© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Ricerche sulle larve atipiche (blastule permanenti) degli Echinoidi.

(Analisi della limitata equipotenzialità dell' uovo di Echinoide)

di

Tullio Terni,

Assistente nell' Istituto Anatomico della R. Università di Sassari.

Con 6 figure nel testo e la Tavola 2.

Sommario.

pag.

Cap. I. Sulla morfologia dell' eterogeneità polare dell' uovo di Echinoide 60
» II. Materiale e metodi di ricerca 61
» III. Generalità sulle larve atipiche 63
» IV. Le larve atipiche prodotte dallo sviluppo di blastomeri isolati. . 76
» V. Le larve atipiche prodotte dallo sviluppo di frammenti di uovo.
1° Esperienza di Morgan. 79
2° Esperienza di Boveri 80
» VI. Considerazioni sulla biologia delle larve atipiche 81
» VII. Parte generale 85
Elenco bibliografico. 96

Allo scopo di indagare sull' esistenza o meno di una qualche eterogeneità sostanziale dell' uovo di Echinoderma, legata a manifestazioni morfogenetiche, si è proceduto per due diverse vie: quella della analisi morfologica e quella additata dai metodi della embriologia sperimentale.

Le note ricerche di Boveri sono in parte riuscite a dare una base obbiettiva ai limiti che soffre la equipotenzialità armonica ammessa da Driesch per l'uovo di Echinodermi — la quale è espressa dalla regolabilità verso l'intero di porzioni isolate dall' uovo infecondato, fecondato, segmentante, blastulato. Come è noto, codesti limiti, oltre che quantitativi (*Pluteus* solo fino al $^1/_4$, gastrula fino al $^1/_{32}$ dell' uovo, isolati) sono qualitativi: nel senso che non — per esempio — da tutti i 32 blastomeri dello stadio a 32 si può sempre avere (eccettuato pei micromeri che non gastruleggiano mai) la larva invaginata. Questa impotenza di certe parti dell' uovo a svilupparsi in un tutto normale è stata da Boveri messa

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

in rapporto coll' esistenza, nell' uovo insegmentato e segmentante, di una stratificazione, nel senso dell' asse, di sostanze diverse, le quali, se disturbate nella loro mutua seriazione, tendono — è vero — a riassettarsi nella loro disposizione primitiva, ma che, se alcuna di loro venga a mancare nel frammento o nel blastomero isolato, non sono capaci di sostituire l'assente nella differenziazione morfogenetica dei primi abbozzi.

Colle presenti ricerche mi sono proposto di studiare la biologia di strani organismi, che insorgono talvolta nello sviluppo di germi quantitativamente diminuiti — la di cui produzione sembra essere direttamente collegata all' esistenza dei limiti qualitativi da cui è infirmata l'equipotenzialità del germe di Echinoide.

Collo studio di codesti organismi, oltre a porre in evidenza dei fatti che posseggono un interesse intrinseco, mi è stato possibile di condurre un' analisi utile della limitata equipotenzialità dell' uovo di Echinoide.

Cap. I°

Sulla morfologia dell' eterogeneità polare dell' uovo di Echinoide.

Mentre per molti Echinoidi non è stato possibile di stabilire l'esistenza di una qualche eterogeneità sostanziale dell' uovo, per taluni invece è stata rintracciata una polarità dell' uovo a esponente morfologico più o meno chiaro.

Nel caso dell' *Arbacia* illustrato da Morgan ('94), la emigrazione del pigmento dal territorio potenzialmente micromerico si stabilisce solo nello stadio a due blastomeri. Le osservazioni di Wilson e Mathews ('95) che hanno mostrato come la posizione eccentrica del nucleo di segmentazione segni la futura polarità in senso vegetativo-animale dell' uovo di *Toxopneustes*, non depongono per una vera eterogeneità sostanziale dell' uovo, bensì per una polarità a base per cosi dire fisica, energetica forse — della quale non è chiaro il significato di localizzazione morfogenetica.

Le ricerche di Boveri ('01 a, b) hanno rettificato e ampliato le osservazioni di Selenka ('83) sulla polarità a chiaro esponente morfologico delle uova di *Strongylocentrotus*. In esse è dimostrabile, or con maggiore or con minore evidenza, uno strato annulare di pigmento rosso situato alla superficie dell' uovo perpendicolarmente al suo asse (per il quale asse viene a passare il primo solco di segmentazione). Per la presenza di codesta fascia l'uovo resta diviso in 3 zone: 1ª, dall'equatore (limite approssimativo superiore dell' anello di pigmento) in su = emisfero animale, cioè futuro ectoderma della larva; 2ª, zona del pigmento, che occupa larga parte dell' emisfero vegetativo = futura parte

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

invaginantesi della blastula; 3ª, polo apigmentato = futura regione micromerica e, consecutivamente, mesenchima primario.

Successivamente Garbowski ('05) ha tentato di infirmare l'importanza delle osservazioni compiute da Boveri, asserendo che nell' uovo di *Strongylocentrotus* l'anello di pigmento non è affato legato indissolubilmente all' esistenza di diversi materiali morfogenetici stratificati lungo l'asse; poichè in certi casi l'anello di pigmento, invece che equatoriale, sarebbe disposto quasi meridionalmente rispetto al polo micromerico. Nega perciò al pigmento dell' uovo di *Strongylocentrotus* le qualità di materiale morfogenetico (asserzione del resto questa che neanche Boveri aveva pronunciato, in quanto immaginava che il pigmento stesso fosse solo sintomo, esponente di una struttura stratificata dell' uovo in questione).

Interessanti sono le ricerche istologiche condotte da Jenkinson ('11) sull' uovo di *Strongylocentrotus*. Questo Autore ha osservato che, a maturazione compiuta, un nuovo fattore viene ad accentuare la struttura polare già abbozzata dall' allungamento del corpo cellulare e dalla formazione del micropilo, stabilitisi nel periodo di accrescimento; codesto fattore è rappresentato dall' accumulo di uno speciale materiale granuloso in vicinanza del polo animale. Entro questo materiale, secondo l'Autore di origine nucleare, giace dapprima il pronucleo femminile. Jenkinson ritiene che la polarità da lui dimostrata rappresenti la base delle differenziazioni in senso polare che avvengono durante lo sviluppo — malgrado che in istadii avanzati non siano più reperibili le caratteristiche strutturali del polo animale. Questa struttura polare dell' ovocita chiarisce, secondo l'Autore, il diverso comportamento evolutivo dei blastomeri animali e vegetativi isolati.

Più oltre saranno da me esaminati e discussi, alla stregua delle mie osservazioni, i principali fatti desunti da altri (Driesch, Boveri) coi metodi dell' embriologia sperimentale, i quali parlano o meno per l'esistenza nell' uovo di Echinoide di un substrato ooplasmatico eterogeneo nei varii distretti, legato a polarità morfogenetica dell' uovo stesso.

Cap. II°

Materiale e metodi di ricerca.

Ho eseguito le mie ricerche nella Stazione zoologica di Napoli durante il trimestre Settembre-Novembre 1913; ringrazio sentitamente il Prof. R. Dohrn, per avermi cortesemente concesso — in mancanza di un posto ordinario — un posto straordinario di studio.

Ho usato come materiale le uova di *Strongylocentrotus lividus*, le quali sono provviste della caratteristica zona circolare pigmen-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

tata[1]), descritta da Boveri ('01 b) nelle uova della stessa specie raccolte a Villefranche. Ho esaminato le uova di alcune centinaia di *Strongylocentrotus*; in non pochi soggetti il pigmento è così scarso o di colore così tenue che appena è visibile. In taluni casi poi — evidentemente per la poca intesità del colore — non si apprezza l'esistenza della fascia pigmentata.

Mi sono servito dei varii metodi classici della embriologia sperimentale degli Echinodermi, allo scopo di ottenere dei germi parziali da porzioni di uova insegmentate o segmentanti. Preciserò ora brevemente le modalità dei metodi usati, affinchè il lettore sappia a quale metodo intenda di alludere allorquando nel corso dell' esposizione indicherò per brevità, con un nome di Autore, un determinato processo sperimentale.

I°. Frammentazione di uova vergini e successiva fecondazione dei frammenti. Questa esperienza, tentata per la prima volta de O. e R. Hertwig ('87), è stata ripresa da Boveri nelle sue classiche ricerche ('89, '95). Altri Autori che usarono questo metodo furono Morgan ('95 b), Driesch ('96 b) e Delage ('99). Indicheremo questo metodo come esperienza di Boveri, senza pregiudizio della presenza o meno del nucleo nel frammento d'uovo da fecondare. Al solito, abbiamo ottenuto i frammenti d'uovo mediante l'energico scuotimento delle uova in una provetta con poca acqua marina. Quindi, dopo ripetuti lavaggi alternati con sedimentazioni dei frammenti per 2—3 ore, fecondazione con opportuna quantità di sperma, lavaggio accurato e passaggio delle uova in grandi vasi di vetro contenenti 1—3 litri di acqua marina presa a grande distanza dalla costa, precedentemente riscaldata a 70°, filtrata e aereata.

II°. Frammentazione di uova fecondate. Morgan ('95 a) ha osservato che, scuotendo con forza le uova subito dopo la formazione della membrana di fecondazione, esse si allungano in lunghi budelli, che con grande facilità si rompono in frammenti di ogni dimensione. Driesch si è servito di questo stesso metodo nel '98, mentre in ricerche anteriori aveva ottenuto delle larve parziali frammentando le uova un'ora circa dopo le fecondazione ('96 b). Indicheremo come esperienza di Morgan,

---

[1]) Anche Boveri, dopo aver ritenuto ('01 b) (indirettamente — in base ad osservazioni negative di altri Autori) che le uova di Napoli fossero apigmentate, ha ulteriormente ('03) osservato che nelle uova degli *Strongylocentrotus* di Napoli esiste invece — come in quelle di Villefranche — un anello di pigmento, il di cui colore ha però una intensità variabilissima.

Anche nelle uova di *Strongylocentrotus* raccolti nel Dicembre 1913 a Porto Torres (Sardegna) esiste la zona annulare pigmentata — più spesso forse intensamente colorata di quel che io non abbia osservato a Napoli.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

la frammentazione delle uova operata collo scuotimento subito dopo la fecondazione. Per il trattamento ulteriore dei frammenti, vedi le norme indicate in I°.

III°. Separazione dei blastomeri. Le uova, liberate dalla membrana di fecondazione collo scuotimento (Driesch), venivano, dopo lavaggio ripetuto, gettate in un recipiente di grande calibro contenente una notevole quantità di acqua di mare artificiale priva di calcio, preparata secondo le norme indicate da Herbst ('00). Toglievo le uova da codesto liquido nei diversi stadii della segmentazione, seguendo le indicazioni di Driesch ('00), in modo da ottenere le larve del valore germinale desiderato. Indicheremo questo procedimento col nome di esperienza di Driesch-Herbst.

Vennero condotte circa 50 serie di esperienze. In molte di esse veniva diviso il materiale proveniente da uno stesso *Strongylocentrotus* ♀ in 4 lotti: il primo per l'esperienza di Boveri, il secondo per l'esperienza di Morgan, il terzo per l'esperienza di Driesch-Herbst (da cui poi si traevano in sottordine le culture dei blastomeri isolati nei diversi stadii); il quarto pei controlli (di uova integre o di uova intere private della membrana collo scuotimento).

Ciascuna serie di esperienze comprendeva in sè l'esperienza di Morgan e quella di Driesch-Herbst; in numerose serie venne omessa l'esperienza di Boveri (per essermi imbattuto in uova difficilmente frammentabili e non volendo spingere lo scuotimento delle uova oltre un certo limite di energia). Solo in poche esperienze di Driesch-Herbst vennero fatti sviluppare da un singolo lotto i blastomeri separati $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$, $^1/_{32}$ e $^1/_{64}$; nella maggior parte dei casi si dette la preferenza ad alcuni piuttosto che ad altri valori germinali. Il numero su indicato di esperienze si riferisce a quelle nelle quali è avvenuta una segmentazione normale: cioè senza traccia di polispermia.

Cap. III°

Generalità sulle larve atipiche.

