

centuale di uova. Si può essere certi che nessuno di quegli embrioni anche avanzati nello sviluppo avrebbero potuto raggiungere la maturità e giungere a nascita.

* *

Riassumendo si possono trarre queste conclusioni:

1. — Anche per l'incrocio Brasiliano vale la regola generale delle altre razze del Baco da seta, cioè che la partenogenesi è un fatto eccezionale.

2. — La tendenza alla partenogenesi dell'incrocio studiato non è molto spiccata, ma è però assai più notevole di quella delle razze gialle indigene pure, che è notoriamente minima.

3. — La svernatura del seme partenogenetico, fatta alle temperature prossime allo zero a cui si suole far svernare il seme-bachi, sembra essere dannosa all'ulteriore sviluppo dell'embrione, cioè alla ripresa primaverile. Si sarebbe perciò indotti ad avvicinarsi al ВАРТНЕМУ che diceva non essere possibile ottenere larve partenogenetiche se non da generazioni estive. Pur non potendo condividere in pieno l'affermazione dello zoologo francese, perchè i risultati sperimentali ormai acquisiti me lo vietano, devo tuttavia constatare, tanto per il Chinesse bianco quanto per l'incrocio Brasiliano, che quest'anno le alte percentuali di uova con tendenza alla partenogenesi riscontrate al termine dell'estivazione non si mantennero al termine dell'ibernazione e dell'incubazione. E questo fatto può avere rapporto, almeno entro certi limiti, con l'influenza esercitata dalle basse temperature dell'ibernazione.

Lo sviluppo delle ghiandole genitali nell'embrione e nella larva del Filugello

I. - L'EMBRIONE

INTRODUZIONE

Lo studio degli organi sessuali del baco da seta è stato oggetto di ricerca da parte mia durante gli anni 1929-31, quando, per le ragioni esposte in un'altra nota (1930) (9), intrapresi alcuni studi sulla ginecrinatura.

Infatti, parallelamente a queste ultime indagini, il Prof. Remo Grandori mi propose di eseguire uno studio istologico sulle gonadi del Filugello, dato che, sebbene questo argomento fosse già stato ampiamente studiato da numerosi ricercatori, pure molti punti di esso sono tuttora oscuri; tali ricerche avrebbero potuto esser messe in relazione con gli studi sulla ginecrinatura soprattutto per quanto concerne una possibile ginecrinatura delle uova. Inoltre, sebbene recentemente alcuni Autori giapponesi abbiano rivolto la loro attenzione allo studio delle gonadi, non mi risulta che finora esista una trattazione in proposito che riassume tutti i lavori precedenti e che sia corredata da buona documentazione micrografica. Infatti l'attenzione dei biologi, in questi ultimi anni, è stata soprattutto rivolta all'oogenesi e alla spermatogenesi, e la copia dei lavori compiuti su tale questione è veramente notevole, mentre invece la struttura istologica dell'ovario e del testicolo è relativamente poco studiata.

Gli scopi che mi proposi nell'intraprendere questo lavoro furono i seguenti:

- 1) Riassunto critico delle ricerche precedenti.
- 2) Descrizione ed ampia illustrazione della istologia degli organi genitali del Filugello dagli stadi embrionali alla fine del periodo larvale.

La parte iconografica è stata quindi particolarmente curata, oltrechè con disegni, anche con microfotografie, le quali danno documentazione di grande persuasività.

3) Portare un contributo ad alcune questioni ancora insolite intorno alle gonadi dei Lepidotteri.

Dirò subito che nessuno di questi tre scopi fu completamente raggiunto, poichè un lavoro completo su questo argomento avrebbe richiesto un tempo assai più lungo di quello da me impiegato. Tuttavia ritengo utile pubblicare i risultati fin qui raggiunti, riservandomi di ritornare sull'argomento in avvenire.

RIASSUNTO DEI LAVORI PRECEDENTI.

I primi cenni sull'esistenza delle ghiandole sessuali nel Filugello allo stato larvale si trovano nella celebre *Dissertatio epistolica de Bombyce* di MARCELLO MALPIGHI (1669) (99) il quale però, mentre descrive ampiamente le gonadi della farfalla, per quanto concerne la larva si limita a dire che: « Testes adulto iam Bombyce emergunt », e poco più oltre aggiunge che nella crisalide i testicoli raggiungono uno sviluppo maggiore. Degli ovari della larva l'A. non parla.

SWAMMERDAMM (1737-38) nella sua *Naturae Biblia* (161) descrive e raffigura gli organi genitali di *Vanessa urticae* e di *Bombyx mori*; LYONET (94) (1762) osserva che i testicoli — da lui denominati *corpi reniformi* — della larva di *Cossus cossus* constano di 4 follicoli, e DE GEER (36) (1780) infine descrive gli organi genitali di *Phalera bucephala*.

Ma il primo a dare una descrizione approfondita delle gonadi di Lepidottero fu l'HEROLD (1815) (68) il quale, con le sue ricerche su *Pieris brassicae*, può considerarsi il vero iniziatore degli studi razionali in proposito: malgrado le numerose inesattezze delle sue descrizioni anatomiche e l'imperfezione dei disegni annessi al suo lavoro, pure a questo Autore deve attribuirsi il merito di aver per primo riconosciuto l'evoluzione dell'apparato riproduttore maschile (fusione dei due testicoli della larva in uno solo nell'adulto; distinguibilità delle gonadi nei bruchi ap-

pena nati) e di avere, più tardi (1839) (69) descritta l'oogenesi nelle farfalle fin dallo stadio di giovane ninfa. Questo A. osservò anche la penetrazione delle trachee nei testicoli (fatto su cui più tardi si accese la polemica tra VENSON e ЧЕЛОВКОВСКИЙ), ed a lui è infine legato il nome dell'abbozzo del pene nell'embrione e nella larva.

Una prima classificazione dei testicoli degli insetti in tre categorie (*compacti*; e *vasculis brevibus conformati, tunica inducti; ex uno canali constructi*) fu tentata da HEGETSCHWEILER (1820) (60) al quale era inoltre noto che in alcuni lepidotteri (*Bombyx mori*, *Saturnia pavonia*, *Agria tau*) i due testicoli restano separati nell'adulto. A WAGNER (1836) (197) si devono i primi studi razionali sull'oogenesi non solo degli Insetti, ma di tutti gli animali. I successivi lavori di SUCKOW (1828) (159), LOEW (1841) (93), BASSI (1844) (8), MEYER (1849) (107), FILIPPI (1852) (44), DUFOUR (1857) (40), portarono nuovi contributi a questi argomenti: gli studi di MEYER sull'evoluzione della sostanza grassa e sul differenziamento dei vari tipi di cellule nell'ovario di lepidottero secondo modalità che furono più tardi ammesse da LEYDIG (1867) (92), THOMSON (1869) (162), WALDEYER (1870-71) (198, 199), ecc., son particolarmente degni di lode per i dettagli istologici che vi si trovano.

Il CORNALIA (1856) nella sua celebre *Monografia* (31) dedica largo spazio e una tavola illustrativa all'apparato riproduttore del Filugello nei suoi diversi stadi di sviluppo. Ciò che però sorprende il lettore è il fatto che accanto a una dettagliata descrizione istologica che per molti punti fu poi confermata da più recenti ricerche, si riscontrino nel lavoro dell'illustre scienziato alcune inesattezze alquanto grossolane: così, mentre l'A. afferma che « al primo aspetto l'organo maschile per quasi tutta la vita della larva non si distingue da quello femminile », ma che « sotto la lente però la distinzione è nettissima », per contro nella tavola illustrativa raffigura il testicolo con la stessa forma triangolare dell'ovario e non con la caratteristica forma di fagiolo già riconosciutagli dal LYONET; l'A. ricorda poi che l'abbozzo del condotto escretore parte di solito dal lato posteriore interno della ghiandola, ma talora dal lato posteriore esterno; ma questa circostanza « non è d'alcun rilievo »; mentre invece — come si dirà in seguito — tale differenza è inerente al sesso, il condotto essendo interno nel maschio ed esterno nella femmina (salvo rare

e discusse eccezioni, delle quali si dirà in seguito). L'A. non fa pertanto differenze (che pure sono evidentissime) tra la morfologia del testicolo e quella dell'ovario nella larva, e giunge anzi a presentarci la figura di un ovario pieno di spermatozoi! Dopo aver detto che le gonadi contengono un « citoblastema che va organizzandosi in cellule di cui molte sono nucleate », l'A. passa a descrivere accuratamente l'istologia dei testicoli e degli ovari e le più importanti fasi della spermatogenesi o dell'oogenesi.

Sebbene contemporaneo del CORNALLI, il MAESTRI (1856) (98) non cade nell'errore compiuto da quell'A. per quanto concerne la morfologia dei testicoli della larva di Filugello, ma ne riconosce e raffigura l'aspetto reniforme. Questo A. descrive la morfologia del testicolo e dell'ovario (trachee, legamenti dell'ovario, ecc.) nelle varie età del baco, e, addentrandosi in dettagli istologici, accenna alla spermatogenesi e all'oogenesi e ricorda la differenza tra cellule nuove e cellule vitelline.

Del lavoro di BALTZER (1864) (7) nel quale abbondano errori e inesattezze non è necessario parlare, mentre invece è opportuno ricordare lo studio di BESSELS (1867) (11), il quale nell'embrione dei Lepidotteri non solo riconosce e descrive gli abbozzi delle gonadi e le primitive cellule germinali che le costituiscono, ma inoltre nella differente posizione dell'attacco del condotto escretore trova per primo un criterio per distinguere il sesso del nascituro.

E delle gonadi embrionali si occupa anche BALBIANI, il quale in *Tinea crinella* prima (1869) (4), in *Chironomus* poi (1885) (6), osserva, come assai prima ROBIN (1862) (134) sui Tipulidi, le cellule germinali fin nei primissimi stadi della vita embrionale (*cellule polari*). Secondo HENNECUY (1904) (66) a BALBIANI si dovrebbe anche l'effettiva scoperta (1866) della cellula di VERNON, della quale però l'A. avrebbe soltanto parlato, ma mai scritto.

Ma già tre anni prima del primo lavoro di BALBIANI, ST. GEORGE VON LA VALETTE aveva iniziato quella serie di ricerche sulla spermatogenesi e l'oogenesi degli Insetti, che, protrattesi per un trentennio (1867 - 1897) (149 - 153) hanno portato un così largo contributo di nuovi e interessanti reperti all'argomento che ci riguarda.

I lavori di questo A. sono strettamente legati a quelli di quel folto gruppo di ricercatori che sullo scorcio del secolo scorso si

dedicarono con fervore agli studi sulle ghiandole sessuali degli Insetti, studi che, per merito soprattutto di VERNON, CHOLODKOVSKY, TICHOMIROFF, TOYAMA, ecc. compirono in questo periodo un notevolissimo progresso. Le ricerche di questi e di altri Autori s'intrecciano e si completano a vicenda: le pubblicazioni assumono spesso un tono polemico che, seppure non si addice alla severità della ricerca scientifica, è però stato spesso sprone a nuovi e più approfonditi studi.

ST. GEORGE VON LA VALETTE distingue nei testicoli le *cellule follicolari* dalle primitive cellule germinali (*Ursamenzellen*), indaga l'evoluzione di queste e di quelle, si addentra nell'ipotesi sulla formazione degli involucri delle spermatozisti (*Cysten-haut*), discute con BÜTSCHLI (1871) (19) sulla natura e l'origine dei cosiddetti *Nebenkern* scoperti nei testicoli di *Forficula auricularia* (152), e di quei piccoli granuli intensamente colorabili denominati da HERTWIG (1890) (70) (che li scoperse nei Nematodi) « *Hodenzwischenkörperchen* », riconosce (come già BESSELS) nella posizione del dotto escretore un carattere distintivo fra i due sessi, e infine partecipa attivamente con VERNON, CHOLODKOVSKY, TOYAMA, e altri alla discussione sull'origine e la funzione della cellula gigante scoperta in quell'epoca dal VERNON nei follicoli testicolari del baco da seta, cellula che — per merito appunto del ST. GEORGE VON LA VALETTE, che la denominò « *die Vernonsche Zelle* », — è oggi a tutti nota col nome di *cellula di Vernon*.

A. BRANDT (1871-1885) (14-16) esamina come BESSELS i primi stadi di sviluppo delle gonadi e si addentra nello studio delle uova e dell'ovario degli Insetti, ed ED. BRANDT (1880) (17) descrive i testicoli di *Hepialus humuli*, la morfologia dei quali, ha, secondo CHOLODKOVSKY (1880) (22) una particolare importanza perchè essa rappresenterebbe il primitivo tipo (o embrionale come dice quest'ultimo A.) della ghiandola sessuale maschile nei Lepidotteri.

Della vasta produzione scientifica del CHOLODKOVSKY (1882-1909) (22-23) non sarebbe possibile fare un esatto riassunto senza dilungarsi eccessivamente e senza addentrarsi nelle numerose questioni particolari trattate dettagliatamente dall'A.; tali questioni, che si riferiscono soprattutto alla cellula di VERNON e alla penetrazione delle trachee nei follicoli testicolari, e che sono strettamente collegate ai lavori in proposito di VERNON (i quali

anzi appunto in questa occasione assumono veste polemica, saranno trattate in seguito. Qui basti ricordare che il CHOLODKOVSKY ha anche accuratamente descritto gli involucri che circondano i testicoli dei Ditteri (1905) (27), e delle farfalle (1884) (24); argomento questo già studiato, sebbene fuggevolmente e imperfettamente, dal LANDOIS (1886) (89). Nei testicoli dei lepidotteri adulti (*Vanessa urticae* L.) si riscontrano, secondo CHOLODKOVSKY, 4 tonache e precisamente, dall'esterno all'interno:

1. — Un involucro esterno contenente una rete di trachee fittamente ramificate, le ultime ramificazioni delle quali si congiungono in parte e costituiscono per tal modo una sottilissima e trasparente membrana chitina (Chitinmembran).

2. — Uno strato di sostanza adiposa gialla. Questi due primi involucri sono comuni a tutti e quattro i lobi di ogni testicolo.

3. — Un involucro interno avvolgente ogni singolo follicolo. ricchissimo di trachee (e perciò di consistenza chitina) e contenente granuli di pigmento.

4. — La membrana propria di ogni follicolo (*Hüllmembran*), sottilissima, priva di evidente struttura (*strukturlos*) e trasparente. Secondo CHOLODKOVSKY le trachee non penetrano mai attraverso quest'ultima membrana nella cavità follicolare, ma tale opinione — come si dirà meglio in seguito — non è condivisa da VERNON.

A CHOLODKOVSKY si deve infine una classificazione dei testicoli delle farfalle, classificazione che è molto più precisa di quella di HEGETSCHWEILER e che è tuttora seguita. L'A., che ha esteso le sue osservazioni a ben 150 specie di Lepidotteri (1880-1884) (22-24), divide i testicoli delle farfalle allo stato adulto in 4 tipi:

1. — *Tipo embrionale* - (così detto perchè corrispondente a quello di quasi tutti gli embrioni dei lepidotteri): due testicoli separati, i 4 follicoli ben distinti anche esternamente; capsula comune assente (*Hepialidne*).

2. — *Tipo larvale* - (perchè simile a quello della maggior parte dei bruchi): due testicoli separati; i 4 follicoli di ogni gonade circondati dalla capsula comune (numerosi Bombicini, fra i quali il *Bombyx mori*).

3. — *Tipo ninfale* - (il quale è comune anche alle crisalidi appartenenti al tipo seguente): un solo testicolo con strozzatura mediana che ne indica la primitiva duplicità (*Lycæna*, *Adela*).

4. — Un solo testicolo sferico (quasi tutti gli altri Lepidotteri).

Ciò che si è detto per CHOLODKOVSKY può anche dirsi per TICHOMIROFF, il quale dedicò notevole parte della sua attività scientifica allo studio delle ghiandole sessuali degli Insetti in generale e del Filugello in particolare. Le sue numerose pubblicazioni in proposito (1880-1898) (163-167) s'intrecciano con quelle degli altri ricercatori di questo periodo ed hanno con queste contribuito validamente al progresso delle nostre conoscenze in proposito.

L'attenzione di questo A. è stata rivolta allo studio istologico e morfologico dell'ovario del Filugello (origine ed evoluzione delle cellule uovo, vitellogene ed epiteliali), all'anatomia del testicolo — (involucri, penetrazione delle trachee nelle cavità follicolari) e alla spermatogenesi — (origine, struttura e funzione della cellula di VERNON, formazione della parete delle spermatocisti). - Il TICHOMIROFF ha infine esaminato l'omologia delle varie parti del testicolo con quelle dell'ovario.

Le gonadi dell'embrione, già studiate da METCHENIKOFF in *Miastor* (1866) (102), da BALBIANI e da BESSERS, sono oggetto di una interessante nota di SELVATICO (1882) (143).

Questo A. descrive ed illustra gli abbozzi delle ghiandole genitali nell'embrione di *Bombyx mori*, *Saturnia pyri* e *Attacus mylitta*: tali abbozzi, pur non essendo visibili in uno stadio così precoce come ebbe a osservare BALBIANI in *Tinea crinella*, sono però osservabili poco prima della blastocinesi.

A WILL (1884-1886) (211-213) si devono alcune ricerche sulle cellule follicolari e vitelline dell'ovario (che, secondo l'A., deriverebbero non da una diretta trasformazione delle cellule della camera terminale, ma da una particolare gemmazione da parte delle cellule germinali primitive (« Keimzellen ») da WILL denominate *ooblasti*. Al medesimo WILL si deve anche, secondo MACHIDA (1926) (96), la scoperta della *cellula apicale* (corrispondente a quella che è nel testicolo la cellula di VERNON), ma in verità, e come si dirà meglio a suo tempo, la descrizione di WILL sugli elementi contenuti nell'estremità distale dei tubuli ovarici, non sembra tale da giustificare l'asserzione di MACHIDA.

All'origine dei diversi tipi di cellule che costituiscono l'ovario degli Insetti (cellule uovo, cellule epiteliali e cellule vitellogene) è pure dedicata la maggior parte dei lavori di KORSCH-

ELT (1885-1902) (83-88) il qual discute inoltre le vedute che a questo proposito hanno WILL (1884) (211) e WIELOWIEJSKI (1885-1908) (206-210). Gli studi di questi Autori, come pure quelli di SABATIER (1886) (135), di PÉREZ (1886) (122) e di altri sullo stesso argomento saranno esaminati e discussi altrove.

Per ora basti dire che SABATIER nei suoi studi su *Forficula* giunge a conclusioni simili a quelle di WILL; KORSCHULT assegna dapprima (come WIELOWIEJSKI) una comune origine alle cellule germinali e vitellogene e a quelle epiteliali, ma nei suoi ultimi studi (88) è meno esplicito a questo proposito; PÉREZ (1886) (122) infine ritiene che le cellule follicolari siano fin dall'origine distinte da quelle genituali primordiali: da queste ultime poi deriverebbe un certo numero (definito per ogni specie) di cellule figlie una sola delle quali diverrebbe uovo, mentre le altre sarebbero cellule vitellogene: queste ultime sarebbero uova abortite e sarebbero pertanto sorelle e non figlie (come vorrebbero WILL e SABATIER) della cellula uovo.

All'origine degli elementi cellulari del testicolo invece sono rivolti gli studi di GILSON (1886-1888) (52). Secondo questo A. i 4 cumuli di cellule costituenti i testicoli dei Lepidotteri proverrebbero non da una unione di elementi primordiali dapprima liberi, ma da una moltiplicazione per via endogena di 4 *metrociti primordiali* che, in un certo momento della vita embrionale, si differenzierebbe dalle altre cellule primitive occupanti la cavità della gonade embrionale. A parte la forma della riproduzione rigettata da ST. GEORGE VON LA VALETTE (« siccome una inutile anticaglia » dice il VERNON), si potrebbe dire che il GILSON ha percorso con l'ipotesi la scoperta della cellula di VERNON (qualora, ben inteso, si sia d'accordo con coloro che in questa cellula vedono la madre di tutti gli elementi germinali).

E della cellula di VERNON del resto l'onore della scoperta fu da CHOLODKOVSKY (26) attribuito a SPICHAERT (1886) (148).

Questo A. infatti osservò nei testicoli di *Liparis dispar* una particolare cellula germinale (*Keimzelle*) la cui sostanza nucleare, sparsa per tutta la cellula stessa, sarebbe destinata a generare al di fuori di sé costantemente nuovi nuclei: questi poi, divenuti liberi e circondatisi di citoplasma, costituirebbero i giovani spermatogoni.

A questo tentativo dello scenziato russo il VERNON rispose (1913) (189), con una nota la quale dimostra inconfutabilmente (grazie al confronto tra la descrizione e i disegni dello SPICHAERT e quelli suoi propri) la profonda diversità fra le osservazioni dei due ricercatori e rivendica quindi allo studioso italiano l'effettiva scoperta.

Comunque le ricerche dello SPICHAERT meritano di essere ricordate non solo per la *Keimzelle*, ma anche per la descrizione delle tonache testicolari (che, secondo questo A., sarebbero tre, e cioè dall'esterno all'interno: 1° La tonaca peritoneale, derivante dalla sostanza adiposa del giovane bruco; 2° La tonaca media, corrispondente alla « membrana chitinoso » di CHOLODKOVSKY. 3°) La *tunica propria* di ogni follicolo), e per le osservazioni sui condotti genitali, argomento quest'ultimo accuratamente studiato anche da NUSBAUM (1882) (115), PALMÉN (1878-1884) (118, 119), VERNON (1895-96) (181, 183, 186, 191, 192), JACKSON (1890) (78), ecc.

Sull'intimo meccanismo della spermatogenesi e sulle minute strutture citoplasmatiche e nucleari delle cellule germinali dei testicoli s'intrattiene il PLATNER (1886-1889) (126-128): egli alle osservazioni di BÜTSCHLI (19, 20) e di ST. GEORGE VON LA VALETTE (151, 152) sui cosiddetti « *Nebenkerne* » aggiunge interessanti osservazioni personali. PLATNER descrive anche certe particolari formazioni negli spermatociti di Lepidottero, formazioni ch'egli denomina « *Verbindungsbrücken* », e, come CARNOY (1884) (21) si era occupato della Spermatogenesi di *Arctia coja* e di *Arctia fuliginosa*, così egli si occupa estesamente della spermatogenesi di *Pygmaera* e di *Sphinx*, approfondendosi nello studio del numero dei cromosomi e delle mitosi di maturazione. E sulla citologia dei giovani spermatogoni e sulla loro successiva evoluzione in spermatozoi s'intrattiene anche HENKING (1891) (64), gli studi del quale si riferiscono al *Pyrrochoris apterus* L.

A HEYMONS, il quale rivolse la propria attenzione alla *Phyllodromia germanica* (1891) (72) e alla *Lepisma saccharina* (1897) (74) si devono delle ricerche sull'origine dei vari tipi di cellule dell'ovario. Questo A. condivide il modo di vedere di METCHNIKOFF (1866) (102), secondo il quale le cellule uovo e le cellule vitellogene deriverebbero dalle cellule germinali primordiali dell'ovario embrionale, mentre le cellule follicolari provverrebbero dalle piccole cellule embrionali di origine mesoder-

mica. La diversa origine delle cellule follicolari e di quelle germinali e vitellogene è del resto sostenuta pel *Bombyx mori* da GRÜNBERG (1902) (58) e da MACHIDA (1926) (96).

