piena lo stomodeo e il proctodeo, e sulla linea ventrale colpisce gli arti che sono alquanto discosti dal piano sagittale (X 75).

Fig. 16. — Sezione sagittale di uovo di razza *Gran Sasso* al 5° giorno di incubazione. Mostra già evidente l'origine dei vasi malpighiani. (X 110).

TAVOLA III.

Fig. 17. — Sezione trasversale dello stesso uovo di fig. 9 (razza *Gran Sasso*, 5° giorno d'incubazione) a livello del 1° segmento toracico dell'embrione. Mostra l'introfflessione ectodermica stigmatica del proctodeo (X 200).

Fig. 18. — Sezione immediatamente successiva a quella di figura precedente (X 200).

Fig. 19. — Sezione trasversale dello stesso uovo di fig. 9, 17 e 18, a livello del 2° segmento addominale dell'embrione. Mostra l'origine dei gangli nervosi della catena ventrale. (X 200).

Fig. 20. — Sezione trasversale dello stesso uovo di fig. 9, 17 18 e 19, a livello del 5° segmento addominale (X 200).

Fig. 21. — Parte di una sezione di uovo di razza incrociata (*Bignolla Chinesa e fumana Gro*) al 4° giorno d'incubazione, mostrante una piccola zona subcentrale di vitello in cui è evidente la formazione delle cellule migranti in seno alle sfere vitelline (X 320).

Fig. 22. — Altra piccola parte della stessa sezione di figura precedente; mostra la forma stellata di alcuni nuclei delle cellule vitelline (X 320).

Fig. 23. — Come le due precedenti; mostra uno stadio caratteristico di divisione diretta dei nuclei vitellini (X 320).

Fig. 24. — Sezione trasversale di uovo di razza *Bivolino Chinesa bianco* al 6° giorno d'incubazione; la sezione colpisce il 2° segmento addominale (X 240).

Fig. 25. — Sezione trasversale dello stesso uovo di figura precedente, a livello del 5° segmento addominale. Mostra lo sbocco di due tubi malpighiani nel proctodeo, una bandelletta dell'intestino medio, un ganglio nervoso e numerose cellule migranti (X 240).

Fig. 26. — Sezione trasversale di uovo *Bivolino Chinesa bianco* al 5° giorno d'incubazione, a livello del 4° segmento addominale. Mostra la formazione bilaterale dei gangli nervosi e un orificio stigmatico (X 225).

TAVOLA IV.

Fig. 27. — Sezione sagittale di uovo di razza *Corca* al 6° giorno di incubazione (X 90).

Fig. 28. — Sezione sagittale (alquanto lontana dal piano di simmetria) dello stesso uovo di figura precedente (X 90).

Fig. 29. — Sezione sagittale (alquanto lontana dal piano di simmetria) di uovo di razza *Corca* al 9° giorno di incubazione (X 90).

Fig. 30. — Sezione sagittale dell'estremo posteriore di un embrione di razza *Corca* al 5° giorno di incubazione. Mostra chiaramente gli ultimi due gangli nervosi (9° e 10° addominali) formati in corrispondenza ai segmenti 9° e 10° dell'addome; l'11° segmento, nel quale non si forma ganglia, è quasi tutto trasferuto nell'ampia introfflessione proctodeale che sul suo fondo origina i tubi malpighiani (X 180).

Fig. 31. — Sezione sagittale dell'estremo anteriore (1°, 2° e 3° segmento cefalico) di un embrione di razza *Gran Sasso* al 5° giorno di incubazione. Mostra, ventralmente all'introfflessione stomodeale, il gruppo cellulare mesodermico che darà origine al corpo subesofageo, e che è ancora saldato all'ectoderma; nello spessore dell'ectoderma del 2° e 3° segmento cefalico si vedono i neuroblasti, isodermiganti e ben differenziati (X 360).