1°

Facendo sviluppare germi di Echinoidi di dimensioni sperimentalmente diminuite, si producono talvolta delle larve di una morfologia affatto caratteristica, che fino ad oggi non hanno costituito in modo esplicito oggetto di studio. Intendo parlare delle cosi dette »blastule vegetative« o »blastule permanenti« (*Dauerblastula*), le quali attrassero

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

per la prima volta, credo, l'attenzione di Driesch ('92a). Ma poichè è stato in seguito dimostrato in esperienze di isolamento di blastomeri (R. Zoja, Driesch), che gli organismi in questione derivano specialmente dai blastomeri di quell' emisfero che le ricerche di Boveri ('01) hanno irrefutabilmente dimostrato essere quello animale, sarebbe oggi piuttosto giustificata l'adozione del termine di »larve animali«. Tuttavia, poichè — come risulterà dall' esposizione delle mie ricerche — alla costituzione dei germi che a codesti organismi danno origine, possono intervenire anche materiali appartenenti all' emisfero vegetativo, preferiamo di adottare il termine più generale, ma meno impreciso, di »larva atipica«.

Driesch ('92a) descrive la formazione di queste larve come il destino possibile di un blastomero isolato nello stadio a 4 dell' *Echinus*: blastule chiare, immobili, che vivevano a lungo senza trasformarsi. In una di esse, che fu seguìta per 12 giorni, si formò in un territorio limitato un lungo ciuffo di ciglia.

Zoja ('95) ha sorpreso l'insorgenza della larva atipica dall' intero cumulo dei mesomeri, isolato nello stadio a 16, di *Strongylocentrotus* e la descrive con grande precisione. «Essa [la blastula atipica] in breve assume un carattere diverso da quello della blastula normale; la parete è costituita talvolta di cellule uniformi, ma più di frequente una parte di essa (una metà circa) è formata da un epitelio colonnare ed è assai più ispessita dell' altra formata di cellule piatte. Sempre poi vidi la blastula proveniente da soli mesomeri caratterizzata da ciglia straordinariamente lunghe e fitte; la loro lunghezza è talvolta tale da oltrepassare il doppio del diametro della blastula. Se nella blastula si distinguono le due porzioni, più e meno ispessita, è sempre quella che porta le lunghe ciglia. Nella blastula si vedono immigrare delle cellule tondeggianti granulose. Queste blastule vissero anche molti giorni senza mai ulteriorimente svilupparsi».

Driesch ('00), nelle sue ulteriori esperienze di isolamento dei blastomeri, ha ottenuto delle larve atipiche in *Echinus* e *Sphaerechinus* dai blastomeri animali dello stadio a 8 e dai mesomeri dello stadio a 16: blastule permanenti, immobili, lungociliate, con una porzione della loro parete ispessita.

Boveri ('01a) ha osservato — facendo sviluppare frammenti di uovo appartenenti al polo animale (privi di pigmento) di *Strongylocentrotus* — una blastula, i di cui caratteri descritti corrispondono forse a quelli di una larva atipica.

Driesch ha ottenuto ('02), concordemente ai resultati di R. Zoja, una notevole percentuale di larve atipiche, facendo sviluppare la metà animale dell' uovo di *Echinus* nello stadio a 8. Successivamente ('03)

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Driesch riferisce che larve atipiche si sono originate dallo sviluppo dei $^1/_4$ isolati (una sola) e dei macromeri prima del tempo ottenuti sperimentalmente in *Echinus* nello stadio a 8, isolati. Ulteriormente accenna alla produzione delle note larve immobili con lunghe ciglia rigide, per sviluppo dei $^1/_4$, degli $^1/_8$, dei $^2/_8$ e $^3/_8$ animali di *Echinus*, isolati.[1])

Ricorderò poi che Wilson ('03) ha osservato che in un Nemertino, il *Cerebratulus*, le larve di un valore germinale minore di $^1/_4$ spesso non gastruleggiano, ma si sviluppano in blastule le quali — secondo l'A. — ricordano le blastule permanenti degli Echinodermi; altrettanto avviene talvolta delle larve che provengono da piccoli frammenti di blastula.

* * *

Il modo di formazione delle larve atipiche è identico nelle varie esperienze di riduzione del materiale germinale dell' uovo di *Strongylocentrotus*. Il momento nel quale si delinea il primo accenno alla via diversa dalla normale che la larva parziale è destinata a seguire, è lo stadio della blastula già da qualche ora liberata dalla membrana, natante alla superficie, alla soglia della formazione del mesenchima primario: cioè in un periodo che dista di 10—14 ore (temperatura autunnale) dall' attimo della fecondazione. Si nota adunque che, accanto alle blastule totali e parziali (queste ultime al di sopra di una certa grandezza) le quali vanno abbozzando un mesenchima normale per localizzazione e per cospicuità [secondo Driesch ('00) proporzionale aritmeticamente quest' ultima al valore germinale[2])], vi sono delle blastule le quali — nonostante che la loro grandezza sia spesso superiore a quella di altre larve parziali (nelle esp. di Boveri e di Morgan) che apparentemente seguono una via tipica — non mostrano traccia di abbozzo mesenchimale, oppure, talvolta, ne formano disordinatamente. Queste blastule hanno un aspetto chiaro trasparentissimo e, fin dal loro primo accenno alla deviazione dal tipo

---

[1]) Herbst ('04) ha ottenuto, sottraendo l'ione SO_4 e aumentando la concentrazione del Ca nel mezzo ambiente, delle larve totali di *Echinus* che assomigliano straordinariamente a queste blastule atipiche. Le interessanti ricerche di H. non saranno qui esaminate a fondo, come si converrebbe, perchè le conobbi solo allorquando questo mio lavoro era impaginato [Nota agg. durante la correz.].

[2]) Più tardi Driesch ('05) ha posto delle limitazioni a questo modo di vedere, nel senso che in certi casi di larve parziali $^1/_2$ e $^1/_4$ da blastomeri isolati, il numero delle cellule mesenchimali può essere di molto superiore a quello calcolato teoricamente, talvolta anche inferiore. Nel caso che sia = 0, allora insorge spesso la blastula atipica (dal $^1/_4$ isolato). Driesch non dice però se nei casi di numero di cellule mesenchimali notevolmente inferiore o superiore a quello che avrebbe dovuto essere teoricamente, si sia avuta la produzione di una larva affatto normale.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

normale, mostrano la caratteristica di essere mobilissime. Per un certo tempo (circa per un giorno) queste larve rimangono abitualmente galleggianti e natanti. Durante codesto periodo di vita planctonica, quelle larve che sono destinate a divenire le caratteristiche blastule atipiche, cominciano a cambiare alquanto i loro caratteri di blastula fin qui non molto diversa dalla norma. Si determina il differenziamento di un polo, che è quello anteriore nel movimento della larva, mediante l'ispessimento della parete blastulare in quella località e il provvedersi, per parte delle cellule del tratto ispessito, di lunghe ciglia che ondeggiano nel moto progressivo della larva. Parallelamente a codesta differenziazione del polo anteriore, il moto della blastula atipica modifica il suo tipo; diviene tale che le larve compiano dei lunghi tratti rettilineari — mentre che, come è noto, le larve tipiche progrediscono a zig-zag, con frequentissimi ritorni delle larve sui loro passi e con roteamento non uniforme attorno all' asse della blastula o della gastrula. Anche il movimento di rotazione sull' asse di direzione è nelle larve atipiche molto più regolare; esse ruotano su loro stesse rapidamente quasi sempre in uno stesso senso; in modo che progrediscono come un proiettile che esca da una canna rigata.

La parte non differenziata della parete della blastula atipica conserva lo spessore primitivo, oppure si assottiglia ulteriormente.

Herbst ('92), d'accordo con altri Autori, ritiene che il polo animale della blastula normale di *Echinus*, ispessito e munito di lunghe ciglia, serva a regolare la direzione del moto delle larve; ha poi osservato che le blastule, le quali in presenza di un eccesso di K Cl nell' acqua marina formano uno spesso bottone al polo anteriore munito di ciglia, perdono successivamente le ciglia — forse perchè è sufficente il solo ispessimento esagerato della parete a dirigere il moto della blastula. È probabile che, in accordo con quanto avviene normalmente e sperimentalmente nell' *Echinus*, il notevole ispessimento anteriore della parete della blastula atipica di *Strongylocentrotus*, unitamente alla presenza delle lunghe ciglia, sia la causa determinante del caratteristico spostamento rettolineare della larva stessa. Come è noto, anche le gastrule normali di *Strongylocentrotus* hanno il polo anteriore o animale notevolmente spesso e munito di un ciuffetto di lunghe ciglia; interessante è che una differenziazione in questo senso avvenga, ed anzi con una particolare intensità, già nello stadio di blastula — in quelle larve che son destinate a divenire decisamente atipiche.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Nelle blastule atipiche il caratteristico pigmento rossastro dell' emisfero vegetativo (vedi Cap. I) dell' uovo è irregolarmente distribuito sulla parete blastulare, oppure è affatto assente (in talune larve di basso valore germinale, che pur provengono da uova ben pigmentate). Allo stesso modo che nelle larve totali[1]) (cfr. Boveri '01 a), nelle blastule parziali destinate ad evolversi normalmente, il pigmento è invece sempre presente nelle cellule che costituiscono l'emisfero vegetativo, eccezion fatta per la calotta polare di esso; nelle gastrule parziali normali poi sempre l'intestino primitivo e il mesenchima secondario sono pigmentati (nei germi provenienti da uova ben pigmentate), mentre il mesenchima primario è nettamente apigmentato[2]).

La porzione ispessita della blastula atipica è d'ordinario priva di pigmento; le cellule che emigrano nella cavità blastulare (da siti non ben localizzati della parete) sono apigmentate. In complesso si può dire che nella blastula atipica, parallelamente ad una irregolare ed aleatoria distribuzione del pigmento caratteristico, manca un netto e limitato territorio mesenchimogeno.

Dopo circa un giorno di vita galleggiante (due giorni circa dalla fecondazione) presso a poco quando le larve totali sono giunte allo stadio di *Pluteus*, le larve atipiche, provviste dei caratteri che siamo andati descrivendo, che nel frattempo sono aumentate in grandezza, cominciano ad attenuare la vivacità dei loro movimenti. A poco a poco — con notevoli differenze di tempo da esperienza ad esperienza — si lasciano cadere al fondo del recipiente.

Ciò avvenuto, la morfologia di queste larve si mantiene per molti giorni ancora invariata; anzi, si accentuano in un primo tempo i caratteri che durante la vita planctonica erano andati delineandosi nelle larve stesse. Immobili divengono le lunghe ciglia impiantate sulla larva in corrispondenza del suo emisfero ispessito; quest' ultimo aumenta sovente ancora di spessore, mentre la porzione della parete assottigliata diviene ancora più sottile che per l'addietro. La grandezza delle larve sembra aumentare ancora. Naturalmente tutto ciò è ben chiaro nelle blastule di dimensioni non troppo esigue.

---

[1]) Non ho mai osservato alcuna di quelle anomalie di polarità riferite da Garbowski (vedi pag. 61).

[2]) Aggiungo che ho ottenuto molto spesso tanto nell' esperienza di Boveri che in quella di Morgan, dei frammenti anche assai piccoli (diametro $< 1/2$ diametro dell' uovo intero), nei quali si era determinato un perfetto riassettamento della stratificazione del pigmento — sì da sembrare quasi delle uova in miniatura (cfr. Boveri '01a).

