

Minc B 76 / 20

# REALE ACCADEMIA D'ITALIA

MEMORIE DELLA CLASSE  
DI SCIENZE FISICHE, MATEMATICHE E NATURALI  
VOLUME VII.

---

ESTRATTO N. 7.

GIUSEPPE MONTALENTI

## Analisi citologica della fecondazione e della attivazione artificiale delle uova di Lampreda



ROMA  
REALE ACCADEMIA D'ITALIA

1936-XIV







REALE ACCADEMIA D'ITALIA

MEMORIE DELLA CLASSE  
DI SCIENZE FISICHE, MATEMATICHE E NATURALI  
VOLUME VII.

---

ESTRATTO N. 7.

GIUSEPPE MONTALENTI

Analisi citologica della fecondazione e  
della attivazione artificiale delle uova  
di Lampreda

ROMA  
REALE ACCADEMIA D'ITALIA  
1936-XIV



---

---

## ANALISI CITOLOGICA DELLA FECONDAZIONE E DELLA ATTIVAZIONE ARTIFICIALE DELLE UOVA DI LAMPREDA

Memoria di GIUSEPPE MONTALENTI (\*)

---

RIASSUNTO. — L'A. descrive brevemente i risultati ottenuti sottoponendo le uova non fecondate di *Lampetra fluviatilis* L. e di *Entosphenus wilderi* (Gage) all'azione dei vapori di cloroformio e poi di soluzioni saline ipertoniche. Studia poi la citologia della fecondazione dell'uovo di *Lampetra*, descrivendo i movimenti dei pronuclei e del plasma polare, e con questi paragona i fenomeni che si osservano nelle uova artificialmente attivate col cloroformio. I fenomeni decorrono simili fino a un certo punto, poi si differenziano perchè, nelle uova semplicemente attivate, il plasma polare non ha la capacità di richiamare a sé il pronucleo femminile, il quale esaurisce la propria attività in un ciclo di mitosi monocentriche.

### I. — INTRODUZIONE.

In un precedente lavoro (1932) ho descritto i risultati ottenuti sottoponendo le uova di Lampreda (*Lampetra fluviatilis* L.) ad agenti attivanti, che ne determinano lo sviluppo partenogenetico. Una seconda serie di esperimenti, eseguiti nel 1932 sulla lampreda americana *Entosphenus wilderi* (Gage), e una terza serie (1933) sulla *L. fluviatilis* confermarono le ricerche precedenti, e mi fornirono nuovo materiale per l'analisi citologica del fenomeno, di cui ho già esposto alcuni risultati in una Nota preliminare (1934). Riassumo in questo scritto i risultati finora ottenuti, sia dal punto di vista della embriogenesi, che da quello citologico. Per l'interpretazione di questi ho dovuto studiare, sulla *L. fluviatilis*, lo svolgersi del processo normale della fecondazione, e stimo opportuno accennare qui brevemente ai fatti che ho potuto osservare, perchè, in qualche punto, si discostano un poco dalle descrizioni già date da vari ricercatori, che saranno citati in luogo opportuno.

---

(\*) Presentata nell'Adunanza del 17 gennaio 1936-XIV dall'Accademico NICOLA PARRAVANO.

## II. — MATERIALE E TECNICA.

Le femmine di *Lampetra*, pescate a Roma nel Tevere durante il viaggio di montata, raggiungono la completa maturità per lo più soltanto dopo un soggiorno di circa un mese in laboratorio, in acqua corrente. Gli *Entosphenus wilderi* (paragonabili per dimensioni e biologia alla nostra *L. planeri*) mi giunsero invece a Chicago, nell'aprile 1932, dalla *State Fish Hatchery* di Paris (Michigan), per la cortesia del sovrintendente R. Fortney, che desidero qui ringraziare. Essi erano generalmente maturi, e poichè avevano sopportato un viaggio di circa otto ore, in recipienti relativamente angusti, venivano subito utilizzati al loro arrivo.

La tecnica per ottenere lo sviluppo partenogenetico è quella già descritta nel mio precedente lavoro (1932) e consta di due « tempi », come il classico metodo di LOEB per gli Echinodermi: esposizione ai vapori di cloroformio per 45''-1', e successivo trattamento con soluzioni saline ipertoniche. Poichè il sale che aveva dato migliori risultati negli esperimenti del 1931 era il nitrato di sodio, le ricerche successive furono limitate a questo, cercando, col variarne la concentrazione e la durata di esposizione, di stabilire l'*optimum*, cosa che, purtroppo, non riuscì completamente per la grande variabilità della reazione dei diversi lotti di uova, dipendente anche, in larga misura, dal loro stato di conservazione.

Fissate in sublimato acetico, e tagliate in sezioni dello spessore di 5  $\mu$ , le uova vennero colorate con ematossilina ferrica di Heidenhein, per lo più senza colorazione di contrasto.

## III. — LO SVILUPPO DELLE UOVA PARTENOGENETICHE DI *LAMPETRA FLUVIATILIS* E DI *ENTOSPHEUS WILDERI*.

a) *Descrizione degli esperimenti.* — Mi limito a riassumere, per quanto si riferisce alla *Lampetra*, i risultati già descritti nel mio lavoro del 1932 e confermati e ampliati dalla serie di esperimenti della primavera del 1933.

Dopo l'esposizione ai vapori del cloroformio, le uova, messe in acqua di fonte, reagiscono come le uova fecondate (vedi sotto). Le uova così attivate non si segmentano; soltanto in alcune, dopo 5-7 ore, compaiono solchi poco profondi, e irregolari, o lobulazioni, che poi scompaiono, e, talvolta, si riformano. Le uova attivate cadono in citolisi molto prima delle uova vergini di controllo.

Facendo seguire all'attivazione il trattamento salino ipertonico, alcune uova si segmentano, più o meno irregolarmente, e, fra quelle a

segmentazione regolare, alcune procedono fino a formare blastule d'apparenza normale, di cui talune gastrulano, più o meno stentatamente. Finora non ho ottenuto alcun embrione oltre lo stadio di gastrula avanzata (inizio della neurulazione; cfr. MONTALENTI, 1932).

Sulle uova di *Entosphenus* potei fare 11 serie di esperimenti. Non tutte però mi hanno dato risultati attendibili, per il diverso stato di freschezza del materiale, rivelato anche dal comportamento dei controlli. Queste uova sono esternamente simili a quelle della nostra Lampreda di fiume, per aspetto, dimensioni, modo di svilupparsi. Anche la velocità di sviluppo non sembra molto diversa, per quanto mi è possibile giudicare, avendo sperimentato in tempi e in condizioni diverse.

L'attivazione ai vapori di cloroformio dà gli stessi risultati che per l'uovo di Lampreda: 45''-60'' di esposizione danno fino al 95-98 % di uova orientate. L'*optimum*, nelle condizioni in cui ho sperimentato (temperatura dell'ambiente 20°-22° C) è intorno ai 55''.

Per il secondo trattamento (dopo circa 10'-15' dalla esposizione al cloroformio) ho usato esclusivamente  $\text{NaNO}_3$ , a varie concentrazioni, comprese fra m/2 (4.25 %) e m/8 (1.06 %). Per le ragioni anzidette, non ho potuto fissare con precisione l'*optimum* del tempo e della concentrazione; approssimativamente, si può concludere che la durata più conveniente è fra 1<sup>h</sup> - 1<sup>h</sup>.30', e la concentrazione intorno a m/4 (2.13 %). Tali dati quindi concordano abbastanza bene con quelli che si riferiscono alla nostra lampreda. I risultati sono stati piuttosto costanti, pur nella loro varietà.

Dopo il trattamento ipertonico buona parte delle uova si segmentano, ma spesso, fin dalla prima divisione, compaiono notevoli irregolarità. Non di rado il primo solco non si completa, e il polo vegetativo rimane indiviso, mentre i controlli sono regolarmente divisi in due blastomeri. Questa prima divisione incompleta spesso scompare, e le uova riacquistano la forma sferica, per dividersi poi nuovamente, quando i controlli sono allo stadio di 4 o di 8 blastomeri. Questa seconda divisione separa per lo più tre, quattro o più blastomeri al polo animale, mentre quello vegetativo rimane indiviso; spesso alcuni piccoli blastomeri si separano completamente dal resto dell'uovo. Nessun uovo di questo tipo giunge a formare blastule regolari: talvolta si osserva che i solchi scompaiono ancora una volta, per ricomparire poi, sempre irregolari e incompleti, finchè l'uovo muore.

Altre uova presentano maggior regolarità nei primi stadi dello sviluppo, e divengono morule apparentemente normali, che però, dopo aver espulso, in genere, abbondante materiale vitellino, muoiono senza svilupparsi ulteriormente.

Molte uova, nei vari lotti in esperimento, danno però origine a blastule dall'aspetto più o meno normale: alcune mostrano qualche anomalia,

come masserelle di materiale vitellino indivise, emissione di blastomeri dal polo animale, o da quello vegetativo. Altre invece sembrano perfettamente normali.

