
Dr. SILVIO DELLA PIETA

CONTRIBUTO ALL'EMBRIOLOGIA DELLA
PIERIS BRASSICAE L.

Tra le molte specie di lepidotteri dannose all'agricoltura va annoverata la *Pieris brassicae* L., la quale, se non fosse tenuta a freno da numerose cause nemiche naturali, potrebbe portare alla totale distruzione delle piantagioni di cavolo, poichè i mezzi di lotta a disposizione dell'uomo per combatterla sono scarsi e di limitata efficacia o convenienza economica.

Benchè molti studi siano stati esperiti sulla biologia di questo insetto, sono rimasti ancora notevoli campi poco o nulla esplorati; uno di questi è lo sviluppo embrionale, sul quale, dopo l'antico lavoro di BOBRETZKY ⁽¹⁾, non si registrano che i lavori di GRANDORI ⁽²⁾, dai quali risultano descritti, nelle linee essenziali i fenomeni della blastocinesi. Allo stesso Autore dobbiamo i lavori che hanno dimostrato l'esistenza, anche nell'uovo di questo lepidottero, dei microrganismi simbiotici simili a quelli da lui scoperti e descritti già precedentemente per l'uovo di *Bombyx mori* ⁽³⁾.

Però il BOBRETZKY, descrivendo tre stadi della segmentazione dell'uovo di *Pieris crataegi*, parla della formazione di nuclei nella massa del vitello, prima dell'apparizione del blasto-

⁽¹⁾ BOBRETZKY N. - Ueber die Bildung des Blastoderms und des Keimblätter bei den Insekten. - Zeitschr. Wissensch. Zool., Bd. 31, 1873.

⁽²⁾ GRANDORI R. - Contributo all'embriologia ed alla biologia dell'*Apanteles glomeratus*, imenottero parassita del bruco di *Pieris brassicae*. - Redia, Vol. VII, fasc. II, Firenze, 1911.

⁽³⁾ GRANDORI R. - Microrganismi simbiotici nell'uovo di *Pieris brassicae*. - Boll. Lab. Zool. Agr., Milano, Vol. I, 1929; Rendic. R. Accad. Lincei, Vol. IX, Serie 6^a, Roma, 1929.

derma, circondati da una piccola massa protoplasmatica raggiata; questi nuclei, coi corpi protoplasmatici che li circondano, si moltiplicano e migrano alla periferia dell'uovo per costituire le cellule blastodermiche, dirigendosi dapprima verso il polo anteriore e rivestendo in seguito tutta la massa vitellina, nell'interno della quale ne rimane tuttavia un certo numero, che determinerà in seguito la organizzazione di quella in grosse sfere vitelline. Egli però non vide l'origine dei primi nuclei intravitellini.

L'uovo di *Pieris brassicae* ha forma di fuso molto rigonfio e tronco in basso, e misura in media mm. 1,25—1,28 di diametro longitudinale, mm. 0,45—0,47 di diametro trasversale alla base, mm. 0,60—0,63 di diametro trasversale massimo nel punto più rigonfio, e mm. 0,16 nella porzione micropilare assottigliata (fig. 3).

Il corion presenta su tutta la sua lunghezza 15 o 16 nervature sporgenti, distanti mm. 0,08 l'una dall'altra, convergenti verso l'alto, per cui la superficie del corion si presenta esteriormente divisa in spicchi ben marcati, i quali sono attraversati da piccoli rilievi, in numero di 32 circa, distanti tra loro mm. 0,04.

L'uovo, appena deposto, è di color giallo pallido, che in seguito si fa più intenso, fino a divenire giallo citrino. Poco prima della schiusura però schiarisce fino a divenire bianco-opalescente, eccetto nel terzo superiore, il quale è di color bruno scuro dovuto al pigmento del capo della larveta che traspare attraverso il sottile corion.

A seconda della stagione e del clima, le uova schiudono in un tempo più o meno breve, che varia dai 3-4 giorni in Agosto (Calabria) agli 8-10 nei mesi di Marzo e Aprile. Le uova ottenute nei miei allevamenti durante i mesi di Aprile-Maggio e Giugno-Luglio, schiusero rispettivamente in poco più di 6 o di 15 giorni: occorre però tener presente che le uova dei miei allevamenti primaverili erano tenute in luogo chiuso e riscaldato artificialmente a circa +16 —18°C, e quelle degli allevamenti estivi, sulle quali condussi lo studio embriologico, soggiornavano in laboratorio a temperatura quasi costante, mentre all'aperto subiscono notevole raffreddamento notturno.

L'uovo di *Pieris* presenta notevoli difficoltà di studio per le sue piccole dimensioni e per l'impossibilità di condurre lo studio dell'embrione su preparati *in toto*, a causa della completa

opacità del vitello: per cui si rende indispensabile il metodo delle sezioni.

D'altra parte l'assoluta impossibilità di distinguere il lato ventrale da quello dorsale non consente l'orientazione dell'uovo per condurre sezioni nella direzione voluta.

Tali difficoltà sono però compensate dalla sottigliezza del corion, che, essendo perfettamente sezionabile, non rende necessaria la lunga e non facile operazione dello sgusciamiento.