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

L'aspetto delle larva rimane chiaro, trasparente; manca ogni traccia del pigmento rosso — che perciò è venuto verosimilmente a scomparire (nei casi nei quali precedentemente esisteva) nel periodo terminale della vita natante della larva. Sul fondo, la blastula atipica si sposta dapprima con piccoli movimenti, per il vibrare delle piccole ciglia

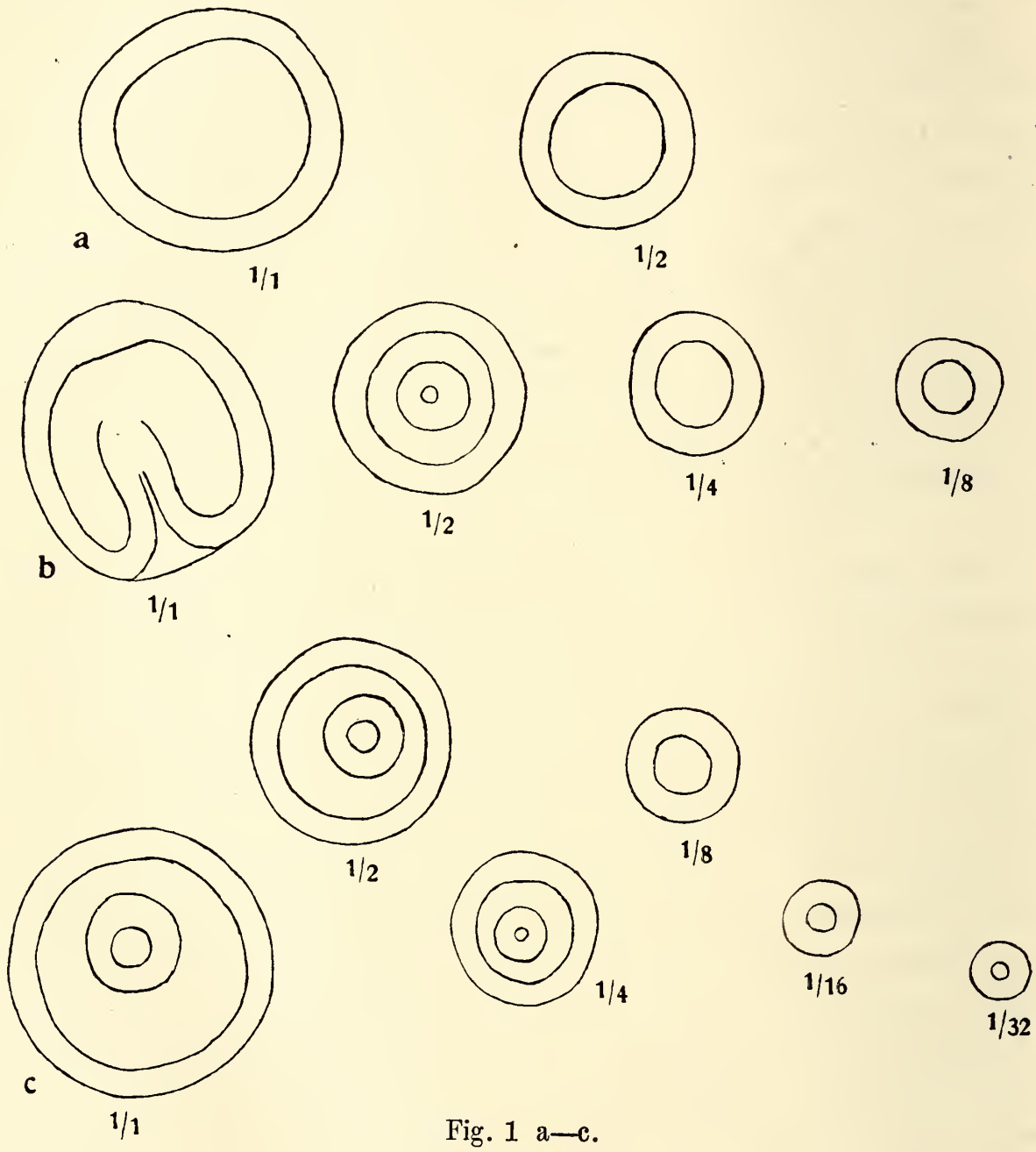


Fig. 1 a—c.

Fig. 1a—c. Larve tipiche di *Strongylocentrotus*, totali e parziali, in stadii progressivi di sviluppo, provenienti da uova di una stessa ♀. Accanto ad ogni larva è indicato il rispettivo valore germinale. *a*) 21 ore dopo la fecondazione; *b*) 24 ore dopo la fecondazione; *c*) 27 ore dopo la fecondazione. Non è raffigurato il mesenchima. Ingr. 350× circa[1]).

1) Le figure 1—5 nel testo furono disegnate coll' aiuto della camera lucida Zeiss da larve viventi o preventivamente rese immobili coll' aggiunta sul portaoggetti di tracce tenuissime di una miscela osmio-cromica. Nella riproduzione la grandezza delle figure venne ridotta di $^1/_5$ circa.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

inserite sull' emisfero assottigliato della parete; nella loro immobilità, le lunghe ciglia portate anteriormente acquistano un aspetto rigido e sembrano più grosse che per l'addietro.

Mentre abitualmente le larve dopo un certo periodo divengono pressochè immobili al fondo, in taluni casi ho osservato un rapidissimo roteare della larva, accompagnato da scarsa progressione.

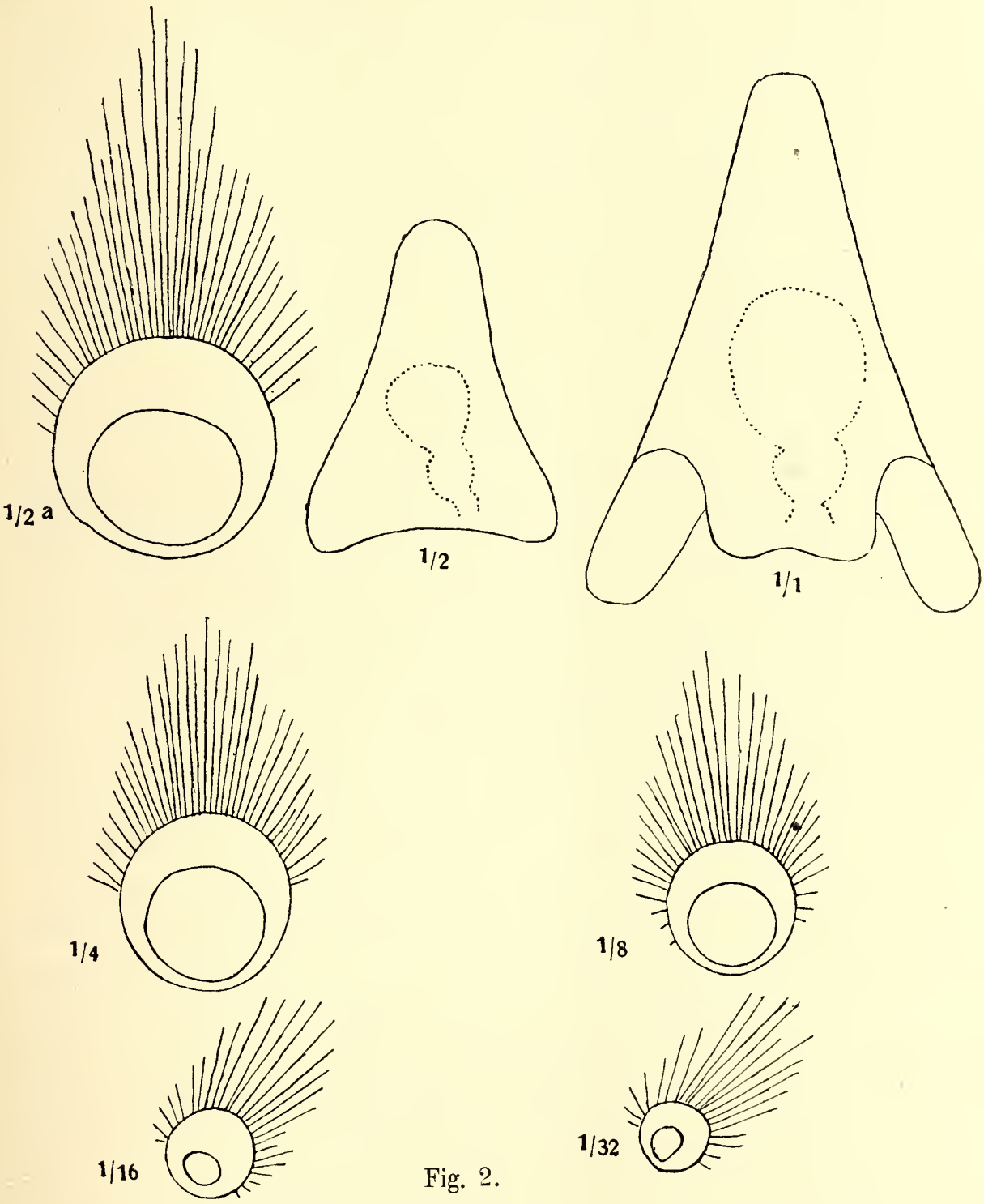


Fig. 2. Larve tipiche ed atipiche, intere e parziali, ottenute dalle uova di un solo *Strongylocentrotus* ♀. $^1/_1$ e $^1/_2$, larve tipiche rispettivamente intera e da $^1/_2$-blastomero. $^1/_2$a, $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$, $^1/_{32}$: larve atipiche dei corrispondenti valori germinali, ottenute con una stessa esperienza di Driesch-Herbst. 2 giorni circa dopo la fecondazione. Ingr. 350× circa.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Oltre alle cellule emigrate nell' interno della cavità blastulare durante la vita natante, ritengo che altre cellule, durante la dimora al fondo della larva, possano ulteriormente emigrare entro la blastula.

Queste larve del fondo (rappresentate semischematicamente nelle figure 2—5) sono le omologhe delle caratteristiche blastule permanenti lungociliate, immobili, viste da Driesch e da R. Zoja. Dopo la loro caduta al fondo, le larve conservano inalterata la loro morfologia per 4—5 giorni e forse più. Non escludo che anche nello *Strongylocentrotus* [Driesch ('92a) ha osservato una larva atipica di *Echinus* ancora intatta dopo 12 giorni di vita], non si possano conservare delle larve atipiche anche per un tempo molto maggiore; io non ho condotto finora tentativi a questo scopo, per esempio di rimozione continua dal fondo dei detriti di organismi morti che inevitabilmente vi giungono (prodotti di segmentazione e larve) oppure tentativi di riproduzione di un fondo meno anormale di quello rappresentato da una superficie di vetro.

* * *

Parlando di larve atipiche, ho sempre inteso alludere nella mia esposizione solo alle blastule lungociliate ad emisfero ispessito, talvolta provvisto di elementi (mesenchimali?) emigrati nella cavità blastulare. Invero si incontrano pure, con maggiore o minore frequenza, nelle esperienze di riduzione del valore germinale, delle blastule che mostrano difficoltà alla formazione del mesenchima primario e che tentano di gastrulare quando quest' ultimo non è per anco abbozzato, oppure quando la mesenchimazione è affatto anormale per sede o per numero di elementi emigrati. Queste larve abnormi sono sempre in ritardo in confronto allo sviluppo delle larve parziali tipiche di un valore germinale anche minore del loro e mostrano molti segni di un alterato ritmo di sviluppo. Spesso hanno un aspetto chiaro, che rammenta quello delle nostre blastule atipiche; se ne distinguono però fin dai primi stadii della loro evoluzione per alcuni caratteri quali: la frequente asimmetria della loro sfericità, l'assenza di un emisfero nettamente ispessito e munito di lunghe ciglia e, spesso, la notevole quantità di pigmento rossastro irregolarmente distribuito nella parete blastulare, anche in momenti nei quali le vere blastule atipiche hanno perduto il loro. Molte volte, io credo, nelle esperienze di dislocazione dei blastomeri (forse) e di riduzione quantitativa del materiale dell' uovo insegmentato o segmentante, gli Autori si sono imbattuti in queste larve mostruose, per le quali l'impossibilità a dare il *Pluteus* spesso non è esponente di insufficenza quantitativa del materiale iniziale.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Non v' è dubbio ad esempio che molte delle gastrule ottenute da Driesch ('03) per sviluppo dei macromeri dello stadio ad 8 isolati, appartengano a questo tipo di larve; non escludo che ciò sia anche di talune delle gastrule ottenute da Driesch ('05) per sviluppo di germi disarmonicamente costituiti, cioè da un maggior numero di $^1/_8$ animali che vegetativi o viceversa (e delle quali Driesch non riferisce il destino postgastrulare). Gastrule abnormi (prive di mesenchima) ha ottenuto inoltre Driesch ('05) dai $^1/_4$ isolati di *Echinus*; precedentemente ('00) ne aveva incontrate nello sviluppo degli $^1/_8$ animali isolati.

Alcune volte, esaminando delle larve natanti che tendono a conservarse la forma di blastula nonostante il loro valore germinale alto, si può restare indecisi se tali larve siano destinate a trasformarsi nelle caratteristiche blastule atipiche, ovvero in larve che, pur tentando di seguire la via normale, non vi riescono. Ad ogni modo, nello *Strongylocentrotus* non ho incontrato delle vere gastrule atipiche — di cui un esempio è forse quella gastrula così detta «vegetativa» rappresentata nella fig. 7 del lavoro ('00) di Driesch, nella quale esiste un intestino a 2 membri, pur essendo assente il mesenchima primario. Piuttosto ho osservato che larve parziali, le quali hanno male o punto mesenchimato e abnormemente gastrulato, possono in rari casi ispessire alquanto il polo dell' ectoderma che è da considerarsi come animale. Non posso però in via assoluta escludere che una blastula, anche allorquando ha assunto la caratteristica forma atipica, non possa ancora tentare una invaginazione. Uno dei fatti che pur tuttavia mi spingono a ritenere ciò inverosimile, si è che le blastule atipiche, una volta ben differenziate come tali e cadute al fondo, non mostrano mai (anche quando provengano da uova intensamente pigmentate) pigmentazione alcuna della loro parete. All' incontro ho osservato che non v' è mai invaginazione là dove non v' è pigmento (al solito, in larve da uova pigmentate) e che — viceversa — quando invaginazione avviene (sia essa tipica o abnorme) la parte che invagina è sempre pigmentata.