Fig. 32. — Sezione sagittale, alquanto lontana dal piano sagittale, dei 4 segmenti cefalici e del 1° segmento toracico di un embrione di razza *Corca* al 6° giorno d'incubazione. Il corpo subesofageo è già nettamente individualizzato ventralmente allo stomodeo; ben visibile il tessuto mesodermico derivante allo stomodeo nonché nei 3 segmenti cefalici successivi e nel 1° segmento toracico (X 180).

Fig. 33. — Sezione sagittale (alquanto lontana dal piano di simmetria e un poco obliqua) di uovo di razza *Corca* al 9° giorno di incubazione. La sezione colpisce i 3 arti toracici e le prime quattro falce empe addominali del lato destro dell'embrione; mostra i gangli cefalici e toracici, nonché i gangli addominali dal 5° all'8°. Ben visibile anche il tubo escretore destro delle ghiandole sericigene (X 85).

Fig. 34. — Sezione sagittale (alquanto lontana dal piano di simmetria) dello stesso uovo di figura precedente; colpisce gli arti toracici e la regione cefalica, e mostra lo sbocco del tubo escretore sinistro delle ghiandole sericigene (X 110).

Fig. 35. — Sezione sagittale (quasi perfettamente coincidente col piano di simmetria) dello stesso uovo di fig. 33 (*Corca*, al 9° giorno di incubazione). Colpisce in pieno lo stomodeo, il corpo subesofageo, e tutti i 16 gangli nervosi ventrali; tangenzialmente è colpito il ganglio sopracesofageo (X 85).

Fig. 36. — Parte di una sezione di un uovo di razza *Gran Sasso* all'11° giorno di incubazione. La porzione qui raffigurata appartiene alla zona di vitello del centro dell'uovo, e mostra la organizzazione in atto delle cellule migranti vascolari e a contorno festonato dal protoplasma circolare delle sfere vitelline (X 320).

Fig. 37. — Piccola parte di una sezione di uovo di razza *Gran Sasso* al 5° giorno d'incubazione, mostrante il caratteristico modo di scissione diretta dei nuclei vitellini (X 600).

TAVOLA V.

Fig. 38. — Sezione trasversale di embrione di razza *Brianza* al 10° giorno di incubazione, a livello del mesotrace. L'embrione è giunto quasi al massimo accorciamento che precede la blastocinesi. Sono ben distinti i 2 arti in sezione trasversa, ventralmente, nella cavità amniotica; ben chiara la massa del ganglio 2° toracico che un profondo solco ventrale distingue in due metà simmetriche; a destra e a sinistra la parete del corpo dell'embrione è formata soltanto per metà, e poi si con-

sinua coll'annio. All'altezza della saldatura dell'annio sulle pareti laterali del corpo, trovansi sulla cavità generale le due listarelle dell'intestino medio, molto ben sviluppate, e di cui si è differenziata già l'epitelio secretore (V. fig. 44). Sotto di esse, e un po' medialmente, i due cerchietti con un piccolo lume sono le sezioni trasverse delle ghiandole sericigene. Numerose cellule migranti vascolizzate e ad orle festonate invadono la cavità generale ( $\times 135$ ).

Fig. 39. — Sezione trasversale dello stesso embrione di figura precedente (Brienza, 10 giorni d'incubazione) a livello del 2° segmento addominale. Le pareti laterali del corpo si completano dorsalmente, costituite però in gran parte dall'amnio; la falda amniotica posteriore si estende dunque per oltre la metà dell'embrione, e cioè risale già press'a poco come nell'embrione di fig. 51. Si tratta dunque di uno stadio già fortemente raccorciato (stadio M). Ben visibili le listarelle del mesenteron, numerose cellule migranti, il ganglio 2° addominale, e le due intra-flessure ipodermiche che danno luogo agli stigmi ( $\times 125$ ).

Fig. 40. — Sezione trasversale dello stesso embrione delle due figure precedenti (Brienza, 10 giorni di incubazione) condotta a livello del 4° segmento addominale. Essa colpisce il fondo del proctodeo e sfiora l'origine di due vasi malpighiani; appaiono ben chiare le due bandelletta del mesenteron e il 4° ganglio addominale; la sezione non colpisce gli stigmi del 4° segmento addominale perchè è un poco posteriore ad essi ( $\times 135$ ).