A partire dal 1889 le conoscenze sulle ghiandole sessuali degli Insetti, anzi specificatamente su quelle del baco da seta si arricchiscono dei fondamentali contributi ad essi apportati dal VERNON.

Il lavoro di questo A. sulla spermatogenesi del *Bombyx mori* (1889) (177) è infatti di capitale importanza, non solo perchè quivi è descritta dettagliatamente la *cellula gigante* dei follicoli testicolari (la scoperta della quale era già stata annunciata in una breve nota preventiva (174) ma anche perchè è questo il primo lavoro nel quale sia descritta con dovizia di particolari e ricchezza di disegni tutta l'evoluzione morfologica, istologica e citologica del testicolo dall'embrione alla larva matura.

I più giovani testicoli furono dal VERNON osservati in embrioni « con dorso già chiuso nei quali si era appunto compiuto il rivolgimento »: fin da questo stadio è però già visibile la divisione in 4 follicoli, ciascuno dei quali contiene « un grande nucleo tondeggiantissimo il quale è caratterizzato per la sua straordinaria povertà in cromatina ». Durante le successive fasi della vita larvale la *cellula gigante* si evolve costituendo intorno a sè una *zona raggiata* formata da piccoli nuclei circondati da citoplasma prolungantesi a guisa di coda verso il nucleo della cellula gigante stessa. Man mano che il baco cresce, le giovani cellule germinali si trasformano in *spermatociti* racchiusi a gruppi entro le *spermatocisti*: queste ultime infine nei bachi adulti si allungano, trasformandosi in *budelli spermatofori* mentre gli elementi germinali che essi contengono si trasformano in *spermatozoi*. Secondo il VERNON il tessuto reticolare descritto da vari Autori (BALBIANI, ST. GEORGE VON LA VALETTE) come avvolgente i gruppi di spermatocisti, non esisterebbe, ma « tutta la cavità di ogni singolo scomparto testicolare è davvero occupata da un'unica enorme cellula (spermatogonia) la quale entro al proprio protoplasma più o meno scisso e lacunoso accoglie, cresce e matura una innumerevole discendenza, destinata a recuperare solo più tardi piena ed illimitata libertà ».

Questo periodo del VERNON è sufficiente anche per significare le sue opinioni rispetto alla funzione della cellula gigante.

E l'A. nelle sue successive pubblicazioni, sostiene tenacemente la sua ipotesi (condivisa da CHOLODKOVSKY e da pochi altri) contro il parere di coloro (TOYAMA, TICHOMIROFF, ST. GEORGE VON LA VALETTE, ERLÄNGER, ZIEGLER e VOM RATH, GRÜNBERG ecc.) che, pur dissentendo tra loro sull'origine della cellula di VERNON, concordano nel negarle la funzione germinativa attribuitale dallo scopritore, e nel considerarla come cellula con funzione di sostegno (*Stützelle* di ERLÄNGER) o nutrizia (*Nährzelle* di TICHOMIROFF). Il VERNON inoltre trova un riscontro nel contenuto di ogni follicolo testicolare degli insetti nello *spermatoblasto* descritto da ENNER (41) nei testicoli dei mammiferi, e della stessa cellula gigante nella cellula del SERTOLI, ma anche su questo punto i pareri degli altri AA. son tutt'altro che concordi. Infine per quanto concerne le modalità della divisione di detta cellula, secondo lo scopritore essa sarebbe *amitotica* ciò che sarebbe confermato dalla maggior parte delle osservazioni di altri più recenti Autori.

Accanto alla lunga e feconda serie di ricerche, studi, e osservazioni suscitate dalla scoperta della cellula gigante, il VERNON fu anche promotore di un'altra questione che, se può passare in secondo piano rispetto a quella precedente, non per questo va dimenticata: la questione della penetrazione delle trachee nei follicoli testicolari. Tale penetrazione, già affermata dall'A. nel suo primo lavoro sulla spermatogenesi del filugello (1889) (177) venne poi ribadita in una nota successiva (1913) (188), determinata dall'affermazione contraria sostenuta dal CHOLODKOVSKY (1884) (24).

In questa breve nota il VERNON descrive anche accuratamente l'istologia della capsula connettivale del testicolo, ricordando che questo è nel *Bombyx mori* privo di rivestimento epiteliale.

Le geniali ricerche del VERNON furono di incitamento a ulteriori studi in questo campo, ed è anzi appunto in questo periodo che si osserva tutta quella fioritura di ricerche e di indagini che ha così potentemente contribuito al progresso delle nostre conoscenze sulle cellule germinali degli Insetti.

La divisione amitotica della cellula di VERNON e la funzione di quest'ultima sono oggetto di studio da parte di VOM RATH (1891-1895) (193-196) e di ZIEGLER e VOM RATH (1891) (219, 220).

Questi AA. dall'insieme delle loro osservazioni rivolte non solo agli Insetti (*Grylotalpa*), ma anche agli Anfibi (*Salamandra*), giungono alla conclusione che le piccole cellule germinali circostanti alla cellula di VERNON non debbon considerarsi come figlie, ma bensì come sorelle di questa: le piccole cellule sarebbero i veri spermatogoni primitivi che, attraverso divisioni mitotiche darebbero luogo agli spermatozoi, mentre la cellula di VERNON dovrebbe considerarsi come una cellula sessuale involuta alla quale spetterebbe una semplice funzione di sostegno, e le divisioni amitotiche del suo nucleo nulla avrebbero a che fare con la formazione degli spermatozoi.

La funzione di sostegno della cellula di VERNON è anche sostenuta dal TOYAMA i lavori del quale sulla spermatogenesi del *Bombyx mori* (1894-1902) (168-170) sono ricchi di nuovi e interessanti reperti.

Nella sua nota preventiva (168) l'Autore giapponese, dopo avere accennato alla struttura delle gonadi embrionali (uniloculare prima, quadrilobata poi), e alla distinguibilità del sesso basata sulla presenza o assenza dell'*Organo di Herold*, afferma che la cellula di VERNON — già evidente nei testicoli di giovani larve (4 giorni di età) — deriva da una cellula dell'epitelio follicolare che si invagina nella cavità del follicolo e quivi si accresce e si sviluppa: la sua funzione sarebbe pertanto quella di una cellula di sostegno come quella delle cellule corrispondenti dei testicoli dei Mammiferi e della rachide dei Nematodi.

Questo originale modo di vedere è dal TOYAMA ribadito e appoggiato da opportuni disegni nella sua seconda (169) e più importante nota. Tale ipotesi, aggiunta a quelle che nel frattempo si andavano formando in proposito (VERNON, CHODKOVSKY, ZIEGLER e VOM RATH, ecc.) suscitò una lunga controversia che, se pur condusse a qualche progresso delle conoscenze sull'argomento, non si chiuse col trionfo di nessuna delle opinioni contrastanti.

Tutti gli Autori furono, è vero, concordi nel respingere l'ipotesi dell'« invaginazione » del TOYAMA (il quale del resto finì (1903) (170) con l'abbandonare egli stesso tale supposizione e con l'accedere alle idee del Sr. GEORGE VON LA VALETTE e del GRÜNBERG secondo le quali la cellula di VERNON avrebbe la stessa origine delle cellule germinali) ma i pareri divennero discordi quando si trattò di trovare un'altra spiegazione all'origine della « tormentata cellula » (l'espressione è del VERNON).

Lascio per ora questa questione in sospenso, poichè di tutte queste disparate ipotesi si farà ampio esame più oltre. Qui basti dire che, sebbene al giorno d'oggi le teorie più accettate sono quelle che vedono nella cellula di VERNON una cellula con funzione di sostegno e nutrizia, pure l'eco delle antiche dispute non è ancora spenta e la parola definitiva in proposito soprattutto per quanto concerne l'origine della cellula stessa non è stata ancor detta.

Nei lavori del TOYAMA non è trattata solo la questione della cellula gigante, osservata dall'A. anche nell'ovario, ma sono esaminati numerosi altri problemi sull'istologia dei testicoli (quali la discernibilità dei sessi in base alla morfologia della gonade e alla inserzione dei condotti escretori), la natura di quei particolari corpuscoli denominati da HERTWIG « *Hodenzwischenkörperchen* » che l'A. considera come cellule degenerate, la formazione delle spermatocisti, ecc.) e sull'intimo meccanismo della spermatogenesi (quali il numero dei cromosomi — ritenuto di 28 nel nucleo diploide e quindi di 14 nel nucleo aploide — e il loro comportamento durante le mitosi di maturazione, il modo di comportarsi del *Nebenkern* e dei mitosomi), ecc.

Sulla questione del *Nebenkern*, già studiata da altri Autori, precedentemente citati, si intrattiene anche il MEVES (1897-1900) (104, 105), il quale in base a studi su 6 specie di Lepidotteri, assegna al *Nebenkern* una funzione diversa da quella attribuitagli da PLATNER e da BÜTSCHLI. A questo A. che, dice l'HENNECUY (1904) « a eu le mérite de débrouiller l'origine des éléments figurés qu'on peut observer dans les cellules testiculaires », si devono alcuni dettagli morfologici sugli spermatocisti (filamento assiale uscente dal centrosoma) successivamente confermati da HENNECUY pel *Bombyx mori* e per l'*Hyponomuta cognatella* (1898) (65), ed una accurata ricerca sulla questione degli spermatozoi oligo ed apirenti, questione che fu studiata dall'A. su *Paludina* e su *Pygnera* (1902) (106) e che fu, assai più tardi, ripresa da MACHIDA (1929) (97) sul filugello.

Al problema del *Nebenkern* è pure dedicata una nota di ERLANGER (1896) (42), il quale in quelle formazioni vede dei residui dei fusi cariocinetiche dell'ultima divisione di maturazione. La pubblicazione di questo A. si riferisce alla spermatogenesi di *Blatta germanica* della quale l'A. fornisce un'esatta descrizione, ma più attinente agli argomenti qui trattati è la

nota dello stesso Autore concernente l'allora dibattutissima questione della cellula di VERNON (1896) (43); quivi l'A., contrapponendo alla divisione mitotica delle cellule germinali la divisione amitotica della cellula di VERNON, accede all'opinione di coloro che in quest'ultima vedono una cellula di sostegno (Stützelle).

Accanto alle più importanti ricerche comparse nell'ultimo ventennio del secolo scorso e fin qui citate, non mancano durante questo periodo e nei primi anni del '900 numerosi studi di altri Autori che, seppure non rivestono agli effetti del presente lavoro l'importanza di quelle, meritano pure di essere fuggelvolmente menzionati.

A. SCHNEIDER (1883-1885) (138-140) esamina l'evoluzione degli organi sessuali degli Insetti; VAN BENEDEN (1883) (171) studia i « globules résiduels » corrispondenti agli *Hodenzwischenkörperchen* di HERTWIG e di ST. GEORGE VON LA VALETTE; POUCHET (1888) (130) pubblica i risultati delle sue osservazioni sulla natura dei testicoli degli Artropodi; GRIFFITHS (1894) (54) descrive gli organi genitali di *Agrotis pronuba*; QUAJAT (1895) (132), come assai più tardi WATANABE (1913) (201), si intrattiene su alcune anomalie riscontrate nel numero dei tubuli ovarici del filugello, numero che è normalmente di 8 (4 per parte), ma che in casi eccezionali può essere diverso (da 2 a 7); PREUSSE (1895) (131) studia le divisioni delle cellule dell'ovario di certi Emittteri; DE BRUYNE (1898-99) (33, 34), accede alle antiche idee di STEIN (1847) (154) sull'incorporamento nell'uovo delle cellule vitellogene, e attribuisce (come più tardi SUTTON (1900) (160) e altri) una comune origine agli spermatozoni e alle cellule cistiche; PAULMIER (1899) (121) si addentra nello studio della spermatogenesi di *Anasa tristis* e osserva le cellule degenerate contenute in certe spermatocisti; MONTGOMERY (1898) (108) esamina la spermatogenesi degli Emittteri e scopre in questi quella fase di *sinapsi* che già MOORE (1896) (109) aveva trovato nei Selaci; PAULCKE (1900) (120) come già altri Autori precedentemente citati, discute sull'origine dei vari elementi cellulari dell'ovario: secondo questo A., le cui osservazioni vertono su *Apis mellifica*, le cellule vitellogene deriverebbero dalla divisione di un primitivo oogonio il quale darebbe luogo a una cellula vitellogena (destinata a riprodurre sempre e solo altre cellule vitellogene) e a una cellula germinale (destinata ancora

a dividersi in una cellula vitellogena e in una cellula germinale. e così via); tale ipotesi è ancora oggi, come già allora, sostenuta da molti.

Dello stesso argomento si occupano LÉCAILLON (1901 (90, 91) e GROSS (1901-1906) (55-57), il quale ultimo condivide in proposito le idee di METCHNIKOFF e di HEYMONS. A PETERSEN, oltre che una breve nota sugli spermatozoi dei Lepidotteri (1907) (125) si devono due lavori sulla morfologia degli organi sessuali delle farfalle (1900-1904) (123, 124); essi vanno ricordati per scrupolosità bibliografica, ma non hanno stretta attinenza con l'argomento del presente lavoro.

KLINKHARDT (1900) (82) si addentra nello studio morfologico e morfogenetico dell'apparato riproduttore maschile dei Ropaloceri, e STITZ (1901) (156) esamina gli organi genitali dei Microlepidotteri; le successive osservazioni di questo A. sugli organi sessuali accessori maschili delle farfalle (1904) (157) son discusse e criticate da ZANDER (1905) (217).

Sulla struttura del testicolo della larva del *Tenebrio molitor* s'intrattiene il DEMOKIDOFF (1902) (38) il quale nei follicoli testicolari di questo insetto scopre e descrive la « Linse », grande cellula che è ritenuta corrispondente alla cellula di VERNON dei Lepidotteri; l'A. esamina anche le trachee testicolari di quel coleottero e nota che la loro visibilità s'inizia solo all'epoca della niufosi e che il loro comportamento è diverso da quello riscontrato nei Lepidotteri.

Un'attenzione particolare merita il lavoro di GRÜNBERG (1902) (58), il quale, quantunque le discussioni intorno alla struttura delle gonadi degli Insetti avessero ormai superato quella che potrebbe dirsi la fase acuta, torna sugli stessi argomenti e, mentre apporta ad essi nuovi contributi, determina anche un rifiorire di discussioni. Il GRÜNBERG studia dettagliatamente dal lato morfologico e da quello fisiologico la cellula di VERNON, tanto nel testicolo quanto nell'ovario, e giunge alla conclusione che tale cellula deriva da una cellula germinale primitiva, e che, mentre nel testicolo essa ha una funzione nutritiva, nell'ovario — dove il nutrimento è provveduto dalle cellule vitellogene — essa è priva di funzione.

Nel testicolo il nutrimento per i giovani spermatozoni sarebbe provveduto, oltre che dalla cellula gigante (il cui nucleo si divide irregolarmente in frammenti penetranti nel circostante

citoplasma), anche dai prodotti di degenerazione di alcuni spermatozoni i quali acquisterebbero la veste di granuli di nutrimento (*Nährkörner*).

In quanto alla comparsa della cellula di VERNON essa sarebbe assai precoce (fin dall'embrione): la cellula, dopo un periodo di evoluzione che raggiunge il suo maximum nella terza età, inizia in seguito una fase di degenerazione che si prosegue durante la ninfosì.

In questa prima parte della sua nota il GRÜNBERG descrive anche la struttura delle gonadi embrionali, l'istologia delle tonache testicolari, e le somiglianze e differenze morfologiche, anatomiche e citologiche tra testicoli e ovari embrionali.

L'A. esamina in seguito lo sviluppo postembrionale dell'ovario e l'origine degli elementi cellulari che ne fan parte. L'A., pur convenendo con KORSCHÉLT e PAULCKE che tanto le cellule follicolari quanto le cellule nuove e quelle nutritizie derivano in ultima analisi dal primitivo materiale degli oogni embrionali, osserva che mentre le cellule vitellogene debbono considerarsi come uova abortive, e provengono come quelle dagli oogni primitivi, le cellule follicolari invece si originano dalle cellule epiteliali del penducolo dei tubuli ovarici, le quali ultime già nelle gonadi embrionali son distinte dalle cellule germinali. Vedremo in seguito che questo modo di vedere è condiviso da MACHIDA (1921) (96), il quale però non concorda col GRÜNBERG sull'epoca della differenziazione. GRÜNBERG esamina anche il frammentarsi del nucleo delle cellule vitellogene in *diadi* e in *tetradi* (simili a quelle osservate da WOLTERECK (1898) (215) nelle cellule nutritizie dell'ovario di *Cypris*), ma questa osservazione non è confermata da MACHIDA.

Il lavoro di GRÜNBERG e la descrizione che della cellula di VERNON diedero in quel frattempo nel loro trattato KORSCHÉLT e HEIDER (1898-1902) (88), suscitò la critica di VERNON, il quale in un'apposita nota (1903) (185) rileva alcune contraddizioni descrittive dei due ultimi Autori, e rimprovera al primo la denominazione di *cellula apicale* (*Apicalzelle*) che egli dà alla cellula gigante. Ma, nonostante le giuste osservazioni dello studioso italiano (il quale — data la forma conica del follicolo testicolare e la posizione in esso della cellula gigante — riterebbe, caso mai, più appropriato il nome di *cellula basale*), la denominazione proposta dallo scienziato tedesco fu ben presto accettata da molti

Autori e ancora oggi non son pochi quelli che l'adottano (p. es. MACHIDA). E, in verità, se il termine può sembrare inadatto pel testicolo, esso non può dirsi tale per l'ovario.

Dopo la comparsa dello studio di GRÜNBERG il ritmo delle ricerche sulle ghiandole sessuali degli Insetti che, fino alla fine del secolo XIX aveva subito un rapido « crescendo », si va affievolendo lentamente; o, per essere più esatti, la maggior parte delle indagini compiute in seguito non concerne più la semplice anatomia e istologia delle gonadi, ma alcune di esse si addentrano nel meccanismo della spermatogenesi e dell'oogenesi e nelle spinose questioni cromosomiche che sono a quello connesse, ed altre invece si riferiscono alla morfologia delle parti accessorie del sistema riproduttore (dotti escretori, organi copulatori ecc.). Tali ricerche non entrano quindi direttamente nel quadro di quelle che specificatamente si riferiscono agli argomenti qui trattati, ma parecchie di esse van ricordate per i contributi che apportano all'istologia delle gonadi, anche se tali contributi non sono che un complemento della principale materia del lavoro.

Alla spermatogenesi e all'oogenesi si riferiscono i lavori di: STEVENS (1905) (155), il quale esamina gli eterocromosomi di alcuni Insetti; DEDERER (1907) (35), che nello studio della spermatogenesi di *Phylosamia cynthia* introduce come MUNSON (1907) (111) alcune osservazioni sulla natura delle cellule degenerate di certe spermatozisti; MC GILL (1907) (101), il quale esamina alcune questioni particolari relative all'oogenesi del *Lucanus cervus*; e MUNSON (1907) (111), che descrive la spermatogenesi del *Papilio rutulus* e ne trae occasione per osservare che talora non tutti i follicoli testicolari del lepidottero studiato contengono la cellula di VERNON e per esprimere il suo parere circa la funzione di detta cellula ch'egli considera, come lo scopritore e come CHOLODKOVSKY, generatrice degli elementi spermatici.

SCHÄFER (1907) (136) e, assai più tardi, VARDÉ (1930) (173) rivolgono la loro attenzione il primo alla spermatogenesi e il secondo all'oogenesi del *Dytiscus*; GIARDINA (1904) (49-51) si occupa di alcuni argomenti relativi all'oogenesi dello stesso insetto; MARSHALL (1905) (100) descrive l'apparato riproduttore femminile della farfalla *Hemileuca maia*, e SOYER (1907) (144-147) trae dalle sue osservazioni sull'oogenesi di *Dytiscus*, *Stafilini* e *Forficula* le ragioni per una particolare teoria detta del-

l'« *ovoplasmodio* » sull'origine prima degli elementi germinali, teoria che per la sua stessa natura e per il suo carattere eminentemente astratto non può essere discussa in queste pagine.

HEGNER (1909-1915) (61-63), nei suoi lavori sulle cellule germinali dei Crisomelidi e di alcuni Emitteri, partecipa all'annosa discussione sull'origine delle cellule vitellogene e conclude, per quanto concerne le Api, in favore dell'ipotesi già ammessa da PAULCKE e da altri, e più sopra riferita.

Nella sua monumentale opera sugli Insetti, BERLESE (1909) (10), pur senza entrare nel merito delle molte e in gran parte ancora insolute questioni relative alle ghiandole sessuali, introduce parecchie osservazioni personali e spesso non manca di manifestare il suo pensiero sui più importanti problemi. Così per quanto concerne l'ufficio della cellula di VERNON, il BERLESE pare accedere alle idee di coloro (TOYAMA, TICHOMIROFF, ecc.) che attribuiscono a detta cellula una funzione trofica.

COOK (1910) (30) in un luogo lavoro studia la spermatogenesi di alcune Saturnie. Data la natura dell'argomento trattato e dato che le osservazioni di questo A. non si riferiscono alla larva, ma all'adulto, questo studio non ci interessa se non indirettamente per alcuni dettagli istologici: tali sono la formazione delle spermatocisti e la descrizione di quelle cisti che — come già avevano osservato PAULMIER, MUNSON, DEDEBER e altri — contengono cellule degenerate. Il lavoro è anche raccomandabile per i riferimenti bibliografici abbastanza numerosi.

Dello studio di IKEDA (1910) (75) pubblicato in giapponese nulla posso dire perchè non mi è stato possibile nè avere la memoria originale, nè conoscerne citazioni o riassunti.

VANEY e CONTE (1911) (172) riprendono gli antichi studi (di BALDIANI, METCHENINOFF, HEYMONS, ecc.) sulle cellule polari; questi AA. trovano dette cellule in numero di 2 nell'uovo di Filugello quando in questo si è differenziato lo scudetto germinativo. Tutta la questione relativa alle cellule polari sarà del resto ampiamente riesaminata in seguito.

Sulla non mai abbastanza avviscerata questione della cellula di VERNON s'intrattiene ZICK (1911) (218) il quale rivolge la sua attenzione agli organi sessuali della *Pieris brassicae*, della *Vanessa io* e della *Vanessa polychloros*; ZICK non solo conviene con coloro che attribuiscono alla famosa cellula una origine dagli elementi germinali primitivi e una funzione trofica nel testicolo,

ma, contrariamente a GRÜNBERG, egli ammette che la stessa funzione sia compiuta anche dalla cellula apicale dei tubuli ovarici, e ritiene infine che, nel testicolo, delle cellule germinali circostanti alla cellula gigante, quelle meglio nutrite si evolvono in spermatogoni, spermatociti e spermatozoi, mentre le meno nutrite divengono cellule cistiche. Accanto a queste ipotesi, che non mancano di prestare il fianco alla critica, ZICK esamina anche, fra l'altro, i criteri di distinguibilità dei sessi nelle larve e osserva che mentre il discernimento è agevole nelle larve adulte, esso è molto difficile negli stadi giovanili: ciò dipenderebbe dal fatto che il carattere fondamentale per la distinzione, cioè la posizione dei dotti escretori, può venire alterato dai liquidi adoperati per la fissazione, i quali, soprattutto sui delicatissimi tessuti delle giovani gonadi, determinerebbero alterazioni tali da rendere spesso fallaci i giudizi.