Per la difficoltà di condurre sezioni nella direzione voluta, mi occorreva un numero grandissimo di uova, che permettesse di ottenere, fra molte serie di sezioni variamente orientate, qualche serie orientata secondo il piano desiderato, che solo il caso mi poteva dare. Lo scopo non era difficile a raggiungersi, data la facilità di procurarmi in gran copia un materiale così abbondante in natura; più difficile era l'ottenere uova di tutte le età, che mi potessero fornire la visione completa dello sviluppo embrionale.

Questo risultato si può ottenere solamente avendo a disposizione tanti gruppi di uova rappresentanti tutti gli stadi che intercorrono, distanziati di un dato numero di ore, fra la deposizione e la schiusura.

Data la grande rapidità di sviluppo embrionale di questo insetto, decisi di procurarmi gli stadi distanziati fra loro di non oltre 6 ore.

Ma non potendosi determinare l'età di un uovo se non conoscendone con sicurezza il momento della deposizione, impiantai appositi allevamenti, da cui ottenni molte crisalidi che posi a sfarfallare sotto gabbie di garza ove disponevo piccoli cavoli in vaso. Non potendo però sorvegliare continuamente gli adulti per cogliere il momento preciso della deposizione, decisi di visitare le foglie dei cavoli ogni 6 ore e di contrassegnare le ovature eventualmente trovate, attribuendo loro, al primo rinvenimento, un'età di 3 ore, e in ogni successiva visita 6 ore in più.

Con questo metodo ottenni con poca perdita di tempo una serie continua di stadi cronologicamente equidistanti, di cui conoscevo, con molta approssimazione, il tempo trascorso dalla deposizione, con un massimo errore possibile di 3 ore in più o in meno del vero.

Allo studio dei primi stadi destinati uova che il caso mi fece trovare mentre venivano deposte e che fissai ogni 3 ore, anziché ogni 6, date le variazioni notevoli e rapide che durante le prime ore si producono nella massa dell'uovo.

Infatti era assolutamente indispensabile che per questi primi stadi mi servissi di uova di cui conoscevo con esattezza il momento della deposizione, poiché, essendo queste fissate di 3 in 3 ore, e potendo esistere un errore massimo di 3 ore in più o in meno — per le ragioni più sopra accennate —, sarebbe potuto accadere, considerando i casi estremi, che due stadi, apparentemente distanziati di 3 ore, fossero in effetto contemporanei, e due altri, pure apparentemente distanziati di 3 ore, lo fossero invece del doppio.

Tutte le uova vennero da me fissate col metodo delle fissazioni scalari: dividevo cioè ciascuna ovatura in diverse porzioni, che fissavo successivamente ogni 3 ore per le ovature comprese fra la deposizione e la 12' ora, e ogni 6 ore per quelle a partire dalla 12' ora o di età superiore, ma multipla di 6.

Il fissativo al quale, in seguito agli ottimi risultati di numerose prove, esclusivamente mi attenni, è il liquido cromo-acetico, (cioè una miscela, che, nella formula modificata dal GRANDORI, risulta composta di 9 parti di soluzione all'1% di acido cromico in acqua e di 1 parte di acido acetico), usato a caldo, in termostato a +60°C., per 30', facendo seguire un accurato lavaggio di 24 ore in acqua corrente.

Le sezioni riuscirono sempre ottimamente, nonostante la presenza del corion, con uno spessore di 4 micron.

A seconda dei diversi stadi, usai come coloranti nucleari l'Ematossilina Carazzi, l'Ematossilina ferrica di Heidenhain e l'Ematossilina mordenzata di Mallory, e come coloranti citoplasmatici il Rosso Congo o l'Eosina; ebbi pure ottimi risultati dalla soluzione di Giemsa, nella quale differenziavo gli elementi azzurri e rossi con una soluzione di colofonia al 5% in alcool a 95'.

SVILUPPO EMBRIONALE

Attraverso l'osservazione microscopica delle sezioni ho potuto ricostruire quasi per intero il susseguirsi dei fenomeni che

avvengono in seno all'uovo e che conducono alla formazione dell'embrione e al suo completo sviluppo.

L'uovo di *Pieris brassicae*, come quello della maggior parte degli insetti superiori, è completamente ripieno di tutto, la cui massa è completamente avvolta dalla membrana vitellina situata immediatamente al disotto del corion, ed è costituita da granuli di varia grandezza, contenuti in numero di uno o più nelle maglie di una fitta rete di trabecole di ooplasma che rappresentano le sezioni delle pareti di innumerevoli alveoli. Non in tutti i punti dell'uovo si presenta uguale struttura; bensì si differenzia sempre una massa centrale di tuorlo a grosse granulazioni, ed una zona periferica a granulazioni minutissime, detta *blastema periferico*, che si estende senza interruzione su tutta la superficie dell'uovo, immediatamente al disotto della membrana vitellina, e il cui spessore, pur variando senza regola fissa nelle diverse zone, nell'uovo da poco deposto rappresenta circa 1/20 del diametro massimo.