Fig. 41. — Sezione trasversale dello stesso embrione delle tre figure precedenti (Brienza, 10 giorni di incubazione) condotta a livello del 4° - 5° segmento addominale; esaminando la disposizione dell'embrione nell'uovo a questo stadio di massimo raccorciamento nella figura 51, si comprende come, in una serie di sezioni trasverse di un solo e medesimo uovo, una sola è perfettamente trasversale per l'embrione, ed è quella che cade press'a poco a metà della sua lunghezza; tutte le altre sono più o meno oblique. Questa, che colpisce il 5° segmento nella sua parte anteriore, colpisce naturalmente anche la falsa zampa del 4°, e ciò risulta nella figura. Si notano ai lati del 5° segmento i due ampi fondi delle introflessioni stigmatiche. Non si discernono alcun ganglio, bensì solo la sezione trasversa del setole connettivo che unisce il 4° al 5° ganglio addominale. Le due bandelletta del meso-intestino, colpite obliquamente, appaiono più lunghe che nelle sezioni precedenti. Ai lati del proctodeo 2 tubi malpighiani ( $\times 135$ ).

Fig. 42. — Sezione trasversale dello stesso embrione delle quattro figure precedenti (Brienza, 10 giorni d'incubazione) condotta a livello del 5° segmento addominale, di cui colpisce il ganglio (fra questa sezione e quella di fig. 41 intercedono 3 sezioni di 5 micron). Mostra come le pareti del meso-intestino, presso l'inserzione di questo sul proctodeo, vadano completandosi. Tutti i 6 tubi malpighiani sono colpiti in sezione trasversa ( $\times 135$ ).

Fig. 43. — Sezione di una parte della parete ipodermica del fianco destro, dello stesso embrione della serie delle figure 38-42 (Brienza, 10 giorni d'incubazione) a livello del 1° segmento addominale. L'assetto della parete ipodermica verso l'alto di questa figura corrisponde all'assetto della parete ipodermica dei fianchi dell'embrione, verso il lato ventrale, dopo avvenuta la delaminazione della catena nervosa, come è ben visibile in tutte le figure 38-42 ventralmente ai gangli nervosi. L'introflessione ipodermica a metà lunghezza della figura è l'approfondimento che origina lo stigma del 1° segmento addominale; il gruppo di cellule

tondeggianti in via di delaminarsi dall'ectoderma a ridosso dell'introflessione stigmatica rappresenta la ghiandola ipostigmatica ( $\times 400$ ).

Fig. 44. — Sezione trasversa di una bandelletta del mesenteron, dalla stessa sezione di figura precedente (Brienza, 10 giorni di incubazione) a forte ingrandimento ( $\times 600$ ).

Fig. 45. — Piccola parte di una sezione di uovo di razza *Gran Sasso* all'11° giorno di incubazione, mostrante un nucleo vitellino derivato da recente divisione diretta (V. fig. 37) ( $\times 520$ ).

Fig. 46. — Parte di una sezione sagittale, alquanto obliqua, di un embrione di razza *Corse* al 12° giorno d'incubazione, appena fatta la blastocisti. Mostra la dilatazione proctodale, le cellule migranti accumulate nell'ematocele degli ultimi segmenti addominali, gli ultimi due gangli nervosi, e dorsalmente la piccola gonade ( $\times 120$ ).

Fig. 47. — Sezione trasversale di uovo di razza *Gran Sasso* al 12° giorno d'incubazione. Corrisponde allo stadio O (blastocisti in situ). La sezione colpisce il mesenteron dell'embrione. Ben visibile il ganglio mesenterico, le due bandelletta dell'intestino medio che si sono fuse sulla linea mediana ventrale, formando la parete del mesenteron per una metà dell'intera parete cilindrica futura. Fra la parete del mesenteron e il ganglio nervoso trovansi parecchie cellule migranti e le due ghiandole sericigene ( $\times 100$ ).