Da alcune di queste blastule di *Lampetra fluviatilis*, nel 1932 e nel 1933, ho potuto ottenere poche gastrule, molto difettose e poco vitali, incapaci di proseguire nello sviluppo. Qualeuna è giunta al termine della gastrulazione e ha iniziato il sollevamento della cresta neurale, ma non mi è stato possibile condurne più avanti lo sviluppo. Ancor meno in *Entosphenus*, dove nessuna delle blastule ottenute fu capace di gastrulare: vissero per parecchi giorni (alcune, tenute alla temperatura di circa 10°, sopravvissero per otto giorni), ma, benchè avessero aspetto perfettamente normale, non accennarono al minimo tentativo d'invaginazione, non formando neppure quella protuberanza caratteristica, fra l'emisfero animale e quello vegetativo, che nella lampreda, precede la formazione del blastoporo.

Tentai anche di ottenere la gastrulazione con stimoli diversi, ma senza risultato. Ecco, come esempio, uno dei protocolli:

12 maggio 1932, ore 16.20. Circa 400 uova di *Entosphenus* attivate al cloroformio per 50'. Quasi tutte le uova hanno reagito.

Ore 16.55. Trattamento con sol. m/4 di  $\text{NaNO}_3$  per 1b,30' a temperatura ambiente (ca. 22°).

Ore 18.30. Messe in acqua di fonte, a 15°, e portate poi in frigorifero, a 10°.

13 maggio, ore 11. 95 % delle uova divise, molte irregolarmente, un centinaio regolari, a 16 blastomeri.

14 maggio, ore 12. Rimangono vive un centinaio di morule dall'apparenza normale.

15 maggio, ore 23. Quasi tutte vive, trasformate in blastule apparentemente normali.

16 maggio, ore 10. Rimangono 60 blastule normali, che non accennano a gastrulare.

17-18-19 maggio. Vivono bene, ma non gastrulano.

20 maggio, ore 15. Nessun progresso nello sviluppo.

Alle ore 18 le 50 blastule rimaste vengono divise in 9 lotti, sottoposti ai seguenti trattamenti:

- a) Controlli. Vivono, senza gastrulare, fino al 24.
- b) Portate a temperatura ambiente. Il 21 sono morte.
- c) Portate per 1' e 2' in acqua a 42°, poi rimesse a 10°. Il 21 sono morte.
- d) Portate in acqua a 30°, fatta raffreddare poi gradualmente fino alla temperatura ambiente. Il 21 sono morte.
- e) Portate per 1', 2', 5', 10', 15' a 30°, poi rimesse a 10°. Alcune sopravvivono fino al 24, senza gastrulare.
- f) Punte con un ago fra il polo animale e il vegetativo. Il 21 sono morte, tranne una che non gastrula.

g) Portate per 2', 4', 5', 10', su una striscia di carta da filtro imbevuta di soluzione alcalina di tirossina Squibb all'1% in modo che la soluzione venga a contatto con un punto della regione equatoriale. Il 22 una blastula sembra aver gastrulato, ma poi è morta. Il 23 tutte le altre blastule son morte, senza aver gastrulato.

h) Tenute per 5', 10', 15', in soluzione m/4 di  $\text{NaNO}_3$ . Il 22 una gastrula, ma muore tosto. Le altre sono morte.

i) Tenute per 4', 10', 15', in soluzione m/8 di  $\text{CaCl}_2$ . Il 23 son tutti morti. 24 maggio. Fissate le blastule sopravvissute.

Quindi, tranne i due casi, piuttosto dubbî, di cui alle lettere g e h, i risultati di questi tentativi di far gastrulare le blastule sono stati tutti negativi. Altri esperimenti hanno dato analoghi risultati.

Concludendo, le uova di *Lampetra fluviatilis* e di *Entosphenus wilderi*, sottoposte alla sola azione attivante dei vapori di cloroformio (che può essere sostituito da molti altri reagenti e stimoli fisici) reagiscono come alla fecondazione, ma non si segmentano, né procedono nello sviluppo. Il successivo trattamento ipertonico le rende capaci di segmentarsi, il che per lo più fanno irregolarmente, e muoiono a stadi più o meno precoci. Una percentuale abbastanza elevata si segmenta regolarmente e dà origine a blastule apparentemente normali, di cui poche (di *Lampetra*) possono anche gastrulare. Le blastule di *Entosphenus* sono invece rimaste restie alla gastrulazione, e hanno sopravvissuto per molti giorni, senza procedere nello sviluppo. Tutti gli embrioni partenogenetici delle due specie, finora, sono morti prima d'iniziare o subito dopo avere iniziato il differenziamento morfogenetico.

b) *I problemi.* — Vari problemi si pongono a chi esamini questi risultati, mettendoli in relazione con le numerose ricerche sulla partenogenesi sperimentale, condotte, dai tempi di LOEB (1900) a oggi, su molte specie di vertebrati e d'invertebrati, pur prescindendo dal difficile problema della natura fisiologica del processo di attivazione e delle sue relazioni con quanto avviene nella fecondazione normale. Stabilito il fatto che la sola attivazione è incapace di far segmentare l'uovo, mentre il trattamento ipertonico gli conferisce la facoltà di svilupparsi più o meno normalmente, si rende necessaria l'analisi citologica delle uova semplicemente attivate, e il confronto con quelle che hanno subito il secondo trattamento, per stabilire come quest'ultimo possa produrre i suoi effetti, come possa, cioè, sul solo pronucleo femminile, instaurarsi una mitosi dicentrica e, almeno in un buon numero di casi, equilibrata e capace di produrre la segmentazione normale. Il modo d'agire di questo trattamento «regolatore», come viene spesso chiamato dagli studiosi della partenogenesi, è uno dei problemi più oscuri e più intricati di tutto il processo, nè, finora, se n'è trovata in alcun caso una soluzione soddisfacente. Prima di affrontarlo occorre conoscere i movimenti dei pronuclei e il decorso degli eventi

citologici, che conducono alla prima divisione nelle uova fecondate, e analizzare minutamente il fenomeno dell'attivazione semplice, per vedere fin dove esso corre parallelo alla fecondazione, e dove se ne discosta.

È appunto questo il compito che mi sono proposto innanzi tutto: l'analisi citologica dell'attivazione. Di essa riferirò in questo lavoro, completando ed estendendo quanto già scrissi in una Nota preliminare (1934). L'analisi del processo «regolatore» e dello sviluppo delle uova partenogenetiche, più difficile e più complessa per molte ragioni, potrà essere oggetto di ulteriori studi.

#### IV. — ANALISI CITOLOGICA DELLE UOVA FECONDATE DI *LAMPETRA*.

I lavori di A. MÜLLER (1864), E. CALBERLA (1877), C. KUPFFER e B. BENECKE (1878), A. BÖHM (1887-88) e K. HERFORT (1899, 1901), hanno illustrato abbastanza ampiamente i processi della maturazione e della fecondazione dell'uovo di Lampreda. Il lavoro di HERFORT (1901) soprattutto offre una descrizione accurata, e corredata di buone figure. Avendo reputato opportuno studiare direttamente la citologia della fecondazione, ritengo non inutile riassumere qui i risultati del mio studio, che precisano alcuni punti della descrizione dell'HERFORT, e se ne discostano un poco in alcuni altri.

a) *L'uovo ovarico*. — Una descrizione della oogenesi della lampreda ci è data dal LUBOSCH (1904). Io mi limiterò a riferire le osservazioni che ho fatte sulla vescicola germinativa dell'uovo ovarico, poco prima della discesa dei follicoli e della caduta dell'uovo nella cavità addominale. La vescicola germinativa ha una posizione eccentrica, essendo situata presso il polo animale (tav. I, fig. 1); ha contorni alquanto irregolari (fatto che il LUBOSCH attribuisce alla contrazione prodotta dal fissativo) e consta di un succo fortemente acidofilo. La cromatina è addensata in un nucleolo sferico, eccentrico. Sopra alla vescicola germinativa, tra questa e la periferia dell'uovo, al polo animale, v'è una formazione, chiamata da A. MÜLLER «Deckel des Urbläschens»: è formata da citoplasma denso e omogeneo, per lo più leggermente basofilo, nel quale si trovano scarsi granuli di tuorlo, disposti a formare come tanti isolotti frammezzo al delta d'un fiume. Sotto alla vescicola germinativa, cioè verso il centro dell'uovo, v'è anche un'area in cui i granuli di tuorlo sono rarefatti e immersi in abbondante citoplasma. Le relazioni di queste tre parti — la vescicola germinativa, il «Deckel» sovrastante e il citoplasma sottostante — con il cosiddetto «plasma polare» di BÖHM, che si rende evidente dopo l'attivazione, non sono affatto chiare. A questo stadio la vescicola germinativa è ancora integra, delimitata da una membrana, che spesso è ben visibile, e sembra perciò da escludersi che essa sia in continuità con il plasma del «Deckel», e che

questo derivi da quella. Il BÖHM ritiene che il « Deckel » scompaia e che il plasma polare derivi esclusivamente dalla vescicola germinativa; il LUBOSCH, invece, pensa che ambedue partecipino alla costituzione del plasma polare.