Il blastema periferico, a sua volta, appare diviso in due strati, di cui uno esterno a contatto colla membrana vitellina e nel quale le granulazioni appaiono conglobate in uno straterello quasi omogeneo, e uno interno che mostra una struttura nettamente granulare ed è costituito di granuli sempre molto più piccoli di quelli del tuorlo centrale (Tav. I, figg. 1 e 2).

Il blastema periferico appare evidentemente con qualsiasi colorazione, qualunque sia il fissativo adoperato; il che starebbe a indicare la diversa composizione chimica di esso in confronto al rimanente del tuorlo.

Immerso nell'ooplama diffuso nella massa vitellina troviamo il nucleo della cellula-uovo, o vescicola germinativa, con uno o più nucleoli o macule germinative.

La maturazione dell'uovo avviene per mezzo di due divisioni successive della vescicola germinativa, che dà origine così al pronucleo femminile e ai globuli polari, che si fondono insieme in una massa polare; questa però rimane nello strato protoplasmatico superficiale, entro un vacuolo.

Queste osservazioni fatte nel 1875 dal BLOCHMAN su numerosi insetti, fra cui la *Pieris*, furono confermate in gran parte dal WEISMAN e ISHIKAWA (1883), dal PLATNER (1888), e dall'HENKING nel 1890 e 1892.

In generale penetrano nell'uovo molti spermatozoi, ma l'atto fecondativo è riservato a uno solo, mentre gli altri si arrestano nell'ooplasma superficiale non si dividono e finiscono per scomparire.

Lo spermatozoo destinato alla fecondazione penetra nel vitello con parte della coda; in generale la testa si ripiega verso di essa, mentre le appendici intorno all'area chiara, chiamata dall'HENKING *arrenoide*, che probabilmente rappresenta il centrosoma invisibile circondato dal suo aster.

Intanto la testa aumenta di volume e, sempre nel suo arrenoide, si avvicina al pronucleo femminile, col quale finisce per congiungersi a formare il primo nucleo di segmentazione.

Il pronucleo femminile, già prima, appena espulsi i globuli polari, aveva abbandonato la faccia dorsale dell'uovo, per raggiungere quella ventrale, in vicinanza della quale va più spesso il pronucleo maschile.

Come in tutti gli animali, anche negli insetti i due pronuclei subiscono, in confronto delle rimanenti cellule del corpo, una riduzione di cromosomi, per cui il nucleo di segmentazione finisce coll'aver il numero normale di cromosomi.

Questi fenomeni, la cui osservazione, negli insetti, riesce molto difficile a causa della ricchezza di vitello e dell'involucro che l'avvolge, avvengono tutti brevissimo tempo dopo la deposizione dell'uovo.

« Secondo l'HENKING, per la cavolaia, (*Pieris brassicae*), « dopo 10 o 12 minuti dalla deposizione, le due placche cromatiche del primo fuso di segmentazione sono ormai separate, e « presso la testa dello spermatozoo comincia ad apparire l'arrenoide. Dopo 46 a 65 minuti i globuli polari e il pronucleo sono « formati; dopo 65 a 100 i due pronuclei maschile e femminile « sono insieme fusi; dopo 120 a 130 minuti sono già presenti i « due primi nuclei di segmentazione » (1).

Per la mancanza di preparati adatti non ho potuto seguire lo svolgimento di questi primi fenomeni e ho iniziato il mio studio a partire dalla seconda ora dalla deposizione.

A questo punto appaiono chiaramente le due prime cellule di segmentazione o blastomeri (Tav. I, fig. 3), derivati dalla divisione del primo nucleo di segmentazione; hanno forma irregolare, frastagliata e molto variabile, che in certo qual modo, per la ricchezza di ramificazioni citoplasmatiche, ricorda quella delle amebe. Questi due primi blastomeri si dividono ben tosto ciascuno in due (Tav. I, fig. 4) dando luogo a 4 blastomeri. Nella figura, soltanto 3 blastomeri sono visibili perchè il quarto non cadeva in quella sezione; si vedono invece due di essi ancora non completamente divisi.

Questi 4 blastomeri, per successive divisioni, danno luogo in poche ore a numerosi altri blastomeri, i quali allontanandosi subito fra loro, con tendenza a raggiungere la periferia, si spargono in tutta la massa del tuorlo, dirigendosi verso la superficie esterna dell'uovo, ma rimanendo più numerosi in prossimità del polo micropilare, ove assumono una sistemazione quasi a linee circolari concentriche.

Alla 6' ora alcuni blastomeri sono giunti in vicinanza del blastema periferico e una sezione longitudinale dell'uovo presenta l'aspetto riprodotto nella figura 5 (Tav. I).

Di mano in mano che si formano nuovi blastomeri, sempre più intensa è la loro migrazione superficiale (Tav. I, fig. 6 a e b).

A 9 ore dalla deposizione (Tav. I, fig. 7) molti di essi, passando attraverso allo strato del blastema periferico, sono giunti a contatto della membrana vitellina, che rivestono in seguito gradatamente a cominciare dal lato ventrale dell'uovo (quello su cui si formerà l'embrione) fino a formare immediatamente al disotto di essa uno strato continuo, che prende il nome di *blastoderma*, e che limita esternamente il blastema periferico.