Fig. 48. — Sezione trasversale dello stesso uovo di figura precedente (*Gran Sasso*, 12 giorni d'incubazione) condotta a livello della regione anteriore del mesenteron dell'embrione. Fra questa sezione e quella di figura precedente intercedono 6 sezioni di 5 micron. Gli arti sezionati trasversalmente, visibili in basso entro la cavità amniotica, sono le zampe proctodiche, che essendo addestate alla parete ventrale del corpo dell'embrione si prolungano anche sul segmento successivo. La spergenza ipodermica ventrale sinistra è invece il 1° articolo della 2a zampa mesotoracica appena sfiorata dalla sezione. È sfiorato pure il ganglio mesenterico, che appare duplice; sopra i gangli appaiono i tubi delle ghiandole sericigene, e fra queste e la parete del meso-intestino ben visibili le grasse cellule del corpo subesofageo ( $\times 100$ ).

Fig. 49. — Sezione trasversale dello stesso uovo di figura precedente (*Gran Sasso*, 12 giorni di incubazione) condotta a livello del proctodeo. Massimo sviluppo del corpo subesofageo, che con le sue grosse cellule occupa a questo stadio - all'altezza del torace - tutto lo spazio che intercede fra il fondo dello stomaco e i tubi escretori delle ghiandole sericigene. Si confrontano anche la fig. 63. Numerose cellule migranti sono affollate sopra l'ombelico, ancora largamente aperto ( $\times 100$ ).

Fig. 50. — Sezione trasversale dello stesso uovo di figura precedente (*Gran Sasso*, 12 giorni di incubazione) condotta a livello del 5° segmento addominale. Ben visibile il ganglio e la parete del meso-intestino; lateralmente, fra la parete di questo e quella dell'ipoderma, sono ben visibili le ghiandole sericigene e, un po' più in alto e più in fuori, le piccole gonadi appena formate; si discopra di queste, gli estremi bordi delle pareti del meso-intestino tendono a saldarsi ai bordi delle lamine mesodermiche laterali ( $\times 145$ ).

## TAVOLA VI.

Fig. 51. — Sezione sagittale alquanto obliqua di uovo di razza *Brienza* ad 11 giorni di incubazione. L'obliquità della sezione in senso antero-posteriore fa sì che essa comprenda tutto il protoceco senza sfiorare lo stomodeo, salvo una parte delle sue cellule di rivestimento e della ripiegatura del fondo. La sezione mostra l'orientazione di una delle laterelle dell'intestino medio (V. anche fig. 57), molti tubi tracheali, e il corpo subesofageo (X 77).

Fig. 52. — Sezione sagittale, un po' obliqua, di un uovo di razza *hivalina Asojiku* all'8° giorno d'incubazione. L'embrione ha compiuto la blastocinesi; tuttavia la parete dorsale del meso-intestino è ancora incompleta nella sua metà posteriore, mentre la piega amniotica posteriore risale fino all'altezza del cardiacus a circoscrivere un riattreto foro ombelicale (X 115).

Fig. 53. — Sezione sagittale un poco lontana dal piano di simmetria (visibili le zampe toraciche e tre false zampe addominali) di uovo di razza *hivalina Asojiku* al 7° giorno di incubazione. L'embrione è allo stadio di massimo raccorciamento che precede la blastocinesi (stadio N); si distinguono nettamente i gangli nervosi corrispondenti ai segmenti 5°, 6°, 7°, 8° e 9° addominali; il ganglio 9°, ultimo della catena, è il più grosso di tutti, per la già avvenuta fusione sua col 10° che era ben distinto e separato in uno stadio precedente come si vede nella fig. 35 (X 95).

Fig. 54. — Sezione sagittale (molto obliqua in senso antero-posteriore) di un uovo di razza *Gran Sasso* al 12° giorno d'incubazione. Mostra il vaso dorsale completamente formato e il foro ombelicale ancora aperto (X 80).