Nè agli autori che mi precedettero, nè a me, è riuscito di vedere gli stadi intermedi fra quello testè descritto e quello di cui ora dirò. La rottura della vescicola germinativa, la formazione dei vacuoli al polo animale contenenti il plasma polare, la migrazione del nucleo alla periferia dell'uovo e la emissione del primo globulo polare, che avvengono in quel lasso di tempo che intercede fra lo stadio ora descritto e la caduta dell'uovo nella cavità celomatica, devono succedersi piuttosto rapidamente, perchè a nessuno riuscì di fissarle.

b) *L'uovo vergine, pronto per la fecondazione.* — Non ho ritrovato esattamente la disposizione figurata da HERFORT. In sezione sagittale si rileva che v'è una distribuzione caratteristica dei granuli del tuorlo: su tutta la calotta « animale » (circa  $\frac{1}{3}$  della superficie di sezione) sono fini e addensati, più fini e più densi verso l'interno. Nel rimanente hanno dimensioni più grosse, e son più radi, e, precisamente, sono più fini alla periferia, più grossi e radi al centro, così che i più grossi di tutti si trovano internamente, verso il secondo terzo del maggior asse. Rimane così fissato, dalla disposizione dei granuli del tuorlo, l'asse principale.

La disposizione dei granuli del tuorlo, nella regione del polo animale, non è uniforme, ma lascia tanti piccoli alveoli, pur essi distribuiti con molta regolarità. Altri alveoli sono disposti su tutta la periferia, ma non in modo così geometricamente perfetto come nella figura del HERFORT.

Gli alveoli che stanno fra i granuli di tuorlo della zona polare non sono perfettamente chiari, come quelli della periferia, e contengono un plasma ialino, a struttura finemente alveolare, misto a qualche minutissimo granulo di tuorlo.

Gli alveoli periferici, invece, che abbondano soprattutto nella regione vegetativa, appaiono del tutto chiari e completamente trasparenti, o perchè il loro contenuto è andato completamente disciolto, o perchè si è rappreso in una sostanza assolutamente incolora.

Non ho mai osservato, nelle uova non fecondate, la calottina di « plasma polare » descritta dal HERFORT come una semiluna al polo animale. A mio avviso il « plasma polare » di BÖHM viene espresso dagli alveoli interni del polo animale quando l'uovo reagisce alla penetrazione dello spermio, e soltanto allora si raccoglie tutto al polo animale. Può darsi anche che la differenza fra la figura del HERFORT e quella da me osservata dipenda da diversità di stadio, e che una delle due rappresenti una fase più precoce.

Gli alveoli esterni, o periferici, invece, contengono verosimilmente quella sostanza che, dopo la contrazione del plasma dell'uovo, che succede

all'attivazione, si raccoglie fra il corio e il vitello; sostanza perfettamente limpida e incolore, che vien fatto di considerare come acqua, ma che invece si dimostra di densità e tenacità non inferiore a quella dell'albume d'ova.

Il nucleo è al polo animale, ma in posizione eccentrica, nella zona corticale, ed ha già emesso il primo globulo polare, che, per lo più gli rimane vicino. È nella metafase della seconda divisione di maturazione. Si distingue bene il fuso, orientato quasi perpendicolarmente alla superficie dell'uovo, a forma di barilotto (tav. II, fig. 10). Spesso la posizione del pronucleo è individuabile per una lieve depressione della superficie dell'uovo, che lo ospita.

Secondo il LUBOSCH (1904) l'uovo è rivestito da una sottilissima pellicola, la membrana vitellina. Essa corrisponde, in sostanza, allo strato alveolare periferico, che, come abbiamo già detto, è più spesso al polo vegetativo. All'esterno v'è una membrana abbastanza spessa e molto resistente, la *zona*, o *zona radiata*, o *zona pellucida*, o *corion*, che consta di due strati, l'interno più sottile. Il corio è continuo e non mostra soluzioni di continuità. È da escludere, quindi, in accordo con la maggioranza degli autori, la presenza di un micropilo, descritto dal CALBERLA in *L. planeri* e ritrovato da OWSJANNIKOW (1885).

Al polo animale, esternamente al corio, esiste invece una calotta, già osservata da A. MÜLLER, e da lui denominata «Flocke», che, nelle sezioni, assume l'aspetto di una massa a struttura alveolare nella parte esterna, radiata nella parte che sta a contatto con il corio. Forse non è altro che un ammasso di quella sostanza gelatinosa e adesiva che circonda tutto l'uovo, poichè non tarda a sciogliersi e a scomparire come quella. È verosimile che abbia importanza nell'attivare gli spermî e nel facilitare loro la penetrazione nell'uovo, perchè si può osservare anche sul vivo l'addensamento degli spermî in questa regione, dalla quale poi lo spermio fecondatore penetra nell'uovo.

c) *La fecondazione*. — Gli imponenti fenomeni che l'uovo di lampreda manifesta alla fecondazione, così come si possono osservare all'esterno, sono stati accuratamente descritti da vari autori e in particolare dal CALBERLA, dal BÖHM, dal HERFORT. Io pure ne ho fatto cenno nelle Note precedenti (1932, 1934) e mi limiterò perciò a riassumerli qui, prima di passare allo studio delle sezioni.

Non appena a contatto con lo sperma, il plasma dell'uovo si distacca, al polo animale, dal corio, per la formazione di una piccola fossetta, la quale ben presto si estende, sì che tutta la calotta polare sottostante al «Flocke» si distacca dal corio. In prossimità della fossetta si vede un lembo di plasma, ialino e trasparente, che mantiene per un certo tempo la connessione dell'uovo con la membrana («Axenstrang» o «Leitband» degli autori tedeschi). Poi questo filamento plasmatico, spesso accompa-

gnato da altri filamenti laterali più sottili, si rompe. Dall'uovo intanto viene estruso altro plasma ialino (plasma polare) sì che, dopo circa un minuto dalla fecondazione, si vede una goccia ialina che fa ernia al polo animale, ed è spesso accompagnata da altre, più piccole, protuberanze laterali. Tutto il plasma polare è dotato di movimenti abbastanza vivaci; la goccia cambia rapidamente di forma: si accresce prima, fino a divenire, talvolta, come una sferula aderente all'uovo soltanto per un sottile peduncolo; poi si riassorbe man mano, assumendo la forma di una collinetta sempre meno eminente, e scompare, infine, del tutto. Intanto il distaccamento dell'uovo dalla membrana procede tutt'intorno. Una onda di contrazione molto evidente si propaga dal polo animale verso il polo vegetativo, e, dopo 5'-7' dalla fecondazione, l'uovo è interamente distaccato dalla membrana (corio) e ne è separato da un cospicuo spazio perivitellino. In pari tempo il plasma polare si è riassorbito, e rimane evidente solo più come una macula superficiale. Ruotando lentamente nella membrana, l'uovo si orienta e il polo animale, ben riconoscibile dalla macula polare, viene a situarsi in alto.

La forma, prima ellissoidale, è ora divenuta sferica. Che il distaccamento della membrana sia dovuto a una contrazione dell'uovo e non a un assorbimento di acqua dall'esterno (come affermarono alcuni dei più antichi ricercatori) è stato dimostrato con esatte misure da OKKELBERG (1914).

Il liquido che viene espresso nello spazio perivitellino, quando giunga a contatto con l'acqua, in seguito a perforazione della membrana, coagula in una densa e tenace sostanza, che ha la consistenza della chiara d'uovo. Evidentemente esso viene spremuto dagli alveoli periferici che, nell'uovo fecondato, sono scomparsi.

Non ho mai potuto osservare in vivo l'entrata dello spermatozoo, ma è certo che esso penetra sempre nella regione del polo animale, e viene a trovarsi nel plasma polare. Il « Leitband » o « Axenstrang » deve costituire la strada per cui esso giunge nell'uovo.

Dopo circa un'ora o poco più, la macula polare si dilegua e scompare. Le sezioni possono ora illuminarci sui movimenti del plasma polare.

Nelle sezioni di uova fissate 3-4 minuti dopo la fecondazione (tav. I, fig. 2) si può vedere il plasma polare estroflesso in una sorta di collinetta centrale, intorno alla quale vi sono goccioline accessorie. Nelle varie sezioni, ed esaminando diverse uova, si possono ricostruire tutte le fasi del movimento di questa estroflessione del plasma polare. In esso si può talvolta vedere lo spermatozoo, o almeno la testa, di forma allungata, intensamente colorata, non dissimile da quelle degli spermî che sono rimasti nella gelatina intorno all'uovo.

Il plasma polare è delimitato verso il tuorlo da una zona più ispessita, che da alcuni autori fu considerata come una vera membrana (BÖHM), alla quale il HERFORT assegna una funzione di assimilazione dei granuli

di tuorlo. Mi pare però poco probabile che si tratti di una vera e propria membrana, e non credo ch'essa abbia nulla a che vedere con l'assimilazione del tuorlo, che, a questo stadio, non è peranco iniziata.

Dopo circa 5'-7' dalla fecondazione la goccia del plasma polare è completamente riassorbita, e il polo animale ha, in sezione, l'aspetto rappresentato dalla fig. 3, tav. I. In questa si vede pure la testa dello spermatozoo, intensamente colorata. È da notare che in tutte le sezioni lo spazio perivitellino risulta considerevolmente ridotto, rispetto a quello che è nel vivo, in seguito alla fissazione. Lo strato alveolare che circonda tutto l'uovo scompare, per lo svuotamento degli alveoli, a mano a mano che l'onda di contrazione progredisce verso il polo vegetativo. Nelle sezioni di materiale fissato a brevi intervalli dopo la fecondazione, si può seguire il processo.