Alla 12' ora qualunque sezione dell'uovo mostra il blastoderma già completamente formato (Tav. I, fig. 8).

Col procedere delle ore, si nota una più netta determinazione del lato ventrale dell'uovo, sul quale comincia a individualizzarsi una *bandelletta* cellulare, che estendendosi a poco a poco a buona parte di questo, si differenzia fortemente dal resto del blastoderma, che va nel frattempo assottigliandosi notevolmente, e se ne distacca poi del tutto, venendo a costituire lo scudetto germinativo, il quale ubbidendo a una forza che lo trae verso l'interno, incomincia subito ad approfondarsi nel tuorlo.

(1) A. BERLESE. - *Gli insetti*. - Vol. I, pag. 46, Milano, 1909.

L'involucro blastodermico, interrotto in corrispondenza dell'arca dello scudetto al momento del suo distacco, tende subito a ricompetersi per costituire nuovamente un involucro completo, ma assai più sottile e di struttura caratteristica, la *sierosa*, che avvolgerà l'embrione fin quasi alla schiusura.

Alla 18' ora sono già perfettamente formati tanto la sierosa che lo scudetto germinativo, il quale ultimo appare costituito di cellule cilindriche di spessore notevole e strettamente saldate fra di loro.

Tra le numerose sezioni di questo stadio (18' ora) non ne ottenni neppure una sagittale.

Non senza difficoltà riuscii a ricostruire la forma dello scudetto, che io definisco a *doppia sella*, poichè è costituito da una calotta ellissoidale, che occupa 1/3 circa dell'uovo sul lato ventrale, terminante con 4 falde, di cui 2 maggiori adagiate sui fianchi e 2 minori in corrispondenza dei poli.

Le falde laterali sono anche più lunghe, per cui in sezione longitudinale, ma ortogonale a quella sagittale, lo scudetto si manifesta in 2 bandelle laterali parallele al guscio (Tav. I, fig. 9).

In sezione analoga alla precedente, ma leggermente obliqua e ruotata di pochi gradi intorno all'asse longitudinale, verso sinistra, appare visibile, oltre alle due falde laterali, anche la falda corrispondente al polo micropilare, dal quale però si tiene notevolmente discosta (Tav. I, fig. 10).

Che lo scudetto in corrispondenza del polo micropilare si ripieghi bruscamente internandosi nella massa dell'uovo, mantenendosi molto al disotto di quello, è confermato dalla fig. 11 (Tav. I) e con maggiore evidenza dalla fig. 12 (Tav. I), rappresentanti rispettivamente una sezione longitudinale formante un notevole angolo col piano sagittale, verso sinistra, e una sezione analoga, ma leggermente obliqua e formante col piano sagittale un angolo di maggior ampiezza e in senso contrario.

Che lo scudetto si mantenga invece quasi a contatto della sierosa presso il polo antimicropilare, ce lo dimostra la fig. 13 (Tav. I), dove, in una sezione fortemente obliqua, esso forma un anello quasi completo, concentrico al guscio, interrotto solamente per breve tratto, occupato da caratteristiche grosse cellule

isolate che formano quasi una congiunzione completa dell'anello embrionale.

Infine la fig. 14 (Tav. I) riproduce in *a* una sezione trasversale del terzo superiore dell'uovo, che mostra la falda micropilare presso il punto in cui si individualizza dallo scudetto, e in *b* una sezione, pure trasversale, ma condotta a metà dell'altezza dell'uovo, che rivela quale sia l'estensione delle falde laterali, le quali, dopo aver rivestito internamente l'uovo per una buona metà, si ripiegano verso l'interno in modo da descrivere, in sezione, una lettera C.

Lungo tutto il margine delle falde si nota una sottile ripiegatura dello scudetto verso l'esterno, formata di poche cellule, e la cui estremità rimane aderente alla sierosa: è questo il primo abbozzo dell'*amnio*.

Il blastema periferico si trova ora tutto raccolto al disotto dello scudetto.

In tutte le sezioni di questo stadio appare molto evidente la sierosa di recente formazione, costituita di grosse cellule le cui caratteristiche ne rivelano la comunanza di origine con lo scudetto; esse si presentano sempre più o meno convesse alla loro superficie interna, e di spessore cospicuo nella regione micropilare (figg. 15, 16, Tav. I).

Mentre la sierosa va assottigliandosi per assumere l'aspetto definitivo, in tutta la massa dell'uovo avvengono profonde modificazioni.

Lo scudetto si è trasformato in stria germinale, la quale è lunghissima in questa specie, ed appare, in sezione sagittale, in forma di lettera G, poichè percorre tutta la periferia dell'uovo e il suo estremo caudale, giunto a contatto di quello cefalico, in corrispondenza del lato dorsale, si ripiega bruscamente dirigendosi verso l'interno (Tav. I, fig. 15).