Fig. 55. — Piccola parte della stessa sezione di figura 45 (uovo di razza *Gran Sasso*, 11° giorno d'incubazione) mostrante la organizzazione delle cellule migranti nella zona vitellina centrale dell'uovo (X 400).

Fig. 56. — Sezione sagittale (alquanto lontana dal piano di simmetria e alquanto obliqua in senso antero-posteriore) di uovo di razza *Corsa* all'8° giorno d'incubazione. Mostra il corpo subesofageo ben sviluppato, le pareti dorsali ancora mancanti (X 90).

Fig. 57. — Sezione sagittale (obliqua antero-posteriormente e alquanto lontana dal piano di simmetria) di uovo di razza *Brienza* all'11° giorno d'incubazione. L'embrione è nello stadio di massimo raccorciamento che precede la blastocinesi. La sezione colpisce le zampe toraciche e le 4 false zampe addominali di un lato; si distingue il fondo dello stomodeo col rigonfiamento del cardiacus, dal quale prende origine una delle bandarelle del mesenteron. Fra questa e la parete ventrale del corpo, nella regione toracica, si vede una delle ghiandole sericigene (X 75).

Fig. 58. — Sezione sagittale (alquanto lontana dal piano di simmetria e obliqua antero-posteriormente) di uovo di razza *Corsa* all'8° giorno d'incubazione. Mostra il corpo subesofageo addossato ventralmente al rigonfiamento del cardiacus; la catena gangliare, tagliata obliquamente, è colpita in pieno solo negli ultimi gangli addominali (X 85).

Fig. 59. — Sezione sagittale dell'estremo anteriore di un embrione di razza *Corsa* all'8° giorno d'incubazione (stesso preparato di figura precedente). Mostra l'intraflessione stomodeale; i gangli del gruppo sottoesofageo, e il corpo subesofageo in stretto rapporto col fondo cieco dello stomodeo per mezzo di un sottile legamento (X 240).

## TAVOLA VII.

Fig. 60. — Sezione sagittale (alquanto lontana dal piano di simmetria e un po' obliqua) di uovo di razza *Gran Sasso* al 12° giorno di incubazione. L'embrione è in piena blastocinesi, ma l'ha compiuta appena a metà (X 75).

Fig. 61. — Porzione di una sezione dello stesso uovo di figura precedente (*Gran Sasso*, 12° giorno d'incubazione) per mostrare a forte ingrandimento una zona del vitello intestinale tutto disseminato di microrcugini similiti. In alto la parete dell'epitelio del mesenteron, in basso la sottile parete della piega amniotica (X 450).

Fig. 62. — Rappresenta la regione ombelicale della stessa sezione di fig. 60, a forte ingrandimento. A sinistra e a destra le due pieghe amniotiche delimitano l'ombelico; in alto il fondo dello stomodeo, e lateralmente a destra, la sezione sfiora la ripiegatura del cardiacus. Nel vano dell'apertura ombelicale s'affollano numerose cellule migranti (X 650).

Fig. 63. — Regione cefalica e toracica della stessa sezione dello stesso embrione delle due figure precedenti, in sezione sagittale alquanto lontana dal piano di simmetria e un po' obliqua. Mostra lo stomodeo, il corpo subesofageo sviluppatissimo, il ganglio sottoesofageo derivante dalla fusione di tre gangli primitivi, parte dell'intestino medio e una delle ghiandole sericigene (X 225).

Fig. 64. — Porzione di una sezione sagittale di uovo di razza *Gran Sasso* di 11 giorni d'incubazione, che mostra la regione posteriore dell'embrione e gli safli cellulari dell'amnio; molte cellule migranti nel vitello extraembrionale e in quello in via di dissolvimento nella cavità del corpo dell'embrione (X 225).

Fig. 65. — Sfere vitelline del vitello extraembrionale dello stesso uovo di figura precedente; nuclei irregolari, polimeri, derivati da amiofisi (X 480).