Allo stesso problema della distinguibilità dei sessi son rivolti i lavori di ISHIWATA (1913) (76,77).

Questo A. rileva già nell'uovo la possibilità di distinguere il sesso e osserva che tale distinguibilità è possibile nell'embrione « au temps où se forme la peau du dos » e che il criterio di discernimento è dato, oltre che dalla presenza o assenza dell'organo di HEROLD, dalla posizione reciproca della « couche épaisse de l'épithélium » della gonade dove è « l'attache du conduit génital ». In sostanza quindi l'Autore giapponese non fa che applicare all'embrione avanzato quello stesso criterio di distinguibilità già da molti Autori descritto per la larva.

La nota di ISHIWATA pubblicata sulla rivista tedesca è inoltre compilata in modo tale che i passaggi incomprensibili o quasi non mancano: le descrizioni istologiche assai povere, il modo impreciso di definire l'età dell'embrione, e i disegni alquanto rudimentali concorrono a rendere poco chiare le affermazioni dello scienziato giapponese; questi ultimi appunti posson del resto esser mossi anche alla nota pubblicata sulla rivista giapponese.

Anche YATSU (1913) (213) e KATSUKI (1918) (80, 81) (come poco dopo OCUMA (1919) (116)) si occupano, fra l'altro, delle differenze istologiche fra le gonadi dei due sessi nel baco adulto, ma l'argomento principale del loro lavoro concerne la spermatogenesi del Filugello e di altri Lepidotteri sericigeni, cioè la descrizione delle mitosi di maturazione, del numero dei cromoso-

mi (che il primo trova uguale a 25-30 (28) nei nuclei aploidi e a 50-60 (56) nei nuclei diploidi, e il secondo, occupandosi anche degli eterocromosomi e della determinazione del sesso, uguale a 13 + X nel nucleo aploide maschile e a 13 + Y nel nucleo aploide femminile) e del loro comportarsi durante la cariocinesi, della trasformazione degli spermati in spermatozoi, ecc.

Lo studio di DEMANDT (1912) (37) sull'apparato riproduttore di *Dytiscus* è interessante per alcune osservazioni sulle modalità colle quali avverrebbe il passaggio delle sostanze nutritive dalle cellule vitellogene all'occite.

BUDER (1917) (18) studia la spermatogenesi e K. SCHNEIDER (1917) (14) studia l'oogenesi della *Deilephila euphorbias*; BUDER accoglie l'ipotesi, ormai la più accreditata, dell'origine della cellula gigante del testicolo dai primitivi elementi germinali, e ammette la sua funzione nutritiva (grazie alla quale la produzione degli elementi spermatici, che sarebbe altrimenti improvvvisa e di breve durata, è invece regolare e continua). SCHNEIDER, nella sua descrizione della cellula apicale dei tubuli ovarici, non concorda in tutto con GRÜNBERG, e ritiene, a differenza di questo A. e in parziale accordo con ZICK, che anche nell'ovario la cellula apicale abbia funzione trofica, ma che tale funzione cessi precocemente e parallelamente a cambiamenti morfologici della cellula stessa. A SCHNEIDER si devono pure, fra l'altro, delle osservazioni sul numero delle cellule vitellogene (che sarebbero 5 nell'insetto studiato) e sulla disposizione in tetradi e diadi della loro cromatina, nonché alcune considerazioni sulla difficoltà di riconoscere il sesso nelle larve giovani.

BOWEN (1922) (13) e GATENBY (1923) (48) discutono sulla struttura mitocondriale degli spermati e sull'origine controversa della coda degli spermatozoi; PORAK e TALJAU (1923) (129) sostengono l'esistenza di una funzione endocrina con azione morfogenetica nelle gonadi del Filugello.

MACHIDA (1921-1922) (95, 96) ha studiato e illustrato dettagliatamente la struttura e l'evoluzione dell'ovario del Filugello: tali lavori, abbastanza recenti, meritano particolare attenzione. Le conclusioni dell'Autore sono:

1) Mentre nel testicolo la cellula di VERNON è distinguibile solo al secondo giorno della vita del baco, nell'ovario la cellula apicale è visibile nel baco neonato: essa deriva da una cellula epiteliale (non ha quindi nulla a che fare con gli elementi germi-

nali), entra — a partire dal 2° giorno di età — in comunicazione col protoplasma del tubulo ovarico (per mezzo di uno speciale prolungamento del suo citoplasma), e scompare durante la vita larvale senza avere compiuto alcuna funzione particolare.

2°) Le cellule vitellogene si distinguono dagli oociti per il diverso comportamento della cromatina ma tale carattere differenziale non compare subito; cellule vitellogene, cellule uovo e cellule follicolari (quest'ultime già presenti nelle gonadi di bachi neonati e di origine uguale a quella delle cellule del peduncolo dei tubuli ovarici) subiscono durante lo sviluppo larvale particolari modificazioni morfologiche e si ordinano infine in modo da costituire camere ovariche e camere nutritive distinte e diversamente tappezzate dall'epitelio follicolare.

3°) La distinzione fra ovario e testicolo, basata sulla forma, il diametro e il punto di inserzione del doto escretore, è agevole nelle larve adulte, ma molto difficile negli stadi giovanili, specialmente se non si osservano alcune norme essenziali nella fissazione del materiale e nell'eseguire le sezioni.

4°) L'allungamento e il conseguente incurvamento dei tubuli ovarici nonché la disposizione definitiva delle cellule germinali e nutritive s'inizia durante la terza età del baco.

5°) La tonaca peritoneale consta di cellule differenziate dello stroma.

6°) Nei tubuli ovarici del Filugello non esiste *filum terminale*.

7°) Nell'ovario le trachee, che si sviluppano notevolmente durante la quinta età del baco, possono essere osservate nella tonaca peritoneale, ma non mai nell'interno dei tubuli ovarici, a differenza di quanto — secondo alcuni Autori — avverrebbe nel testicolo.

Non mi consta che dopo i lavori di MACHIDA altri si siano occupati di argomenti strettamente attinenti a quelli qui considerati. Ho solo notizia del recentissimo studio di ALLMANN (1930) (2) il quale descrive l'apparato riproduttore femminile non della larva, ma dell'adulto di *Carpocapsa pomonella*. Degli ovari l'A. esamina l'anatomia e l'istologia delle tre regioni nelle quali esso può essere distinto (*filum terminale*, *germarium* e *vitellarium*); ma in complesso aggiunge ben poco alle osservazioni del MACHIDA.

.*

Riassumendo, dobbiamo constatare che il numero delle pubblicazioni comparse sugli argomenti che formano oggetto del presente lavoro è veramente grande ma dobbiamo notare che, se gli studi istologici sulle ghiandole sessuali degli Insetti han compiuto un improvviso e notevolissimo progresso negli ultimi anni del secolo scorso e nei primi di quello attuale, hanno poi subito un arresto che dura tuttora. Le ricerche si sono attualmente frammentate in argomenti particolari (oogenesi e spermatogenesi) e, salvo rare eccezioni (p. es., il citato lavoro di MACHIDA), non hanno più avuto il carattere generale degli studi più antichi. E per quanto le indagini siano state numerose ed accurate, parecchi problemi restano ancora insoluti, e numerosi argomenti sono ancora oscuri o controversi, e cioè:

1°) L'origine prima degli elementi germinali (quac:ione delle cellule polari).

2°) L'epoca della comparsa delle ghiandole sessuali negli embrioni e il differenziarsi delle cellule che le compongono.

3°) Il momento dello sviluppo in cui appare la distinguibilità dei sessi, e i precisi caratteri su cui questa è basata.

4°) L'origine e la funzione della cellula gigante nei testicoli e negli ovari, e numerosi dettagli morfologici relativi a detta cellula.

5°) La natura e il significato di quegli elementi ritenuti dai più come cellule degenerate e osservate in alcune spermatozisti, e il significato dei cosiddetti *Hodenzwischenkörperchen* dei testicoli e dei corrispondenti corpuscoli visti da alcuni nei tubuli ovarici.

6°) L'origine e il differenziamento dei vari tipi di cellule costituenti il testicolo (cellule spermatiche e cellule epiteliali) e l'ovario (cellule follicolari e cellule uovo).

7°) La struttura e l'evoluzione delle varie membrane avvolgenti le gonadi.

8°) La penetrazione delle trachee nei follicoli testicolari e nei tubuli ovarici.

La prima questione non entra nel programma di questo lavoro; essa involge vasti problemi di biologia generale, ed esigerebbe da sola vastissime ricerche. Per non uscire dai limiti impo-

stimi, mi limiterò a farne un breve cenno. Tutte le altre questioni saranno invece ampiamente discusse, mettendo a raffronto le mie osservazioni personali coi risultati degli Autori precedenti. Non pretendo di giungere a conclusioni definitive; ma confido che le osservazioni qui descritte diano un contributo per eliminare incertezze e chiarire punti tuttora oscuri.

Materiale adoperato e tecnica seguita.

Come materiale ho adoperato prevalentemente uova e bachi di razza *Oro Chinese* e *Inerocio bigiallo Chinese*, ma anche (per la prima età) alcune uova di razza bivoltina *Avoijku*. Data la natura degli argomenti prescelti per il presente lavoro, la razza ha un'importanza molto secondaria: essa influisce soltanto sulla forma esterna delle gonadi (il testicolo dei bachi *Avoijku* ha una sagoma più allungata di quello delle altre razze studiate) e sulla durata dei singoli stadi di sviluppo, i quali sono però perfettamente confrontabili tra di loro quando si prendano, come qui prenderemo, come punti di riferimento la blastocinesi, la nascita e le mute. Ma sulla generale struttura istologica delle ghiandole sessuali la razza influisce soltanto nel determinare variazioni di dettagli che non interessano il presente lavoro.

Le osservazioni che mi prefiggevo e che descrivo in questo lavoro non si riferiscono alla fine struttura delle cellule germinali e tanto meno alla struttura e comportamento dei cromosomi; e quindi non ho adottato i metodi tecnici atti a mettere in speciale evidenza la fine struttura del nucleo, ma ho seguito con ottimo esito la tecnica più in uso per lavori di morfologia cellulare generale.

Quasi tutte le osservazioni sono state eseguite su materiale fissato, colorato e sezionato in serie: gli esami a fresco furono rari, e solo con lo scopo di studiare la morfologia esterna e la disposizione topografica delle gonadi nel corpo del baco. Anche il VERNON (177) scrive in proposito di essersi servito in prevalenza, per i suoi studi, del metodo delle sezioni.

E' bensì vero che ST. GEORGE VON LA VALETTE ha preferito nelle sue ricerche (153) gli esami a fresco e i colori metacro-

matici (Violetto di metile, Dalia, Safranina), ma le sue osservazioni e i suoi disegni (molto nitidi ma troppo geometrici e schematici) m'inducono a concludere che la tecnica da lui seguita non sia la migliore.

Tra i numerosi fissativi ho prescelto quello cromo-acetico (9 parti di acido cromatico in soluzione acquosa all'1 % e una parte di acido acetico glaciale), il quale dà buoni risultati negli studi embriologici sulle uova di Insetti, e che mi si mostrò buono anche nella fissazione di organi e tessuti nelle varie età larvali. La fissazione venne fatta alla temperatura di + 70°, per 15-40 minuti, a seconda della grossezza dei pezzi. Ho adoperato talvolta e con buoni risultati anche il fissativo di BOUIN al picroformolo e acido acetico. Dopo lungo lavaggio, seguiva la disidratazione nella serie degli alcool, poi il passaggio in benzolo e in paraffina, e quindi l'inclusione. Le sezioni furono di spessore variabile dai 4 agli 8 micron, solitamente di 6 micron.

Come coloranti basici, mi sono specialmente servito dell'Ematossilina CARAZZI e dell'Ematossilina ferrica (metodo di HEIDENHAIN). Quest'ultimo metodo, malgrado i suoi inconvenienti, mi è risultato ottimo oltrechè per la sua ben nota selettività sulla sostanza cromatica, anche in relazione alle esigenze della micrografia dei preparati. L'Ematossilina CARAZZI è stata però più generalmente adottata per la sua praticità e rapidità, che la rendono preferibile a molti altri metodi ordinari. Per alcuni preparati di varie età larvali ho adoperato anche con buoni risultati l'Ematossilina di MALLORY e il metodo di GEMSA. Come coloranti plasmatici usai il Rosso Congo e l'Orange G.; il primo si è mostrato buono per il plasma dei tessuti avvolgenti le gonadi (tonache testicolari e ovariche, cellule dell'epitelio follicolare), mentre il secondo si mostrò ottimo per il citoplasma della cellula di VERNON (specialmente assieme alla Ematossilina ferrica) nonché per le cellule germinali e vitellogene e per i granuli di vitello dell'embrione; esso è inoltre risultato preferibile al Rosso Congo per la sua minore intensità e maggior precisione. Più raramente mi sono servito dell'Eosina.

Ho riportato questi dettagli di tecnica perchè essa ha importanza notevole per gli studi di questa natura. Ce lo attesta la letteratura: TICHOMIROFF (167) accusa VERNON e TOYAMA di aver fatto cattivi preparati; infatti secondo VERNON (che si è servito

(177) del fissativo all'acido picrosolforico di KLEINEMBERG e, come coloranti, di Carmino ammoniacale, di Safranina e di Ematossilina ferrica) le cellule germinali dei testicoli sarebbero poverissime di citoplasma, mentre invece secondo il TOYAMA (169) (che, tra i numerosi fissativi provati, ha dato la preferenza alla soluzione forte di FLEMMING e per colorare ha impiegato la Safranina, il colorante triplo di HERMANN e l'Ematossilina RÖHMER) tale citoplasma sarebbe abundantissimo.

TICHOMIROFF invece, trattando il materiale con acido picrico e colorando i preparati con Picrocarmio (metodo questo che sarebbe indicatissimo per la cellula di VERNON) ottenne di discernere le cellule germinali distintamente delimitate tra loro e dagli altri elementi e non contratte come nei preparati di VERNON nè turgide come in quelli di TOYAMA.

E a difetti nella fissazione sarebbero da ascrivere, secondo ZICK (218) e MACHIDA (96), le osservazioni di TOYAMA (169) secondo le quali in alcuni casi i deferenti si originerebbero non dal lato interno di ogni ghiandola sessuale, ma (come è la norma per gli ovidotti) dal lato esterno: tali apparenti eccezioni alla regola dovrebbero infatti imputarsi a fenomeni di raggrinzamento e di distorsione determinati nei giovani tessuti dal fissativo.

Devo un sincero ringraziamento all'abilità tecnica del Prof. GRANDORI nello sgusciare le uova ed estrarne l'embrione anche assai prima della blastocinesi: tali embrioni egli mi passò per l'imparaffinamento. Prima di includerli essi vennero colorati *in toto*, facilitando così molto la loro orientazione nell'inclusione e nel sezionamento. Tale orientazione fu veramente difficile, e raramente riuscì a darmi su uno stesso piano entrambe le gonadi ben sezionate.

Dei bachi neonati includevo e sezionavo l'intero addome, dopo aver tagliato via, con un colpo di forbicina, il torace e la testa. Nei bachi di 2° età, anzichè sezionare tutto l'addome, tagliavo fuori i segmenti 4°, 5° e 6°; nella 3° età ho incluso soltanto la parte dorsale di questi tre segmenti; per le due ultime età estraevo le sole gonadi e le includevo, previa colorazione *in toto*.

Per eseguire le microfotografie mi sono servito dell'ottimo apparecchio verticale « Busch » del quale il Laboratorio è fornito; per i preparati colorati con Ematossilina ferrica ho adoperato lastre *anti-alo* « Cappelli » e *Chromosorapid* e *Isochrome* « Agfa »; ottimi risultati mi hanno dato le lastre pancromatiche

« Cappelli » e « Agfa » pei preparati colorati con Ermatossilina CARAZZI.

Adempio ad un gradito dovere ringraziando i Dottori BUCINI, GIORCI, PEZZINI e PROVASOLI pel validissimo aiuto che mi hanno prestato nella delicata tecnica microfotografica, e, i primi tre, anche nella preparazione e colorazione di alcune sezioni.

Le gonadi dell'embrione e il differenziamento sessuale.

1. — Le cellule polari.

Benchè le mie osservazioni personali sulle gonadi embrionali incomincino da stadi in cui l'organogenesi è già avanzata, e le cellule germinali son già raggruppate a costituire le gonadi, tuttavia credo opportuno riassumere brevemente anche gli studi sulle *cellule polari*.

Questa denominazione deriva dalla scoperta del RONIN (1862) (134), il quale osservò per primo al polo posteriore delle uova appena deposte di *Coccidomya* un ammasso di cellule particolari che l'A. interpretò per globuli polari. Analoga osservazione fece poco più tardi WEISMANN (1863) (202) su uova di *Chironomus* e di *Musca*; ma il primo a riconoscere la natura germinale di tali cellule fu МЕТЧНИКОВ (1866) (102). Questo A. trovò che nell'embrione di *Miastor* le cellule polari presenti all'estremità posteriore dell'embrione, quando s'inizia l'organogenesi, sono dapprima libere, ma si raggruppano più tardi in due masserelle ovali che sono gli abbozzi delle ghiandole genitali. Tali gonadi embrionali hanno — secondo questo A. — un primitivo dotto escretore destinato a ridursi nella larva a un sottile filamento, sono rivestite internamente da un epitelio derivato da cellule embrionali, ed hanno un contenuto di nuclei provenienti dalla moltiplicazione delle due originarie cellule polari stesse.

Ma il merito di aver per primo seguito e riferito con dovizia di particolari tutta l'evoluzione delle cellule polari e il loro organizzarsi in gonadi embrionali spetta a BALBIANI (1882-85) (5),

6). Egli aveva già osservato (1869) (4) che nell'embrione di *Tinea crinella* l'organo sessuale è perfettamente percettibile quando l'embrione non è rappresentato che dal suo rudimento ventrale e non offre alcuna traccia degli altri apparecchi organici. A questa fase poco avanzata dalla sua esistenza, l'organo riproduttore forma una piccola massa ovale semplice, composta di minime cellule rotonde e trasparenti larghe mm. 0,004. Questa massa è applicata alla faccia interna dell'estremità inferiore del rudimento ventrale, ed occupa per conseguenza la stessa posizione che ha negli embrioni degli Afidi alla fase corrispondente del loro sviluppo. Come in questi ultimi, essa sembra dividersi più tardi in due porzioni secondarie per ciascuna metà del corpo, se si giudica dalla forma strozzata sulla metà che presenta in questo embrione.

Ma dove il BALBIANI dà un quadro completo di tutta l'evoluzione delle cellule polari è nei suoi studi (1885) (6) su *Chironomus plumosus*. Nell'embrione di questo insetto le otto cellule polari, derivanti dalle due primitive visibili ancor prima della formazione del blastoderma, penetrano attraverso il blastoderma (dalle cellule del quale si distinguono per la maggior grossezza e per la presenza di granuli brillanti) e s'insinuano tra questo e il vitellus. Il gruppo si sposta poi anteriormente seguendo il processo d'invaginazione proctodeale del blastoderma stesso e si divide poscia in due gruppi, ciascuno dei quali contiene soltanto due grosse cellule, separate tra loro da una strozzatura trasversale e dovute probabilmente alla fusione due a due delle quattro primitive. Finalmente, col completarsi del proctodeo, ogni gruppo è spinto a collocarsi dorsalmente ai lati dell'intestino in corrispondenza del 9° segmento colà dove l'intestino posteriore si collega al mesenteron. All'epoca della nascita ciascuna delle due gonadi che si sono in tal modo formate è circondata da una sottile membrana di cellule appiattite prolungantesi anteriormente e posteriormente in due filamenti; e nell'interno della gonade trovansi numerosi elementi germinali derivanti dalle due primitive cellule: tali elementi son più piccoli e numerosi nel testicolo che nell'ovario, e questo fatto, congiunto a differenze della sagoma esterna (fusiforme nel testicolo, più larga e ovale nell'ovario) permette di distinguere i due sessi (per quanto l'A. affermi che tale distinzione è spesso malagevole anche in larve di 11 giorni).

Dopo il BALBIANI parecchi altri studiosi indagarono l'origine delle cellule germinali; ricorderò solo quelli che studiarono l'argomento nei Lepidotteri, e particolarmente nel Filugello.

WOODWORTH (1889) (214) osservò al polo posteriore dell'embrione di *Vanessa antiopa* un'invasione ectodermica donde si originerebbero le cellule sessuali.

TOYAMA nel suo più recente lavoro (1902) (170) nota che nel Filugello le cellule germinali sono — come ritiene HENNEGUY (1904) (56) — di origine ectodermica, e che esse si differenziano in gruppi distinti al disotto del mesoblasto splancnico in ogni segmento e perfino nel mesotrace.

VANEY e CONTE (1911) (172) constatano che nell'uovo di *Bombyx mori* le cellule polari si formano a spese della massa vitellina al disotto di un blastoderma completamente differenziato. Essi scrivono: « A un stade où le blastoderme est complètement constitué, et présente une bandelette germinative superficiellement différenciée, on voit au pôle opposé à cette bandelette, la masse vitelline ne présentant pas encore de cellules individualisées, se soulever et former deux grosses protubérances dans chacune desquelles émigre un noyau. Ces protubérances s'isolent et donnent deux grosses cellules qui glissent entre le blastoderme et la masse vitelline, puis se segmentent en éléments plus petits. Par leur mode de formation et leur évolution ces cellules se comportent comme les cellules polaires des autres Insectes. A des stades plus avancés nous les retrouvons au voisinage de la bandelette. C'est probablement au cours de l'involution de cette dernière qu'elles prennent la place définitive où TICHOMIROFF, puis TOYAMA les ont observées ».

Le ricerche di VANEY e CONTE (che non mi consta sian state in seguito ripetute e approfondite da altri Autori) hanno il merito di stabilire con precisione l'epoca della comparsa delle cellule polari nel Filugello, epoca, che, come si vede, è posteriore a quella osservata da BALBIANI per *Chironomus*. Non altrettanto esplicite a questo riguardo sono le osservazioni di ISHIWATA (76, 77), il quale ha pure constatato nell'embrione di *Bombyx mori* le cellule sessuali « encore séparées les unes des autres dans le mésoderme »; la loro comparsa quindi « précède l'évolution de l'embryon qui est encore à ce moment à son plus haut point de petitesse », ma un'indicazione precisa sullo stadio di sviluppo dell'embrione manca: l'affermazione che tali cellule: « s'é-

taient formées au moment où une partie du mésoderme était devenue la couche extérieure du canal alimentaire » e che esse compaiono « quand les embryons développent des appendices », può solo indicarci che si tratta forse di uno stadio corrispondente al 4° - 5° giorno d'incubazione. Tali cellule grandi, poco colorabili, con nuclei tondeggianti e « irrégulièrement disséminés » si agglomerano quindi (nei 10 giorni successivi alla prima osservazione, cioè circa fino all'epoca della blastocinesi o poco oltre) in due masserelle ovali; pochi giorni dopo però, « au temps où se forme la peau du dos » cioè alquanto più tardi della blastocinesi, la sagoma della gonade, il punto d'inserzione del dotto escretore e la comparsa o assenza dell'organo di HEROLD permettono di distinguere il sesso.