Il plasma polare non interrompe la sua attività, ma va ora man mano internandosi fra i granuli del tuorlo.

La fig. 4, tratta da un uovo fissato 15' dopo la fecondazione, ne dimostra l'attivo approfondamento. In essa si vede (in *a*) la posizione del nucleo dell'uovo, che è ancora in metafase della seconda divisione di maturazione.

Il plasma polare continua poi, lentamente, ad allontanarsi dalla superficie, con la quale rimane unito da un peduncolo, che viene poi man mano occupato da granuli di tuorlo, pur conservandosi riconoscibile ancora per lungo tempo. Il pronucleo maschile, intanto, subisce delle modificazioni, che sono state diligentemente descritte dal HERFORT: dal centrosoma partono i primi raggi dell'aster, la testa dello spermio si gonfia, e assume l'aspetto tipico del pronucleo maschile, e ruota di 180°, portando il centrosoma all'innanzi. Non ho però potuto osservare la frammentazione della cromatina spermatICA in alcuni spermatomeriti, che dovrebbe (secondo BÖHM e HERFORT) precedere il rigonfiamento del pronucleo maschile.

Dopo 30'-1<sup>h</sup> dalla fecondazione (fig. 5) si vede il plasma approfondato nel tuorlo, e il pronucleo ♂ già abbastanza rigonfio, intorno al quale si può distinguere la radiazione dell'aster.

Frattanto il pronucleo ♀, che prima della fecondazione era abbastanza facilmente visibile, diventa difficilissimo a scoprirsi, perchè la fossetta in cui era allogato il primo globulo polare scompare, e si dilegua pure l'areola di plasma sgombro di tuorlo, che lo circondava. La sua ricerca, nel fitto dei granuli di tuorlo, che si colorano intensamente con l'ematosilina ferrica, diviene assai ardua, e in molti preparati non si riesce a trovarlo.

Torna a rendersi visibile dopo 30'-45' dalla fecondazione, allorchè si risveglia dal suo torpore, e inizia la formazione del secondo globulo polare, che, dopo circa 1<sup>h</sup> dalla fecondazione è generalmente compiuta. Si può allora seguire l'anafase della seconda divisione, che presenta un fuso più esile e allungato, che non la prima; e la formazione del polo-

cito (la fig. 15 della tav. II, benchè tratta da un uovo partenogenetico può illustrare questo stadio).

Dopo di ciò il pronucleo femminile diventa nuovamente difficilissimo a vedersi, perchè lascia la superficie dell'uovo, e si approfonda lentamente fra i granuli di tuorlo sottostanti: ciò avviene nel tempo compreso fra 1<sup>h</sup> e 2<sup>h</sup>,30' circa dalla fecondazione. In alcuni preparati ho potuto discernere il pronucleo femminile nascosto fra il tuorlo e completamente privo di areola plasmatica.

Il pronucleo femminile, quindi, si allontana per virtù propria dalla periferia, inoltrandosi fra il tuorlo. Il plasma polare, intanto, continua il suo attivo movimento. Circa 1<sup>h</sup>, 1/2 dopo la fecondazione, l'aster ha raggiunto il massimo sviluppo, e domina tutta l'area del plasma polare, che si è ormai approfondata di molto. Allora la direzione del movimento cambia, e il plasma manda un prolungamento, quasi uno pseudopodo, nella direzione del pronucleo femminile. Questo pseudopodo può essere più o meno lungo, e non sempre è diretto fin dall'inizio nel senso giusto; spesso si parte in direzione diversa dalla buona, e poi si ripiega, per raggiungere il pronucleo femminile.

Le figure 1, 2, 3 nel testo, dimostrano il movimento del prolungamento del plasma polare. Il pronucleo femminile, raggiunto dal plasma polare, scivola rapidamente verso quello maschile; non mi è stato possibile incontrare le tappe intermedie di questo cammino. A 2<sup>h</sup>,30' dalla fecondazione, i due pronuclei sono già vicini.

Le mie osservazioni differiscono un poco, in questo punto, da quelle del HERFORT, il quale afferma che il pronucleo femminile rimane alla superficie, finchè il prolungamento del plasma polare non venga a incontrarlo. Io non escludo che ciò possa avvenire, anzi ho ragioni per ritenere che, in alcuni casi, il plasma polare scivoli lungo la superficie dell'uovo,

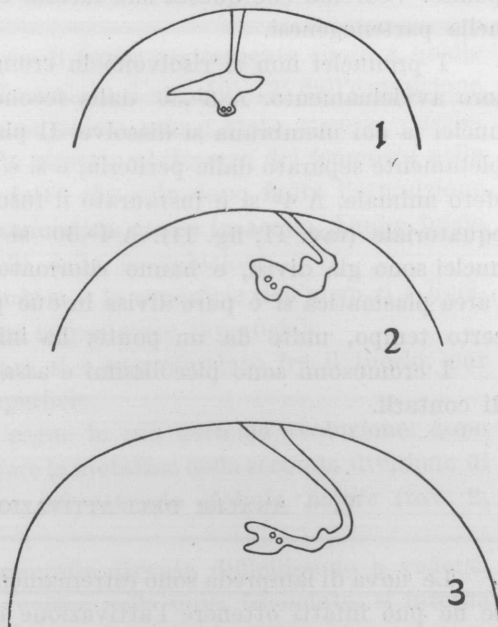


Figure 1, 2, 3. — Uova fissate tre ore dopo la fecondazione; ricostruzione della forma del plasma polare, proiettata in un piano, con la sovrapposizione dei disegni di diverse sezioni (camera lucida, Zeiss, ob. 10, oc. 6).

fino a raggiungere il pronucleo femminile prima che questo si sia di molto allontanato dalla periferia (da alcuni fenomeni osservati in vivo, e dallo studio di alcune sezioni); ma m'importa d'insistere sul fatto (che, nella serie da me studiata, è di gran lunga il più frequente) che il pronucleo femminile è capace di abbandonare la sua posizione periferica e di scendere fra i granuli di tuorlo, per incontrarvi il prolungamento del plasma polare. Vedremo che questa sua facoltà è confermata da quanto avviene nella partenogenesi.

I pronuclei non si risolvono in cromosomi che circa un'ora dopo il loro avvicinamento. A 3<sup>h</sup>,30' dalla fecondazione si possono vedere alcuni nuclei la cui membrana si dissolve. Il plasma polare, intanto, si è completamente separato dalla periferia, e si è portato verso il mezzo dell'emisfero animale. A 4<sup>h</sup> si è instaurato il fuso, e i cromosomi sono in piastra equatoriale (tav. II, fig. 11). A 4<sup>h</sup>,30' si assiste all'anafase. A 5<sup>h</sup> i due nuclei sono già divisi, e hanno riformato le membrane (tav. II, fig. 9) l'area plasmatica si è pure divisa in due porzioni che rimangono, per un certo tempo, unite da un ponte; ha inizio la citodieresi.

I cromosomi sono piccolissimi e assai numerosi, e non mi è riuscito di contarli.

#### V. — ANALISI DELL'ATTIVAZIONE SPERIMENTALE.

Le uova di lampreda sono estremamente sensibili agli agenti attivanti. Se ne può infatti ottenere l'attivazione con numerosi mezzi. Ho finora sperimentato con successo: vapori di cloroformio, di alcool, di xilolo, di etere; mi hanno dato invece risultati negativi le soluzioni di acido butirrico; anche l'immersione in soluzioni debolissime di taluni coloranti vitali (rosso neutro, bleu nilo) ha l'effetto di attivare l'uovo; le soluzioni saline ipertoniche hanno lo stesso risultato. Anche il riscaldamento e la successiva immersione in acqua fredda, la puntura, lo scuotimento, attivano l'uovo di lampreda. Con qualcuno di questi mezzi, probabilmente, si ottiene un'attivazione incompleta.

In tutti questi esperimenti ho preferito usare un sol metodo e ho scelto quello che già mi aveva dato buoni risultati nelle precedenti ricerche, l'esposizione ai vapori di cloroformio, a temperatura ambiente, per 45''-60'' (cfr. MONTALENTI, 1932).

I fenomeni esterni che si osservano nelle uova attivate ai vapori di cloroformio sono perfettamente simili a quelli che abbiamo descritto nelle uova fecondate, e mi astengo dal riassumerli, per non ripetere una descrizione già data. L'unica differenza è l'aspetto della superficie esposta al cloroformio, che, per qualche minuto, conserva una specie di macchia biancastra, opaca, indizio di un principio di citolisi in quella regione

dell'uovo. Dall'estensione e dalla durata di questa macchia si può riconoscere se l'esposizione ai vapori è stata sufficiente, o troppo prolungata. Dopo che è avvenuta la contrazione dell'uovo, la superficie ritorna liscia, e la macchia superficiale scompare.

A parte questa differenza, tutto procede, esteriormente, come nella fecondazione; dal polo animale geme la goccia di plasma polare, che poi viene riassorbita, mentre un'onda di contrazione distacca l'uovo dalla membrana.