Fig. 66. — Sezione sagittale, obliqua in senso antero-posteriore, di uovo di razza *Gran Sasso* al 13° giorno d'incubazione, il cui embrione ha appena superato la fase culminante della blastocinesi, ma non l'ha ancora del tutto occupata. La parete dorsale intestinale è ancora mancante; la parete dorsale del corpo è formata ancora quasi per intero dalle falde amniotiche (X 90).

## TAVOLA VIII.

Tutte le figure di questa tavola sono riproduzioni di microfotografie di uova in toto, con embrione messo allo scoperto. Il corion veniva aperto in modo da potersi sollevare e asportare metà del guscio, come quando si toglie il copricchio ad una scatola. Poi, con accorti strumenti, veniva asportata la membrana vitellina, la sierosa, le sfere vitelline superficiali interposte fra sierosa ed amnio; talvolta si asportò anche l'amnio, per mettere l'embrione a nudo, ma talora l'amnio fu lasciato intatto, risultandone così la fotografia dell'embrione velata (fig. 76). Dopo queste operazioni, si lasciò l'uovo immerso in acqua o alcool e 70°, fotografandolo dall'alto con forte illuminazione diretta. In qualche preparato tutta la massa del tuorlo con l'embrione ad esso aderente fu lasciata entro le cavità della metà inferiore del corion (figg. 68, 72, 79, ecc.); in altri venne estratta da esso (figg. 67, 69, 70, ecc.).

Fig. 67. — Razza *Gran Sasso*, stadio C: stria germinale al 2° giorno d'incubazione (corrisponde alla sezione di fig. 97) (X 45).

Fig. 68. — Razza *Gran Sasso*, stadio D: stria germinale molto allungata al 3° giorno d'incubazione; primi quattro segmenti (regione cefalica) visibilmente più sporgenti dei successivi (X 55).

Fig. 69. — Razza *Gran Sasso*, stadio E: stria germinale al 4° giorno d'incubazione, ancora molto allungata, con i 3 segmenti toracici ben pronunciati e con abbozzi degli arti, e gli 11 segmenti addominali ben distinti (X 55).

Fig. 70. — Razza *Gran Sasso*, stadio F: embrione al 5° giorno d'incubazione (corrisponde alla sezione di fig. 98). Zampe toraciche ben distinte e prominenti, ma non ancora segmentate (X 70).

Fig. 71. — Razza *Gran Sasso*, stadio F-G: embrione al 6° giorno d'incubazione; il raccorciamento generale del corpo non appare molto spiccato rispetto all'embrione di figura precedente, ma è sensibilmente più raccorciato la regione cefalica rispetto alle altre due regioni prese insieme; le false zampe addominali sono visibilmente abbozzate (X 60).

Fig. 72. — Razza *Gran Sasso*, stadio G: embrione al 6° giorno di incubazione visibilmente raccorciato (X 60).

Fig. 73. — Razza *Brianna*, stadio C: embrione al 6° giorno di incubazione visibilmente raccorciato (X 60).

Fig. 74. — Razza *Gran Sasso*, stadio H: embrione al 7° giorno di incubazione, molto raccorciato, coi primi segmenti cefalici molto ingrossati e ripiegati verso l'interno (X 50).

Fig. 75. — Razza *Gran Sasso*, stadio H: embrione al 7° giorno di incubazione, come figura precedente (X 50).

Fig. 76. — Razza *Gran Sasso*, stadio I: embrione all'8° giorno di incubazione; zampe toraciche distintamente triarticolate; pareti laterali dell'embrione per notevole parte costruite; la posizione dell'embrione è alquanto diversa da quella usuale: la testa è alquanto allontanata dal polo micropilare. (X 70).

Fig. 77. — Razza *Gran Sasso*, stadio L: embrione al 9° giorno di incubazione raccorciato al punto da occupare soltanto la metà ventrale della periferia dell'uovo (corrisponde alla sezione rappresentata nella figura 99); le zampe toraciche sono ben sviluppate e così pure gli arti cefalici (X 65).