Dopo ISHIWATA, nessuno, a quanto mi consta, ha più studiato le cellule germinali del Filugello quando ancora esse non sono organizzate in gonadi. Sulla scorta dei lavori citati, si può quindi concludere che nel *Bombyx mori*:

1°) Le cellule polari compaiono dopo la formazione dello scudetto germinativo (VANEY e CONTE).

2°) Esse sono dapprima (TOYAMA, ISHIWATA) libere e disseminate nel mesoderma lungo tutti i segmenti addominali, negli ultimi due del torace e, secondo ISHIWATA, anche « dans le métamère céphalique ».

3°) Nei giorni che precedono la blastocinesi e nei primi che la seguono (ISHIWATA) esse si van gradualmente raggruppando in due masse ovali situate (come riscontrarono altri Autori dei quali si dirà tra poco) ai lati del vaso dorsale in corrispondenza del 5° segmento addominale. La completa formazione delle gonadi è manifesta poco prima della blastocinesi (« quand le corps de l'embryon se raccourcit » dice ISHIWATA (76)).

4°) La distinzione del sesso è possibile solo dopo la blastocinesi (ISHIWATA).

5°) Le cellule sessuali si distinguono da quelle dei circostanti tessuti (ISHIWATA) per le loro maggiori dimensioni, e per la loro poca colorabilità: i loro nuclei sono piccoli e tondeggianti.

A queste conclusioni si può aggiungere quella più generale che scaturisce dalle osservazioni su tutti gli altri Insetti: e cioè che l'abbozzo genitale è indipendente dai foglietti somatici (DAWYDOFF) (32).

Sulle ghiandole sessuali già organizzate le osservazioni son più numerose che sulle cellule sessuali libere; ma anche qui sono ben pochi gli Autori che definiscono con precisione lo stadio di sviluppo embrionale da essi studiato; e noi siamo costretti a ricostruirlo ipoteticamente, basandoci sul confronto del grado di sviluppo raggiunto da altri organi e sul confronto fra i diversi lavori.

BESSELS (1867) (11) esamina le gonadi embrionali dei Lepidotteri quando è già manifesta la differenza dei sessi, ed è anzi il primo a indicare i criteri di tale distinzione. Le sue osservazioni dovrebbero perciò riferirsi a stadi posteriori alla blastocinesi, ma ancora lontani dalla schiusura, almeno a giudicare dalle strutture istologiche delle gonadi dei due sessi (da questo A. riferite), ancor molto simili tra loro: ambedue contengono infatti piccole cellule trasparenti mononucleate, le quali si accumulano poi intorno a quattro centri, e forse prima intorno a due soli centri. Secondo BESSELS, le membrane dei quattro follicoli deriverebbero dalle stesse cellule sessuali primitive, una parte delle quali originerebbe le membrane follicolari, mentre quelle rimanenti sarebbero da considerarsi come cellule germinali madri atte a produrre cellule figlie che si renderebbero libere per deiscenza della membrana primitiva esterna. Tale ipotesi, è, come vedremo, contraddetta da molti studiosi, i quali attribuiscono alle membrane follicolari origine mesodermica e alle cellule sessuali origine ectodermica.

SELVATICO (1882) (143) osserva le gonadi dell'embrione di *Bombyx mori*, *Saturnia pyri*, e *Atacus mylitta* soltanto « quando la parete muscolare che involge l'intestino medio in formazione sta per chiudersi », cioè alquanto dopo la blastocinesi. In quello stadio l'A. scorge « all'altezza dei vertici ancora largamente separati della parete dell'intestino medio e al di fuori di essi due corpiccioli caratteristici ». Tali « corpiccioli » di forma ovale, ben limitati, circondati da filamenti « che rammentano il connettivo » e costituiti di cellule tondeggianti e nucleate, seguono poi il movimento di chiusura del mesenteron raccostandosi tra loro e disponendosi infine ai lati del vaso dorsali. La descrizione di SELVATICO, che non contiene ancora accenni al differenziamento sessuale, collima, quanto alla comparsa delle gonadi e alla loro primitiva struttura, con quella di ISHIWATA.

GILSON (1885-88) (52) e ST. GEORGE VON LA VALETTE (1897) (153) come BESSELS studiano le gonadi dell'embrione quando queste si son già differenziate, (poco prima della nascita); lo stesso può dirsi di VERNON (1889) (177), il quale scrive: « I testicoli più giovani ch'io abbia potuto osservare appartengono ad embrioni con dorso già chiuso nei quali si era appunto compiuto il rivolgimento ». In questo stadio la divisione in quattro follicoli è già manifesta.

Anche TOYAMA (1894) (169) non spinge le sue osservazioni al di là di due giorni prima della nascita, ma la sua descrizione contrasta con quella di VERNON. Infatti quest'ultimo (1889) (174) afferma che la divisione di ogni gonade in 4 scompartimenti « è già chiaramente palese allo stato intraovulare quando il sesso non apparisce ancor ben determinato », mentre il TOYAMA dice che ancor due giorni prima della nascita (cioè molto più tardi della blastocinesi, e della successiva chiusura del dorso, e quindi in epoca posteriore a quella degli stadi più giovani osservati dal VERNON) « each testis consists of only one follicle within are scattered round cells with distinct chromosomes and a nucleolus » e comprova il suo asserito con un disegno; la separazione in quattro follicoli si inizia solo « when the larva is about to be hatched ».

Ora se tale contraddizione può essere eliminata qualora si ammetta che le osservazioni di TOYAMA vertano su razze a più rapido sviluppo di quelle studiate dal VERNON (p. es. bivoltine in confronto ad indigene), ammettendo quindi che le prime descrizioni dell'Autore giapponese si riferiscano in realtà a uno stadio embrionale antecedente a quello studiato dal VERNON (posteriore sempre alla blastocinesi), resta però il fatto che il TOYAMA parla esplicitamente di *testicolo* (cioè di gonade di sesso discernibile) quando la ghiandola è ancora uniloculare, mentre, secondo VERNON la divisione in 4 follicoli precede la epoca della discernibilità del sesso. La distinzione dei sessi è basata da TOYAMA sugli stessi criteri già indicati da BESSELS, ma il momento nel quale questi criteri appaiono discernibili non è precisato.

GRÜNNBERG (1902) (58) scrive che gli embrioni più giovani da lui osservati erano di alcuni giorni prima della nascita. L'indicazione è alquanto imprecisa; ma dalle sue descrizioni e dai suoi disegni risultano la netta possibilità di distinguere il sesso,

la separazione di ogni gonade in quattro follicoli e la presenza intorno ad ogni gonade di due involucri, cioè la tonaca esterna connettivale o *Bindgewebshülle* e la *Tunica propria* interna che è *strukturlos*. Se ne conclude che quegli embrioni eran già assai prossimi alla schiusura:

Dall'insieme delle ricerche fin qui riferite si può concludere che non tutte le osservazioni sono concordi; e che sulla struttura delle gonadi embrionali prima che sia possibile distinguere il sesso, restano da chiarire alcuni punti, e precisamente:

1) L'epoca nella quale le cellule polari si raggruppano in due masse ghiandolari.

2) La fine struttura istologica della gonade ancora indifferenziata ed uniloculare.

3) Come avvenga la formazione dei 4 follicoli; se cioè si passi per uno stadio di due soli follicoli, come ritiene BESSELS, oppure si abbia una separazione diretta in 4 cumuli come affermano TOYAMA, VERNON e GRÜNBERG.

4) Decidere se la distinguibilità del sesso preceda o segua la formazione dei 4 follicoli.

2. — Le differenze fra il testicolo e l'ovario.

I caratteri che permettono di distinguere le gonadi dei due sessi nell'embrione e nei primi giorni della vita larvale, si possono ricavare dai lavori di BESSELS, TOYAMA, ST. GEORGE VON LA VALETTE, GRÜNBERG, ZICK, SCHNEIDER, MACHIDA, ecc.; essi sono i seguenti:

1°) *La posizione reciproca delle due gonadi.* — Queste sono in ambedue i sessi convesse da un lato, appiattite o leggermente concave dall'altro lato, dove si trova l'ilo il quale sporge più o meno in fuori nel punto ove si inizia il dotto escretore. Ma, mentre nei testicoli la convessità è rivolta all'esterno, sicchè gli ili delle due gonadi sono rivolti l'uno verso l'altro e i condotti escretori son quindi interni, nell'ovario accade il contrario. In una sezione trasversale pertanto « la partie épaisse de l'épithélium (cioè la zona dell'ilo) est à l'intérieur de l'organe génital vis à vis » nei testicoli, e il contrario accade negli ovari (ISHIWATA). Si è già detto che TOYAMA ha osservato dei rari casi nei quali « the vas deferens arises from the outer side

of the testes as in the ovary », ma si è anche detto che queste apparenti eccezioni sarebbero dovute, secondo ZICK e MACHIDA, ad alterazioni prodotte dal fissativo.

Poichè questo carattere è il più appariscente, è necessario, per metterlo in evidenza, che le sezioni siano orientate in modo così perfetto che le due gonadi appaiano sullo stesso piano; il difetto del buon orientamento è una delle principali ragioni che han spesso impedito a molti studiosi di operare una sicura diagnosi del sesso e che magari li hanno indotti a ritenerne sessualmente indiscernibili gonadi che — se esattamente sezionate — si sarebbero rivelate già distintamente maschili o femminili.

2°) *Le dimensioni*, che ad ugual stadio di sviluppo embrionale o larvale sono maggiori nel testicolo che nell'ovario (ISHIWATA, MACHIDA).

3°) *La forma.* — Nelle larve che han già compiuto la seconda muta l'aspetto grossolanamente triangolare dell'ovario e quello reniforme del testicolo sono manifesti. Ma prima di quest'epoca la forma delle gonadi nei due sessi non è molto diversa ed è tanto più simile quanto più giovane è l'individuo. Negli embrioni prossimi alla schiusura e nelle giovani larve (1^a età) in ambedue i sessi la forma esterna delle ghiandole sessuali è press'a poco ovale; si può tutt'al più osservare che mentre nel testicolo la divisione in 4 concamerazioni è rilevabile anche esternamente per le tre depressioni corrispondenti ai sepimenti, il contorno dell'ovario è invece più regolare e privo di depressioni. Questo carattere differenziale però non è costante e non sarebbe quindi sufficiente da solo a far distinguere il sesso.

4°) *La struttura anatomo-microscopica.* — La divisione della cavità della ghiandola in 4 follicoli è alquanto più accentuata nel testicolo che non nell'ovario (ST. GEORGE VON LA VALETTE, GRÜNBERG); mentre infatti nel primo i tre sepimenti giungono quasi a toccare l'ilo, nel secondo invece tutta la porzione della ghiandola prossima all'ilo forma un'unica cavità. Anche questo carattere però non ci soccorre ancora nei precoci stadi embrionali, nei quali, anche nel testicolo, i tre setti si arrestano assai prima di giungere all'ilo (TOYAMA). Inoltre, mentre nei follicoli testicolari la porzione centrale è priva di cellule germinali o ne contiene pochissime, poichè queste si ordinano alla periferia, nell'ovario invece anche nell'interno di ogni

concamerazione sono contenute numerose cellule (MACHIDA). Ma anche questo carattere manca nelle gonadi embrionali; ed anche in quelle delle larve neonate esso è talmente variabile da non poter costituire un indice sicuro del sesso (MACHIDA).

5°) *La struttura istologica.* — La presenza delle cellule seminali (*spermatogoni, spermatozoi, spermatidi e spermatozoi*) riunite in gruppi di *spermatocisti* o in budelli *spermatofori*, oppure delle *cellule uovo e vitellogone* racchiuse nei tubuli ovarici rende sommanente agevole la distinzione tra i due sessi. Ma questi caratteri istologici cominciano ad essere evidenti soltanto in larve non più giovani (3° e 4° età), quando già numerosi altri caratteri concorrono a facilitare la distinzione. Negli embrioni invece cellule ovariche e cellule seminali sono del tutto simili tra loro (GRÜNBERG, MACHIDA), e solo in larve già sgucciate si nota che, ad ugual grado di sviluppo, l'ovario contiene cellule in minor numero e un po' più grandi di quelle contenute nei testicoli (MACHIDA).

6°) Altro carattere consiste infine nella *cellula di Verson*. Questa infatti, (o per esser più esatti, la *cellula apicale* che ad essa corrisponde nella gonade femminile) nell'ovario già sarebbe (secondo MACHIDA) riconoscibile in bachi neonati, mentre nel testicolo essa diverrebbe nettamente visibile solo dopo due giorni dalla nascita. Ma tale affermazione di MACHIDA trova numerosi avversari: così il VERNON afferma l'esistenza della cellula gigante nel testicolo già negli ultimi stadi embrionali; TOYAMA la disegna in follicoli testicolari di larve neonate; ST. GEORGE VON LA VALETTE invece non la riscontra nei due sessi se non in larve lunghe 4 mm.; e GRÜNBERG infine la trova negli embrioni maturi tanto maschili quanto femminili. L'epoca della comparsa della cellula di VERNON non può quindi servire a distinguere il sesso. Più utile a questo scopo è invece la morfologia di detta cellula nei due sessi: su questo punto infatti tutti gli Autori son d'accordo nel riconoscere che mentre nel testicolo la cellula gigante assume ben presto un enorme sviluppo, che tocca il massimo durante la 3° età per poi declinare, nell'ovario la cellula apicale subisce ben poche modificazioni e non acquista mai le dimensioni e l'aspetto che ha nell'altro sesso. Ma anche queste differenze morfologiche nei due sessi cominciano ad essere bene evidenti solo in larve già sgucciate (di 2 giorni, secondo MACHIDA); nell'embrione esse non esistono ancora, ed

anzi la stessa presenza della cellula è problematica, e comunque essa si distingue dalle cellule circostanti soltanto per minuti particolari non sempre facilmente rilevabili. Inoltre nell'ovario la cellula apicale è *sempre* ben difficilmente visibile, dimodochè il criterio della sua presenza o assenza non può servire ad una sicura distinzione dei sessi.

Riassumendo, l'unico carattere per la distinzione dei sessi, secondo gli Autori ricordati, consiste nella posizione reciproca delle due gonadi e nel punto d'attacco dei gonodotti.

3. — Le gonadi dell'embrione prima della blastocinesi.

I più giovani embrioni da me studiati erano nello stadio di 2-3 giorni prima della blastocinesi. In questo stadio la parete del dorso è ancora quasi tutta mancante, e l'intestino medio è largamente aperto, tanto dorsalmente quanto ventralmente, la sua parete essendo formata solo da due sottili bandelle latero-ventrali, e le invaginazioni dei vasi malpighiani sono in via di formazione. Le sezioni frontali di questi embrioni hanno una inghezza che non raggiunge il millimetro (mm. 0,95 per l'embrione contenente la gonade della fig. 1; mm. 0,90 per l'embrione della fig. 2: la lunghezza reale dell'intero embrione è quindi leggermente superiore, poichè, essendo egli foggiato ad arco, sezioni siffatte non possono comprenderne che una parte). Nelle sezioni nelle quali si scorgono le suaccennate bandelle endodermiche del mesenteron, si scorgono altresì all'altezza del 5° segmento addominale, tra il mesoderma e l'endoderma, gli abbozzi delle ghiandole genitali.

La gonade (fig. 1; fig. 2, g) facilmente riconoscibile dai tessuti circostanti (cellule grandi, poco colorabili, strettamente addossate l'una all'altra) ha in questo stadio una forma allungata pressochè ellittica, con una strozzatura mediana che accenna a separare le cellule germinali in 2 gruppi, e che è alquanto pronunciata tanto ventralmente quanto (e ancor più) dorsalmente; sicchè una sezione perfettamente frontale che colpisca gli strati più superficiali della gonade, la fa apparire distintamente separata in due masserelle ovali (fig. 2, g) mentre invece la gonade appare unica negli strati profondi, con la strozzatura più o meno evidente (fig. 1).

La gonade è come incuneata nella parte più interna del medersoma: le cellule di quest'ultimo (fig. 1, 2 m) la avvolgono verso l'esterno e alle estremità, ma non giungono ad avvilupparla completamente verso l'interno (cioè verso il tubo digerente); esse si insinuano anche nella strozzatura (fig. 2).

La lunghezza della ghiandola sessuale è, in questo stadio, di circa 40 micron, la sua larghezza è di circa 10 micron nel punto assottigliato di una sezione longitudinale mediana della gonade stessa, e di micron 12-13 nel punto più largo di ciascuno dei due cumuli nei quali è, in parte, separata: lo spessore infine è di circa 12 micron.

Nella ghiandola sessuale così giovane si distinguono già due tipi di cellule:

1°) *Cellule di ricoprimento (cr)* (di origine mesodermica).

2°) *Cellule germinali (cg)* (di origine ectodermica secondo la maggior parte degli Autori).

LE CELLULE DI RICOPRIMENTO. — Tutta la gonade già in questo stadio (fig. 1 cr), ma più visibilmente nello stadio successivo (figg. 3, 4, 5, 6, cr) è avvolta da uno strato di piccole cellule di forma allungata, lunghe circa 4 micron, provviste di nucleo pure allungato e intensamente colorabile con l'ematossilina; esse seguono il contorno della ghiandola e si insinuano nella strozzatura in modo tale che la depressione da questa determinata risulta attenuata. L'origine di tali cellule è molto controversa; esula dai limiti di questo lavoro la discussione delle ipotesi emesse in proposito. Basterà accennare che l'attribuire a queste cellule un'origine comune a quella delle cellule germinali è ipotesi poco probabile, poichè tutte le più recenti ricerche portano a concludere che le cellule germinali hanno origine ectodermica e quelle di ricoprimento hanno origine mesodermica. E l'osservazione qui riportata che fin da uno stadio così precoce le cellule germinali e quelle di ricoprimento sono ben distinte tra loro e che i caratteri di queste ultime sono manifestamente simili a quelli delle cellule dei cordoni mesodermici, portano un nuovo appoggio a questa più accreditata ipotesi.

A questo proposito il VERNON (177) scrive che « la capsula del testicolo non possiede affatto rivestimento epiteliale », ma che questa è formata « da un lasso e ondulato tessuto connettivo » le cellule più interne (cioè più prossime alla cavità

testicolare) del quale « gradatamente si appiattiscono e perdono i loro prolungamenti fondendo in uno straterello continuo seminato di nuclei spianati, oblungi o circolari... ». Ora nello stadio precocissimo qui descritto il solo evidente ricoprimento della gonade è dato da uno strato di cellule simile a questo descritto dal VERNON.

Del resto all'infuori di ISHIWATA (76, 77) (il quale non parla di involucri delle ghiandole sessuali) e di SELVATICO (143) (che si limita ad accennare a « filamenti che rammentano il connettivo ») nessun altro — almeno a quanto mi consta e da quanto si può dedurre dalle citazioni fatte in precedenza — ha mai descritto le ghiandole sessuali del Filugello in uno stadio tanto precoce, e quindi ha mai accennato alla struttura della capsula che le circonda.

METCHNIKOFF (102) e BALBIANI (6), nelle loro descrizioni delle ghiandole genitali dei giovanissimi embrioni di *Miastor* e di *Chironomus*, parlano anche dell'epitelio (METCHNIKOFF) e della sottile membrana (BALBIANI) che le circonda.

In conclusione, dalle mie osservazioni risulta:

1°) *Nello gonadi degli embrioni ancora lontani 3 giorni circa dalla balstocinesi si osservano già nettamente differenziate cellule di ricoprimento e cellule germinali.*

2°) *La somiglianza morfologica delle cellule di ricoprimento con quelle mesodermiche mi rende proclive ad ammettere che l'origine loro sia diversa da quella delle cellule germinali.*

LE CELLULE GERMINALI. — Queste cellule, come già ebbero a dire concordemente tutti coloro che le descrissero nell'embrione, si distinguono nettamente da quelle dei circostanti tessuti. Nello stadio assai precoce raffigurato dalla fig. 1, dette cellule (cg) in numero di 3 nella sezione considerata mostrano un nucleo tondeggiante e molto chiaro: esso contiene numerosi piccoli granuli di cromatina intensamente colorabili e una o due grosse zolle cromatiche ben colorabili.

L'abbondante citoplasma di queste cellule è finissimamente granuloso e debolmente colorabile. Le cellule genitali hanno una forma variabile, ma prevalentemente tondeggiante, con contorni ben definiti sicchè ogni cellula è distintamente separata da quelle circostanti. Le loro dimensioni sono, in questo stadio, molto notevoli, potendo superare i 10 micron: il nucleo

misura circa 7,5 micron, e le zolle cromatiche infine han dimensioni variabili tra i 2,5 e i 3,4 micron.

Nella fig. 1 si distingue anche (*hz*) un corpuscolo cromatico isolato e circondato da un sottile alone chiaro: probabilmente esso va identificato con uno di quegli « *Hodenzwischenkörperchen* » (HERTWIG) (70) o « *globules résiduels* » (VAN BENEDEK) (171) dei quali parlano TOYAMA (169), ST. GEORGE VON LA VAILLETTE (153), GRÜNBERG (58) ed altri, e sui quali tornerò con maggiore ampiezza nella seconda parte di questo lavoro.

Man mano che l'embrione procede nel suo sviluppo si assiste a delle modificazioni notevoli anche nell'evoluzione della gonade.

A distanza di un giorno o poco più dalla fase descritta l'abbozzo della gonade è assai più lungo e assottigliato: la strozzatura mediana penetra meno profondamente, sicchè in una sezione comprendente gli strati più interni (figg. 3, 4), la gonade ha la forma di un'ellisse allungata con un restringimento mediano appena accennato. Le cellule genitali (*cg*), più numerose (10 nella sezione riportata a fig. 3), sono ora più o meno evidentemente ordinate in due serie strettamente accostate l'una all'altra; esse hanno sempre dimensioni alquanto rilevanti (8-10 micron) e appaiono distintamente separate l'una dall'altra mediante sottili spazi chiari. Le zolle cromatiche tondeggianti e talora in numero di 2 o anche 3 per cellula sono sempre contenute in un nucleo chiaro ricco di granulazioni cromatiche le quali ora son più minute e numerose soprattutto alla periferia.

Finalmente in stadi ulteriori (figg. 5, 6), allorchè l'embrione sta per iniziare quel raccorciamento che prelude alla blastocinesi, nell'abbozzo della gonade la traccia della primitiva separazione in due gruppi va rapidamente scomparendo, finchè (figg. 7, 9), la gonade assume un aspetto grossolanamente ellittico con la porzione centrale non ristretta, ma piuttosto rigonfia (fig. 7). Parallelamente la ghiandola si accorcia e le cellule genitali appaiono più strettamente addossate l'una all'altra. (Si confrontino le figg. 5 e 6 con le figg. 7 e 9 che rappresentano due stadi di poco successivi di sviluppo). Negli stadi delle figg. 7 e 9 le cellule di ricoprimento (*cr*) avvolgono tutta la gonade, e alcune di esse han la forma triangolare con la base rivolta alla periferia della gonade e l'apice assottigliato insinuantesi negli spazi

periferici tra le cellule genitali (fig. 7 *cr*). Queste ultime tendono a raggrupparsi alla periferia della gonade (fig. 7): hanno talvolta (fig. 7) nelle sezioni forma grossolanamente triangolare con la base appoggiata alla periferia della ghiandola e l'estremità non appuntita, ma largamente rotonda, sporgente verso l'interno. Il loro citoplasma è finemente granuloso e tale struttura è soprattutto evidente nelle zone plasmatiche site al centro della gonade, la cui colorabilità è particolarmente scarsa.