Alla 24' ora dalla deposizione, le sottili ripiegature dello scudetto hanno già dato origine col loro sviluppo a un sottilissimo straterello cellulare, l'*amnio*, che avvolge completamente la stria sul lato ventrale. Il breve spazio compreso fra questa e l'*amnio* costituisce la cavità amniotica.

La stria germinale risulta costituita di due strati di cellule, di cui l'esterno, o ectoderma, non è altro che il primitivo scu-

detto accresciuto e sviluppato, mentre l'interno, di nuova formazione, trae la sua origine da cumuli di cellule mesodermiche addossate internamente al primo.

Alle estremità anteriore e posteriore della stria germinale, appaiono sullo strato ectodermico due leggere introflessioni, primi abbozzi dello stomodeo e del proctodeo, dai quali trarranno origine rispettivamente l'apertura boccale e l'apertura anale.

La sierosa si è notevolmente assottigliata, rispetto allo stadio precedente, e si presenta nella sua forma definitiva.

Col graduale approfondirsi delle due introflessioni si ha un proporzionale raccorciamento della stria che alla 30^a ora (Tav. I, fig. 16) percorre tutta la periferia dell'uovo in modo da descrivere una lettera O, interrotta solo in un punto, per brevissimo tratto, sul lato dorsale.

Anche la massa del vitello si è notevolmente modificata: dalla trasformazione graduale dei blastomeri, iniziatisi al momento della trasformazione dello scudetto in stria germinale, hanno origine le sfere viteline, in cui si organizzano i granuli vitellini che fino a questo stadio erano sparsi nel tuorlo senza alcuna regolarità.

Alla 30^a ora anche le sfere vitelline hanno raggiunto l'aspetto definitivo e appaiono costituite (Tav. I, fig. 17 a e b) da un nucleo, circondato da un esilissimo straterello di citoplasma, da numerosi filamenti citoplasmatici irradianti da questo e aggrovigliantis intorno a formare una fitta rete nelle cui maglie sono compresi i granuli vitellini, e infine da una membrana ectoplasmatica che avvolge la sfera nel suo insieme.

Ma non tutte le sfere vitelline sono così ben definite, poiché molte di esse appaiono incomplete, specialmente nelle zone a diretto contatto con la stria germinale, a causa del continuo assorbimento di vitello da parte delle cellule embrionali in pieno sviluppo.

A 36 ore dalla deposizione la stria germinale, che ha subito un nuovo raccorciamento, presenta una metameria ben definita che la divide in 18 metameri primitivi, di cui i primi 4 appartengono al capo, i 3 seguenti al torace e gli 11 successivi all'addome.

Si nota ora (Tav. I, fig. 18) una differenziazione netta fra ectoderma e mesoderma, il quale, coi 18 cumuli distinti di cui è

costituito, determina la metameria sul lato dorsale, a cui corrisponde altrettante sporgenze ectodermiche su quello ventrale.

Le invaginazioni dello stomodeo e del proctodeo si sono ulteriormente approfondite, mentre lo spazio compreso fra la stria e l'amnio è notevolmente aumentato dando luogo a un'ampia cavità amniotica, che è ripiena di liquido nel quale non si nota alcuna traccia di granulazioni.

In uno stadio più avanzato (42^a ora) a un ulteriore accorciamento della stria germinale corrisponde una maggiore differenziazione fra ectoderma e mesoderma e una invaginazione più profonda dello stomodeo e del proctodeo (Tav. I, fig. 19).

Nella figura 20 (Tav. I), in una sezione ortogonale alla precedente, risulta in maniera molto evidente quali siano effettivamente la conformazione e l'ampiezza complessiva della cavità amniotica.

Contemporaneamente allo svolgimento dei fenomeni sopra descritti, ha luogo l'individualizzazione del sistema nervoso, che si presenta metamerico fin dal suo primo apparire. In ciascun segmento è allogato un paio di gangli, i quali, essendo riuniti fra loro da fasci di fibre nervose longitudinali, formano una catena gangliare che, doppia da principio, diventa assai presto unica, in seguito a ravvicinamento e fusione più o meno completa dei gangli di ciascun paio; di modo che il sistema nervoso, in origine pari e simmetrico, si presenta dopo poco tempo impari e giacente sulla linea mediana ventrale. Alla 48^a ora la catena gangliare di recente formazione appare tutta nettamente distaccata dall'ectoderma da cui ha preso origine (Tav. I, fig. 21).

La stria germinale, alla 48^a ora, si è raccorciata ancora notevolmente e, in sezione sagittale, presenta la forma di lettera C; le due falde della piega amniotica cefalica e addominale e le falde laterali vanno nel frattempo sviluppandosi per dar luogo in seguito, col loro completamento, alla parete dorsale del corpo. Le due introflessioni dello stomodeo e del proctodeo hanno raggiunto una profondità pari a 1/4 circa della lunghezza dell'intero embrione.