Fig. 78. — Razza *Gran Sasso*, stadio M: embrione al 10° giorno di incubazione, molto raccorciato (X 55).

Fig. 79. — Come la precedente, razza *Brianna*, stadio M, 10° giorno di incubazione (X 45).

Fig. 80. — Razza bivoltina *Asoiuku*, stadio M: 7° giorno di incubazione; equivale allo stadio di 10 giorni della razza onnne; testa e torace molto raccorciati; prossima blastocinesi (X 70).

Fig. 81. — Razza bivoltina *Asoiuku*, stadio N, all'8° giorno di incubazione, embrione al massimo raccorciamento, imminente blastocinesi (X 70).

TAVOLA IX.

Anche per le figure di questa tavola vedansi le avvertenze date per la tavola precedente.

Fig. 82. — Razza *Gran Sasso*, stadio N: embrione all'11° giorno di incubazione, al massimo grado di raccorciamento che precede la blastocinesi; osso è fotografato

ancora racchiuso nella cavità amniotica, con amnio intatto. Le false zampe addominali sono pronunciatissime (X 55).

Fig. 83. — Razza *Brianna*, stadio N: 11° giorno d'incubazione; embrione molto più corto dell'asse antero-posteriore dell'uovo; imminente blastocinesi (X 45).

Fig. 84. — Razza *Brianna*, stadio N: 11° giorno d'incubazione (X 60).

Fig. 85. — Razza *Gran Sasso*, stadio M; embrione assai raccorciato, come a fig. 82 (X 50).

Fig. 86. — Come la precedente (X 70).

Fig. 87. — Embrione di razza bivoltina *Asoiuku* nello stadio N: all'8° giorno d'incubazione, estratto dall'uovo e fotografato isolato (X 70).

Fig. 88. — Razza *Ascoli*, stadio N-O: 11° giorno d'incubazione. L'embrione ha iniziato la blastocinesi; esso si è distaccato dalla parete ventrale dell'uovo, e la sua regione posteriore addominale (segmenti 7<sup>o</sup>-10<sup>o</sup> dell'addome) mostra un lievisimo incurvamento verso l'interno (X 65).

Fig. 89. — Razza *Ascoli*, stadio O, 12° giorno d'incubazione; blastocinesi in atto. L'embrione assume la doppia curvatura a lettera S, e attraverso lentamente la regione centrale dell'uovo (X 65).

Fig. 90. — Razza *Gran Sasso*, stadio O, 12° giorno d'incubazione; blastocinesi in atto. Le pareti dei fianchi dell'embrione vanno completandosi; in trasparenza si intravede la cavità del mesoenterico e quella del proctodeo (X 65).

Fig. 91. — Razza bivoltina *Asoiuku*, stadio O, all'8° giorno di incubazione; blastocinesi in atto (il 1° arte toracico si è spezzato durante la preparazione). L'embrione si allontana coll'addome dalla parete ventrale dell'uovo in posizione un poco anormale (X 70).

Fig. 92. — Razza *Gran Sasso*, stadio P, al 13° giorno d'incubazione. Blastocinesi appena superata, ma incompiuta (X 45).

Fig. 93. — Razza *Gran Sasso*, stadio Q, al 14° giorno d'incubazione; l'embrione ha progredito nel suo movimento un po' più di quello di figura precedente; la sua regione toraco-cefalica non conserva più alcuna traccia della curvatura primitiva (Cfr. con figura precedente); e tutto l'embrione si è molto avvicinato col suo dorso, — ma non ancora addossato — allo parete dorsale dell'uovo, e l'estremità addominale è già cresciuta in lunghezza (X 50).

Fig. 94. — Come la precedente; razza *Gran Sasso*, stadio Q, al 14° giorno d'incubazione. L'embrione sembra più avanzato di quello di fig. 93 per l'allungamento dell'addome, ma è meno prossimo col suo dorso alla parete dorsale dell'uovo (X 80).