I granuli di cromatina contenuti nel nucleo hanno dimensioni e disposizioni variabili: talvolta infatti (fig. 5 *cg*) accanto a uno o due gruppi di piccole granulazioni si vedono alcuni granuli più grossi e tondeggianti; tal'altra invece (fig. 4 le due cellule germinali in basso; fig. 5 *cg*) attorno a una zolla cromatica formata di numerose piccole granulazioni strettamente accostate l'una all'altra si scorgono dei piccoli granuli sparsi che alla periferia del nucleo accennano a disporsi in circolo; e in alcune cellule infine (fig. 4 *cg*, fig. 5 *cg*.) i grossi granuli di cromatina sono disposti in una linea arcuata o sinuosa. Quest'ultima disposizione è molto simile a quella osservata e descritta da HENKING (64) in *Pyrrhocoris apterus* e da TOYAMA (169) nel *Filugello*.

Negli stadi rappresentati dalle figg. 4 e 5 le cellule di ricoprimento situate alla periferia della gonade sono fusiformi e appiattite (*cr*); altre invece più grandi, con piccoli granuli di cromatina, e spesso con una zolla cromatica più cospicua, si trovano alle estremità della gonade o si insinuano negli spazi periferici tra le cellule genitali (figg. 4, 5 *cr*). Alla fig. 8 sono poi rappresentati a maggiore ingrandimento i nuclei di questi due tipi.

Riassumendo, i caratteri più importanti delle gonadi dell'embrione prima della blastocinesi, sono i seguenti:

- 1°) Già due o tre giorni prima del rivolgimento sono nettamente differenziate cellule germinali e cellule di ricoprimento.
- 2°) Ogni ghiandola sessuale è dapprima divisa in due gruppi di poche cellule ciascuno, ma successivamente la strozzatura, che sta ad attestare questa primitiva duplicità, scompare e la gonade assume una forma ellittica. Contemporaneamente le cellule genitali aumentano di numero e si dispongono alla periferia della gonade la quale però, date le modeste di-

nensioni della sua cavità e la notevole grossezza delle cellule che in essa sporgono, ne risulta totalmente occupata. Le cellule genitali, nelle sezioni longitudinali, si presentano disposte su due file strettamente accostate, allorchè la gonade ha l'aspetto di un'ellisse stretta ed allungata, forma questa intermedia tra quella primitiva a strozzatura e quella posteriore a ellisse larga e corta.

Questi reperti non sarebbero quindi favorevoli all'ipotesi di BESSELS secondo la quale la separazione in 4 follicoli della ghiandola sessuale sarebbe forse preceduta da uno stadio a due cumuli. Lo stadio a 2 cumuli esiste, ma non ha nulla a che fare con quello a 4: quello infatti non procede direttamente questo, ma ne è separato da uno stadio in cui la gonade è unica ed ellittica. La divisione in 4 follicoli avverrà più tardi, dopo la blastocinesi, a partire dallo stadio unico ed ellittico, e senza passare per una nuova fase a 2 gruppi: questo fatto, confermato dalla maggior parte degli Autori, sarà descritto dettagliatamente in seguito. Lo stadio a 2 gruppi non rappresenta quindi l'inizio di un processo di divisione destinato ad accentuarsi in seguito con una nuova suddivisione, ma, per la sua evoluzione, rappresenta piuttosto l'ultima fase di un processo di fusione di due cumuli di cellule genitali dapprima separati. Tale logica deduzione sarebbe conforme alla descrizione della formazione delle ghiandole sessuali in *Chironomus* fatta da BALDIANI (6), il quale affermò che in *Tinea crinella* la gonade, dapprima ovale, si dividerebbe più tardi in due porzioni, ma rettificò tale asserzione nelle sue successive osservazioni su *Chironomus*: qui infatti egli afferma che il gruppo unico delle primitive cellule polari si divide in due gruppi pari simmetrici, e che ciascuno di questi due gruppi è composto di 2 sole cellule separate tra loro da una strozzatura trasversale: queste (che deriverebbero dalla fusione di 2 a 2 delle cellule polari) produrrebbero per successive moltiplicazioni altre cellule genitali che riempiono poi la cavità della gonade; in quest'ultimo stadio, come attestano i disegni, non vi è più traccia di strozzatura, ma ogni ghiandola sessuale è unica ed ovale. Non vi è quindi nulla di arrischiato nel pensare che un processo analogo abbia da verificarsi nel Filugello. La primitiva formazione delle 2 cellule polari (VANEY e CONTE), il successivo distribuirsi delle cellule germinali primitive nei vari segmenti del corpo (TOYA-

MA, ISHIWATA), il loro accentrarsi successivo in due masserelle primitive, ciascuna delle quali è suddivisa da una strozzatura in due gruppi contenenti ognuno pochissime grandi cellule, e infine l'aumento numerico di queste ultime e la scomparsa della strozzatura, (come attestano le osservazioni qui descritte e quelle di SELVATICO, VERNON, TOYAMA, ISHIWATA, ecc. le quali si riferiscono tutte a quest'ultimo stadio), sono, mi sembra, tutti fatti favorevoli a questo modo di pensare. Non si potrebbe recisamente affermare che anche qui, come in *Chironomus*, le primitive cellule polari subiscano dapprima un processo di fusione che le riduca a 2 per ogni gonade, e che queste 2 tornino poi a dividersi. Ma la considerazione che le cellule primitive, per poter essere distribuite nei vari metameri, debbono essere in numero abbastanza notevole, e l'osservazione della fig. 1 che ci mostra solo 3 grandi cellule non rendono improbabile neppure questa supposizione.

3°) I confini tra le cellule germinali sono, negli stadi precedenti la blastocinesi che mi è stato possibile osservare, sempre ben delimitati. Questa osservazione contrasta con quella di TOYAMA, il quale, pur non esprimendosi in proposito, rappresenta nella sua fig. 4 il testicolo embrionale ancora uniloculare con numerosi nuclei immersi in un'unica massa di plasma senza delimitazioni di territori cellulari; contrasta altresì con l'opinione di METCHNIKOFF, BESSELS, GILSON, ed altri, che considerano le cellule genitali derivate « per moltiplicazione endogena » (VERNON) delle cellule primitive (i 4 « *metrociti primordiali* » di GILSON) e per successiva discesa e liberazione di nuclei figli così prodotti: in questo caso infatti si dovrebbe osservare nella gonade, come afferma METCHNIKOFF per *Miastor*, un contenuto di soli nuclei immersi in un plasma unico, e non, come qui, cellule ben definite, ciascuna con citoplasma proprio. Del resto ST. GEORGE VON LA VALETTE considera ipotesi ormai antiquata quella di questa forma di riproduzione cellulare e BALDIANI le sostituisce l'ipotesi della gemmazione.

4°) Non si può, negli embrioni prima della blastocinesi, parlare di cellule di VERNON. Lo stesso scopritore osserva che essa è presente in embrioni che abbiano già compiuto il rivolgimento embrionale, e non mi consta che altri abbiano osservato tale cellula in stadi più precoci: i pochi Autori che hanno descritto le gonadi del Filugello in stadi anteriori alla blastocinesi parlano

di cellule genitali primitive e indifferenziate che occupano la cavità della gonade ancora ovale ed uniloculare: lo stesso attestano le mie osservazioni, inquantochè delle cellule genitali (ben più numerose delle 4 quali dovrebbero essere quelle di VERNON) che riempiono la cavità della gonade poco prima della blastocinesi, nessuna presenta aspetto differente delle altre. In quanto poi alla possibile identificazione delle pochissime cellule primitive negli embrioni più giovani (fig. 1) con i *metrociti primordiali* di GILSON, non vi è nulla che autorizzi un'ipotesi di questo genere, tanto più che la stessa ipotesi di GILSON è oggi alquanto antiquata e ritenuta ben poco probabile.

5° Negli stadi antecedenti alla blastocinesi qui descritti non è ancora possibile distinguere il sesso.

4. — Le gonadi dell'embrione dopo la blastocinesi.

Tutti gli Autori sono concordi nel constatare che, dopo la blastocinesi, il differenziamento sessuale è evidente, e all'infuori di TOYAMA (il quale parla di testicolo uniloculare ancora 2 giorni prima della schiusura) tutti osservano che in questo stadio in ogni gonade è già più o meno nettamente iniziata la divisione in 4 follicoli. Tutti infine concordano abbastanza nella descrizione degli involucri, nella modalità con cui avviene la separazione in 4 concamerazioni, e nell'osservare l'identità di struttura fra le cellule genitali dell'ovario e quelle del testicolo; la distinguibilità dei sessi è inoltre da tutti basata sui ben noti caratteri.

Discordi invece sono gli Autori sulla comparsa, struttura e modo di formazione della cellula di VERNON, e su altri dettagli di cui diremo più oltre.

Sulla prima comparsa e il modo di formarsi della cellula di VERNON, lo stesso scopritore scriveva (177) che nei testicoli (lungi circa mm. 0,0875 e larghi mm. 0,04) di embrioni « con dorso già chiuso » (i più giovani osservati dall'A.) cellule fusiformi partenti dall'involucro esterno gradatamente dividono, a guisa di sepimenti, la cavità in 4 compartimenti conici: i vertici di questi convergono verso un cumulo di piccole cellule schiacciate simili a quelle dell'involucro e addentrandosi come un cuneo in un fianco dell'organo in modo tale da renderne

« ovale il contorno esterno, il quale senza di esso apparirebbe reniforme come in processo di sviluppo apparirà più tardi ».

Ciascuno dei 4 compartimenti alberga — secondo il VERNON — un'unica enorme cellula dal nucleo tondeggiate, grande circa 9 micron e estremamente povero di cromatina e dal citoplasma contenente 6-8 nuclei minori, ben colorabili e che nei preparati induriti si staccano dal circostante plasma il quale allora appare frangiato e lacunoso.

« A esprimermi con poche parole — soggiunge l'A. — ogni scompartimento testicolare è occupato dunque in modo da esserne perfettamente riempito, da una enorme cellula con nucleo eccentrico e quasi privo di cromatina. Il protoplasma di questa cellula alberga nella sua porzioni periferiche più discoste dal nucleo acromatico, alcuni nuclei più piccoli che assorbono invece con avidità la materia colorante ». E poco oltre: « Una vera unione organica del protoplasma stesso con le cellule fusiformi che lo involuppano esternamente e lo convertono in scompartimento testicolare io non ho mai potuto notarla ».

Quest'ultima osservazione, sebbene rettificata da quella successiva di un'adesione della cellula gigante alla capsula esterna (non però alle cellule fusiformi di questa, ma soltanto alla « membrana propria » di ogni follicolo a quelle sottoposta) servirà poi al VERNON per sostenere l'indipendenza della cellula gigante dalle cellule dell'involucro testicolare e per assegnarle origine e funzione germinale. Altri Autori, guidati dall'osservazione opposta di una distinta connessione tra la cellula di VERNON e l'involucro esterno della gonade, conclusero che tale cellula proviene dall'involucro e non ha affatto funzione germinale.

TOYAMA (1894-1902) (169) è il solo che affermi che le gonadi dell'embrione sono uniloculari ancora 2 giorni prima della schiusura, e che « three depression appear on the follicular wall » soltanto « when the larva is about to be hatched ». Queste depressioni, formate da prolungamenti dell'involucro « gradually deepen until four cavities are formed ». Parallelamente « another depression appears on each of these testicular tubes, as fig. 5 i shows, and in a testis of larva four days old, there is seen a large cell in each of the secondary depressions of the follicle. This large cell is the origin of Vernon's cell found in the blind end of the testicular follicle ».

Più tardi la primitiva membrana limitante la depressione scomparirebbe e la cellula di VERNON entrerebbe quindi in diretta comunicazione con la cavità follicolare. TOYAMA conclude: « It is therefore certain that Verson's cell is derived from one of the follicular cells and not from the genital cells ».

Ma una viva opposizione suscitata da questo modo d'intendere non tanto la funzione di sostegno della cellula di VERNON (la quale anzi trovò più fautori che oppositori), quanto il suo modo di formazione, indusse TOYAMA a tornare sull'argomento. Nel 1902, respingendo la prima sua ipotesi (170), egli si schierò con ST. GEORGE VON LA VALETTE, GRÜNBERG, ed altri, che tra le due estreme teorie (quella dell'origine e funzione genitale e quella dell'origine epiteliale e funzione trofica e di sostegno) sostenevano una teoria mista, e cioè che la cellula di VERNON ha origine da una cellula germinale primitiva, ma ha solo funzione trofica o di sostegno.

ST. GEORGE VON LA VALETTE (1897) (153) scrive che negli embrioni poco prima della nascita i testicoli, ovali, leggermente appiattiti dal lato dove nasce il dotto escretore, sono avvolti da una membrana trasparente contenente numerosi nuclei ovali. L'Autore non distingue, almeno in questo stadio, il rivestimento connettivale dalla sottoposta « membrana propria » sottile e priva di struttura evidente. I 4 follicoli, già evidenti, son pieni di cellule seminali primitive (« Ursamenzellen ») o spermatogoni chiare e tondeggianti, animate — nei preparati freschi (i soli praticati dall'A.) — da rapidi movimenti. Sempre secondo l'A. tali cellule, grandi circa 10 micron, han nucleo di 7 micron e nucleolo di 2 micron (dimensioni, come si vede, simili a quelle da me riscontrate in embrioni prima della blastocinesi), e, sparsi fra di essi, si trovano gli « Hodenzwischenkörperchen », piccoli corpuscoli tondeggianti, rifrangenti, grandi circa 5-8 micron.

La cellula di VERNON (considerata da questo A. come cellula genitale primitiva modificata con funzione trofica e di sostegno e quindi non madre, ma sorella dei giovani spermatogoni) è, per questo A., invisibile a questo stadio; essa compare solo in baci lunghi 4-7 mm.

Nell'ovario dell'embrione, che l'A. riconosce dal testicolo non solo per le sue minori dimensioni e per la posizione del dotto escretore, ma anche per la sua meno netta separazione in 4 follicoli, gli « Hodenzwischenkörperchen » — contrariamente al-

l'asserzione di TOYAMA — mancano; le cellule genitali, simili a quelle del testicolo, ma più piccole (8 micron nei baci lunghi 4 mm.), non hanno contorni definiti, e la cellula gigante è anche qui rilevabile solo in larve di 4 mm.

Neppure GRÜNBERG (1903) (58) specifica l'età dell'embrione a cui si riferiscono le sue prime osservazioni; ma, dopo quanto dicemmo, si può esser certi che egli si riferisce a stadi posteriori alla blastocinesi. Ovario e testicolo hanno — secondo tale A. — forma ovale, appiattita dal lato ove nascono i dotti escretori, e contengono cellule tra loro simili, grandi, chiare, con nucleo circondato da un sottile alone plasmatico contenente uno o più nucleoli e numerosi granuli di cromatina, e immerse in una massa plasmatica finemente granulosa. Abbiamo già visto invece che, almeno prima della blastocinesi, non esiste una massa plasmatica uniforme ma ogni cellula è distintamente separata dalle altre. Anche GRÜNBERG, come ST. GEORGE VON LA VALETTE, constata la già avvenuta separazione di ogni gonade in 4 follicoli, i setti dei quali (dovuti a ripiegature della membrana propria) penetrano tanto più profondamente verso le vie escretrici quanto più avanzato è lo sviluppo; ma mentre nel testicolo la separazione finisce col diventar perfetta, nell'ovario invece resta sempre una piccola camera comune.

GRÜNBERG dissente però da ST. GEORGE VON LA VALETTE nella descrizione delle tonache dei gonadi embrionali che egli riconosce in numero di due (l'involucro esterno connettivale o *Bindgewebeshülle* cosparso di numerosi nuclei, e la sottostante *tunica propria* sottile e « strukturlos »), e nell'epoca della comparsa della cellula di VERNON.

Questa cellula, che l'Autore chiama *Apicalzelle*, può infatti già osservarsi, seppure con difficoltà, nell'embrione; il suo nucleo è, dappprincipio, uguale a quello degli spermatogoni e degli oogoni (un po' più piccolo di quello di questi ultimi) e il solo carattere che ne permetta la sicura individuazione è dato dalla maggior granulosità e colorabilità del citoplasma che lo circonda: questo ha nel testicolo una forma conica e nell'ovario una forma deholmente arcuata.

Tale cellula compare, tanto nell'ovario quanto nel testicolo, all'estremità distale di ogni follicolo e all'interno della tunica propria, e non per invaginazione di questa, come vorrebbe TOYAMA. L'origine e la funzione sua sarebbero, secondo GRÜNBERG, conformi alle idee di ST. GEORGE VON LA VALETTE.

MACHIDA infine (1926) (96) osserva che la cellula di VERNON è nell'ovario distinta fin dalla nascita del baco (non prima), mentre nel testicolo essa è discernibile solo al secondo giorno della vita larvale. La sua posizione all'estremità cieca di ogni follicolo, la sua forma, il suo nucleo simile per dimensioni e colorabilità della cromatina a quello delle cellule di ricoprimento (soprattutto nell'ovario) e infine la *probabile* esistenza primitiva di una membrana che lo isola dalla cavità follicolare, inducono lo scienziato giapponese ad attribuirle origine epiteliale e funzione trofica e di sostegno, come TOYAMA; il MACHIDA però non discute sul modo di formazione di detta cellula. Per quanto concerne poi la struttura dell'ovario embrionale, l'A. descrive ed illustra un ovario già concamerato (quindi dopo la blastocinesi), e nota la già avvenuta differenziazione fra cellule di ricoprimento e cellule genitali; queste ultime nell'embrione non sono ancora differenziate in cellule uovo e cellule vitellogene, sono uguali a quelle del testicolo embrionale e hanno membrane divisorie raramente visibili, sicché il plasma appare nico: talvolta però, come confermano le mie osservazioni, singole cellule si presentano distinte; bene osserva l'A. che ciò basta per escludere che nel Filugello le cellule genitali sian riunite in sincipi come nei Platelminti, Nematodi, Crostacei e molti Insetti.

La cromatina di queste cellule, anche se in riposo, è molto diffusa e si aggrega in gruppi congiunti da filamenti di linina: il nucleo, unico e più raramente duplice, è bacilliforme o sferico o ovale o anche strozzato come se fosse fatto da due uniti insieme. Questa descrizione concorda abbastanza bene con quella già esposta per gli embrioni prima della blastocinesi.

Non mi consta che altri Autori abbiano descritto le gonadi embrionali del Filugello già sessualmente distinguibili e concamerate.

Espongo ora le mie osservazioni su embrioni che avevano già compiuto la blastocinesi.

Degli embrioni esaminati, alcuni mostravano l'intestino medio quasi completamente chiuso; alcuni avevano l'intestino medio completamente chiuso e il vaso dorsale del tutto formato; altri infine avevano già compiuto il avvolgimento ed erano prossimi alla nascita.

Già negli embrioni con incompleta chiusura dorsale due importanti fatti si rilevano:

1°) Il sesso è discernibile. Infatti nelle sezioni longitudinali bene orientate, in modo da colpire ambedue le gonadi in una stessa sezione, la posizione reciproca delle due ghiandole è, nei due sessi, tale da non lasciar dubbi sulla loro identificazione. Infatti, conformemente alla descrizione di VERNON, le gonadi hanno in questo stadio non più una forma ellittica nella quale non si possa ancor parlare di ilo e di dotto escretore che da quello esca, ma una forma ovale appiattita su un lato, nel mezzo del quale, cioè nell'ilo, si nota ora quel cumulo di piccole cellule così bene descritto dal VERNON e dal quale, più tardi, si dipartirà un distinto dotto escretore. Il lato opposto è invece convesso; ora nei testicoli i lati appiattiti sono rivolti internamente, cioè verso la cavità del corpo, negli ovari invece essi son rivolti esternamente cioè verso la parete del corpo. Ne consegue che nelle sezioni trasversali, conformemente alle osservazioni di ISHIWATA, i testicoli compariranno con gli ili rivolti faccia a faccia e gli ovari con gli ili rivolti all'esterno. Oltre che per questo carattere fondamentale la discriminazione del sesso è resa fin d'ora possibile da tutti quegli altri caratteri che son già stati altrove ricordati, sebbene essi sian ancora così poco accentuati che, come giustamente osserva MACHIDA per le larve appena sgusciate (e quindi a maggior ragione per gli embrioni) « such cases are often met with, that the distinction can not be made whether the genital gland in question is the ovary or the testis ».

In verità, se questi caratteri secondari, presi singolarmente, sono di poco rilievo, sicché uno solo di essi sarebbe assolutamente insufficiente per distinguere il sesso, tuttavia, esaminati tutti insieme in tutto ausilio bastano perchè un occhio esercitato possa il più delle volte esprimere il suo giudizio anche quando l'imperfetto orientamento della sezione renda inapplicabile il principale criterio di distinzione.

Ciò che importa porre in rilievo è il fatto che dopo la blastocinesi (e precisamente almeno fin da 3-4 giorni dopo, a tale stadio riferendosi le mie prime osservazioni di embrioni in questa fase) non si può più parlare di gonadi a sesso indistinguibile ma si deve parlare di testicoli e di ovari nettamente differenziati e riconoscibili come tali.

Da queste constatazioni personali e da quelle già riferite di SELVATICO, BESSELS, GILSON, TOYAMA, VERNON, e, soprattutto,

di ISHIWATA (1) si può quindi concludere che la possibilità di distinguere il testicolo dall'ovario si inizia non oltre 3-4 gorni dopo la blastocinesi.

La mancanza di osservazioni personali mi impedisce di precisare se durante la blastocinesi la distinguibilità sia già apparsa, ma, a parte il parere negativo di ISHIWATA, si può osservare che tutti quei caratteri che permettono la diagnosi non compaiono certamente in un determinato istante, ma, come tutti i fenomeni biologici, debbono necessariamente svilupparsi gradualmente entro un certo tempo, il quale, per quanto rapida sia l'evoluzione, non può certo ridursi a un momento; e i confini entro ai quali questo tempo può esser ridotto (tra la fine della blastocinesi e l'inizio della formazione della parete del dorso) son già sufficientemente limitati (grazie alle osservazioni degli Autori c'nic), per poter dire che la questione della determinazione dell'epoca della distinguibilità dei sessi è risolta in modo soddisfacente.

2°) Formazione delle concamerazioni nelle gonadi.

In verità una evidente distinguibilità delle 4 concamerazioni esiste per il testicolo soltanto nell'embrione assai prossimo alla schiusura (fig. 16: in questa microfotografia però, per difetto di orientazione, sono visibili soltanto gli abbozzi di tre dei 4 follicoli e di questi soltanto quello centrale è bene evidente) e per l'ovario soltanto dopo la nascita.