Nello stadio successivo (54^a ora) si nota una diminuzione nel numero dei gangli, per la fusione di alcuni di essi: infatti mentre il primo, ganglio sopraesofageo, rimane inalterato, i 3 seguenti si riuniscono insieme a formare il sottoesofageo, i 9 suc-

cessivi si mantengono distinti, e gli ultimi 2 si fondono in uno solo. La fig. 22 (Tav. II) coglie appunto il momento in cui, avvenuta la formazione del ganglio sottoesofageo, sta compiendosi la fusione degli ultimi due addominali.

Compaiono a questo punto sul margine ventrale dei due fondi ciechi dello stomodeo e del proctodeo gli abbozzi di due bandellette cellulari, che traggono origine, almeno in parte, dai due cumuli mesodermici (1° e 18°) corrispondenti alle due inflessioni, le quali col loro graduale approfondarsi, li avevano spinti nel tuorlo a profondità sempre maggiore. Queste bandellette tendono a circoscrivere con un foglietto sottile, (che si completerà dapprima ventralmente a mo' di doccia, poi sui lati e infine dorsalmente, fino a formare un tubo chiuso) quella porzione di vitello che si trova compresa fra i due fondi ciechi dello stomodeo e del proctodeo, e che dovrà servire alla nutrizione degli organi interni, che, dopo il completamento della parete del corpo, non avranno più alcun contatto col vitello nutritivo.

La fig. 23 (Tav. II) rappresenta, in sezione longitudinale, lo stadio di massimo raccorciamento embrionale, con stomodeo e proctodeo ravvicinati al grado massimo (60° ora). La bandelletta che va delimitando ventralmente l'intestino medio è già in gran parte formata, ma è ancora mancante sui fianchi e sul lato dorsale.

In questa sezione sono evidentissime le zampette toraciche. La catena nervosa consta di 14 gangli, dei quali 2 cefalici, 3 toracici e 9 addominali.

In conseguenza dei precedenti accorciamenti del corpo, la testa ha raggiunto la posizione definitiva, nella regione submicroplare, che non abbandonerà più fino a completo sviluppo dell'embrione, poichè i successivi allungamenti di questo avverranno d'ora innanzi esclusivamente dal lato posteriore.

Alla 66° ora si è già iniziato il movimento della *blastocinesi*. L'embrione presenta sul lato ventrale una profonda infossatura in corrispondenza del 7° segmento addominale, di modo che la superficie ventrale, da convessa diventa concava; e l'embrione, poichè la sua parte anteriore non partecipa al movimento, viene ad assumere una forma caratteristica, che in sezioni sagittali appare come una lettera S (Tav. II, fig. 24). Anche il sistema nervoso subisce una lieve modificazione per la fusione dell'8° e 9° ganglio addominale dello stadio precedente in un unico ganglio,

col quale termina posteriormente la catena. La fig. 24 mostra i gangli suddetti durante il processo di fusione. Stomodeo e proctodeo, ispessitisi nelle pareti, hanno formato i due tratti di intestino anteriore e posteriore terminanti a fondo cieco.

Lo sviluppo dell'intestino medio procede lentamente; la parete intestinale appare infatti ancora incompleta sulla linea mediana dorsale. Si prolungano invece dorsalmente le due pieghe amniotiche che sono il prolungamento della parete del corpo; la piega posteriore si spinge fino all'altezza del fondo cieco dello stomodeo; e nel punto in cui le falde amniotiche stanno per congiungersi, circoscrivono il *foro ombelicale* (Tav. II, fig. 24).

Nella fig. 25 (Tav. II), che rappresenta in sezione obliqua uno stadio leggermente più avanzato, appaiono distintamente le zampette toraciche.

Esaminando una sezione di uovo alla 72° ora dalla deposizione (Tav. II, fig. 26) constatiamo che l'addome, in seguito alla curvatura che permette alla sua estremità di accrescersi liberamente, si è allungato notevolmente, mentre la parete dorsale del corpo si è ispessita e il foro ombelicale è ristrettissimo. È comparso frattanto il ganglio frontale, un poco anteriormente al ganglio sopraesofageo, al quale appare congiunto da un sottile ramo nervoso.

In seguito alla formazione di questo ganglio, il sistema nervoso centrale della vita di relazione ha raggiunto la definitiva struttura larvale, e consta, oltre che del piccolo ganglio frontale, di due gangli cefalici, sopra e sotto-esofageo, 3 toracici e 8 addominali.

Alla 78° ora (Tav. II, fig. 27) l'embrione ha subito un nuovo allungamento, per il quale l'estremità dell'addome, che si incurva sul 6° segmento, giunge all'altezza del 2° segmento toracico. Il foro ombelicale, mentre si va restringendo, è trascinato indietro dalla parete dorsale, soggetta all'allungamento generale, ma si trova tuttavia all'altezza del fondo cieco stomodeale che si è ulteriormente sviluppato. Prosegue rapidamente il restringimento dell'ombelico, finchè esso si oblitera, ed allora viene a cessare ogni comunicazione fra l'interno e l'esterno del lacunoma embrionale, essendosi così formata una completa parete del corpo dell'embrione, come mostra la fig. 27. Ne consegue che anche l'amnio viene a formare intorno all'embrione un sacco completamente chiuso.