Fig. 95. — Come le due precedenti; razza *Gran Sasso*, stadio Q, al 14° giorno d'incubazione. L'estremo addome si è alquanto accorciato, benché il dorso dell'embrione non sia ancora addossato alla parete dorsale dell'uovo (X 55).

Fig. 96. — Embrione anormale per mancanza blastocinesi; razza *Gran Sasso*, 14° giorno d'incubazione. Non si è prodotta la concavità ventrale addominale, bensì una fastidiosa convessità ventrale; l'embrione si è piegato ad U, in senso inverso a quella normale, ed è di quelli che muoiono più o meno precocemente entro il guscio. (X 45).

TAVOLA X.

Fig. 97. — Sezione sagittale di uovo di razza *Corsa*, al 2° giorno d'incubazione (stadio C). (X 95).

Fig. 98. — Sezione sagittale di uovo di razza *Corsa*, al 5° giorno di incubazione (stadio F). Il disegno è ricostruito: comprende stomodeo e proctodeo tagliati in pieno (sezione sul piano sagittale) e gli arti cefalici e toracici che sono visibili solo su un piano alquanto lontano da quello sagittale (X 95).

Fig. 99. — Sezione sagittale di uovo di razza *Corsa* al 9° giorno di incubazione (stadio L). Il disegno è ricostruito: lo stomodeo e il proctodeo sono colpiti in pieno (piano sagittale), ma da sezioni vicine sono riportati due tubi malpighiani in sezione longitudinale e due in sezione trasversa, che sul piano sagittale non sono visibili (cfr. fig. 42); così pure è ricostruita l'intera catena gangliare e sono riportati gli arti toracici e le false zampe addominali (X 95).

Fig. 100. — Sezione esattamente sagittale di uovo di razza *Corsa* al 12° giorno d'incubazione (stadio O). L'embrione è in piena blastocinesi; la parete dell'intestino medio è formata anche su tutta la linea mediana ventrale (X 95).

Fig. 101. — Sezione esattamente sagittale di uovo di razza *Corsa* al 14° giorno d'incubazione (stadio O). La blastocinesi è perfettamente compiuta; la parete dorsale del mesenteron è completa, ma non è ancora completa quella dorsale ipodermica, che resta aperta con un ompio ombelico all'altezza del mesotorace e della valvola *cardias* (X 95).

Fig. 102. — Microfotografia di uovo di razza *Ascoli*, di 14 giorni di incubazione con embrione che non ha ancora compiuto la blastocinesi, e che appare incapace ormai di compierla regolarmente perchè presenta all'estremo addome una stretta piega addominale enorme (X 40).

Fig. 103. — Embrione di razza bivoltina *Ascolini*, al 7° giorno di incubazione (massimo ruscocroamento) con la massa del tuorlo centrale ancora aderente alla sua superficie dorsale. L'embrione è stato colorato *in toto*, col metodo Clemens, eppoi fotografato (X 60).

Fig. 104. — Embrione di razza *Ascoli*, all'11° giorno d'incubazione (stadio N); esso è stato estratto dall'uovo, colorato con metodo Clemens, e fotografato. In trasparenza sono visibilissimi il mesenteron col vitello intestinale, lo stomodeo e il proctodeo. L'embrione aveva appena iniziato la blastocinesi, come dimostra la leggerissima concavità pronunciata in corrispondenza ai segmenti 7° e 8° addominali (X 65).

Fig. 105. — Microfotografia di uovo di razza *Gran Sasso* al 12° giorno d'incubazione (stadio O) con embrione in piena blastocinesi, colorato *in toto* con Ematossilina Carazzi (X 80).

Fig. 106. — Microfotografia di uovo di razza *Gran Sasso* al 13° giorno d'incubazione (stadio P) con embrione che ha superato, ma non completato, la blastocinesi. Colorazione *in toto* con Ematossilina Carazzi (X 80).