Concludendo, denominiamo larve atipiche solo quelle che acquistano la caratteristica morfologia della blastula permanente lungociliata, che minutamente descriveremo in appresso. Blastula atipica è perciò sinonimo per noi di larva atipica.

2°

Non ci fermeremo a descrivere l'aspetto che hanno le larve atipiche durante la loro vita planctonica, per non ripetere cose già dette nel precedente paragrafo.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Esaminiamo invece più da vicino codeste larve, nella caratteristica morfologia definitiva che assumono allorquando si sono raccolte al fondo del recipiente di cultura, ove continueranno a mantenersi apparentemente quasi inalterate per un tempo anche lungo (vedi figure 2—5). Sono blastule, come abbiamo visto, di forma sferoidale, la di cui parete offre come caratteristica di avere uno spessore non uniforme. Un emisfero della blastula è costituito da un epitelio cilindrico a cellule molto alte; quest'epitelio ha la sua massima altezza ad un polo della blastula, degrada per lo più dolcemente verso l'equatore — per divenire sottile spesso considerevolmente nell'emisfero opposto al polo ove l'ispessimento è maggiore. Per

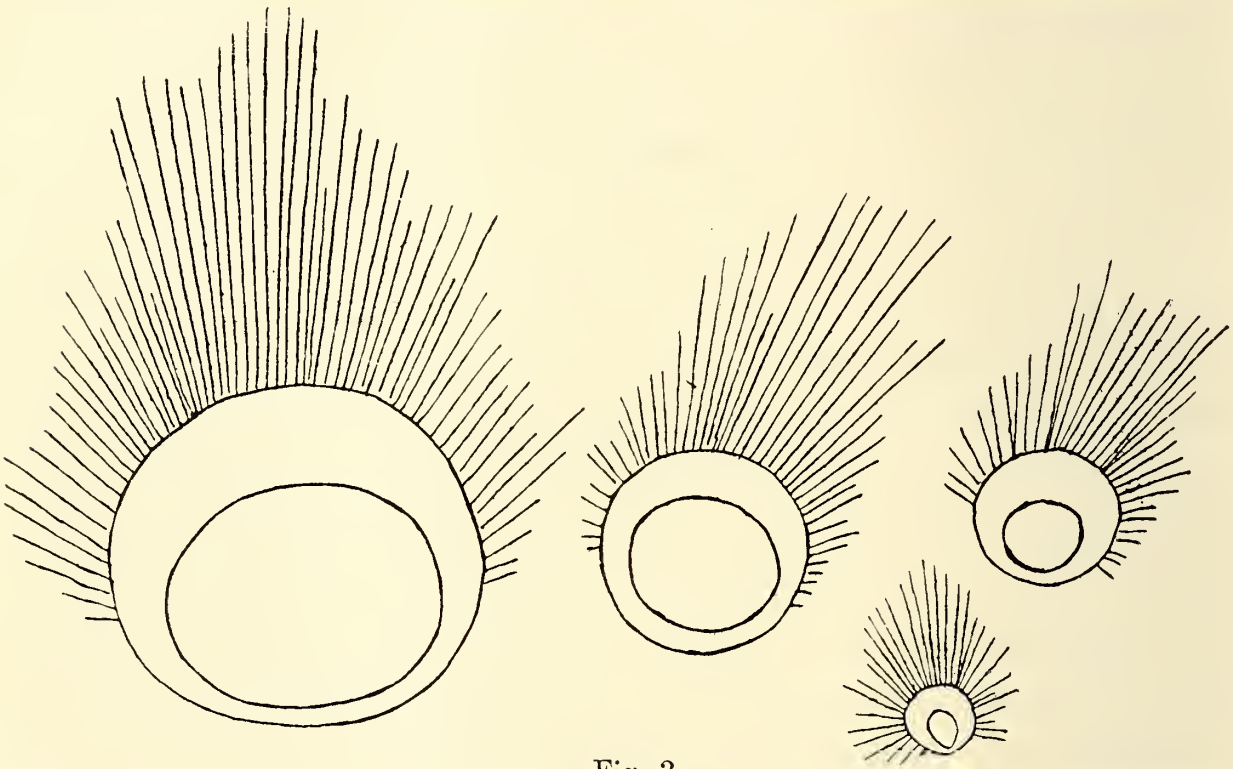


Fig. 3.

Fig. 3. Larve atipiche di diverso valore germinale, ottenute in una esperienza di Morgan. 2 giorni circa dopo la fecondazione: Ingr. 350× circa.

conseguenza in sezione ottica la forma più frequente è quella di una falce lunare chiusa su sè stessa. Tutta la blastula è rivestita da ciglia le quali, brevi e fini in corrispondenza della porzione assottigliata della parete blastulare, divengono straordinariamente lunghe nell' emisfero ispessito e sopra tutto in corrispondenza del polo di quest' ultimo.

Specialmente nelle larve atipiche di un valore germinale piuttosto elevato è frequente la presenza nell' interno della blastula di cellule di grandezza varia che — come abbiamo visto altrove — sono emigrate dalla superficie interna della blastula; queste cellule, che hanno i caratteri di cellule mesenchimali, non si formano in una zona ben delimitata della parete blastulare, per poi spargersi in prossimità di essa, come succede

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

nelle blastule parziali o totali tipiche; si ha invece una distribuzione irregolare di queste cellule mesenchimali, che forse sussegue ad un originarsi di codesti elementi da varie regioni della parete blastulare in una medesima larva.

Oltre alla forma di blastula atipica che abbiamo ora descritto e che è propria della maggioranza delle larve atipiche, talvolta si ha un aspetto diverso della blastula, dovuto al fatto che l'emisfero ispessito non conserva la sezione semilunare, sibbene diviene come appiattito in un piano

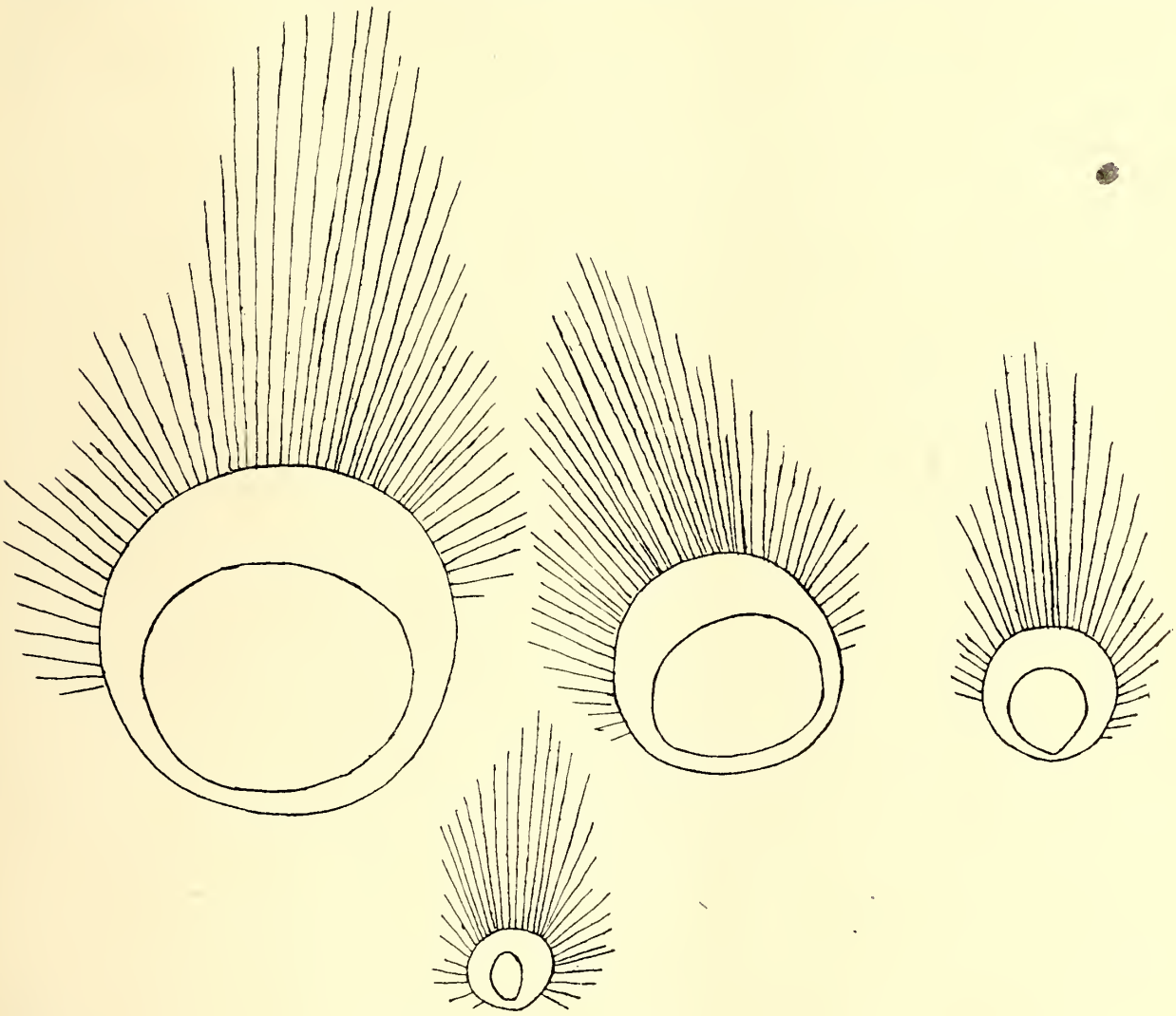


Fig. 4.

Fig. 4. Larve atipiche di vario valore germinale, ottenute in una esperienza di Boveri. 2 giorni circa dopo le fecondazione e Ingr. 350× circa.

tangente alla zona polare dove nelle altre larve è massimo l'ispessimento dell' epitelio. Si ha allora l'immagine di un anello col castone (vedi fig. 5a). Altre volte si ha una forma la cui sezione ottica è illustrata dalla fig. 5b; si riceve l'impressione come se la cavità blastulare si fosse ingrandita a spese dell'emisfero ispessito — per modo che esso si presenta scavato dall' interno nella sua porzione polare. Questa escavazione può esser così pronunziata, che la immagine ottica di certe larve mostra la

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

porzione ispessita della parete come divisa in due segmenti (vedi fig. 5c). Nella fig. 144 di R. Zoja ('95) è illustrata una blastula atipica che s'avvicina al tipo da me ora descritto.

Ho studiato la struttura istologica delle larve atipiche in materiale fissato e colorato. I migliori risultati li ho avuti raccogliendo del materiale in massa dalla superficie o dal fondo delle culture, nelle quali avevo seguìto

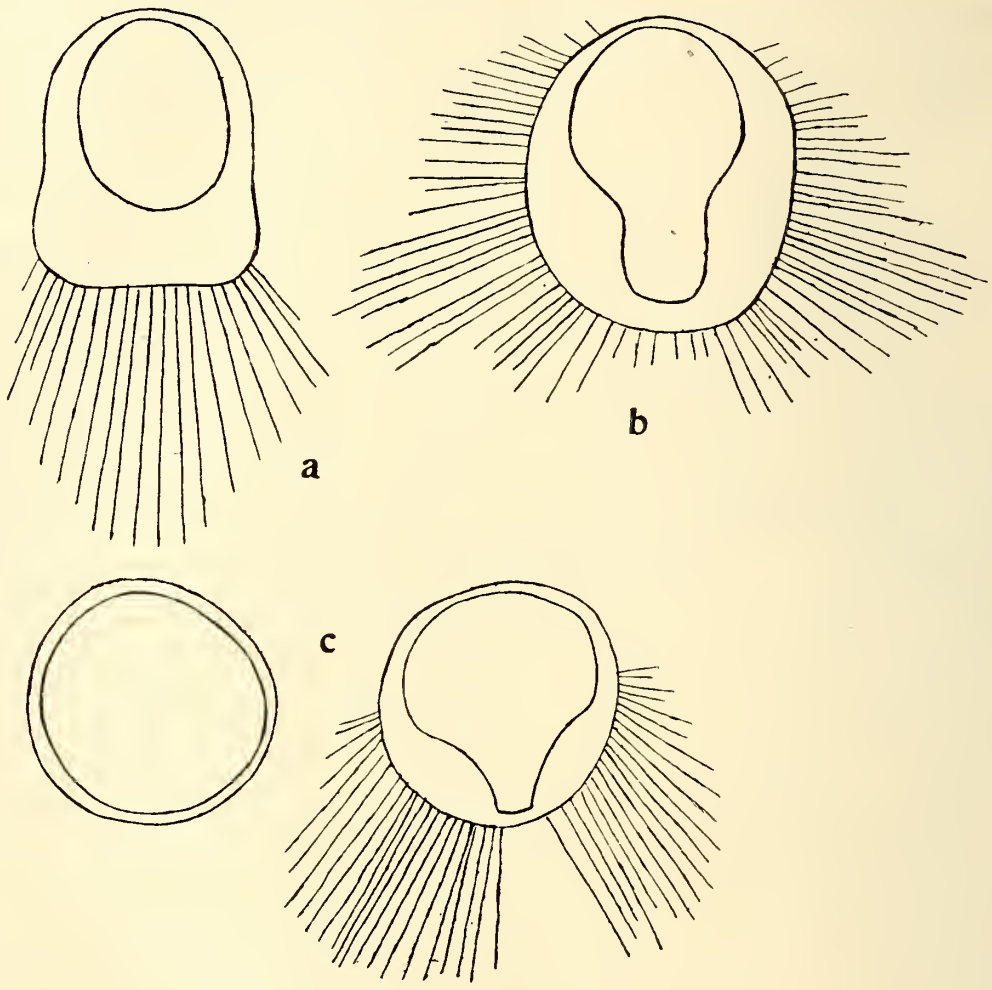


Fig. 5.