Alla 84^a ora la ripiegatura dell'addome si fa più stretta e viene respinta verso il polo antimicropilare; la piega cade ora sul 5° segmento addominale anziché sul 6°; l'embrione si è notevolmente allungato (Tav. II, fig. 30). La parete dell'intestino medio ha cominciato a completarsi anche dorsalmente, ma non è ancora tutta formata; ne manca ancora una parte, sulla regione posteriore, confinante col fondo cieco del proctodeo.

Alla 90^a ora (Tav. II, figg. 32 e 33) l'intestino medio appare finalmente completo, foggiato a tubo congiungente l'intestino anteriore col posteriore dai quali però è separato per la presenza dei due diaframmi, che traggono origine rispettivamente dai fondi ciechi dello stomodeo e del proctodeo.

L'estremità addominale si spinge ora fino all'altezza del 1° segmento toracico.

Alla 96^a ora (Tav. II, fig. 34) l'estremità addominale è giunta all'altezza del ganglio sottosofageo: l'embrione presenta la caratteristica conformazione a U, i cui due rami sono però disuguali, nè mai si uguaglieranno in seguito, perchè il grosso capo embrionale, occupando quasi interamente la calotta submicropilare, preclude la via ad ogni ulteriore allungamento dell'addome.

Mentre i diaframmi che limitano anteriormente e posteriormente il mesenteron si assottigliano, il vitello in esso contenuto va esaurendosi: la fig. 35 (Tav. II) ne dà una chiara dimostrazione. Anche il vitello extraembrionale è diminuito enormemente in quantità e si trova quasi tutto riunito presso il polo micropilare.

A 102 ore dalla deposizione un'ulteriore distensione della grande curvatura embrionale ha portato ora la sua ripiegatura sul 4° segmento addominale; l'estremo addome preme ora sul labbro inferiore, determinando una pressione che, non potendo esplicarsi in quel punto, perchè trova un ostacolo insormontabile, si comunica a tutto il corpo, il quale viene spinto con tanta forza contro le pareti dell'uovo, da scacciare gli ultimi residui del tuolo extraembrionale e convogliarli nella calotta submicropilare a costituire una massa unica al disopra del capo (Tav. II, fig. 36).

La pressione esercitata dai tessuti in continuo accrescimento fa sì che a un certo punto l'estremo addome, scivolando sotto il labbro inferiore, si ripieghi una seconda volta. Però, data la

manca di spazio derivante dalla piccolezza dell'uovo, per cui torace e addome si trovano colle superfici ventrali quasi a contatto fra loro, questa seconda curvatura non si svolge come la precedente lungo il piano sagittale, ma l'estremità dell'addome si volge da un lato torcendosi, e spingendosi in basso allontana dal piano sagittale, verso il lato opposto, anche la porzione di addome formante la grande curvatura.

Il capo, spinto contro la calotta micropilare, comprime fortemente il residuo di vitello extraembrionale, il quale, dilacerato l'amnio, non trovando altra via, entra violentemente nell'esofago attraverso la bocca, e, rotti i diaframmi, occupa tutto l'intestino (che nel frattempo ha raggiunto la conformazione definitiva) ad eccezione del tratto terminale.

Nella fig. 37 (Tav. II), che riproduce l'uovo alla fine del 5° giorno in sezione longitudinale facente un lieve angolo col piano sagittale, s'incontrano, a sinistra, testa torace e i primi tre segmenti dell'addome (poichè la grande curvatura ha ora il suo vertice nel 3° segmento addominale) e, a destra, l'ultimo tratto dell'addome, con l'ano rivolto verso il polo antimicropilare.

Sia l'intestino anteriore che il medio (di cui è visibile solo il primo tratto) separati fra loro dal cardias, che appare come una sfrangiatura del distrutto diaframma, sono ripieni di vitello in cui si notano tracce notevoli delle membrane embrionali ridotte in frammenti e degluite.

In questa figura sono visibili tutti i gangli fino al 3° addominale incluso. Le figg. 38 e 39 (Tav. II) riproducono invece due sezioni frontali di uno stesso uovo della medesima età. La prima è condotta a livello dei gangli toracici che vi compaiono distintamente insieme coi cefalici e i primi 2 addominali; la seconda a livello dei gangli addominali, di cui compaiono gli ultimi 5, che per la asimmetrica distribuzione della sostanza bianca nella sostanza grigia, danno conferma della avvenuta torsione.

In questa seconda sezione si vedono pure i pezzi dell'apparato boccale, e, insieme a una parte dell'intestino medio, tutto l'intestino posteriore, che nel primo tratto è invaso dal vitello.

In ambedue le sezioni sono evidentissimi fra la parete ipodermica e il corion brandelli della sierosa distrutta; segno evidente che nell'uovo delle sezioni 38 e 39 non era ancora avvenuta la completa deglutizione delle membrane embrionali, come nell'uovo della sezione 37.

In seguito a questo complesso fenomeno, chiamato dal GRANDORI *ravvolgimento*, per distinguerlo dal *rivolgimento* o *blastocinesi*, l'embrione, ripiegatosi 2 volte su sè stesso e ritortosi, ha assunto la giacitura definitiva e si appresta a uscire dall'uovo, rotondando il corion in corrispondenza alla calotta micropilare.