L'esame citologico dà una serie di figure esattamente simili a quelle che abbiamo descritte per l'uovo fecondato. Dopo 10'-12' dall'esposizione al clorofornio la gocciola di plasma polare non è stata ancora completamente riassorbita. Questo ritardo rispetto al decorso dei fenomeni nella fecondazione devesi attribuire al fatto che solo dopo finita l'esposizione ai vapori, e quando già le uova sono state messe in acqua, hanno inizio i fenomeni paragonabili con quelli della fecondazione.

Dopo 30' la gocciola è riassorbita e la superficie dell'uovo si è livellata, ma il plasma polare è ancora in posizione superficiale.

Dopo circa 1<sup>h</sup> il plasma polare si è approfondato fra il tuorlo, pur rimanendo in contatto con la superficie.

Intanto il nucleo femminile segue la sua normale evoluzione: dopo 30'-45' dall'attivazione si può vedere la metafase della seconda divisione di maturazione, e poi la emissione del secondo globulo polare (tav. 2, fig. 15).

Dopo di ciò il pronucleo femminile diventa difficilissimo a vedersi, perchè, analogamente a quanto avviene nelle uova fecondate, si interna fra i granuli di tuorlo, e discende verso il centro dell'uovo.

Fino a questo punto tutto procede con lo stesso ritmo che nella fecondazione. Da ora in poi cominciano a notarsi le divergenze. Il plasma polare, dopo essersi allontanato dalla superficie, compie, al massimo, pochi movimenti di scarsa entità: tale è forse l'interpretazione da dare ad alcune lobulazioni, che si osservano. In assenza del pronucleo maschile e dell'aster, pare che il plasma polare sia incapace di compiere quei movimenti che abbiamo descritto nelle uova fecondate, e che hanno il risultato di condurlo a raccogliere il pronucleo femminile. Ancora dopo 4 ore dal trattamento partenogenetico, si vede il plasma nella posizione che, nelle uova fecondate, occupa 1<sup>h</sup>,30' e 2<sup>h</sup> dopo la penetrazione dello spermio (fig. 13, 14, tav. II).

Questa incapacità del plasma polare ad eseguire quei movimenti in seguito ai quali il pronucleo femminile viene accolto nel plasma stesso, incapacità che è dovuta evidentemente all'assenza del pronucleo maschile e del suo aster, pare sia il fatto più significativo dello sviluppo dell'uovo partenogenetico: è la sola differenza essenziale fra questo e l'uovo fecondato.

Il pronucleo femminile non si comporta, in un primo tempo, diversamente da quello dell'uovo fecondato: anch'esso, dopo di avere emesso il secondo globulo polare, abbandona la superficie, per internarsi fra i granuli del tuorlo. Poichè non incontra il diverticolo del plasma polare, continua il suo cammino, fino a profondità maggiore di quella raggiunta dal plasma polare (fig. 13, 14, tav. II). Indi si arresta, e inizia il suo sviluppo partenogenetico. Si circonda di un'areola di plasma, che rende d'ora innanzi facile scoprirlo fra il tuorlo, infine si libera dalla membrana e si risolve in cromosomi.

Tutto ciò avviene però con molto ritardo rispetto allo sviluppo dell'uovo fecondato. Infatti, mentre in quest'ultimo dopo 3<sup>h</sup>,30' dalla fecondazione, il nucleo dello zigote comincia già a risolversi in cromosomi, e dopo 4<sup>h</sup> si vedono tutte piastre equatoriali, il pronucleo femminile dell'uovo partenogenetico, dopo 4<sup>h</sup> - 4<sup>h</sup>,15' dall'attivazione comincia appena a risolversi in cromosomi, e soltanto dopo 4<sup>h</sup>,30' - 5<sup>h</sup> lo si trova completamente risolto (fig. 12). Si riesce a vedere anche le radiazioni del monaster che si forma nel plasma circostante, ma, per la scarsità di questo, non sono molto pronunciate.

Mentre dunque le uova fecondate già stanno dividendosi nei due primi blastomeri, dopo 5<sup>h</sup> dalla fecondazione, nelle uova partenogenetiche si ha il culmine della mitosi monocentrica: monaster intorno a un nucleo completamente risolto in cromosomi. Questi rimangono, più o meno disordinatamente disposti, nel mezzo della figura monocentrica: talvolta si trovano smarriti verso la periferia di questa.

Dopo un certo tempo l'aster regredisce. Verso 5<sup>h</sup>,30' - 6<sup>h</sup> dall'attivazione il nucleo si è ricostituito con membrana più o meno evidente, e, a circa 7<sup>h</sup> - 7<sup>h</sup>,30' si risolve nuovamente in cromosomi, e compare un secondo monaster (fig. 14, tav. II).

A questo punto, generalmente sopravviene la citolisi, e l'uovo muore. Ma è verosimile che, quando ciò non si verifica, un terzo ciclo mitotico monocentrico si formi sul nucleo dell'uovo partenogenetico, con ritmo alquanto accelerato rispetto ai primi due.

In questo frattempo, il plasma polare sembra rimanere inerte, forse compie qualche piccolo movimento, non sufficiente ad attirare a sè il pronucleo femminile. Esternamente si manifestano talvolta leggere increspature della superficie, o solchi poco profondi, che scompaiono per poi riformarsi nuovamente.

L'insieme dei dati che si ricavano dai vari preparati delle due serie di esperimenti è estremamente uniforme, e si riscontrano pochissime variazioni nella posizione del plasma polare e del pronucleo femminile.

Si conclude dunque, da questa analisi, che nell'uovo partenogenetico manca al « plasma polare » la capacità di muoversi nella direzione del pronucleo femminile, sì da accoglierlo in sè; il pronucleo femminile, invece,

si comporta, in un primo tempo, come nelle uova fecondate: emesso il secondo globulo polare discende fra i granuli di tuorlo; qui inizia poi il proprio sviluppo partenogenetico, dopo essersi circondato di un'areola di plasma. Lo sviluppo del nucleo partenogenetico consiste in un ciclo di monaster che si susseguono con ritmo leggermente accelerato, e che terminano con la citolisi.

## VI. — DISCUSSIONE.

La partenogenesi sperimentale si è rivelata un ottimo mezzo per l'analisi dei processi della fecondazione. Dall'epoca del LOEB ad oggi numerosissimi esperimenti, su vario materiale, sono stati eseguiti e diverse teorie sono state proposte per l'interpretazione dei vari fenomeni che succedono alla fecondazione. Non è mia intenzione esporre qui tali teorie, che — a mio avviso — tutte peccano per una visione troppo unilaterale dei fatti. Basta ricordare che, mentre i fisiologi americani della scuola del LILLIE sostengono che il processo della fecondazione è essenzialmente unitario, e tale è quindi anche la partenogenesi sperimentale, la scuola del LOEB, e in particolare il suo maggior rappresentante attuale, il BATAILLON, distinguono due fattori, due momenti nella partenogenesi, come nella fecondazione: uno corrisponde alla semplice *attivazione* dell'uovo, con tutti i fenomeni fisiologici e morfologici che ne conseguono, l'altro a quella che è stata chiamata *regolazione*, caratterizzata soprattutto dalla comparsa dell'aster spermatico, o di una formazione analoga, che abbia le stesse funzioni, e dall'origine della dicentria.

Il classico metodo della partenogenesi in due tempi del LOEB sarebbe, secondo il LOEB stesso e il BATAILLON, la riproduzione sperimentale di due fenomeni che, nella fecondazione, si succedono più da vicino. L'acuta analisi critica e sperimentale a cui il BATAILLON, nel corso di lunghi anni di lavoro, ha sottoposto il fenomeno della fecondazione (cfr. BATAILLON e TCHOU SU, 1934), lo ha persuaso che quelli ch'egli chiama i ritmi cinetici d'attivazione e di regolazione sono sempre riconoscibili e discernibili come due processi ben distinti. Nella partenogenesi delle uova di echinodermi col metodo di LOEB, i due trattamenti successivi che si richiedono per lo sviluppo corrispondono rispettivamente ai due ritmi. Nella partenogenesi per puntura degli Anuri, la sola puntura provoca fenomeni del tutto analoghi a quelli del primo trattamento di LOEB; soltanto quando con la puntura si inocula materiale nucleare (o anche di altra natura) possono originarsi mitosi dicentriche equilibrate, che rendono possibile la segmentazione e lo sviluppo regolari. L'inoculazione ha quindi lo stesso effetto del secondo trattamento di LOEB. Anche in molti casi di ibridazione eterospecifica — negli Echinodermi, come negli

Anuri — si vede che lo spermio eterogeneo provoca la semplice attivazione dell'uovo, non seguita da regolazione e da normale sviluppo.

L'*attivazione* semplice, dunque, — negli Echinodermi come negli Anfibi — oltre a quei fenomeni corticali ben noti che sono la permeabilizzazione dell'uovo, l'eliminazione di liquidi, il sollevamento della membrana (neoformata o preesistente), inizia un ritmo di mitosi monocentriche sul pronucleo femminile.