Fig. 5a—c. Larve atipiche di forma aberrante. *a*) ottenuta da $^1/_2$ (esperienza di Driesch-Herbst); 2 giorni dopo la fecondazione. *b*) ottenuta in una esperienza di Morgan; 3 giorni dopo la fecondazione. *c*) Blastula atipica, veduta in due posizioni ortogonali, sviluppata da $^1/_2$ blastomero (Driesch-Herbst); 2 giorni circa dopo la fecondazione. Ingr. 350× circa.

lo sviluppo delle larve atipiche, e fissando col liquido di Flemming o col metodo di Benda. Ho colorato le sezioni assai sottili col metodo di Altmann e di Heidenhain.

La fig. 1a della Tav. 2 raffigura una larva atipica al 2° giorno di vita, ancora natante, proveniente da una cultura di larve $^1/_2$ di un' esperienza di Driesch-Herbst. La fig. 1b della Tav. 2 rappresenta una gastrula

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

$^1/_2$ tipica, della stessa età della blastula riprodotta nella su detta fig. 1 a e appartenente alla medesima cultura. Nella fig. 1 a, che si riferisce ad una blastula atipica priva di cellule mesenchimali, si nota l'ispessimento di una porzione della parete — esponente della forma cilindrica che hanno assunto le cellule. L'epitelio della blastula è sempre unistratificato; spesso sembra che concorrano più ordini di cellule a costituire la zona ispessita della parete, per il fatto che i nuclei non sono portati tutti rigorosamente alla stessa altezza e che talune cellule non giungono dalla superficie interna alla esterna della blastula, perchè non posseggono una lunghezza eguale allo spessore della parete. I nuclei sono prevalentemente situati in prossimità della superficie interna della blastula; allorquando essi entrano in mitosi, allo stesso modo di quanto avviene nelle blastule e gastrule normali, emigrano sempre verso la porzione più esterna della parete blastulare. I nuclei figli successivamente — superata la telofase — tornano a situarsi nella porzione basale della cellula. La porzione non ispessita delle parete ha presso a poco i caratteri dell' ectoderma delle gastrule normali. Non sono riuscito ad apprezzare nella struttura del protoplasma peculiarità tali che possano spiegarci l'aspetto chiaro, trasparentissimo che le larve atipiche viventi posseggono, a differenza delle normali. Sono presenti, in specie nella porzione distate della cellula, numerosissime sferule di vitello, di calibro non uniforme, contenute nella sostanza fondamentale del citoplasma non in numero sensibilmente minore di quello che avviene nelle blastule e nelle gastrule normali totali e parziali. Nella sostanza fondamentale citoplasmatica non ho potuto dimostrare dei condriosomi simili a quelli che Meves ha ultimamente ('12) descritto nel *Parechinus* e dei quali io ho riscontrato la presenza nelle uova di *Strongylocentrotus*. Poichè neppure nelle larve tipiche non ho potuto finora dimostrare decise formazioni condriosomiche, non saprei perciò stabilire una differenza a questo riguardo fra il protoplasma delle larve atipiche e quello delle normali.

Le ciglia sono impiantate nel citoplasma per mezzo di una porzione un poco rigonfia, che ha i caratteri di un granulo basale. Come appare dalle figure della Tav. 2, le ciglia vengono in gran parte asportate o mozzate nei trattamenti tecnici.

In materiale del fondo fissato al 3° e al 4° giorno di vita, le cellule della maggior parte delle blastule atipiche non presentano traccia di degenerazione o di necrosi. L'aspetto istologico corrisponde perfettamente a quanto abbiamo descritto a fresco. La parete è costituita (come nelle larve atipiche ancora natanti) da cellule epiteliali cilindriche a maggior asse

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

molto lungo in una porzione della blastula, da cellule cubiche o d'epitelio piatto nella restante porzione (vedi figure 2 e 3 della Tav. 2, tolte da una esperienza di Morgan).

L' altezza delle cellule va progressivamente diminuendo dalla parte ispessita a quella appiattita, nella maggioranza dei casi; in altri casi il passaggio fra i due tipi di epitelio è più brusco. Ritengo che anche nella porzione della blastula ove l'epitelio è ispessito, quest' ultimo sia al solito monostratificato; il fatto che esistono delle cellule la cui base non arriva fino alla superficie della cavità blastulare, dà spesso l'illusione — in specie se la sezione non è rigorosamente parallela al maggior asse delle cellule cilindriche — dell' esistenza di più di un ordine di cellule.

Lo spessore della porzione assottigliata della parete è il più delle volte molto minore che nelle larve atipiche ancora natanti; correlativamente a ciò, anche i nuclei sono spesso allungati od appiattiti per la depressione della cellula. I nuclei sembrano spesso un poco più grandi nelle cellule cilindriche della porzione ispessita dell' epitelio che non nella porzione appiattita.

Relativamente alla struttura del citoplasma, le figure 2 e 3 (Tav. 2) mostrano la persistenza, anche in un periodo assai tardivo, delle sferule di vitello; queste però sono per lo più meno abbondanti che non nei primi momenti della vita larvale e sembra tendano a scomparire. Ciò lascia scorgere che nelle blastule atipiche si determina — per quanto in guisa assai più torpida che nelle larve normali — un lento esaurimento dei materiali deutoplasmatici, nonostante che non si abbia l'abbozzo di alcuni organi primarii. Ho trovato talvolta nello stesso preparato, accanto a larve atipiche ancora cariche di vitello, altre pure atipiche nelle quali quest' ultimo era quasi affatto scomparso. Gli elementi che talvolta emigrano, anche in numero notevole, nell' interno della blastula, sono di solito assai piccoli, carichi di deutoplasma, alquanto diversi dai tipici elementi mesenchimali che si abbozzano, come preliminare di una normale gastrulazione, sia nelle larve totali che parziali tipiche.

Cap. IV°

Le larve atipiche prodotte dallo sviluppo dei blastomeri isolati.

Le larve atipiche si producono nelle culture in massa dei blastomeri separati nello stadio a 2, a 4, a 8, a 16, a 32. Non ho condotto esperienze di segregazione di uno o più germi dei quali avessi preventivamente determinato l'emisfero o il verticillo dell' uovo segmentante al quale appartenevano. Per il caso dei blastomeri $^1/_8$ e $^1/_{16}$ isolati, già Driesch ('00) ha dimostrato che la linea atipica di sviluppo si determina nello sviluppo dei blastomeri dell' emisfero animale (mesomerico).

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Io ho constatato che dall' esperienza di isolamento dei $^1/_4$ a quella di isolamento degli $^1/_8$, vi è un salto brusco nella percentuale dei germi che si sviluppano atipicamente. Nelle culture di $^1/_{16}$ isolati, la frequenza delle larve atipiche è ancora maggiore; grandissima diviene nello sviluppo dei $^1/_{32}$ isolati. Nelle larve da $^1/_{64}$ non è possibile di riconoscere con sicurezza le atipiche dalle tipiche, per il fatto che a questo estremo valore germinale non si ha mai per lo *Strongylocentrotus* — come del resto per altri Echinoidi (Driesch) — gastrulazione e, d'altra parte, non sono riconoscibili nella piccolissima blàstula due porzioni della parete di spessore diverso.

Non ho stabilito statisticamente la frequenza colla quale le larve atipiche si formano. Poichè queste ultime non sono con tutta sicurezza identificabili se non quando sono cadute al fondo (selezionandosi in talmodo dalle larve tipiche) è chiaro che — per ottenere delle percentuali sia pure approssimative — sarebbe stato necessario di contare tutte le larve atipiche del fondo e tutte quelle natanti alla superficie dei piccoli acquarii. Non avendo io allevato che cospicue culture in massa, non mi è stato praticamente possibile di fare codesto computo. Del resto delle cifre non avrebbero un grande valore, perchè mi sono reso conto di grandi differenze in frequenza (vedi anche Driesch '00) nella produzione di larve atipiche in condizioni sperimentali simili, da materiale a materiale. Secondo le osservazioni di Driesch condotte su culture allevate in microacquarii, dai $^1/_{16}$ animali (mesomeri) si svilupperebbe circa il 79% di larve atipiche ('00); dal cumulo dei 4 blastomeri animali dello stadio a 8, circa il 71%.

Le larve atipiche che si sviluppano dai $^1/_2$ isolati sono alquanto rare. Data l'importanza teorica che alla loro produzione può andar connessa, ho voluto — per ovviare ad ogni possibile causa d'errore — usare alcune cautele nell' impostare l'esperienza e nella valutazione dei resultati di essa. È preferibile innanzi tutto (*a*) di allontanare la membrana di fecondazione alquanto dopo la sua comparsa, in modo da poter esser sicuri della riacquistata riluttanza dell' uovo a lasciarsi frammentare dallo scuotimento e, con ciò, ad allontanare il sospetto che alcuni dei blastomeri che si separano provengano da uova mutilate, abbiano cioè un valore germinale minore di $^1/_2$. Occorre in ogni modo (*b*) di appurare coll' esame diretto che non si sia avuta frammentazione delle uova. È necessario inoltre (*c*) di accertarsi che nel controllo (cultura in acqua marina normale, costituita da una porzione dello stesso lotto di uova private di

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

membrana) non si sviluppino blastule atipiche. Occorre infine (*d*) di sincerarsi che la segmentazione si compia in modo normale e — sopra tutto — che non si abbiano sintomi di polispermia. È noto infatti che, qualora la fecondazione sia stata polispermica, l'uovo può dividersi simultaneamente in 3 o in 4 cellule: la separazione di queste ultime e il successivo loro sviluppo isolato, produrrebbe dei germi di un valore minore di $^1/_2$. La presenza eventuale di larve atipiche nel controllo indicato in (*c*), ci ammonisce di non dar valore all' esperienza collaterale di sviluppo di blastomeri isolati. Inoltre questo controllo ha avuto per noi valore in quanto ci ha dimostrato (vedi pag. 82) che le uova, agitate anche fortemente per l'ablazione della membrana, non danno mai luogo — se integre — alla produzione di larve atipiche.

In molte esperienze nelle quali, mediante le precauzioni tecniche esposte, mi ero messo assolutamente fuori da ogni possibilità di errore, ho constatato che dai blastomeri separati dello stadio a 2 si può ottenere la larva atipica. Le stesse considerazioni valgano anche per la produzione delle larve atipiche dai blastomeri $^1/_4$.

* * *

Ho cercato di stabilire in quali rapporti di grandezza stiano le larve atipiche, colla dimensione del germe dal quale si sviluppano. Mi sono convinto che, con buona approssimazione, vale la regola da Driesch ('00, '02), enunciata per le larve tipiche di Echinoidi, secondo la quale la superficie e non il volume di un germe sviluppato è proporzionale al suo valore germinale. Questo rapporto è espresso dalle formule $r_n = \frac{R}{\sqrt{n}}$ e $v_n = \frac{V}{\sqrt{n^3}}$, nelle quali R e V sono rispettivemente il raggio e il volume della larva (ad es. blastula) totale; r_n e v_n, il raggio e il volume di una blastula parziale di un valore germinale n (cioè derivante da $^1/_2$, $^1/_4$ . . . . . $^1/n$ blastomero, isolati).