CONCLUSIONI

Riassumendo, i momenti più salienti che caratterizzano lo sviluppo embrionale della *Pieris brassicae*, sono:

a) Formazione dello scudetto germinativo, che colla sua notevole estensione interessa almeno i 2/3 della superficie interna dell'uovo;

b) Formazione della stria germinale di eccezionale lunghezza che, oltre a percorrere tutta la periferia dell'uovo, ripiega verso l'interno l'estremo addominale (stadio a G);

c) Raccorciamento della stria sul lato ventrale dell'uovo (stadio a C);

d) Inversione della curvatura dell'addome, che rivolge l'estremità verso il lato ventrale dell'uovo (stadio a S); è questo il *ravvolgimento* o *blastocinesi*, assai poco vistosa;

e) Allungamento dell'addome fino a portare l'estremità a contatto del labbro inferiore (stadio a U);

f) Pausa, durante la quale la pressione determinata dal rapido accrescimento dei tessuti spinge l'embrione contro il guscio facendovelo aderire mediante la parete ipodermica dorsale;

g) Secondo incurvamento e conseguente torsione dell'addome che, volgendo l'estremità verso il polo antimicropilare e insinuandola fra il guscio e la porzione di addome compresa nella grande curvatura, determina la deviazione dell'asse embrionale in parte a destra ed in parte a sinistra del piano sagittale della testa e del torace.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

- Fig. 1. — Sezione longitudinale di uovo 1 ora dopo deposto ($\times 65$).
 Fig. 2. — Particolare della precedente ($\times 200$).
 Fig. 3. — Sezione longitudinale di uovo 2 ore dopo deposto ($\times 65$).
 Fig. 4. — Come la precedente alla 3^a ora dalla deposizione ($\times 65$).
 Fig. 5. — Come la precedente alla 6^a ora ($\times 65$).
 Fig. 6. — a-b - Sezioni trasversali di due uova dello stesso stadio ($\times 65$).
 Fig. 7. — Sezione longitudinale alla 9^a ora ($\times 65$).
 Fig. 8. — Come la precedente alla 12^a ora ($\times 65$).
 Fig. 9. — Sezione longitudinale, ma ortogonale al piano sagittale, alla 16^a ora ($\times 65$).
 Fig. 10. — Come la precedente, leggermente obliqua ($\times 65$).
 Fig. 11. — Sezione longitudinale facente un certo angolo verso sinistra col piano sagittale ($\times 65$).
 Fig. 12. — Lo stesso, ma ruotato a destra ($\times 65$).
 Fig. 13. — Sezione fortemente obliqua ($\times 65$).
 Fig. 14. — a-b - Sezioni trasversali di due uova dello stesso stadio ($\times 65$).
 Fig. 15. — Sezione sagittale alla 24^a ora ($\times 65$).
 Fig. 16. — Come la precedente alla 30^a ora ($\times 65$).
 Fig. 17. — Sfere vitelline (a: $\times 200$; b: $\times 300$).
 Fig. 18. — Sezione sagittale alla 36^a ora ($\times 65$).
 Fig. 19. — Come la precedente alla 42^a ora ($\times 65$).
 Fig. 20. — Sezione ortogonale alla precedente ($\times 65$).
 Fig. 21. — Sezione sagittale alla 48^a ora ($\times 65$).
 Fig. 22. — Come la precedente alla 54^a ora ($\times 65$).
 Fig. 23. — Sezione non sagittale alla 60^a ora ($\times 65$).
 Fig. 24. — Sezione sagittale alla 66^a ora ($\times 65$).
 Fig. 25. — Sezione non sagittale di uno stadio leggermente più avanzato ($\times 65$).
 Fig. 26. — Sezione sagittale alla 72^a ora ($\times 65$).
 Fig. 27. — Come la precedente alla 78^a ora ($\times 65$).
 Fig. 28. — Sezione frontale alla stessa ora ($\times 65$).
 Fig. 29. — Come la precedente ($\times 65$).
 Fig. 30. — Sezione sagittale alla 84^a ora ($\times 65$).
 Fig. 31. — Sezione non sagittale alla stessa ora ($\times 65$).
 Fig. 32. — Sezione sagittale alla 90^a ora ($\times 65$).
 Fig. 33. — Sezione frontale alla stessa ora ($\times 65$).
 Fig. 34. — Sezione sagittale alla 96^a ora ($\times 65$).
 Fig. 35. — Come la precedente, ma ruotata intorno all'asse longitudinale ($\times 65$).
 Fig. 36. — Sezione sagittale a 102 ore dalla deposizione ($\times 65$).
 Fig. 37. — Sezione longitudinale, facente un lieve angolo col piano sagittale, al 5^o giorno dalla deposizione ($\times 65$).
 Fig. 38. — Sezione frontale di uovo al 5^o giorno, al livello dei gangli toracici ($\times 65$).
 Fig. 39. — Sezione frontale dello stesso uovo, a livello dei gangli addominali ($\times 65$).