La *regolazione* invece interviene, prima che si inizi il ciclo di monaster, e vi sostituisce un ritmo di anfiaster. Si forma dapprima un aster monocentrico sul pronucleo maschile, che percorre tutto il suo cielo, per diventare doppio quando il nucleo entra in cinesi.

Questa, in riassunto, la concezione del BATAILLON. In quei casi, come quelli descritti dal JUST (1922), in cui col solo trattamento ipertonico si ottiene, nelle uova d'Arbacia, sollevamento della membrana, segmentazione e sviluppo, le due azioni, attivante e regolatrice, sarebbero sovrapposte e miste. In una recente rassegna sintetica BATAILLON e TCHOU (1934) passano in rivista numerosi fatti, desunti dalla partenogenesi, dalla fecondazione, dall'ibridazione, e da tutti i casi di attivazione deficiente o eccessiva, i quali tutti concordano con la teoria.

Molta importanza è data — in particolare — al risultato di un antico esperimento dello ZIEGLER (1898), recentemente confermato dal WOERDEMAN (1935): costringendo meccanicamente l'uovo fecondato di riccio di mare in modo che il pronucleo maschile non possa venire a contatto con quello femminile, si vede comparire intorno a quest'ultimo il cielo dei monaster, ritardato rispetto al ciclo dicentrico dei controlli, come nelle uova che hanno subito soltanto il trattamento attivante.

Gli autori americani, invece, che si preoccupano soprattutto dell'aspetto fisiologico del problema della fecondazione (teoria della « fertilizina » del LILLIE), si rifiutano di riconoscere l'esistenza di due processi così nettamente distinti quali l'attivazione e la regolazione, e considerano piuttosto la fecondazione come un fenomeno unitario. La separazione dei due « momenti » della partenogenesi sperimentale è, per essi, affatto artificiale e secondaria.

La disputa fra i sostenitori dell'una e dell'altra opinione sarebbe oziosa, se su di esse non s'impennassero due teorie diverse della fecondazione. Una, quella che fa appello ai due processi, spiega la formazione della prima mitosi dicentrica, come l'effetto di un « raccordo armonico dei due ritmi, degli aster e dei nuclei » che, in assenza della regolazione, decorrono asincroni e indipendenti. L'altra invece vede nell'attivazione un processo essenzialmente fisiologico e unitario: una ipotetica sostanza, la fertilizina, prodotta dall'uovo maturo, legandosi a sostanze particolari, e pur esse ipotetiche, dell'uovo e dello spermio, inizia il processo dello sviluppo in modo completo e irrevocabile (cfr. F. R. LILLIE, 1919).

\*  
\* \*

Le mie ricerche non mi danno argomento per entrare direttamente in sì ardue questioni generali, che ho tuttavia voluto ricordare per spiegare l'importanza che i diversi autori annettono al rispettivo modo di presentare l'analisi della fecondazione ch'essi hanno compiuto.

Mi limito perciò a far risaltare che i fenomeni provocati dalla partenogenesi sperimentale nell'uovo di lampreda rientrano perfettamente nel quadro delineato dal BATAILLON per la rana e l'echino. Anche qui, con i due « tempi » del processo si mettono in evidenza due ritmi cinetici molto caratteristici e costanti: il ritmo di monaster indotto dalla sola attivazione, e il ritmo dicentrico, che si instaura nella fecondazione normale, e, verosimilmente, nelle uova attivate e poi trattate con soluzioni ipertoniche. Sull'intima natura di questo secondo processo, la regolazione, potrei soltanto avanzare supposizioni; del resto, come già abbiamo notato, anche nelle altre specie esaminate non si hanno che indizi, ma nessuna conoscenza precisa. Probabilmente l'ipertonica opera provocando la formazione di citaster (osservati nell'uovo di echino) che, in alcuni casi almeno, hanno lo stesso ufficio dell'aster spermatico.

Ai casi più compiutamente analizzati, Anuri ed Echinodermi, può dunque aggiungersi, in perfetto accordo con quelli, almeno per i fenomeni finora descritti, l'uovo dei Petromizonti.

Due altri punti, che risultano dalle mie osservazioni, mi piace di far risaltare: la capacità del pronucleo femminile di scendere verso il centro per virtù propria, e la parte attiva del « plasma polare » nel richiamare a sè il pronucleo femminile.

L'unione dei due pronuclei, che avviene normalmente nella fecondazione, risulta dunque, con tutta probabilità, da due processi, che l'attivazione sperimentale ci permette di dissociare: il movimento autonomo del pronucleo femminile verso l'interno dell'uovo, e i movimenti che il plasma polare compie per attrarlo a sè. Questi, evidentemente, possono aver luogo soltanto in presenza dell'aster spermatico, o di quel fenomeno, tuttora misterioso (probabilmente un citaster) che è indotto dalla ipertonica. Se il plasma polare non è provvisto di questo elemento, si approfonda bensì un poco nel tuorlo, ma rimane inerte, mentre il pronucleo femminile, poco distante, esaurisce il proprio ciclo di monaster.

## VII. — CONCLUSIONI.

1. Le uova della lampreda di fiume europea, *Lempetra fluviatilis* L., e di quella di ruscello americana, *Entosphenus wilderi* (Gage), possono essere indotte allo sviluppo partenogenetico con un metodo in due tempi,

che consta della esposizione per circa un minuto ai vapori di cloroformio, e del trattamento con soluzioni saline ipertoniche. Le soluzioni di  $\text{NaNO}_3$  alla concentrazione di circa  $m/4$  (2,13 %) dànno i migliori risultati.

2. Le uova così trattate si segmentano per la maggior parte irregolarmente; alcune regolarmente, e, fra queste, alcune formano blastule d'aspetto normale. Dalla *L. fluviatilis* ho ottenuto alcune gastrule, che sono morte dopo il sollevamento della cresta neurale. Dalle uova di *E. wilderi* non mi riuscì di ottenere alcuna gastrula.

3. Lo studio citologico delle uova di *L. fluviatilis* fecondate, dimostra, fra l'altro, una serie di movimenti del « plasma polare », che lo conducono ad approfondarsi nel tuorlo e a incontrare il pronucleo femminile, il quale viene attratto accanto a quello maschile.

4. La sola attivazione con i vapori di cloroformio provoca una serie di fenomeni identici a quelli che si verificano nella fecondazione, e cioè: estrusione del « plasma polare » e suo riassorbimento, contrazione dell'uovo e suo distacco dalla membrana, svuotamento dei vacuoli periferici, il cui contenuto si riversa nello spazio perivitellino. Il « plasma polare » si approfonda poi nel tuorlo, ma rimane indi inerte.

5. Il pronucleo femminile, nelle uova attivate al cloroformio, emette i globuli polari, poi abbandona la sua posizione superficiale e si ferma a poca distanza dal « plasma polare ». Inizia una serie di cicli di monaster (circondandosi di poco citoplasma) in ritardo rispetto al ciclo cinetico dei controlli, che durano finchè l'uovo va in citolisi.

6. Il pronucleo femminile ha dunque la capacità di scendere per movimenti autonomi, ma il « plasma polare » privo dell'aster spermatico, o di un suo surrogato che presumibilmente si forma in seguito al trattamento ipertonico, è incapace di richiamarlo a sè.

7. Il decorso dei fenomeni che si osservano nell'uovo dei Petromizoni è analogo a quello descritto nelle uova di Anuri e di Echinodermi.

## BIBLIOGRAFIA

---

- BATAILLON E. e TCHOU SU, *L'analyse expérimentale de la fécondation et sa définition par les processus cinétiques*. « Ann. des Sc. Nat. Zoologie », 10ème série, XVII, 1934.
- BÖHM A. A., *Ueber die Befruchtung des Neunaugeneies*. « Sitzber. d. K. Bayer. Akad. d. Wiss., math.-phys. Kl. », 1887; *Ueber Reifung und Befruchtung des Eies von Petromyzon Planeri*. « Arch. f. mikr. Anat. », XXXII, 1888.
- CÄLBERLA F., *Der Befruchtungsvorgang beim Ei von Petromyzon Planeri*. « Zeitschr. f. wiss. Zool. », XXX, 1877.
- HERFORD K., *Der Reifungsprozess im Ei von Petromyzon fluviatilis*. « Anat. Anz. », VIII, 1893; *Die Conjugation der Vorkerne und die erste Furchungsspindel im Ei von Petromyzon fluviatilis*. « Anat. Anz. », XVI, 1889; *Die Reifung und Befruchtung des Eies von Petromyzon fluviatilis*. « Arch. f. mikr. Anat. », LVII, 1901.
- JUST E. E., *Initiation of development in the egg of Arbacia. I. Effect of hypertonic sea water*. « Biol. Bull. », XLIII, 1922.
- KUPFFER C. e BENECKE B., *Der Vorgang der Befruchtung am Ei der Neunaugen*. « Festschr. f. Th. Schwamm ». Königsberg, 1878.
- LILLIE F. R., *Problems of fertilization*. Chicago, 1919.
- LOEB J., *Artificial parthenogenesis and fertilization*. Chicago, 1913.
- LUBOSCH W., *Untersuchungen über die Morphologie des Neunaugeneies*. « Ztschr. d. Naturwiss. ». Jena, XXXVIII, 1904.
- MONTALENTI G., *Sviluppo partenogenetico di uova di Lampreda sottoposte all'azione di agenti chimici*. « Arch. Zool. Ital. », XVII, 1932; *La partenogenesi sperimentale dell'uovo di Lampreda. Analisi citologica dell'attivazione semplice*. « Rend. Acc. Naz. Lincei », serie 6ª, XX, 1934.
- MÜLLER A., *Beobachtungen über die Befruchtungerscheinungen im Eie der Neunaugen*. Königsberg, 1864.
- OKKELBERG P., *Volumetric changes in the egg of the brook lamprey, Entosphenus (Lampetra) wilderi (Gage), after fertilization*. « Biol. Bull. », XXVI, 1914.
- OWSJANNIKOW P., *Studien über das Ei, hauptsächlich bei Knochenfischen*. « Mém. Acad. St. Pétersbourg » (7), XXXIII, 1885.
- WOERDEMAN M. W., *Experimental analysis of some phenomena of fertilization and cleavage*. « Proc. Roy. Acad. ». Amsterdam, XXXVIII, 1935.
- ZIEGLER H. E., *Experimentelle Studien über die Zellteilung*. « Arch. Entw. Mech. », VI, 1898.
-



## SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

---

*(Tutte le figure sono state disegnate da preparati proiettati con l'apparecchio « Promar » di SEIBERT).*

### TAVOLA I:

Fig. 1. — Vescicola germinativa di un uovo ovarico, con il « Deckel » sovrastante; il nucleolo cromatinico non si trova nella sezione disegnata; in alto è la parete del follicolo ovarico, con globuli sanguigni, poi, più prossimo all'uovo, il corio (Seibert, ob. PD, oc. 15).

Fig. 2. — Uovo fecondato e fissato 4' dopo la fecondazione; plasma polare estruso (Seibert, ob. PD, oc. 15).

Fig. 3. — Uovo fissato 7' dopo la fecondazione; plasma polare riassorbito; si vede la testa dello spermio tagliata (Seibert, ob. PD, oc. 15).

Fig. 4. — Uovo fissato 15' dopo la fecondazione; il plasma polare comincia ad approfondarsi entro al tuorlo; nella sezione non si vede lo spermio; in *a* il pronucleo femminile in metafase della seconda divisione di maturazione (Seibert, ob. PD, oc. 10).

Fig. 5. — Uovo fissato un'ora dopo la fecondazione; inizio della formazione dell'aster spermatico (Seibert, ob. PD., oc. 15).

Fig. 6. — Uovo fissato 2 ore dopo la fecondazione; aster in piena espansione (Seibert, ob. PD, oc. 15).

Fig. 7. — Uovo fissato 2<sup>h</sup>, 30' ore dopo la fecondazione; aster regredito, plasma polare profondamente internato nel tuorlo (la sezione è in direzione ortogonale rispetto a quella della figura 6 e delle precedenti) (Seibert, ob. PD, oc. 10).

Fig. 8. — Uovo fissato 3 ore dopo la fecondazione; pronuclei vicini (Seibert, ob. PD, oc. 10).

### TAVOLA II:

Fig. 9. — Uovo fissato 5 ore dopo la fecondazione; cariocinesi compiuta, inizio della citodieresi (Seibert, ob. PD, oc. 10).

Fig. 10. — Uovo fissato 30' dopo la fecondazione; pronucleo femminile in metafase della seconda divisione (sono disegnati, in questa come nelle seguenti figure, solo i cromosomi che si vedono nel piano focale; ob. Koristka 1/18 imm. omog., oc. Seibert, 10).

Fig. 11. — Uovo fissato 4 ore dopo la fecondazione; metafase della cariocinesi del nucleo dello zigote (ob. Koristka mm. 2 apocrom. imm. omog., oc. Seibert, 10).

Fig. 12. — Attivazione semplice al cloroformio; uovo fissato 4<sup>h</sup>,30' ore dopo il trattamento; mitosi monocentrica del pronucleo femminile, risolto in cromosomi (ob. Koristka 1/18 imm. omog., oc. Seibert 10).

Fig. 13. — Uovo fissato 5<sup>h</sup>,30' ore dopo l'attivazione; pronucleo femminile nuovamente ricostituito, in intercinesi; si vede la sua posizione rispetto al plasma polare (Seibert, ob. PD. oc. 10).

Fig. 14. — Uovo fissato 6<sup>h</sup>,30' ore dopo l'attivazione; pronucleo femminile nuovamente risolto in cromosomi (Seibert, ob. PD, oc. 10).

Fig. 15. — Uovo fissato 45' dopo l'attivazione; pronucleo femminile in anafase della seconda divisione di maturazione; il primo globulo polare è lì accanto (ob. Koristka 1/18 imm. omog., oc. Seibert, 10).

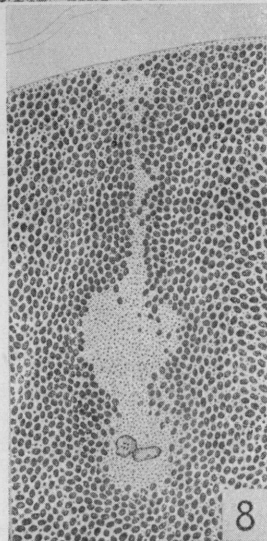
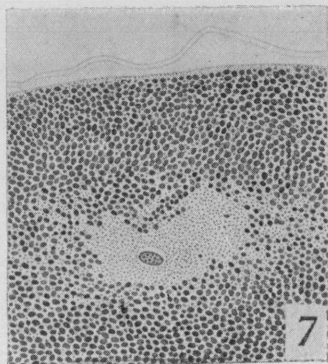
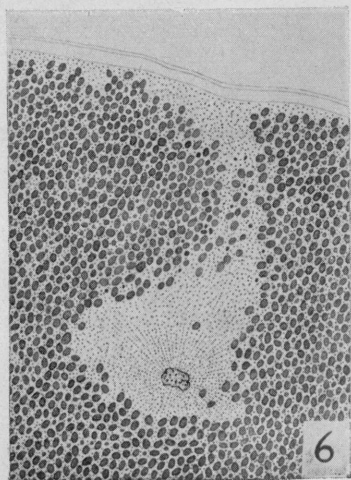
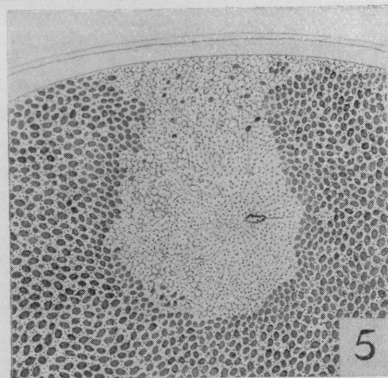
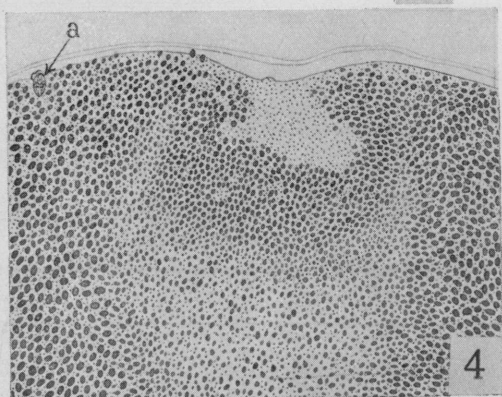
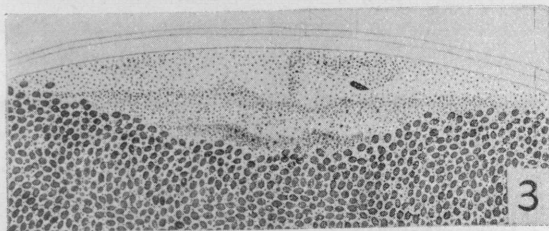
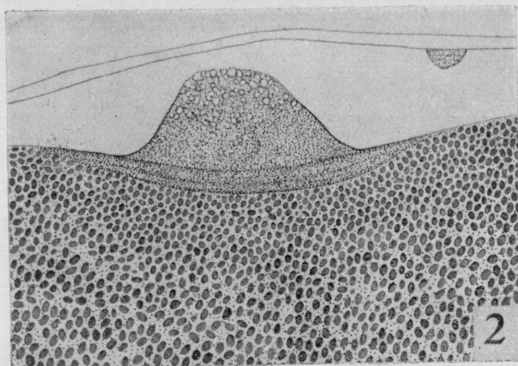
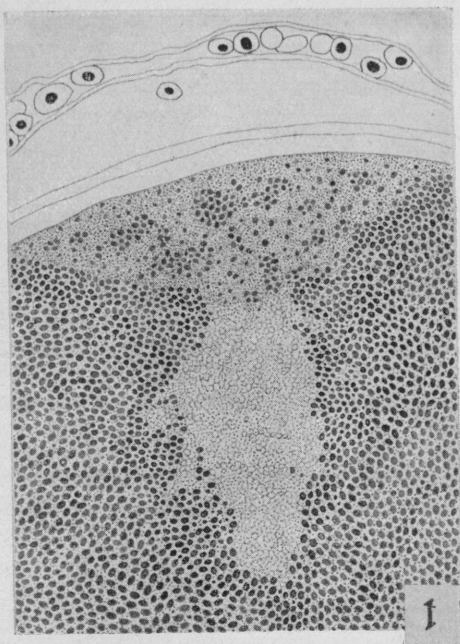
## INDICE