D'accordo con ciò una larva totale avrà, secondo Driesch, un diametro doppio di quello di una larva (nell' identico stadio di sviluppo) del valore $^1/_4$ e un volume otto volte maggiore del volume della medesima.

Nella fig. 2, dove sono riprodotte con eguale ingrandimento larve atipiche di differente valore germinale fra $^1/_2$ e $^1/_{32}$ si osserva — d'accordo colla regola di Driesch — che, ad esempio, il diametro della larva atipica $^1/_{16}$ è quasi eguale alla metà del diametro della $^1/_4$ atipica. Le larve — raffigurate unitamente al *Pluteus* $^1/_1$ e al *Pluteus* $^1/_2$ — provenivano da uno stesso ceppo dal quale erano stati isolati i blastomeri dei diversi valori germinali indicati; avevano inoltre tutte l'identica età di circa

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

2 giorni (a partire dalla fecondazione). Date le oscillazioni non lievi che si fanno sentire sulle dimensioni delle larve atipiche di un egual valore germinale, fu disegnata per ogni valore una larva di grandezza approssimativamente media e, in più, sprovvista di cellule immigrate nella cavità blastulare. Aggiungo che la relativa fissità di rapporti dimensionali fra larve atipiche cessa dall' avere un certo rigore dopo alcuni giorni di vita — a causa forse di diversità nella misura dello sviluppo in larve di eguale valore e fors' anco in rapporto col variabile numero di elementi immigrati entro la blastula.

Un raffronto fra la grandezza delle blastule atipiche della fig. 2 con quella delle larve parziali tipiche più giovani (di valori germinali simili) riprodotte nella fig. 1[1]), mostra come si determini un notevole incremento in grandezza durante il primo periodo di esistenza della blastula atipica. Si nota altresì, da un confronto fra larve atipiche e normali delle figure 1 e 2, che le blastule atipiche divengono progressivamente più grandi delle gastrule tipiche di un egual valore germinale. Cosicchè si trovano — per esempio in una stessa cultura di $^1/_4$ isolati — delle blastule (potenzialmente atipiche) più grandi delle gastrule normali $^1/_4$, ma pur nonostante di un eguale valore germinale.

Cap. V°

Le larve atipiche prodotte dallo sviluppo dei frammenti di uovo.

I°.

Esperienza di Morgan.

Si possono con questo mezzo ottenere delle larve atipiche da frammenti di qualunque valore germinale: tutta la gamma cioè delle dimensioni, da una ch' è assai superiore a quella di una larva atipica $^1/_2$, alla $^1/_{32}$ e forse oltre. Poichè i resultati dell' esperienza di Driesch-Herbst ci insegnano che anche per le larve atipiche approssimativamente vale — come per le normali — la regola del rapporto fra superficie del germe e valore germinale, è lecito ammettere che il medesimo rapporto esista anche per le larve atipiche provenienti da frammenti di uovo ottenuti prima (vedi esperienza di Boveri) e dopo la fecondazione. Per modo che, quando nell' esperienza di cui adesso ci occupiamo, si incontrino delle larve atipiche che sono più grandi delle atipiche prodotte da $^1/_2$

---

[1]) Ho creduto utile di riprodurre nella fig. 1 una serie di larve tipiche (nel primo giorno di vita) provenienti da blastomeri separati fino al $^1/_{32}$, appartenenti ad una stessa serie sperimentale, nei rapporti esatti di grandezza: cosa che non era stata ancora fatta per lo *Strongylocentrotus*.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

blastomero isolato, pur avendo a un di presso la stessa loro età, è logico arguire che si tratti di larve atipiche provenienti da frammenti di uovo di dimensioni superiori alla metà dell' uovo. Codeste blastule atipiche di alto valore germinale sono meno frequenti di quelle che corrispondono ad un valore germinale minore di $^1/_2$; larve delle dimensioni di quella riprodotta nella fig. 3 sono piuttosto rare.

È possibile di stabilire fino a quale massimo di valore germinale si abbia ancora la possibilità di produzione della blastula atipica? La grossa blastula della fig. 3, che è fra le più grandi fra quante abbia rinvenuto, corrisponderebbe ad un valore germinale di circa $^1/_{1,32}$, cioè sarebbe da considerarsi come derivante da un frammento che rappresenta circa $^3/_4$ dell' uovo intero. Il calcolo è stato fatto indirettamente, costruendo una ipotetica blastula atipica $^1/_1$ (di cui per altro secondo le mie ricerche è da escludere l'esistenza) di un diametro doppio di quello della larve atipica $^1/_4$, cioè di circa mm. 39 sul disegno (vedi fig. 2). Allora il valore germinale della grossa larva atipica si ricava facilmente dalla

$$34 \text{ (diam. in mm. di codesta larva, sul disegno)} = \frac{39}{\sqrt{x}}.$$

Risulta perciò che la esclusione di circa $^1/_4$ dell' uovo rende possibile all' uovo mutilato la capacità di evolversi verso la forma di blastula atipica. Codesta possibilità diviene tanto più remota, quanto più le dimensioni del materiale sottratto all' uovo si accostano da valori maggiori a questo limite di $^1/_4$.

La frequenza della larve atipiche aumenta per contro progressivamente col diminuire del valore germinale, fino ad un limite che corrisponde approssimitivamente a quello oltre il quale non si hanno più caratteristiche larve atipiche neanche nell' esperienza di Driesch-Herbst. L'aumento sembra sia progressivo dal valore $^3/_4$ circa verso i valori germinali minori (vedi schema a pag. 82).

II°.

Esperienza di Boveri.

Dovendo descrivere la produzione delle larve atipiche in questa esperienza, non saprei che ripetere quanto ho esposto per l'esperienza di Morgan. Mentre in quest'ultima si ottengono con grande facilità larve atipiche in gran numero, operando col metodo di Boveri si incontra invece una notevole difficoltà ad ottenere le larve atipiche — anche prescindendo dalla maggior difficoltà colla quale ci si possono procurare i frammenti.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Come è noto, le uova specialmente di certi individui oppongono invero una resistenza notevole a lasciarsi frammentare dallo scuotimento. La figura 4 mostra che le maggiori grandezze delle larve atipiche sono — come per l'esperienza di Morgan — riferibili a dei valori germinali che si aggirano intorno ai $^3/_4$.

Cap. VI°

Considerazioni sulla biologia delle larve atipiche.

Nelle esperienze di riduzione iniziale del materiale germinale, si ha la prova dell' indipendenza della capacità di sviluppo verso la vera larva atipica, dalla dimensione del germe — nei casi naturalmente di larve parziali di un valore eguale od inferiore a $^3/_4$. Si osservano cioè grandi e piccole larve parziali tipiche, accanto a larve atipiche pure grandi e piccole.

Però la frequenza d' insorgenza della blastula atipica varia grandemente — come abbiamo visto — col variare del valore germinale: sia nell' esperienza di Driesch-Herbst che in quelle di Morgan e di Boveri. Diamo per brevità nella fig. 6 uno schema (che non ha affatto il valore di un diagramma) della frequenza relativa colla quale si producono, nelle esperienze di mutilazione dell' uovo, larve atipiche: frequenza che è naturalmente inversa a quella colla quale si hanno le larve normali.

Le larve atipiche provenienti da germi di una determinata dimensione (ridotta), acquistano, per differenziazione della blastula, i caratteri specifici di larva atipica, più tardi che quelle di un valore germinale più elevato e tanto più tardi, quanto minore è il loro valore. Subordinatamente a ciò, anche la caduta al fondo delle larve atipiche di un basso valore, avviene proporzionatamente più tardi di quelle gerarchicamente superiori. Si ha per conseguenza che, se s'immagina essere la forma atipica il resultato o l'espressione di un processo differenziativo «*sui generis*», si deve ammettere che le norme che regolano il ritmo di questo processo siano simili a quelle che valgono per le larve tipiche degli Echinodermi; anche in queste — come è stato dimostrato nelle ricerche di Driesch ('00) — la velocità di sviluppo è infatti proporzionale al valore germinale.

Il semplice fattore meccanico (scuotimento) non è capace di far produrre, da uova integre, blastule atipiche. Questo fatto ci hanno inconfutabilmente dimostrato numerosissime esperienze che

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

avevano per obbietto di scuotere le uova anche con notevole energia e nelle quali era controllata rigorosamente l'assenza di mutilazione delle uova. Specialmente ritardando di un poco lo sbattimento dopo la fecondazione, attendendo cioè che la membrana di fecondazione sia divenuta molto difficilmente distaccabile, si possono scuotere le uova anche violentemente, colla sicurezza di non frammentarne alcuna. Del resto, in ogni caso il ripetuto esame microscopico doveva assicurarmi della inesistenza

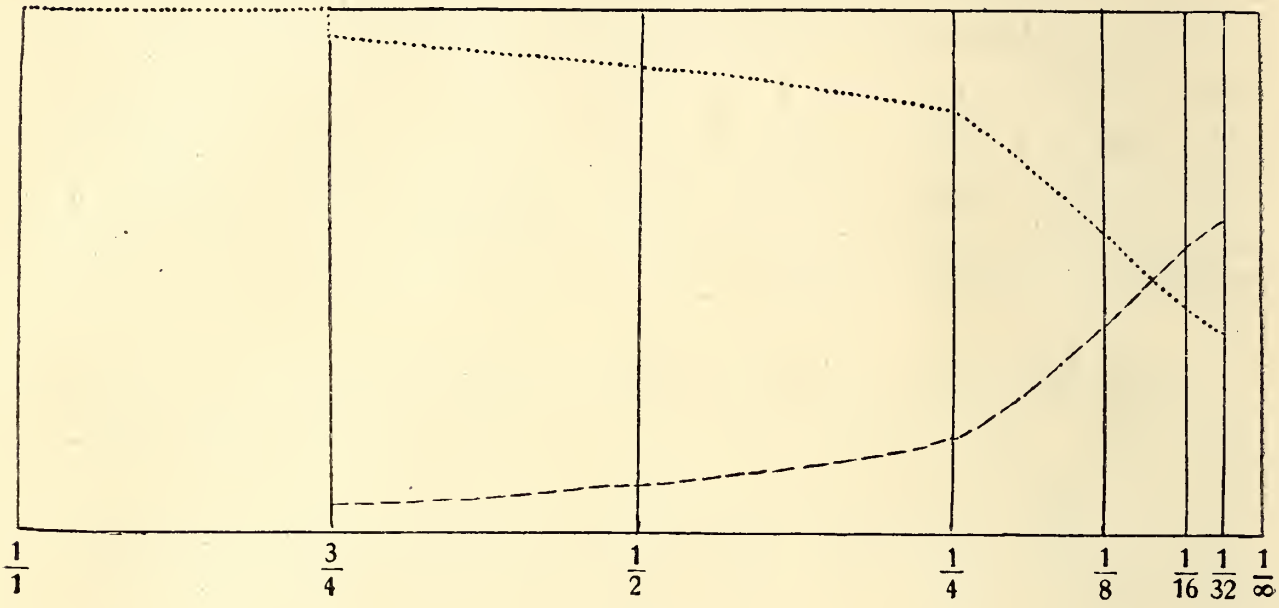


Fig. 6.

Fig. 6. La linea $\frac{1}{\infty}$—$^1/_1$, il cui verso è destra verso sinistra, misura il valore germinale 1 (germe intero). Su di essa sono presi (nello stesso verso) in proporzione aritmetica i valori germinali progressivamente minori fino a $^1/_{32}$. Le ordinate indicano approssimativamente la frequenza delle larve tipiche o atipiche pei varii valori germinali. La frequenza non è stata calcolata per mezzo di conte (vedi pag. 77). La curva punteggiata indica la frequenza (decrescente col diminuire del valore germinale) delle larve tipiche (che giungono per lo meno allo stadio di gastrula) sul totale delle larve tipiche stesse + larve atipiche. La curva tratteggiata indica la frequenza (crescente col diminuire del valore germinale) delle larve atipiche, sul totale delle larve atipiche medesime + larve tipiche. E' ovvio aggiungere che non è da assegnare alcun significato al carattere specifico delle due curve disegnate.

di mutilazione. Però ho voluto stabilire dei controlli anche per i primi momenti successivi alla fecondazione, allorquando l'uovo attraversa uno stato di notevole plasticità. Quando si sia acquistata una certa pratica nella manovra, è possibile in certi casi di liberare con alcune energiche scosse dalla membrana quasi tutte le uova, senza frammentarne alcuna.