Ma una attenta osservazione del testicolo anche di embrione che da poco abbia compiuto la blastocinesi (figg. 10, 11) permette già di riconoscere un accenno della divisione in 4 follicoli: si può infatti osservare che il margine esterno della ghiandola presenta 3 depressioni della « tunica propria »: queste non son tutte ugualmente accentuate, ma in quelle più profonde si può già constatare l'approfondamento di alcune cellule del soprastante involucro connettivale (figg. 10, 11 cr.). I tre sepimenti dovuti ad altrettante invaginazioni della tunica propria e all'insinuarsi in queste di elementi connettivali dell'involucro sono quindi ora appena abbozzati. La cavità della ghiandola è ancora

(1) Questo Autore afferma esplicitamente che all'inizio della blastocinesi cioè « quand l'embryon est très court », gli organi sessuali son già formati, ma sono indifferenziati e che « ... au temps où se forme la peau du dos il y a la différence des sexes dans les organes génitaux ... »

per la massima parte unica e soltanto alla periferia estrema essa comincia a dividersi in 4. Si può anche osservare che mentre negli strati più superficiali della ghiandola (fig. 10) le cellule genitali riempiono senz'ordine apparente pressochè tutto l'organo (dico pressochè perchè in prossimità dell'ilo esse cedono il posto ad elementi più piccoli dei quali dirò poi), negli strati più interni invece (fig. 11) esse manifestano già quella tendenza a disporsi perifericamente attorno alla cavità centrale contenente plasma granuloso, tendenza che nel baco neonato è un fatto compiuto, ma che già ora serve a far meglio risaltare l'accennata divisione in 4 follicoli, grazie ai 4 archi di cerchio (fuora appena abbozzati, ma nel follicolo centrale della fig. 16 già evidente) secondo i quali le cellule germinali stesse si dispongono.

In quanto all'ovario (figg. 14, 15) nel quale le concamerazioni sono sempre meno nette che nel testicolo di pari età, l'accenno a una divisione in 4 cumuli si inizia più tardi ed è meno chiara che nella gonade maschile. Nella fig. 14 (che rappresenta un ovario di embrione allo stesso stadio di quello del testicolo delle figg. 10 e 11) tale inizio di divisione è accennato dall'insinuarsi di parti del connettivo esterno tra le cellule germinali: in queste ultime inoltre non si può osservare come nel testicolo una regolare disposizione alla periferia della ghiandola poichè — anche nelle sezioni profonde — alcune cellule occupano il centro della gonade: il formarsi in questo stadio di una cavità centrale occupata da solo plasma non è dunque chiaramente rilevabile nell'ovario. Il margine opposto all'ilo dell'ovario di un baco che da poco abbia compiuto il rivolgimento (figg. 14, 15) non mostra inoltre neppure accennate quelle tre depressioni che si riscontrano nel testicolo di pari età: tali depressioni, che costituiscono l'indizio esteriore delle concamerazioni, cominciano infatti a comparire soltanto in embrioni assai prossimi alla nascita.

L'appena iniziata concamerazione delle gonadi in tale stadio è quindi in perfetto accordo colle osservazioni di BESSELS, GILSON, VERNON, ST. GEORGE VON LA VALETTE, GRÜNBERG e MACHIDA, ed è solo in contrasto con la già citata osservazione di TOYAMA. Se però non si vuol supporre un errore di osservazione da parte di quest'ultimo A., bisogna almeno ammettere che lo scienziato giapponese non abbia forse ben determinato lo stadio dell'embrione osservato, e che questo sia, in realtà, molto antecedente a quello riferito. E ciò sia detto indipendentemente dal

criterio che egli ha seguito per affermare che la gonade in discorso è un testicolo anziché un ovario, dato che in quella ghiandola uniloculare (e il disegno lo conferma) non si distingue affatto l'ilo, e nessuno dei noti caratteri distintivi del sesso può essere riscontrato; la presenza degli *Hodenzwischenkörperchen*, tanto problematici, e da alcuni (TOYAMA stesso) affermati esistenti anche nell'ovario, non ha certo un valore per la distinzione del sesso.

Le modalità con le quali ho visto iniziarsi la separazione della gonade in 4 follicoli sono una conferma alla ipotesi già espressa che tale separazione proceda direttamente dalla ghiandola a cavità unica, senza passare per uno stadio a due cumuli come suppone BESSELS: del resto anche TOYAMA e altri Autori sono di questo parere.

Poichè dunque ormai la distinguibilità dei sessi è evidente, sarà bene descrivere separatamente le due gonadi.

A) — Testicoli.

I testicoli già concamerati dell'embrione del *Bombyx mori* son già stati descritti da BESSELS, GILSON, ST. GEORGE VON LA VALETTE, VERNON, TOYAMA, GRÜNBERG, e (limitatamente alla cellula di VERNON e alla distinguibilità dei sessi) MACHIDA: le descrizioni di tutti questi Autori sono *fondamentalmente* simili tra loro e a quella che mi accingo ad esporre: importanti divergenze però si notano in parecchi dettagli, alcuni dei quali di grande rilievo, quali la morfologia della cellula di VERNON.

Dalle mie osservazioni risulta quanto segue:

Quando ancora la chiusura del dorso non è completa, il testicolo (figg. 10, 11, 12) appare sotto forma di una massa ovale, lunga circa 52 micron, larga 37 micron, ravvolta da una capsula di natura connettivale.

Questa tonaca esterna (figg. 10, 11, 13 *te*) si prolunga anteriormente e posteriormente in due cordoni (figg. 10, 11, *a, b*) che costituiscono i legamenti sospensori dell'organo. In corrispondenza alle estremità anteriore e posteriore della gonade, il rivestimento cellulare esterno presenta numerosi nuclei ellittici e intensamente colorabili che assumono un ordinamento in serie arcuate (figg. 10, 11, 12, *cr*). Tale rivestimento è dunque plu-

riestrificato agli estremi della gonade, ma si assottiglia sempre più man mano che dagli estremi si passa sui lati della gonade: quivi esso diviene monostratificato e i nuclei delle cellule che lo costituiscono si fanno molto appiattiti ed allungati.

La tonaca esterna non manda, fino a questo stadio, diramazioni visibili nell'interno della ghiandola che la separano in 4 scompartimenti; soltanto pochissime cellule di essa (figg. 10, 11 *cr.*) si approfondano nelle ripiegature appena accennate della tunica propria (*tp*).

Al di sotto di questo involucre esterno si trova, strettamente aderente alla gonade, la membrana propria (figg. 10, 11, 13 *tp*): essa è estremamente sottile, e, come già ebbe ad osservare GRÜNBERG, è priva di struttura evidente; la membrana propria segue in ogni punto il contorno della gonade, sicchè (come già osservò VERNON) la sua individuazione è assai difficile.

Il testicolo è dunque ora convesso sul lato esterno, e il margine della sua superficie convessa presenta appena abbozzati quei 4 rilievi e quelle 3 depressioni che sono l'inizio delle 4 concamerazioni. Il margine interno, donde si diparte il dotto escretore, è appiattito, e sarebbe anzi concavo se, come ha descritto VERNON, un cumulo di piccole cellule non entrasse a guisa di cuneo nella parte mediana di questo lato. Sono queste le cellule dell'ilo, (figg. 10, 11 *cp*) le quali, a metà della lunghezza della gonade, sporgono verso l'esterno della medesima in corrispondenza all'inserzione di quel peduncolo che si dirige posteriormente ed è l'abbozzo del deferente (figg. 11, 12 *p*). I nuclei di queste cellule dell'ilo sono simili per la loro forma allungata e per la intensa colorabilità a quelli delle cellule della tonaca esterna.

Le poche cellule di questa zona situate proprio al limite fra il margine della gonade e il peduncolo piriforme che ne esce (fig. 10 *cm*) hanno nuclei estremamente appiattiti e allungati, e in esse si può già riscontrare quell'ordinamento in serie parallele che diverrà più evidente nella larva e che MACHIDA (96) descrive per l'ovario di larve prossime alla prima muta.

Le mie osservazioni sulla struttura istologica dell'ilo e del peduncolo che se ne diparte coincidono adunque (fig. 10) con quelle fatte dal VERNON (177) in bachi di alcuni giorni di età.

L'interno della gonade è occupato dalle cellule germinali (fig. 10, 11 *cg*) facilmente distinguibili da quelle dell'involucro

e da quelle dell'ilo per la forma non appiattita e allungata, ma approssimativamente isodiametrica, che in sezione le fa apparire tondeggianti o leggermente ovali, e per la minore colorabilità del nucleo.

Nella cavità della gonade le cellule germinali sono sebbiate più o meno regolarmente a ridosso della parete interna; ne risulta che, sezionando la gonade tangenzialmente, la sua cavità appare riempita dalle cellule germinali (fig. 10), mentre in sezione longitudinale mediana (fig. 11) si discernono zone centrali di plasma attorno alle quali le cellule germinali fanno corona. Le singole concamerazioni quindi, pur non essendo ancora separate da seipimenti, sono già abbozzate nell'interno per la descritta disposizione delle cellule germinali; tale disposizione sarà perfetta nel baco neonato.

Le cellule germinali ordinate alla periferia hanno spesso un aspetto piriforme col nucleo situato alla base che è rivolta al margine della gonade e l'apice confondentesi nel plasma granuloso occupante la cavità delle concamerazioni (fig. 11 *cg*). In vicinanza della concavità dell'ilo queste cellule cedono il posto a cellule dai nuclei più piccoli e più fortemente colorabili (figg. 10, 11 *ci*): tali nuclei furono già osservati da GRÜNBERG (58) il quale li dice simili nell'aspetto a quelli delle cellule germinali: per conto mio invece li troverei assai più simili a quelli delle cellule dell'involucro e del peduncolo della gonade. D'altra parte tutti gli altri Autori che parlano di queste cellule, le considerano di origine mesodermica (come l'involucro), e lo stesso GRÜNBERG concorda con gli altri Autori nell'attribuire a tali cellule quella funzione di ricoprire gli estremi apicali dei 4 compartimenti delle gonadi che già nei bachi prossimi alla prima muta è bene evidente.

La cromatina delle cellule germinali è aggregata in gruppetti di numerosi granuli nella maggior parte delle cellule: in alcune cellule però si hanno scarse granulazioni, piuttosto grosse, intensamente colorate e disposte a corona attorno ad altri elementi analoghi, (fig. 10 *cg*.); il fondo del nucleo di queste cellule è molto chiaro.

Come già nelle gonadi di embrioni prima della blastocinesi, anche qui si possono notare, sparsi tra le cellule germinali, alcuni corpuscoli tondeggianti e fortemente colorati: essi possono ora esser perfettamente identificati per i famosi *Hodenz-*

wischenkörperchen (figg. 10, 11 *hz*), dei quali si dirà meglio nella seconda parte del presente lavoro.

Dall'insieme delle osservazioni fin qui riferite risulta evidente che il testicolo dell'embrione è ora ben diverso dalle primitive gonadi embrionali.

Ma il fatto nuovo più importante riscontrabile negli embrioni in questo stadio consiste nella presenza della cellula di VERNON. Soltanto VERNON e GRÜNBERG osservarono questa cellula nel testicolo embrionale ma le loro descrizioni sono discordanti. Secondo VERNON (177), si tratterebbe fin da stadi embrionali di una « cellula gigante » con nucleo tondeggiente, pochissimo colorabile per la sua straordinaria povertà di cromatina e spostato eccentricamente verso l'orlo esterno libero del follicolo testicolare, e con abbondante citoplasma granuloso il quale invaderebbe tutto il follicolo e albergherebbe nelle sue lacune le cellule germinali. Secondo GRÜNBERG (58) invece la cellula di VERNON avrebbe al suo primo apparire nel testicolo una forma triangolare con la base poggiata contro l'orlo esterno del testicolo (l'aderenza della cellula alla « membrana propria » del follicolo è anche dal VERNON dapprima negata, ma poi riconosciuta) e il vertice assottigliato e penetrante nella cavità follicolare. Tale forma triangolare sarebbe propria del citoplasma che circonda il nucleo di tale cellula e che, pur non essendo nettamente delimitato dal rimanente plasma che occupa il follicolo, si distinguerebbe da questo per la sua particolare granulosità e pel colore più cupo. Il nucleo infine non sarebbe più grande, ma più piccolo di quello degli altri elementi genitali, e sarebbe, come aspetto generale, (colorabilità, ricchezza in cromatina, ecc.) identico al nucleo di questi ultimi. Da questa descrizione del GRÜNBERG si conclude dunque che, secondo tale A., la cellula di VERNON non sarebbe una cellula gigante, ma piuttosto (avuto riguardo al solo nucleo) una cellula piccola, il cui citoplasma non occuperebbe tutta la cavità follicolare, ma sarebbe diverso e distinto da quello delle altre parti del follicolo; e tale differenza di aspetto del citoplasma sarebbe anzi il solo carattere capace di far distinguere tale cellula dalle altre.

Mentre nessuno confermò la prima descrizione di VERNON, la descrizione e i disegni di GRÜNBERG trovano conferma nelle descrizioni e nei disegni che ST. GEORGE VON LA VALETTE (153), TOYAMA (169) e MACHIDA (96) hanno dato dei primi stadi di

questa cellula (riconosciuta non già nell'embrione ma in larve di 2-4 giorni): TOYAMA e MACHIDA anzi trovano che il nucleo è simile a quello delle cellule epiteliali, ricco di cromatina e ben colorabile. TOYAMA afferma e MACHIDA suppone l'esistenza di una membrana che, isolando la cellula dalla cavità follicolare, ne attesterebbe — secondo essi — l'origine epiteliale. Queste divergenze dei risultati delle osservazioni originarono diverse ipotesi sull'origine e sulla funzione della cellula in questione: origine e funzione genitale secondo VERNON, origine genitale e funzione di sostegno e trofica secondo ST. GEORGE VON LA VALETTE e GRÜNBERG, origine epiteliale e funzione di sostegno e trofica secondo TOYAMA e MACHIDA. Questi due ultimi fondano la loro ipotesi sull'aspetto del nucleo e sulla presenza della membrana primitiva attorno alla cellula; ma, tolti questi particolari, dimensioni, forma, e aspetto del citoplasma sono nelle descrizioni di questi due Autori simili a quelli riscontrati da ST. GEORGE VON LA VALETTE e GRÜNBERG: il solo quindi che, nella parte descrittiva, si distacca nettamente dagli altri è il VERNON.

Tra le due diversissime descrizioni di VERNON, e di GRÜNBERG, le mie osservazioni depongono a favore di quelle di GRÜNBERG.

Infatti sul fondo cieco (convessità sporgenti sul lato opposto all'ilo) di ogni follicolo appena abbozzato, si può, in alcune sezioni bene orientate e ben colorate, riconoscere la presenza di una cellula la quale corrisponde a quella descritta da GRÜNBERG in embrioni in questo stadio e deve quindi essere identificata per la cellula di VERNON (figg. 10, 11, 12, 13 cv).

La cellula in questione (fig. 13 cv) ha un citoplasma leggermente più scuro e, alquanto più finemente granuloso ed omogeneo di quello che riempie la cavità del follicolo (ma più chiaro di quello che circonda immediatamente gli elementi genitali): tale area di citoplasma ha una forma grossolanamente di triangolo, la cui base convessa poggia sulla membrana propria seguendo il contorno arcuato del margine del follicolo, e gli altri due lati formano un angolo che si spinge entro la cavità del follicolo e che si prolunga e si perde nel plasma che riempie quest'ultimo. Sui due lati del triangolo (fig. 13) sono adagate due cellule genitali ben delimitate. Il nucleo della cellula di VERNON trovasi alla base di essa, ha forma ellittica, e nel com-

plesso appare molto meno colorato dei nuclei delle cellule genitali, perchè molto meno ricco di cromatina. In accordo col TOYAMA e col MACHIDA e a differenza di ST. GEORGE VON LA VALETTE e di VERNON, non ho riscontrato nucleolo in questo nucleo.

La zona triangolare di citoplasma circondante il nucleo di questa cellula misura circa micron 9,5 per 9,7; il nucleo ha le dimensioni di circa micron 4 per 3,6.

Le due cellule genitali (fig. 10, cv) adagate sui lati della cellula di VERNON misurano circa 6-7 micron e il loro nucleo è di circa 4,3 micron; le cellule dell'involucro infine non superano i 5 micron per 4, e hanno un nucleo grande circa micron 3,7 per 2,5.

Riassumendo, dalle mie osservazioni risulta:

1°) La cellula di VERNON, in embrioni di circa 3-4 giorni dopo la blastocinesi, si presenta in complesso quale fu descritta da GRÜNBERG e da ST. GEORGE VON LA VALETTE, ma si discosta dalle descrizioni di questi Autori per la sua netta delimitazione dalle cellule genitali vicine, senza che però si possa discernere, almeno in questo stadio, una membrana che la isoli dalla cavità follicolare. La posizione della cellula immediatamente all'interno della membrana propria del follicolo, e non dentro una invaginazione di questa, e il fatto che l'estremità del prolungamento del suo citoplasma si confonde, senza evidente soluzione di continuità, con il rimanente plasma della cavità follicolare sembrano escludere l'esistenza di una membrana siffatta.

2°) Il nucleo si discosta, per la debolissima colorazione del suo interno, tanto da quello delle cellule epiteliali, quanto da quello delle cellule genitali; la forma e le dimensioni sono intermedie tra quelle dei nuclei di questi due tipi di cellule; le granulazioni cromatiche sono bene evidenti, ma poco numerose e il fondo del nucleo appare quindi nei preparati assai poco colorato.

3°) L'evoluzione di tutta la gonade dallo stadio di poco precedente la blastocinesi considerato (e rappresentato dalle figg. 10, 11, 12), nonchè la formazione e la prima evoluzione della cellula di VERNON devono essere singolarmente rapide e van ricercate in quei pochi giorni che intercedono tra l'inizio della blastocinesi e la chiusura del dorso.

Per tutti gli altri caratteri il testicolo somiglia a quello dello stadio precedente.

B) — Ovari.

Gli ovari dell'embrione del Filugello dopo la blastocinesi son stati studiati assai meno dei testicoli, e perciò sulla struttura istologica degli ovari in tali stadi si hanno assai più scarse notizie che sulla struttura dei testicoli.

Infatti il VERNON, che tanto studiò la spermatogenesi, si occupò ben poco (190) dell'ovario. TOYAMA nel suo lavoro (169) parla dell'ovario soltanto per accennare ai caratteri distintivi fra ovario e testicolo, alla presenza della cellula di VERNON all'estremità cieca del tubo ovarico, e alla presenza degli *Hodenzwischenkörperchen* anche nell'ovario.

Hanno descritto ed illustrato l'ovario dell'embrione ST. GEORGE VON LA VALETTE (153), GRÜNBERG (58), VERNON (190), MACHIDA (96), SCHNEIDER (141).

L'ovario dell'embrione di Filugello, in uno stadio corrispondente a quello già considerato nel testicolo (cioè di poco posteriore alla blastocinesi), è molto simile a quest'ultimo; indicherò qui i principali caratteri differenziali che lo fanno distinguere dalla gonade dell'altro sesso (figg. 14, 15):

1° *Dimensioni*: leggermente inferiori a quelle dei testicoli (micron 50 di lunghezza per 26 di larghezza).

2° *Forma*: ovale come quella del testicolo, ma più regolare: il lato portante l'ilo (che qui è rivolto all'esterno, mentre nel testicolo è rivolto all'interno) non ha una concavità così pronunciata come nel testicolo e il gruppo delle piccole cellule dai nuclei appiattiti e allungati (fig. 14 ci) che vi si incunea non sporge esternamente, ma completa col suo margine il contorno della ghiandola. Anche il lato opposto a quello ora descritto ha contorno regolare. Soltanto in una fase più avanzata dello sviluppo (poco prima del rinvoltimento) anche l'ovario mostra le 4 prominenze e le 3 depressioni che rivelano esternamente la divisione della gonade in 4 concamerazioni, ma le une e le altre sono assai meno pronunciate che nel testicolo. La formazione dei 4 primitivi cumuli (abbozzi dei tubuli ovarici) e le diffe-

Le differenze morfologiche e istologiche fra le gonadi di questi due stadi sono infatti molto rilevanti sebbene tra l'uno e l'altro stadio non intercedano che 3-4 giorni.

4° Il fatto che le mie osservazioni non chiariscono il modo di formazione della cellula di VERNON, non permette di far pendere decisamente la bilancia in favore dell'una o dell'altra delle due ipotesi formulate dagli Autori sull'origine di questa cellula. Pur tuttavia una diligente analisi dei fatti osservati permette di rilevare quanto segue: alcuni di questi fatti, e cioè la posizione della cellula all'interno della *tunica propria* e la continuità fra il prolungamento citoplasmatico della cellula stessa e il plasma della cavità follicolare, sono favorevoli alle osservazioni di GRÜNBERG e di ST. GEORGE VON LA VALETTE e quindi alla loro ipotesi sulla natura originariamente germinale della cellula in questione. Al contrario altri fatti, come la separazione sui lati della cellula di VERNON dalle cellule germinali circostanti (separazione che però si osserva anche nelle cellule germinali stesse tra loro), e le dimensioni del nucleo minori di quelle del nucleo di queste ultime, collimano con le osservazioni di TOYAMA e di MACHIDA; non mi sembra però che questi fatti comprovino abbastanza la loro ipotesi di una origine epiteliale della cellula di VERNON.

In conclusione quindi l'ipotesi di una natura germinale della cellula di VERNON sembra trovare nella osservazioni qui rilevate argomenti favorevoli più convincenti di quelli che appoggerebbero l'ipotesi opposta.

Torniamo ora alla struttura del testicolo dell'embrione e vediamo come esso si presenti in una fase embrionale più avanzata, quando il dorso è già chiuso e l'embrione è prossimo a compiere il rinvoltimento (circa 2-3 giorni prima della nascita) (fig. 16). Le differenze che si possono constatare tra questo stadio e quello precedente sono ben poco rilevanti: esse si riducono ai seguenti punti:

1° Aumento delle dimensioni; la ghiandola misura ora circa micron 65 per 40, in luogo di 52 per 37 circa, come misurava allo stadio precedente la chiusura del dorso.

2° Maggiore evidenza della divisione in 4 concamerazioni.

3° Maggiore approfondimento di alcune cellule dell'involucro nelle depressioni fra i singoli follicoli.

renze che in tale processo intercedono fra testicolo e ovario son state brevemente descritte dal VERNON.

3°) *Struttura interna.* La divisione in 4 scompartimenti invisibile all'esterno è anche all'interno appena accennata; essa, come si è già detto più sopra, è indicata soltanto dal protendersi di porzioni dell'involucro esterno fra le cellule germinali. Queste ultime (fig. 14 *cg*) sono — come nel testicolo — ben delimitate l'una dall'altra, ma non sono — come nella gonade maschile — tutte schierate alla periferia della ghiandola: alcune di esse infatti occupano anche il centro della gonade, sicchè la presenza di una cavità centrale contenente solo plasma granuloso non è discernibile nell'ovario di embrioni in questo stadio.

Conformemente a TOYAMA e contrariamente a ST. GEORGE VON LA VALETTE, ho potuto constatare anche nell'ovario la presenza degli *Hodenzwischenkörperchen* che qui dovrebbero chiamarsi *Ovarienzwischenkörperchen* sotto forma di masserelle intensamente colorate e più o meno distintamente circondate da un alone chiaro (fig. 14 *hz*).