---

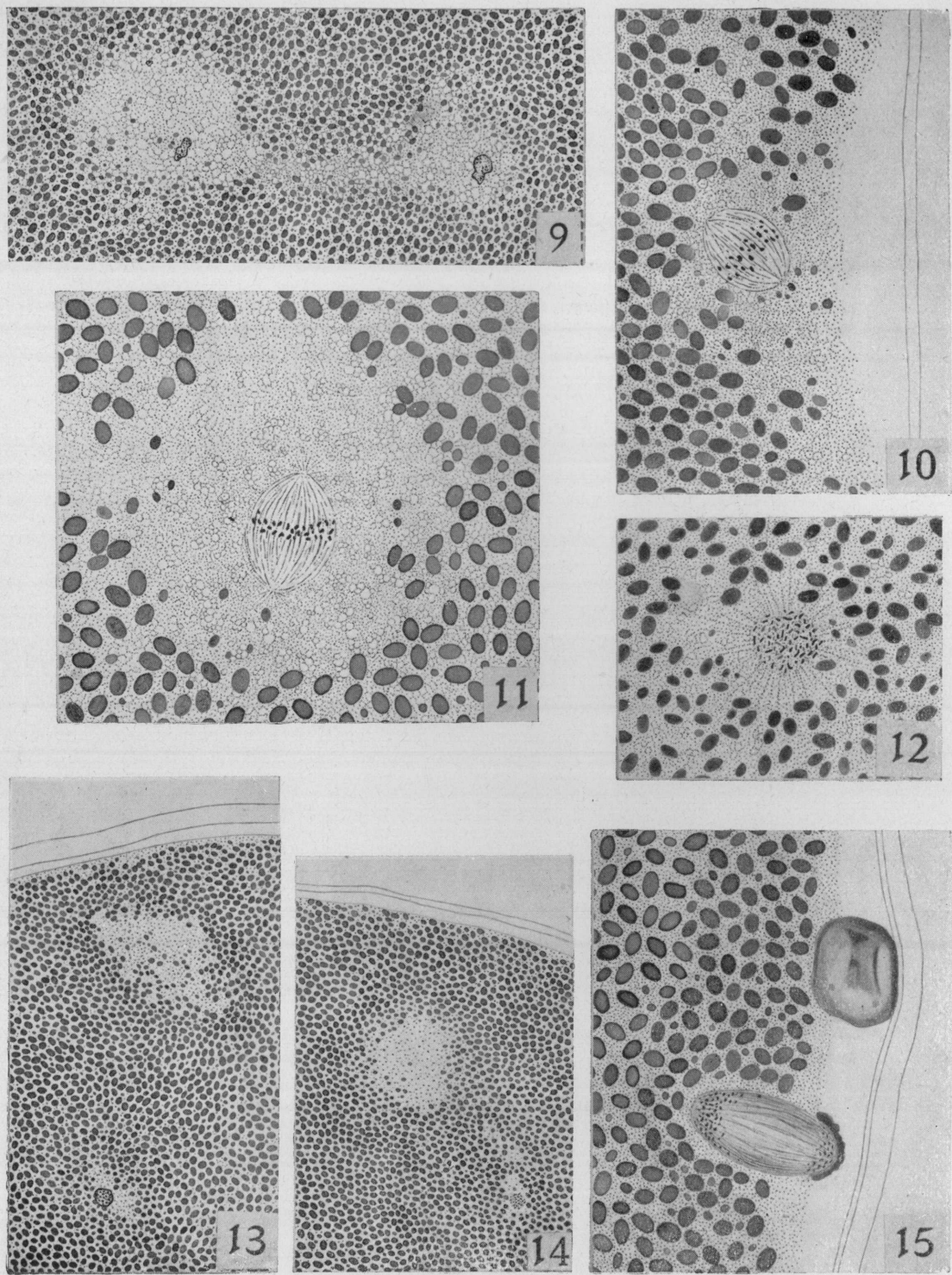
|                                                                                                                            |          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| I. — Introduzione . . . . .                                                                                                | Pag. 191 |
| II. — Materiale e tecnica . . . . .                                                                                        | 192      |
| III. — Lo sviluppo delle uova partenogenetiche di <i>Lampetra fluriatilis</i> e di<br><i>Entosphenus wilderi</i> . . . . . | 192      |
| a) Descrizione degli esperimenti . . . . .                                                                                 | 192      |
| b) I problemi . . . . .                                                                                                    | 195      |
| IV. — Analisi citologica delle uova fecondate di <i>Lampetra</i> . . . . .                                                 | 196      |
| a) L'uovo ovarico . . . . .                                                                                                | 196      |
| b) L'uovo vergine . . . . .                                                                                                | 197      |
| c) La fecondazione. . . . .                                                                                                | 198      |
| V. — Analisi dell'attivazione sperimentale . . . . .                                                                       | 202      |
| VI. — Discussione . . . . .                                                                                                | 205      |
| VII. — Conclusioni . . . . .                                                                                               | 207      |
| Bibliografia . . . . .                                                                                                     | 209      |
| Spiegazione delle tavole . . . . .                                                                                         | 211      |

---

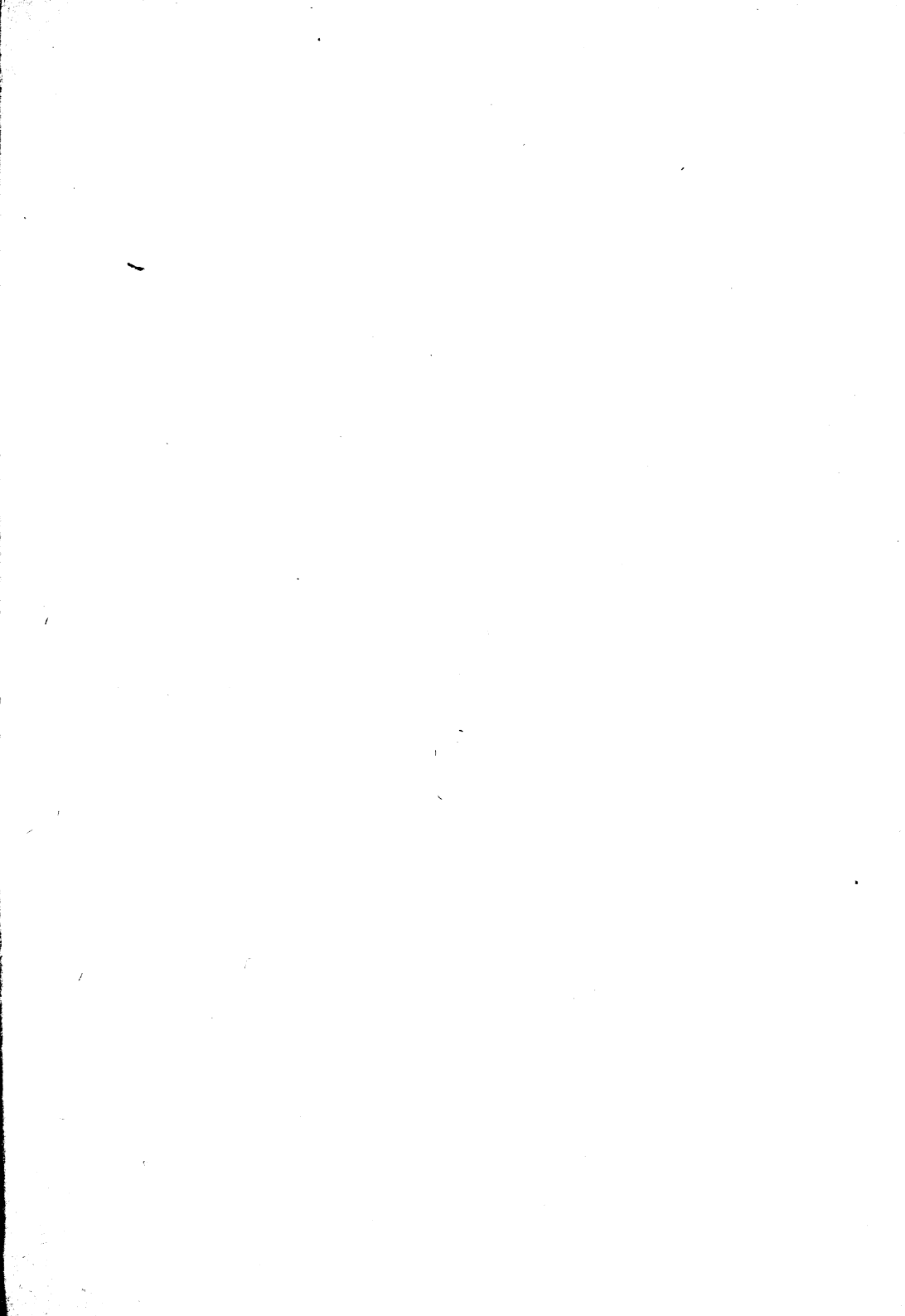












**Prezzo: L. 5.**