Altra esperienza che ci ha testimoniato della inanità del semplice scuotimento a provocare la formazione di larve atipiche, è stata quella di agitare

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

anche assai fortemente le uova prima della fecondazione[1]), verificando al solito successivamente la inesistenza di frammenti. Inoltre, il rilievo «*a posteriori*» del fatto di non trovare nelle esperienze di Morgan e di Boveri, larve atipiche che sia possibile di ricondurre dimensionalmente ad un valore germinale superiore a $^3/_4$, serve a ribadire il convicimento che debba intervenire una mutilazione di un certo grado (»*minimum*« circa $^1/_4$) nell' uovo, affinchè la larva atipica possa originarsi.

D'accordo con queste mie osservazioni, nelle esperienze di dislocamento dei blastomeri, (che possono paragonarsi al disassettamento, meccanicamente provocato, dei materiali dell' uovo insegmentato), non pare si formino larve atipiche o — per lo meno — chi ha condotto codeste ricerche [vedi ad esempio Driesch ('03)] non fa parola della possibilità di una evoluzione atipica dei germi a blastomeri dislocati.

Inoltre, neanche nelle esperienze eseguite da Driesch ('96a) di dislocazione del mesenchima primario mediante lo scuotimento di blastule che di recente avevano formato il loro mesenchima primario, non è fatta menzione della possibilità di produzione di larve atipiche; al contrario sussegue sempre all' aggressione sperimentale una perfetta regolazione (primaria).

Nelle culture polispermiche [nelle quali — come è noto (vedi Driesch '92b, Boveri '07, ecc.) — le uova si segmentano simultaneamente in 3 o in 4 blastomeri] sottoposte all' esperienza di Driesch-Herbst, si hanno le larve atipiche, ma non in proporzione maggiore di quel che non si ottenga adoperando culture a segmentazione normale. Poichè nelle culture polispermiche si ha molto spesso la suddivisione contemporanea in 3 blastomeri, ritengo che possano formarsi blastule atipiche anche da $^1/_3$, da $^1/_6$, da $^1/_{12}$ ecc.; supposizione che è giustificata anche dai resultati ottenuti coi procedimenti di Boveri e di Morgan, coi quali da una frazione qualsiasi di uovo (al di sotto di $^3/_4$) si può ottenere la blastula atipica.

Però è bene ricordare che la produzione di larve atipiche non è esclusiva espressione di una anomala fecondazione. La stessa asserzione è lecito fare per quello che riguarda le esperienze di Boveri e di Morgan[2]). Anche Driesch ('00) asserisce che le sue »blastule vege-

---

[1]) Come è noto, è possibile infatti solo con energiche scosse (e più agevolmente nelle uova di certi individui che non in quelle di altri) di frammentare l'uovo vergine.

[2]) In queste due modalità di esperienze (ma sopra tutto in quella di Morgan) mi sono convinto che — se pure si ha talvolta qualche polispermia — questa si stabilisce a carico dei grossi frammenti; in certe culture la polispermia era certamente assente nei piccoli e piccolisimi frammenti, molti dei quali erano d'altronde destinati a produrre delle blastule atipiche.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

tative« non provengono da porzioni di uova dispermiche. Boveri poi ('05), nelle sue esperienze di isolamento dei primi blastomeri di uova dispermiche, non riferisce che da essi possano provenire delle larve atipiche. Su 146 esperienze, in una sola (*Strongylocentrotus*), da un blastomero $^1/_4$ isolato in un caso di simultanea doppia divisione dell' uovo, si formò una blastula con un lato della parete ispessita e con rudimento dell' intestino primitivo; larva che pur tuttavia non crediamo di ascrivere alla categoria delle caratterische larve atipiche.

Il peculiare ciclo di vita delle blastule atipiche ci porta ad alcune considerazioni a proposito del loro soccombere relativamente precoce in confronto ai *Pluteus* allevati negli abituali vasi di cultura. Ci sia permesso un tal confronto — nonostante che fra larve normali ed atipiche esista la profonda differenza che, mentre per il *Pluteus* è ovvio il naturale destino ulteriore, per le larve atipiche nessun dato esiste per farci immaginare la possibilità di un qualche destino biologico di esse.

Rammentiamo adunque, da una parte, quali difficoltà occorra superare per far sviluppare e far metamorfosare nei laboratorii i *Pluteus*; è chiaro d'altra parte che le condizioni di vita sono — per le larve sedentanee — anche peggiori di quanto non lo siano per le larve galleggianti. Infatti, mentre i *Pluteus* allevati nei bicchieri hanno, fatta astrazione dalla limitata libertà di movimento, dal mancato continuo rinnovamento dell' acqua e dalla difficoltata possibilità di nutrirsi, un «*habitat*» che è per lo meno omologabile a quello dei *Pluteus* viventi in natura — data la loro sede planctonica; per le larve atipiche invece le condizioni di vita al fondo di vetro del recipiente in mezzo a detriti di segmentazione o di larve malate che continuamente sedimentano, sono assolutamente anormali.

Se rammentiamo la interessante supposizione di Chun ('92) basata fondatamente sul rinvenimento di germi di *Eucharis* di grandezza metà della norma e con 4 invece di 8 abbozzi costali: che cioè il moto delle onde possa effettuare una frammentazione del materiale blastomerico; ci sembra verosimile la possibilità che delle blastule atipiche si formino eccezionalmente anche in natura. Abbiamo visto che queste larve si formano con una certa facilità nell' esperienza di Morgan; la frammentazione delle uova immediatamente dopo la fecondazione è quella invero che è più probabile avvenga in natura, dato che in tale momento l'uovo possiede una fluidità molto maggiore di quella di ogni

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

altro momento anteriore o posteriore alla fecondazione, sì che la sua ripartizione in frammenti capaci di svilupparsi normalmente e atipicamente è resa possibile da agenti meccanici di gran lunga meno energici di quelli che sarebbero richiesti per una esperienza di Boveri oppure di Driesch-Herbst.

È lecito domandarci che cosa potrebbe avvenire delle larve atipiche, qualora si trovassero in condizioni normali. Seguiterebbero la loro vita planctonica oltre il limite che la interrompe nell' esperienza «*in vitro*», oppure cadrebbero al fondo altrettanto precocemente? E questo porterebbe fatalmente con sè la morte a scadenza relativamente breve dell'organismo?

Cap. VII°

Parte generale.

1° Riassunto dei principali fatti osservati.

Nelle esperienze di riduzione del valore germinale condotte su uova di *Strongylocentrotus*, si sviluppano — oltre alle comuni larve parziali tipiche — degli organismi a morfologia caratteristica e considerevolmente fissa, che ho convenuto di chiamare larve atipiche («blastule permanenti» degli Autori).

Queste larve, ad un certo momento del loro sviluppo blastulare, ispessiscono notevolmente una cospicua porzione della loro parete, si provvedono in questa zona ispessita di lunghissime ciglia robuste e non evolvono ulterioremente; qualche volta emigrano, nell' interno della blastula, delle cellule a tipo mesenchimale.

Dopo un certo periodo (1—2 giorni) di vita planctonica, durante i quali conservano un aspetto chiaro, trasparente e una mobilità vivacissima, cadono al fondo — ove conservano ancora per molti giorni la loro caratteristica morfologia.

Queste larve erano state ottenute da uova segmentanti (Driesch, Zoja) per separazione dei blastomeri (isolati o in cumulo); della loro più intima biologia non si era finora occupato esplicitamente nessun Autore. Io ho dimostrato che queste larve possono insorgere:

1° Nell' esperienza di Driesch-Herbst, da $^1/_2$-, $^1/_4$-, $^1/_8$-, $^1/_{16}$-, $^1/_{32}$-blastomero, isolati.

2° Nelle esperienze di Morgan e di Boveri, nelle quali la soglia oltre la quale può aversi la larva atipica è il valore germinale di circa $^3/_4$. Partendo da questo valore e andando verso valori più bassi, la frequenza colla quale compare la larva stessa, aumenta progressivamente e consi-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

derevolmente. Il valore germinale limite, al di sotto del quale la larva atipica non è più identificabile come tale, è $^1/_{32}$ circa.

L'esperienza di Morgan è quella nella quale con maggiore facilità e con maggiore frequenza si ottiene la larva atipica.

Valgono approssimativamente per le larve atipiche le regole di Driesch del rapporto fra superficie della larva parziale e suo valore germinale e del rapporto fra valore germinale e rapidità di sviluppo.

* * *

2° Diversi gradi di potenza prospettica dell' uovo di Echinoide.

Enumero concisamente qui sotto i diversi gradi di potenza prospettica dell' uovo di Echinoide (riferentisi al raggiungimento di un determinato stadio larvale) per i diversi valori germinali. I dati esposti sono stati tolti in parte dai lavori di Driesch, Zoja, Morgan e Boveri altrove citati, e integrati e completati colle mie osservazioni. Coll' aggiunta delle sezioni *IV* e *V*, il mio quadro riassuntivo contempla tutte le possibilità di sviluppo larvale dei germi diminuiti coi varii procedimenti sperimentali.

I dati riferiti in *I*, *II* e *III* esulano dal campo delle mie ricerche attuali. Invece le possibilità evolutive del germe contemplate in *IV* e in *V*, e più specialmente in quest' ultimo, saranno ora prese in esame e discusse — cercando di chiarirne il significato per mezzo dei fatti in proposito da me osservati e di quelli precedentemente esposti da altri.

I. Potenza prospettica nei riguardi del Pluteus:

1. di porzioni di uovo segmentante (cioè da isolamento di blastomeri):
   a) germi costituiti armonicamente: $^3/_4$, $^1/_2$, $^2/_4$, $^2/_8$, $^1/_4$;
   b) germi costituiti disarmonicamente: $^8/_{16}$ (animali o vegetativi); $^4/_8$ (animali o vegetativi); $^{12}/_{16}$ (assenti i 4 micromeri); stadio a 16 da cui si eliminino 1—3 micromeri;
2. di porzioni di uovo insegmentato, frammentato prima o dopo la fecondazione: tutti i valori fra $^1/_1$ e $^1/_4$ [subordinatamente alla coesistenza dei diversi materiali morfogenetici necessarii ad una normale gastrulazione (Boveri)].

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

II. Potenza prospettica nei riguardi della gastrula normale

[con o senza abbozzo scheletrico, che non può forse svilupparsi in *Pluteus* unicamente per insufficenza quantitativa di materiale morfogenetico (Driesch)]:

1. di porzioni di uovo segmentante: tutti i blastomeri isolati fino al $^1/_{32}$ (eccettuati i micromeri) e tutte (?) le possibili combinazioni dei blastomeri dello stadio a 8, a costituire germi armonici o disarmonici.
2. di porzioni di uovo insegmentato, frammentato prima o dopo la fecondazione: tutti i valori fra $^1/_1$ e $^1/_{32}$ circa (subordinatamente alla coesistenza dei diversi materiali morfogenetici necessarii ad una normale gastrulazione).

III. Potenza prospettica nei riguardi della blastula tipica:

di porzioni di uovo segmentante o insegmentato: ogni valore germinale fra $^1/_1$ e $^1/_{64}$.

IV. Produzione di gastrule abnormi

[a) con intestino anormale per dimensione o forma
b) prive di mesenchima
c) fornite di mesenchima incongruo (per numero dei suoi elementi o per localizzazione)]:

da porzioni di uovo segmentante ed insegmentato: da (?) a $^1/_{32}$; talune combinazioni armoniche e disarmoniche degli $^1/_8$ (forse); isolamento dei macromeri sperimentalmente ottenuti nello stadio a 8.

V. Insorgenza di larve atipiche

[a) con cellule immigrate nella cavità blastulare
b) senza cellule immigrate]:

1. da porzioni di uovo segmentante: $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$, $^1/_{32}$ (specialmente animali, gli ultimi tre); $^2/_8$, $^3/_8$, $^4/_8$ animali; dagli $^8/_{16}$ animali; isolamento dei macromeri sperimentalmente ottenuti nello stadio a 8.
2. da porzioni di uovo insegmentato, frammentato prima o dopo le fecondazione: tutti i valori germinali fra $^3/_4$ e $^1/_{32}$ (e oltre?).

* * *

3° Ipotesi enunciate per spiegare la limitata (qualitativamente) equipotenzialità dell' uovo di Echinoide.