4°) *Cellule dell'involucro, cellule dell'ilo, e cellule germinali.*

Le cellule dell'involucro (fig. 14 *cr*) e quelle dell'ilo (fig. 14 *ci*) sono uguali a quelle corrispondenti dei testicoli. Le cellule germinali sono invece leggermente più grandi di quelle dei testicoli (circa micron 8-9), e i loro nuclei sono meno ricchi di cromatina in confronto di quelli delle cellule di ricoprimento e di quelli delle cellule dell'ilo.

5°) *La cellula di Vernon.* Il primo Autore che abbia descritto la cellula di VERNON come tale nell'ovario di Filugello è stato TOYAMA (169), il quale, pur affermando di averla riscontrata nelle larve « in quite young stages » (determinazione alquanto vaga!) dà un disegno di detta cellula nelle larve di 3° età, dal quale si rileva che la cellula in questione ha nel tubulo ovarico dei banchi di questa età la stessa forma triangolare e, in generale, lo stesso aspetto già riconosciute nei follicoli testicolari delle larve di 3 giorni. ST. GEORGE VON LA VALETTE (153) raffigura tale cellula già in ovari di embrioni prossimi alla schiusura (ma dice poi di averla vista, come nel testicolo, in larve di 4 mm.). Secondo questo A. essa giacerebbe sul fondo cieco di ogni tubulo ovarico e si distinguerebbe dalle cellule germinali vicine (almeno a quanto risulta dalla figura riportata nel lavoro

dell'A.) pel citoplasma finemente granuloso e ben colorabile che circonda il nucleo; quest'ultimo conterrebbe filamenti di cromatina e talora un nucleolo.

GRÜNBERG (58) descrive ed illustra quella che egli chiama *Apicalzelle* nei tubuli ovarici dell'embrione: essa — secondo questo A. — sarebbe situata nella stessa posizione che occupa nei follicoli testicolari, ma avrebbe nell'ovario uno sviluppo minore che nel testicolo; la sua forma sarebbe raramente triradiata come nel testicolo (mancherebbe cioè il prolungamento plasmatico penetrante nella cavità follicolare), ma per lo più si presenterebbe come una striscia di plasma più scuro di quello circostante; tale striscia, aderente alla *tunica propria* (*Hüllmembran*), avrebbe una forma debolmente falcata; il nucleo della cellula in questione sarebbe di solito più piccolo di quello degli oogoni ed avrebbe una forma più allungata di questi. SCHNEIDER (141) osserva la cellula di VERNON nei tubuli ovarici delle larve di *Deilephila euphorbiae* di 1° età, ma la sua descrizione non collima in ogni punto con quella di GRÜNBERG. Infine MACHIDA (96) riconosce tale cellula in ovari di larve neonate di Filugello e la distingue dalle altre cellule per la sua posizione, per la colorabilità particolare del citoplasma e per l'aspetto chiaro del nucleo dovuto alle modalità di aggregazione della cromatina (cosa questa che però sarebbe rilevabile solo in banchi di 10 giorni): il nucleo sarebbe simile a quello delle cellule epiteliali e, contrariamente all'asserzione di ST. GEORGE VON LA VALETTE, il nucleolo mancherebbe; il prolungamento plasmatico, che dà alla cellula in discorso la stessa forma triangolare che ha nel testicolo, comparirebbe solo al 2° giorno della vita larvale.

Finalmente, sulla presenza di una membrana primitiva intorno alla cellula, sui rapporti di questa con la membrana propria del tubulo ovarico nonché con la cavità del tubulo stesso, e quindi sull'origine della cellula in questione, i citati Autori affermano gli stessi fatti già discussi per la cellula di VERNON nei testicoli.

Quanto alla funzione, le opinioni, per la cellula di VERNON dell'ovario, sono ancora più discordi che per quella del testicolo, poichè a coloro che parlano di funzione genitale (CHODKOVSKY (26)), e a coloro che parlano di funzione di sostegno e trofica (JÖRGENSEN (79), TOYAMA (169), ST. GEORGE VON

LA VALETTE (153), ZICK (218), si aggiungono degli Autori (GRÜNBERG (58), MACHIDA (96)), che nella cellula apicale dell'ovario vedono una cellula abortiva senza funzione alcuna, o, tutt'al più, con una funzione trofica limitata alla prima età della vita larvale (SCHNEIDER (141)).

A me non riuscì, pur impiegando delicata tecnica, di riconoscere la cellula di VERNON nell'ovario dell'embrione. Il fondo cieco degli abbozzi delle 4 concamerazioni, anche negli embrioni più avanzati di sviluppo, mi si è sempre mostrato occupato da grandi cellule germinali, affatto simili alle altre; nè potei osservare, al di là di queste, e cioè proprio a ridosso della parete ovarica, strisce di citoplasma più scuro (GRÜNBERG) o comunque formazioni tali che potessero permettermi di riconoscere la cellula di VERNON.

Nell'ovario tale cellula è stata da me osservata per la prima volta soltanto in haebi neonati. Rimando quindi ogni discussione in proposito alla seconda parte del presente lavoro.

Conclusioni.

Il contributo di nuovi reperti che le presenti ricerche aggiungono alle osservazioni degli Autori che mi precedettero si riassume, in breve, nei punti seguenti:

1) E' data una descrizione dettagliata e una illustrazione della struttura istologica delle ghiandole genitali in embrioni prima della blastocinesi.

2) Viene dimostrato che, a un primitivo stadio nel quale la gonade è formata da due cumuli allungati di cellule, segue, prima della blastocinesi, uno stadio nel quale tale duplicità scompare, e la gonade (nella quale ancora non si può distinguere il sesso) si accorcia e si allarga; infine, dopo la blastocinesi, segue uno stadio finale in cui la gonade è sessualmente differenziata e comincia a suddividersi in 4 concamerazioni.

3) Si dimostra la differenziazione, già prima della blastocinesi, fra cellule dell'involucro e cellule germinali.

4) E' delimitata nel tempo, meglio di quanto si sapesse finora, l'epoca nella quale è possibile distinguere il testicolo dal-

l'ovario. Infatti, pur non avendo potuto cogliere l'età esatta in cui nell'embrione incomincia a essere nettamente riconoscibile il sesso, ho potuto però stabilire che il primo momento della distinguibilità del sesso deve essere compreso fra lo stadio di massimo raccorciamento che prelude alla blastocinesi e lo stadio di blastocinesi ben compiuta allorchè l'embrione ha già allungato il suo addome fino a occupare col suo corpo i tre quarti della periferia dell'ovo.

5) Le nostre conoscenze sulla struttura delle gonadi dell'embrione dopo la blastocinesi sono arricchite di numerosi dettagli nuovi, che in parte modificano alcune descrizioni dei precedenti Autori. Tali dettagli si riferiscono soprattutto alla morfologia della cellula di VERNON nel testicolo, alla morfologia e disposizione delle cellule germinali, all'istologia della regione dell'ilo, e all'istologia dell'involucro esterno.

La una successiva memoria sarà descritta l'ulteriore evoluzione delle gonadi del Filugello durante la vita larvale.

BIBLIOGRAFIA (1)

1. - ACQUA C. - *Il Bombyce del Gelsu*. G. Cosari ed., Ascoli Piceno, 1939.
2. - ALLMANN STUART L. - *Studies of the Anatomy and Histology of the reproductive System of the Female Codling Moth, Carpocapsa pomonella L.* Calif. Univ. Publ. Entom., Vol. V, 1930, N. 7, p. 135.
3. - AMIELA K. - *Ueber die Differenzierung der Keimbahnzellen bei den Copepoden*. Arch. f. Zellf., Bd. VI, 1911.
4. - BALDANI E. G. - *Mémoire sur la génération des Aphides*. Ann. d. Sc. Nat. Sér. 5, T. XI, 1869.
5. - Id. *Sur la signification des cellules poires des Insectes*. C. R. Ac. Sc., T. XCV, 1882.
6. - Id. *Contribution à l'étude de la formation des organes sexuels chez les insectes*. Recueil Zool. Suisse, T. II, 1885, p. 527.
7. - BALZER R. - *De Anatomia Spingiderum*, 1864, 1 Tav.
8. - BASSI G. A. - *Studi sulle junctioni degli organi genitali degli Insetti, più specialmente del Bombyx mori*. Atti 5^a Riunione Scienze Italiane, Lucca, 1844.
9. - BEER, S. - *Ricerca sull'applicazione dei rughi X alla ginecrinatura dei borsoli e allo studio della crisalide e della farfalla del Bombyx mori L.* Questo bollettino, Vol. II 1930 p. 297.
10. - BERLESE A. - *Gli Insetti*. Vol. I, p. 840 e segg. Soc. Ed. Liburici - Milano, 1909.
11. - BESSERS E. - *Studien über die Entwicklung der Sexualdrüsen bei den Lepidopteren*. Zeitschrift f. wiss. Zool., Bd. XVII, 1867.
12. - BISSON E. - *Intorno alla differenziazione sessuale nel flagello*. - L'Industria Scienza - A. XXXVI, N. 20, Torino, 1902.
13. - BOWEN R. H. - *Studies on insect spermatogenesis. V. On the formation of the sperm in Lepidoptera*. Quart. Journ. micr. Sc., Vol. LXVI, 1922 g.
14. - BRANTZ A. - *Osservazioni comparative sulle uova e sugli ovuri degli Insetti* (in corso). Soc. Amici d. Sc. Nat., Vol. XXII, 1876, Mosca.
15. - Id. *Das Ei und seine Bildungsstadien. Ein vergleichendes morphologischer Versuch mit Zugrundlegung des Insectometes*. - Leipzig 1878.
16. - Id. *Die Ernährung und das Wachstum des Dotters im Insektenei*. Zool. Anz., Bd. VIII, 1885, 5, s. 188.
17. - BRANDY E. - *Zur Anatomie des Hepialus humuli*. Horae Soc. Entom. Ross., Bd. XIV, 1879; Zool. Anz. 1880, s. 166.
18. - BÜTSCHLI O. - *Vorläufige Mitteilung über Bau und Entwicklung der Samenröhren bei Insecten und Crustaceen*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XXI, 1871, s. 402.
19. - Id. *Nähere Mitteilung über die Entwicklung und den Bau der Samenröhren bei Insecten*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XXI, 1871, s. 526.
20. - CANNON J. B. - *Cytodivision des Arthropodes*. La Cellule, Vol. I, 1884.
21. - CHOLODKOVSKY N. - *Ueber die Hoden der Schmetterlinge*. - Zool. Anz., Bd. III, 1880, s. 115.

(1) Questa bibliografia si riferisce non solo al presente lavoro, ma anche alla seconda memoria di prossima pubblicazione.

23. - Id. *Ueber den Bau der Testikel bei Schmetterlinge*. Zool. Anz., Bd. III, 1880, s. 214.
24. - Id. *Ueber die Hoden der Lepidopteren*. Zool. Anz., Bd. VII, 1884, s. 564.
25. - Id. *Zur Kenntnis der männlichen Geschlechtsorgane der Dipteren*. Zool. Anz., Bd. XVII, 1894, s. 302.
26. - Id. *Zur Frage über die Anfangsstadien der Spermatogenese bei den Insekten*. Zool. Anz. Bd. XVII, 1894, s. 302.
27. - Id. *Ueber den Bau des Dipterenhodens*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LXXXII, 1905, s. 405.
28. - Id. *Zur Kenntnis der Geschlechtsapparates der Musciden*. Zeitschr. f. wiss. Insekten Biol. Berlin 1909.
29. - CORNELI R. - *Sull'organo di Herold nel buco da seta*. Giorn. di Agric. di Rovigno, N. 8, 1876.
30. - COOK M. H. - *Spermatogenesis in Lepidoptera*. Proc. Acad. of Nat. Sc., Philadelphia, Vol. LXII, 1910, p. 294, pl. XXXI-XXXVII.
31. - CORNELIA E. - *Monografia del Bombyce del gelsu*. G. Brigola, Milano, 1856.
32. - DAWIDOFF C. - *Traité d'embryologie comparée des Invertébrés*. Masson, éd., Paris, 1928.
33. - DE BRUYNE C. - *Recherches au sujet de l'intercession de la phagocytose dans le développement des Invertébrés*. Arch. de Biol., T. XV, 1896.
34. - Id. *La cellule folliculaire du testicule de l'Hydrophilus piceus*. Anat. Anz., Bd. XVI, 1899.
35. - DEIDNER P. H. - *Spermatogenesis in Phyllocnistia Cynthia*. Biol. Bull., Vol. XIII, 1907, p. 2.
36. - DE GEXI C. - *Observation sur la propriété singulière qu'ont les grandes cellules à quatorze jambes et à double queue, du saule, de sécréter de la liqueur*. Mém. Soc. étrang. Paris, 1780.
37. - DEMANNET C. - *Der Geschlechtsapparat von Dytiscus marginalis L.* Ein Beitrag zur Morphologie des Insektenkörpers. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. CIII, 1912.
38. - DEMARITZOFF H. - *Zur Kenntnis des Baues des Insektenhodens*. Zool. Anz., Bd. XXV, 1902, s. 575.
39. - DE PLACIDIS E. - *Embryologie de l'auf da ver à soie*. 2^{de} Mém. Des sexes. Privata, 1887.
40. - DUFOUR L. *Fragments d'anatomie entomologique etc.* Ann. Sc. Nat. Zool., Vol. VIII, 1857, p. 9.
41. - EBERN V. von. - *Spermatogenese bei den Säugthieren*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXXI, 1888.
42. - ERLANGER R. V. - *Ueber den sogenannten Nebensamen in den männlichen Geschlechtszellen der Insecten*. Zool. Anz., Bd. XIX, 1896, s. 65.
43. - Id. *Spermatogenetische Fragen. I. - Die Verson'sche Zelle*. Zool. Zentralbl., Bd. III, 1896, s. 81.
44. - FILIPPI F. - *Alcune osservazioni anatomico-fisiologiche sugli Insetti in generale et in particolare sul Bombyce del gelsu*. Ann. Acc. Agric., Vol. 5, p. 525, Torino 1852.
45. - FLEMMING W. - *Elementare Beobachtungen über die Entwicklung der Spermatocytomen bei Salamandra maculosa*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXXI, 1888.
46. - FOOT K. and STROBEL E. C. - *Pseudoreduction in the oogenesis of Allotobophora foetida*. Arch. f. Zellf., Bd. V, 1910.
47. - Id. *Amitosis in the ovary of Protener bellingeri and a study of the chromatin nucleolus*. Arch. f. Zellf., Bd. VII, 1911.
48. - GATENBY BRONTE J. - *Spermatogenesis of the Lepidoptera*. Nature, vol. CXXI, 1923.

49. - GIARINA A. - Origine dell'occhio e della cellula nutritiva nel *Dytiscus*. Primo contributo allo studio dell'oogenesi. Internat. Monatschr. Anat. Phys., Bd. XVIII, 1901, s. 417.
50. - Id. Sui primi stadi dell'oogenesi e principalmente nelle fasi di sinapsi. Ann. Anz. Bd. XXI, 1902, s. 293.
51. - Id. Sull'esistenza di una speciale zona plasmatica perianteriore nell'occhio e su altre questioni che vi si connettono. Giorn. di Sc. nat. e econom., Vol. XXI, p. 114, Palermo 1904; Pubbl. del Laborat. Zool. di Palermo. 1904.
52. - GILSON G. - Etude comparée de la spermatogénèse chez les arthropodes. La Cellule, T. I, II, IV, Louvain, 1885, 1886, 1889.
53. - GRAMBORI R. - Il flagello e le industrie oologiche. L. Trevisani ed. Milano, 1924.
54. - GRIFFITHS A. - On the reproductive organs of *Noctua pronuba*. Proc. Roy. Soc. of Edinburgh, Vol. XX, 1894, p. 92.
55. - GROSS J. - Untersuchungen über das Ovarium der Hemipteren. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LXIX, 1901.
56. - Id. Untersuchungen über die Ovarien von *Mallaphaga* und *Pediculiden*. zool. Jahrb. Abth. Anat. u. Ont. Bd. XXII, 1906.
57. - Id. Untersuchungen über die Histologie des Insektenovariums. Zool. Jahrb. Abth. Anat. u. Ont., Bd. XVIII, 1903, s. 71.
58. - GRÜNBERG K. - Untersuchungen über die Keim- und Nährzellen in den Hoden und Ovarien der Lepidopteren. Ein Beitrag zur Kenntnis der Entwicklung aus Züchtung der Keimbälger bei den Insekten. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LXXIV, 1903, N. 3; Zool. Anz., Bd. XXVII, 1902, s. 131.
59. - HABERLANDT F. - Der Seidenspinner des Maulbeerbaumes. Wien, 1871.
60. - HEGTSCHEWELER J. J. - Dissertatio inauguralis zootomica de insectorum genitalibus. Turici, 1820.
61. - HEGENER R. W. - The origin and early history of the germ cells in some chrysomelid beetles. Journ. of Morph., Vol. XX, 1904.
62. - Id. The germ-cell cycle in animals. New York, 1917.
63. - Id. Studies on germ-cells. IV - Protoplasmic differentiation in the oocyte of certain Hymenoptera. Journ. of Morph., Vol. XXVI, 1915.
64. - HENKING K. - Untersuchungen über die ersten Entwicklungsstadien in den Eiern der Insekten. II. Ueber Spermatogenese und deren Beziehung zur Entwicklung bei *Pyrochoris apterus* L. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LI, 1891.
65. - HENNEGUY L. F. - Sur les rapports des cils strobilatis avec le centrosome. Arch. Anat. Mikr., Vol. I, 1898.
66. - Id. Les Insectes. Morphologie, Réproduction, Embryogénie. Masson, éd. Paris, 1904.
67. - HESLMANN F. - Beiträge zur Lehre von der Entstehung der karyokinetischen Spindel. Arch. mikr. Anat., Bd. XXVII, 1891.
68. - HEROLD M. - Entwicklungsgeschichte der Schmetterlinge anatomisch und physiologisch bearbeitet. Cassel u. Marburg, 1815.
69. - Id. Disquisitiones, etc. p. f. 11, 18 o Ann. de Sc. Nat., Vol. XII, 1839.
70. - HERTWIG O. - Vergleich der Ei und Samenbildung bei Nematoden. Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXXVI, 1890.
71. - Id. Die Zelle und die Gewebe. Jena, 1893.
72. - HEYMONS R. - Die Entwicklung der weiblichen Geschlechtsorgane von *Phytodromia (Blatta) germanica* L. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LIII, 1891.
73. - Id. Die Entstehung der Geschlechtszellen bei den Insekten. Sitz. Ber. Ges. Nat. Freunde, Berlin 1893, s. 263.
74. - Id. Entwicklungsgeschichte Untersuchungen an *Lepisma saccharina*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LXII, 1897.

75. - IKEDA F. - Etudes sur le développement des organes de la reproduction des vers mâles. (in japonaises). Bull. Ass. Sér. du Japon, n. 221, 222, 223, 224. Tokyo, 1910.
76. - ISHIWATA S. - Sur le sexe de *Psephus* de ver à soie. Zool. Anz., Bd. XLIII, 1913, s. 193.
77. - Id. Distinction du sexe des oeufs du ver à soie. Bull. Ass. Sér. du Japon, A. I. 1913, N. 1 et 2.
78. - JACKSON HATCHETT W. - Studies on the Morphology of the Lepidoptera. Trans. Linn. Soc., II s. Zool., Vol. IV, p. 4, 1890.
79. - JÜRGENSON M. - Untersuchungen über die Eibildung bei *Nepheles vulgaris* Wied. Arch. f. Zellf., Bd. II, 1909.
80. - KATSUKI K. - Cytological studies on the sexual cells of silkworms. (in japonese) Rep. of the Imp. Seric. Exp. Station, Nakano, Tokyo, Vol. III, 1918, N. 3.
81. - Id. Cytologische Studien über die Samenzellen von Seidenraupen. Bull. Imp. Seric. Stat. Tokyo, 1918, Vol. I, N. 2.
82. - KLINGHARDT V. - Beiträge zur Morphologie und Morphogenese des männlichen Genitalapparates der *Rhaphiocerens*. Erlange. Dissert., s. 1-32, 2 Taf., Leipzig 1900.
83. - KORSCHÉLY E. - Zur Frage nach dem Ursprung der verschiedenen Zellenelemente der Insektenovarien. Zool. Anz., Bd. VIII, 1883, s. 581.
84. - Id. Ueber die Entstehung und Bedeutung der verschiedenen Zellenelemente des Insektenovariums. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XIII, 1886, s. 537.
85. - Id. Ein weiterer Beitrag zur Lösung der Frage nach dem Ursprung der verschiedenen Zellenelemente der Insektenovarien. Zool. Anz., Bd. IX, 1886.
86. - Id. Ueber einige interessante Vorgänge bei der Bildung der Insecteier. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XLV, 1887, s. 327.
87. - Id. Beiträge zur Morphologie und Physiologie des Zellkerns. Zool. Jahrb. Abth. f. Anat. und Ont., Bd. IV, 1889.
88. - Id. und HEIDER K. - Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Tiere. Jena, 1890-1902.
89. - LANDOH H. - Entwicklung der hachselähnigen Spermatozoiden bei den Lepidopteren. Schüller's Archiv. f. Anat. u. Physiol. 1866, s. 50.
90. - LÉCAILLON A. - Recherches sur la structure et le développement postembryonnaire de l'ovaire des Insectes. Bull. Soc. Entom. de France, 1900-1901.
91. - Id. Sur les diverses cellules de l'ovaire qui interviennent dans la formation de l'oeuf des Insectes. C. R. Ac. Sc., T. CXXXII, 1901, p. 586.
92. - LETIC F. - Die Eierstock und die Samentasche der Insekten. Nova Acta Acad. Leop. Carol., Bd. XXXIII, 1867.
93. - LOEW H. - Beitrag zur anatomischen Kenntnis der inneren Geschlechtsorgane der saugflügeligen Insekten. Germar's Zeitschr. f. Entom., Bd. III, 1841, s. 386.
94. - LYONET P. - Traité anatomique de la chenille qui ronge le bois de soie. Avec 18 planches. II éd., La Haye, 1762.
95. - MACHIDA JIRO - The oogenesis of the silkworm. (in japonese). Reports Imp. Stat. Seric. Exper. Nakano, Tokyo, Vol. VI, N. 2, 1921.
96. - Id. The development of the ovary in the silkworm (*Bombyx mori*). Journ. of the Coll. of Agr., Imp. Univ., Tokyo, Vol. VIII, 1919-20, p. 293.
97. - Id. Eine experimentelle Untersuchung über die artigen Spermatozoiden des Seidenraupens *Bombyx mori* L. Zeitschr. f. Zellf. u. mikr. Anat., Bd. IX, 1925, s. 466.
98. - MAESTRI A. - Frammenti anatomici, fisiologici e patologici sul Baco da seta. Pavia, 1856.
99. - MALPIGHI M. - Dissertatio epistolica de Bombyce. Londini 1669.

100. - MARSHALL M. S. - *The reproductive organs of the female male moth. (Hemiteles hiata Drury)*. Trans. Wisconsin. Ac. of Sc. Ar. and Lett., Vol. XV, 1905, p. 1.
101. - MC. GILL C. - *The behavior of the nucleus during oögenesis of the dragon-fly with especial reference to synapsis*. Zool. Jahrb. Abth. Anat. u. Ont., Bd. XXIII, 1907.
102. - METSCHNIKOFF E. - *Embryologische Studien an Insekten*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XVI, 1866.
103. - MEYER F. - *Ueber eigenthümliche mitotische Prozesse in jungen oocyten von Salamandra maculosa*. Anat. Anz., Bd. X, 1895.
104. - Id. - *Ueber Centrialkörper in männlichen Geschlechtszellen von Schmetterlinge. (Pieris brassicae, Pyrausta niciphalis, Sabiaes euphorbiae, Sphinx ligustri, Hesperia sinularis)*. Anat. Anz., Bd. XIV, 1897, s. 1.
105. - Id. - *Ueber den von La Valette St. George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. LVI, 1900, s. 553.
106. - Id. - *Ueber oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung nach Beobachtungen an Paludina und Pygæus*. Arch. f. mikr. Anatom., Bd. LXI, 1902, s. 1.
107. - MEYER H. - *Ueber die Entwicklung des Fortkörpers, der Trachen und der Keimberührenden Geschlechtsstelle bei den Lepidopteren*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. I, 1849, s. 175.
108. - MONTGOMERY TH. H. - *The spermatogenesis up to the formation of the spermatid*. Zool. Jahrb. Abth. Anat., Bd. XII, 1890.
109. - MOORE J. E. S. - *On the structural changes in the reproductive cells during the spermatogenesis of the Elasmobranchs*. Quart. Journ. Mic. Sc., Vol. XXXVIII, 1896.
110. - MÜLLER - CALÉ K. - *Ueber die Entwicklung von Cypris incongruus*. Zool. Jahrb. Abth. Anat. u. Ont., Bd. XXVI, 1912.
111. - MUNSON J. B. - *Spermatogenesis of the Butterfly Papilio rutulus*. Proc. of Boston Soc. Nat. Hist., Vol. XXXIII, 1907.
112. - NASSONOV H. - *Sulla morfologia delle ghiandole del Verson e ai quelle dello Stolon negli Insetti. (in russo)*. Varsavia, 1905.
113. - NELSON J. A. - *Embryology of the honey bee*. Princeton, 1915.
114. - NITSCH H. - *Beobachtungen über die Eierstockschuppen der weiblichen Processionsspinner Cnethocampa processionea*. Sitzber. u. Abhdlgn. d. natw. Ges. Isis. Dresden, 1893, Abhdlgn. II, s. 108.
115. - NUSBAUM J. - *Zur Entwicklungsgeschichte der Ausführungsgänge der Samenrüden bei den Insekten*. Zool. Anz., Bd. V, 1885, s. 637; Morph. Jahrbücher, Bd. IX, 1882.
116. - OGDEN K. - *Kasan no Senshokutai ni tsuite*. Dobutsugaku Zassi, Vol. XXXII, 1919.
117. - PACKARD A. S. - *Text Book of Entomology*. London 1909.
118. - PALMÉK J. A. - *Ueber paarige Ausführungsgänge der Geschlechtsorgane bei Insekten*. Leipzig 1884.
119. - Id. - *Zur vergleichenden Anatomie der Ausführungsgänge der Sexualorgane bei den Insekten*. Morph. Jahrbücher, Bd. IV, 1878, Bd. IX, 1883.
120. - PAULCKE W. - *Ueber die Differenzierung der Zellenelemente in Ovarien der Blasenkönigin (apis mellifica)*. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. und Ont., Bd. XIV, 1908.
121. - PAULMIER F. C. - *The spermatogenesis of Anasa tritici*. Journ. of Morph., Vol. XV, 1879, Supplement.
122. - PÉREZ J. - *Sur l'histogénèse des éléments contenus dans les gaines oigères des Insectes*. C. R. Ac. Sc., T. CII, 1886, p. 181.
123. - PÉTERSON W. - *Beiträge zur Morphologie der Lepidopteren*. Mém. Ac. Sc. de St. Pétersbourg, Vol. IX, 1909, N. 6.
124. - Id. - *Die Morphologie der Generationenorgane der Schmetterlinge*. Mém. Ac. Sc. de St. Pétersbourg, Vol. XVI, 1904, p. 84.
125. - Id. - *Ueber die Spermatozonen der Schmetterlinge*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LXXXVIII, 1907, s. 14.
126. - PLATNER C. - *Ueber die Entstehung des Nebenkerns und seine Beziehung zur Kernteilung*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXVI, 1896.
127. - Id. - *Die Karyokynese bei den Lepidopteren als Grundlage für eine Theorie der Zellteilung*. Inaugural. Dissertat. f. anat. Hist., Bd. III, 1886.
128. - Id. - *Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Theilung. V. Samenbildung und Zelltheilung im Hohlen der Schmetterlinge. VI. Bildung der ersten Richtungsipindel in Ei von Anlostomum Gulo*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXXIII, 1899.
129. - POHAK N. & TAJJAU LAU - *Les glandes génitales des vers à soie*. C. R. Soc. de Biol., Vol. LXXXIX, 1923, p. 787.
130. - POUCHET G. - *Sur la nature du testicule des Arthropodes*. C. R. Soc. de Biol., T. V, 1868, p. 685.
131. - PÉREUSSE F. - *Ueber die antitotische Kernteilung in den Ovarien der Hemipteren*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LIX, 1895.
132. - QUATRE E. - *Numero vario dei tubi ovarici nel Bombyx mori*. Boll. mens. di Biologie, Serie 3, A. I, 1895, p. 136.
133. - RAES O. - *Zur Kenntnis der Bildung bei Rhiostrogus solstitialis L.* Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LXVII, 1900, s. 340.
134. - ROBIN CH. - *Mémoire sur la production des cellules du blastomère chez quelques Articulés*. C. R. Ac. Sc., T. LVI, 1862; Journ. de la Physiologie, T. V., 1862.
135. - SABATIER A. - *Sur la morphologie de l'ovaire chez les Insectes*. C. R. Ac. Sc., T. CII, 1886, p. 61.
136. - SCHLÏPRA F. - *Spermatogenesis von Dytiscus*. Zool. Jahrb. Abth. Anat. und Ont., Bd. XXII, 1907.
137. - SCHEIDENBERG A. - *Oöogenese, Eizellang und Befruchtung von Fasciola hepatica L.* Arch. f. Zellf., Bd. VI, 1911.
138. - SCHNEIDER A. - *Ueber die Entwicklung der Geschlechtsorgane der Insecten*. Zool. Beiträge von A. Schneider, Bd. I, 1883.
139. - Id. - *Die Entwicklung der Geschlechtsorgane bei den Insekten*. Zool. Beiträge von A. Schneider, Bd. I, 1885.
140. - Id. - *Ueber die Anlage der Geschlechtsorgane und die Metamorphose des Herzens bei den Insekten*. Zool. Beiträge von A. Schneider, Bd. I, 1885.
141. - SCHNEIDER K. - *Die Entwicklung der Eierstöcke und Eies von Dactylophila euphorbiae*. Arch. f. Zellf., Bd. XIV, 1917.
142. - SCHRIEDER CH. - *Handbuch der Entomologie*, herausgegeben von C. St. SCHÜDDER, Bd. I, s. 467; G. Fischer, Jena, 1928.
143. - SELVATICO P. S. - *Sullo sviluppo embrionale dei bomicidi*. Ann. R. Mus. Bacol. Padova, Vol. IX, 1882, p. 79.
144. - SOVER CH. - *Nouvelle série de faits cytologiques relatifs à l'ovogénèse des Insectes*. C. R. Soc. de Biol., T. LXIII, 1907, p. 152.
145. - Id. - *Considérations sur les cellules folliculaires et certaines homologues de l'ovaire des Insectes*. C. R. Soc. de Biol., T. LXIII, 1907, p. 242.
146. - Id. - *Considérations théoriques sur l'ovogénèse des Insectes*. C. R. Soc. de Biol., T. LXII, 1907, p. 1355.
147. - Id. - *Recherches cytologiques sur l'évolution de l'œoploplasmé chez les Lépidoptères*. C. R. Soc. de Biol., T. LXII, 1907, p. 1137.

148. - SEICHARDT C. - Beitrag zu der Entwicklung der männlichen Genitalien und ihrer Ausführgänge bei Lepidopteren. Verh. d. naturhist. Vereines des Rheinlandes zu Bonn, Bd. XLIII, 1886, s. 1.
149. - ST. GEORGE VAN LA VALETTE A. - Ueber die Genese der Samenkörper. II. Mittheilung. Arch. f. mikr. Anat., Bd. III, 1867, s. 263.
150. - Id. Ueber die Genese der Samenkörper. III. Mittheilung. Arch. f. mikr. Anat., Bd. III, 1867, s. 263.
151. - Id. Spermatologische Beiträge; II. Pf. V. Mittheilungen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXVII, s. 1. Bd. XXVIII, s. 1; Bd. XXX, s. 486; 1886-87.
152. - Id. Zelltheilung und Samenbildung bei *Ferula auricularis*. Festschr. f. von Kolliker, 1887.
153. - Id. Samen- und Eibildung beim Seidenaspinner (*Bombyx mori*). M. Schulze's Arch. f. mikr. Anat., Bd. I, s. 751, Bonn 1897.
154. - STEIN F. - Vergleichende Anatomie und Biologie der Insekten. I. Ueber die Geschlechtsorgane und den Bau des Hinterleibes bei den weiblichen Käfern. Berlin, 1847.
155. - STEVENS N. M. - Studies in spermatogenesis. I, II. A comparative study of the Heterochromosomes in certain species of Coleoptera, Hemiptera and Lepidoptera, with special Reference to sex Determination. Carnegie Inst. Publ. II, N. 36, 1905.
156. - STITZ H. - Der Genitalapparat der Mikrolepidopteren. Zool. Jahrb. Abth. Anat. u. Ont., Bd. XIV, 1901.
157. - Id. Zur Kenntniss des Genitalapparat der Lepidopteren. Zool. Anz., Bd. XXVII, 1904, s. 135.
158. - STRASBURGER K. - Ueber der Theilungsorgane der Zellkerne. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXI.
159. - SUCKOW F. W. L. - Die Geschlechtsorgane der Insekten. Housinger's Zeitschr. f. Organ. Physik, Bd. II, 1828.
160. - SUTTON W. - The spermatogonial divisions in *Brachystola magna*. Kansas Univ. Quart. Lawrence, Vol. IX, 1901, p. 135.
161. - SWAMINERBAM JON. - Bijbel der nature of historic der Insecten. (Biblia Naturae sive Historia Insectorum in classes certis reducta). 2 Vol. 1737 - 38.
162. - THOMSON A. - Voe Ovum nella Todd's Cyclopaedia, Vol. V, 1869.
163. - TICHOMIROV A. - Ueber den Bau der Sexualdrüsen und die Entwicklung der Sexualproducte bei *Bombyx mori*. Zool. Anz., Bd. III, 1886, s. 235.
164. - Id. Entwicklungs-geschichte des Seidenpauers (*Bombyx mori*) im Ei. (in russo). Arb. Laborat. Zool. Mus. Moskau, 1882, Bd. 1.
165. - Id. Sull' sviluppo delle uova del *Bombice del gelso*. - Boll. mens. di Bachic. Padova, 1887.
166. - Le développement du ver à soie du mûrier dans l'Oeuf. - Rapport présenté à la Chambre de Commerce de Lyon, 1891.
167. - Id. Zur Anatomie des Insektenhodens. - Zool. Anz., Bd. XXI, 1898, s. 623.
168. - TOTAMA K. - Preliminary note in Spermatogenesis of *B. mori*. - Zool. Anz., Bd. XVIII, 1894, s. 29.
169. - Id. On the spermatogenesis of the Silk-worm. - Bull. Agric. Coll. Tokyo Imp. Univ., Vol. II, 1894, p. 125.
170. - Id. Etude sur les crasses de ver à soie. - Sanelwurton, 1902.
171. - VAN BENDEN ED. - Recherches sur la maturation de l'oeuf et la fécondation. Arch. de Biol., t. IV, 1883.
172. - VAREY C. et CONTE A. - L'apparition des initiales génitales chez la *B. mori*. - Laborat. d'études de la soie, Lyon, Vol. XV, 1911-18; C. R. Soc. de Biol. Vol. LXXI, 1911, p. 712.
173. - VARDÓ V. P. - Contribuzione à l'étude de l'ovogénèse des Insectes: l'ovogénèse des *Coleoptères Dytiscides*. - Avernia biologica, N. 3, 1910, Clermont-Ferrand.
174. - VERSON E. - Contribuzioni alla spermatogenesi. - Boll. mens. di Bachic. 1889, N. 10, p. 138.
175. - Id. Zur Biologie der Zelle. - Zool. Anz., Bd. XII, 1889, N. 300.
176. - Id. Zur Spermatogenese. - Zool. Anz., Bd. XII, 1889, s. 109.
177. - Id. La spermatogenesi nel *Bombyx mori*. - Pubbl. R. Staz. Bocol. di Padova, III, 1889.
178. - Id. Zur Beirtheilung der amitotischen Kernteilung. - Biol. Zentralbl., Bd. XI, 1891.
179. - Id. Spermatogenèse du *Bombyx mori*. - Arch. It. de Biol. T. XV, N. 2, Torino 1891.
180. - Id. Zur Spermatogenese bei der Seidenraupe. - Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LVIII, 1894.
181. - Id. Die postembryonale Entwicklung der Ausführgänge beim männlichen Geschlechtsapparat von *B. mori*. - Zool. Anz., Bd. XVIII, 1895.
182. - Id. Lo sviluppo postembrionale degli organi sessuali accessori nella femmina di *Bombyx mori*. - Nota preventiva, Venezia, Tip. Ferrari, 1896.
183. - Id. Die postembryonale Entwicklung der Ausführgänge und der Nebendrüsen beim weiblichen Geschlechtsapparat von *B. mori*. - Zool. Anz., N. 505, 1896. - Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LXI, 1896. - Atti R. Ist. Ven. Sc. Lett., Vol. VIII, S. VIII, 1896.
184. - Id. Sull'aspetto della cellule gigante nei follicoli testicolari degli Insetti. - Pubbl. R. Staz. Bocol. di Padova, XII, 1899. - Atti R. Ist. Veneto di Sc., Lett. e Ar., Vol. LVIII, 1899. - Ann. R. Staz. Bocol. di Padova, vol. XXVII, 1899.
185. - Id. Ancora sulla spermatogenesi degli Insetti. - Ann. R. Staz. Bocol. di Padova, vol. XXX, 1903, p. 81.
186. - Id. Zur Entwicklungsgeschichte der männlichen Geschlechtsorgane bei *Jaenichin*. - Zool. Anz., Bd. XXVII, 1904, N. 14.
187. - Id. Ueber die Versuche Zelle der Astaren in den Hodenkanal der Lepidopteren. - Zool. Anz., Bd. XXXVIII, 1911, N. 5.
188. - Id. Sulla penetrazione di trachee entro ai follicoli testicolari dei Lepidotteri. - Ann. R. Staz. Bocol. di Padova, Vol. XXXIX-XL, 1913, pp. 23, 27.
189. - Id. Cicero pro domo sua. La cosiddetta cellula di Verzon. - Ann. R. Staz. Bocol. di Padova, Vol. XXXIX - XL, 1913, p. 107.
190. - Id. Il *Flugel* e l'arte di governarlo. - Soc. ed. Libreria, Milano 1917.
191. - VERSON E. o BISSON E. - Sviluppo postembrionale degli organi sessuali accessori nel maschio del *B. mori*. - Pubbl. R. Staz. Bocol. di Padova, VIII, 1895.
192. - Id. Sviluppo postembrionale degli organi genitali accessori nella femmina del *B. mori*. - Pubbl. R. Staz. Bocol. di Padova, IX, 1896.
193. - VON RATH O. - Ueber die Bedeutung der amitotischen Kernteilung im Hoden. - Zool. Anz., Bd. XIV, 1891.
194. - Id. Zur Kenntnis der Spermatogenese von *Grylotalpa vulgaris*. - Arch. f. mikr. Anat., Bd. XI, 1892.
195. - Id. Beiträge zur Kenntnis der Spermatogenese von *Salamandra maculosa*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LVIII, 1894, s. 154.
196. - Id. Ueber den feineren Bau der Drüsenzellen des Kopfes von *Anilocra mediterranea* Leach, etc. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LX, 1895, s. 5.
197. - WAGNER R. - *Prodrum* histories generatiosis hominis atque animalium, etc. Lipsiae, 1836.

198. - WALDEYER W. - Eierstock und Ei. Ein Beitrag zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Sexualorgane. Leipzig, 1870.
199. - Id. Eierstock und Nebeneierstock. Strickers Handbuch der Histologie, Leipzig, 1871.
200. - Id. Die Geschlechtszellen; in Handbuch d. vergleich. u. exp. Entwicklungsgeschichte d. Wirbelthiere, her. v. O. Hertwig Jena 1903.
201. - WATANABE K. - Kasen no Santsi o kosei suru Kikusan non Kibei ni tsuite no Kenkiu. Sangyo Shimpu, N. 291, a. 292, 1916.
202. - WEISMANN A. - Die Entwicklung der Dipteren im Ei, nach Beobachtungen an *Chironomus* sp., *Musca vomitoria* und *Pulex canis*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XIII, 1863.
203. - Id. Zur Embryologie der Insecten. Arch. f. Anat. u. Physiol., 1864.
204. - WHEELER W. M. - The embryology of *Blattia germanica* and *Doryphora deplanata*. Journ. of Morph., Vol. III, 1899.
205. - Id. Contribution to Insect Embryology. Journ. of Morph. Vol. VIII, 1893, Boston.
206. - WIEGANDT H. V. - Das Keimbälgenstudium des Geschlechtskernes. Ein Beitrag zur Bildungsgeschichte der Geschlechtsprodukte. Zool. An., Bd. VIII, 1885.
207. - Zur Morphologie des Insectenovariums. Zool. Anz. Bd. IX, 1886, s. 132.
208. - Sulla struttura dell'ovario degli Insetti. (in polacco). Atti Acc. Sc. Cracovia, classe sc. mat. e nat., vol XV, 1886.
209. - Id. Zur Kenntnis der Eibildung bei der Feuerwanze. Zool. Anz., Bd. VIII, 1885.
210. - Id. Weitere Untersuchungen über die Morphologie und Entwicklung des Insectenovariums. Bull. Ac. Cracovie, T. 15-17, 1906, p. 7.
211. - WILL L. - Ueber die Entstehung des Dotters und der Spitzhalszellen bei den Amphibien und Insecten. Zool. Anz., Bd. VII, 1884, N. 167-168.
212. - Id. Bildungsgeschichte und morphologischer Werth des Eies von *Nepa cinerea* L. und *Notonecta glauca*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XLII, 1886.
213. - Id. Oogenetische Studien. I - Die Entstehung des Eies von *Colymbites fuscus* L. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XLIII, 1886.
214. - WOODWORTH C. W. - Studies on the embryological development of *Euvanesca antiopa*. Cambridge, 1889.
215. - WOLTERECK - Zur Bildung und Entwicklung des Ostrakodeneies. Kerygogische und biologische Studien an parthenogenetischen Cypriden. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. LXIV, 1896.
216. - YATSU N. - Notes on the spermatogenesis of the wild and the domestical Silkworm. Zoologische Japonens Vol. VIII, Part. II, 1913, p. 215.
217. - ZANDER E. - Zum Genitalapparat der Lepidopteren. Zool. Anz., Bd. XXVIII, 1905, s. 182.
218. - ZICK K. - Beiträge zur Kenntnis der postembryonalen Einnickelungsgeschichte der Genitalorgane bei Lepidopteren. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XXVIII, 1911.
219. - ZIEGLER H. E. - Die biologische Bedeutung der amitotischen Kernteilung im Tierreich. Biol. Zentralbl., Bd. XI, 1891.
220. - Id. & VOM RATH O. - Die amitotische Kernteilung bei den Arthropoden. Biol. Zentralbl., Bd. XI, 1891, s. 754.

Spiegazione della Tavola I (III)

Tutte le sezioni qui riprodotte sono talie da preparati trattati con fissativo cromo-acetico e colorati con Eosinossilina Carazzi e Orange G. Le micro-fotografie furono eseguite con lastre pancromatiche « Agfa »; i disegni furono fatti con camera lucida Abbe-Apachy.

Fig. 1. — Gonade di embrione circa 3 giorni prima della blastocinesi. *cg* cellule germinali; *cr*, cellule di ricoprimento; *hz* « hodenwischenkörperchen »; *m* mesoderma. Ingr. 1275.

Fig. 2. — Sezione frontale di embrione nello stesso stadio di quello contenuto nella gonade della fig. prec. *g* gonadi; *m*, mesoderma. Ingr. 153.

Fig. 3, 4. — Gonadi di embrione 2 giorni circa prima della blastocinesi; *cr*₁ cellule di ricoprimento più grandi, situate alle estremità della ghiandola; le altre lettere come nella fig. 1. Ingrandimenti 755 per la fig. 3; 890 per la fig. 4.

Fig. 5-6. — Gonadi di embrione in stadio leggermente più avanzato di quello della fig. 3, 4. *cg*₁, *cg*₂ cellule germinali con particolari disposizioni della cromatina; le altre lettere come sopra. Ingrandimenti 1170 per la fig. 5, 690 per la fig. 6.

Fig. 7. — Gonade di embrione prossime alla blastocinesi. Le lettere come sopra. Ingr. 890.

Fig. 8. — Nuclei piccoli (*cr*) e grandi (*cr*₁) di cellule di ricoprimento di una gonade di embrione prima della blastocinesi. Ingr. 1940.

Fig. 9. — L'altra gonade dello stesso embrione che contiene la gonade della fig. 7. Ingr. 610.

Fig. 10, 11, 12. — Sezioni successive (nell'ordine 12, 10, 11) di testicolo di embrione circa 2 giorni dopo la blastocinesi. *a*, *b* legamenti sospensori; *te* involucro esterno; *ip* tunica propria; *p* peduncolo donde si inizia il dotto efferente; *cg* cellule genitali; *cg*₁ cellule genitali con particolari granulazioni cromatiche; *cr* cellule di Veron; *cr*₁ cellule di ricoprimento; *cr*₂ cellule di ricoprimento sprofondate nelle depressioni interfollicolari; *cm* cellule situate all'attacco del peduncolo; *cp* cellule del peduncolo; *hz* « hodenwischenkörperchen ». Ingrandimenti: 1530 per la fig. 10; 825 per la fig. 11; 755 per la fig. 12.

Fig. 13. — Cellula di Veron di testicolo embrionale. (Particolare della fig. 12). Le lettere come sopra. Ingr. 2300.

Fig. 14, 15. — Ovario di embrione press'a poco nello stesso stadio dell'embrione dal quale è stato tratto il testicolo delle figg. 10-12. Le lettere come sopra. Ingrandimenti 1045 per la fig. 14; 800 per la fig. 15.

Fig. 16. — Testicolo di embrione 4 giorni circa dopo la blastocinesi. Ingr. 410. (Per difetto orientamento si vede chiaramente solo il follicolo centrale, e la ghiandola appare rivelare l'ilo verso la parete del corpo dell'embrione anziché internamente verso l'embrione. Ma la netta distinguibilità dei 4 follicoli e altri dettagli visibili nelle altre sezioni dello stesso preparato non lascian dubbi sul sesso).