Driesch ('00), considerando la difficoltà a normalmente gastrulare (e — relativamente — la facilità a produrre la larva atipica) dei blasto-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

meri animali, supponeva che durante la segmentazione si stabilisse un «irrigidimento» generale dell' ooplasma, tale da renderne progressivamente difficile la regolazione; questo processo d'irrigidimento si determinerebbe al polo animale più rapidamente e più intensamente che al polo vegetativo.

Driesch non ha ulteriormente ('02) invocato, come sola causa del differente comportamento fra porzione animale e vegetativa dell' uovo, un siffatto meccanismo di difficoltata regolazione ed ha ripreso l'ipotesi già precedentemente avanzata come sussidiaria, della possibilità di »intracellulärer nach der Befruchtung beginnender und bis zum Eintritt der Achterfurchung ganz oder nahezu vollendeter Stoffwanderungen in Richtung der Eiachse hin«. Anzi, poichè Boveri ('01a) aveva dimostrato la impossibilità a gastrulare di larve provenienti da frammenti di uovo di *Strongylocentrotus* apigmentati, cioè privi di materiali dell' emisfero vegetativo, ha ritenuto addirittura che la frequente incapacità a gastruleggiare degli $^1/_8$ e $^1/_{16}$ animali (e perciò la possibilità di produzione della nostra larva atipica) risiedesse in un certo difetto della loro costituzione o natura materiale. La possibilità, al contrario, di normale gastrulazione per parte di taluni blastomeri animali lasciati sviluppare isolati o aggruppati, sarebbe invece da attribuirsi, secondo Driesch ('02), all' eventualità fortuita della presenza di materiale abitualmente proprio dell' emisfero vegetativo, nell' emisfero animale. Questa supposizione è basata sull' osservazione di Boveri ('01), secondo la quale l'anello pigmentato che fascia l'uovo di *Strongylocentrotus*, sarebbe ora più ora meno largo, sì da superare talvolta il piano equatoriale e invadere l'emisfero vegetativo. Per tal modo i 4 blastomeri animali originatisi col 3° solco verrebbero a possedere spesso una porzione del materiale ooplasmatico situato a livello del pigmento.

Nel materiale di *Strongylocentrotus* che io ho esaminato, mi sono convinto, dall' esame dei blastomeri isolati col metodo di Driesch-Herbst, che i 4 blastomeri animali ricevono sempre (i casi di uova a fascia intensamente colorata dimostrano meglio questo fatto) una certa quantità del pigmento, che è legato ad un particolar substrato sostanziale dell' uovo (Boveri); ritengo perciò che, se la supposizione di Driesch fosse accettabile, la normale gastrulazione dovrebbe rappresentare la norma per gli $^1/_8$ animali — e non un fatto più o meno frequente. Credo utile poi ricordare che Driesch ('02) si accorda colle ricerche di Boveri ('01), che ammettono l'importante ufficio, «determinante» la gastrulazione, da assegnarsi di norma alla regione polare vegetativa dell'uovo di Echinoide (ufficio che può per altro, in blastomeri isolati o in frammenti,

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

essere assunto dalla porzione «più vegetativa» — a meno che la «vegetatività» non sia così esigua da non poter determinare la normale gastrulazione). Infatti Driesch ('02) ha, in rinnovate esperienze di dislocamento dei blastomeri, dimostrato che i micromeri, se dislocati, tendono a riunirsi, per determinare la differenziazione gastrulare, in una sola località. I mesomeri, al contrario, sarebbero dislocabili in modo definitivo senza pregiudizio della gastrulazione.

Però Boveri riteneva superflua ('01a) — per spiegare i resultati delle esperienzi di dislocamento, compressione e stiramento e diminuzione del materiale germinale — la nota struttura intima ipotetica di Driesch ('96b, ecc.), poichè la dimostrata organizzazione morfologica dell'uovo di *Strongylocentrotus* valeva a giustificare la localizzazione degli abbozzi primarii, anche nelle uova sottoposte alle suddette esperienze. Driesch invece pensava ('02) che, per interpretare taluni dei fatti (di regolazione) acquisiti dall' embriologia sperimentale degli Echinodermi, debba assolutamente invocarsi un avvenuto ripristinamento, nell' uovo disassettato colla mutilazione o col dislocamento, di una qualche invisibile intima struttura »aber in ihren geometrischen Grundzügen wohl ausdenkbar«. Anzi, secondo Driesch, anche Boveri, colla sua concezione del »*Wiederringsumgehen*« della stratificazione dell' uovo, si riferiva ad una minuta struttura sconosciuta, di cui è solo un esponente apprezzabile — nello *Strongylocentrotus* — l'anello di pigmento.

Più tardi Driesch ('03) ha constatato che le larve sviluppate dai macromeri dello stadio ad 8 isolati, non gastruleggiano tutte (come avrebbe dovuto avvenire se a provocare una normale gastrulazione fosse sufficente la presenza del materiale che nello *Strongylocentrotus* è stratificato a livello dell' anello pigmentato), ma di esse solo il 50% circa, mentre le rimanenti danno la blastula permanente. In base a tale fatto, Driesch ha riavanzato l'idea di un irrigidimento dell' ooplasma che si determinerebbe nel corso dello sviluppo dell' uovo, il di cui resultato fisiologico sarebbe il decrescente potere regolatore del plasma stesso.

Driesch ('05) ha seguìto anche lo sviluppo di germi costituiti disarmonicamente, cioè costituiti da un numero diseguale di blastomeri animali e vegetativi dello stadio a 8; e ha osservato che il numero di cellule mesenchimali formato in tale contingenza tende a regolarsi quasi sempre proporzionalmente al valore germinale — invece di comportarsi come dovrebbe, se realmente la formazione del mesenchima fosse necessariamente ed esclusivamente legata al materiale del polo vegetativo. Da ciò Driesch deriva al illazione che al materiale ipotetico necessario all' abbozzo del mesenchima, debba assegnarsi importanza in quanto presente e

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

non in quanto più o meno abbondante: concepisce perciò un tale materiale come« protofermento», il quale è attivato secondo il bisogno (regolato quest' ultimo dalla dimensione del germe).

* * *

4° Discussione e considerazioni.

Riteniamo, in accordo alla supposizione di Boveri ('01a), che anche in quelle uova di Echinoidi, nelle quali non esiste un esponente esterno evidente quale è quello dello *Strongylocentrotus*, di eterogeneità dell' uovo determinata dalla presenza di materiali morfogeneticamente diversi stratificati secondo l'asse — esista tuttavia una simile eterogeneità di costituzione. Perciò stimo lecito di integrare i resultati delle mie osservazioni con quelli desunti da altri su altri Echinoidi — allo scopo di gettar luce sul significato degli strani organismi dei quali mi sono occupato[1]).

Non credo che si possa mettere in rapporto la produzione della larva atipica, con una mancata «regolazione» del germe mutilato, intesa nel senso di un mancato ripristinamento della orientazione polare-bilaterale delle ipotetiche particelle elementari (vedi Driesch '96b, ecc.) costituenti il protoplasma del frammento. I seguenti argomenti mi sembrano convalidare il mio modo di vedere. In primo luogo si tratta, piuttosto che di un alterato ritmo di sviluppo (quale si può supporre per le gastrule abnormemente costituite; cfr. pagg. 70—71), di una tendenza della larva ad assumere una special forma assai ben definita. In secondo luogo la produzione della larva atipica, se fosse attribuibile ad una impossibilitata regolazione nel senso su rammentato, dovrebbe essere rarissima nei casi di frammentazione del germe operata immediatamente dopo la fecondazione: nel momento cioè nel quale Driesch ha dimostrato ('98), in base specialmente al tipo di segmentazione (*Ganzfurchung*), la grande regolabilità del materiale germinale verso l'intero. Invece abbiamo visto essere nell' esperienza di Morgan molto frequenti le blastule atipiche. In terzo luogo, se la formazione di queste ultime fosse espressione di una irriducibile disorientazione delle particelle costituenti l'ooplasma, allora il semplice fattore meccanico (scuotimento) anche senza mutilazione dell' uovo, oppure il dislocamento dei blastomeri, dovrebbero render possibile la produzione della larva atipica, fatto questo

---

[1]) Scarse ricerche mi hanno dimostrato che larve atipiche si originano anche nelle esperienze di riduzione del materiale germinale condotte su *Arbacia p.*

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

che, al contrario, non si verifica. Un ultimo argomento poi, è quello che riflette il periodo durante il quale si determinerebbe secondo Driesch l'irrigidimento dell' ooplasma, causa di difficoltata regolazione. Tale irrigidimento (più rapido ed energico nel polo animale che in quello vegetativo) dovrebbe infatti determinarsi nello sviluppo dell' uovo: durante la sua segmentazione. Driesch evidentemente ignorava che larve atipiche potessero originarsi anche da frammenti di uovo ottenuti coll' esperienza di Morgan e — quel che più importa — coll' esperienza di Boveri.

Siamo adunque portati a ritenere che realmente la limitazione alla equipotenza dell'uovo insegmentato e segmentante del germe di Echinoide, messa specialmente in luce dalla possibile insorgenza della blastula atipica per diminuzione del materiale iniziale, sia determinata dall'esistenza di una certa stratificazione di materiali morfogenetici svariati lungo l'asse dell'uovo. Ciò ammesso, cerchiamo adesso di precisare meglio quali possano essere i fattori che inducono il germe diminuito allo sviluppo secondo la linea atipica.

Ricerche anteriori alle mie hanno concordemente dimostrato (Driesch, Zoja) che la possibilità di dare la larva atipica è attributo dell' emisfero animale dell' uovo di Echinoide; adunque è indiscutibile che il materiale che è necessario sia sottratto all' uovo perchè il frammento di esso si sviluppi atipicamente, si deve trovare nell' emisfero vegetativo. Di quale porzione di questo emisfero deve esser privato l'uovo? Non certo del solo materiale vegetativo destinato alla produzione dell' intestino; abbiamo invero illustrato altrove: 1°, che la larva atipica di *Strongylocentrotus* può essere, all' inizio della sua vita planctonica, fornita del caratteristico pigmento — esponente, secondo noi, della presenza di materiale situato a livello della zona pigmentata dell' emisfero vegetativo[1]); 2°, che si può ottenere la larva atipica dai $^3/_4$ di uovo insegmentato — con che si dimostra compatibile la presenza di almeno una

[1]) Se anche il pigmento dello *Strongylocentrotus* fosse spostabile come lo è quello, diffuso a tutto l'uovo, di *Arbacia* (Morgan e Spooner '09; vedi, per maggiori dettagli, pag. 94), non fosse cioè indissolubilmente legato ad un determinato materiale morfogenetico (supposizione questa che del resto ritengo inverosimile, soprattutto in base al fatto che l'intestino di tutte le gastrule parziali è pigmentato); per cui dovesse ritenersi che il pigmento, dalla zona annulare nella quale è normalmente localizzato, potesse portarsi, in seguito allo scuotimento, anche là dove non esiste materiale vegetativo — sussisterebbe pur sempre la 2a asserzione, che ci sembra incontrastabile. Per quel che riguarda le conclusioni di Garbowski, che vorrebbero togliere all' anello pigmentato dell' uovo di *Strongylocentrotus* ('05) il valore di indice della eterogeneità morfogenetica dell' uovo stesso, rimando alla Nota 1) a pag. 67.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

certa quantità del suddetto materiale, colla evenienza dello sviluppo atipico. Per ciò conviene di ammettere che il materiale, la di cui sottrazione è indispensabile perchè possa[1]) prodursi la larva atipica, sia situato al polo vegetativo dell'uovo; corrisponda cioè al materiale potenzialmente o attualmente micromerico. Il quantitativo che l'esperienza ci ha additato esser necessario, cioè $^1/_4$ dell' intero uovo, è superiore un poco alle dimensioni del materiale micromerico: si pensi però che, nella frammentazione, è praticamente impossibile che la mutilazione interessi rigorosamente il solo territorio potenzialmente micromerico.

Sorgono adesso due questioni: Quale è il significato di quelle gastrule abnormi le quali — almeno per un certo periodo della loro vita — sono prive di mesenchima? Com' è conciliabile con quanto abbiamo su esposto, il fatto che talune blastule atipiche contengono degli elementi a tipo mesenchimale?[2])

Può darsi che le gastrule che sono abnormi per mancanza di mesenchima primario, derivino da germi privati del materiale micromerico, ma nei quali manchi o sia incapace di imprimere alla larva una fisionomia atipica, quel materiale morfogenetico (dell' emisfero animale) che, come vedremo, crediamo concorra alla produzione della larva atipica. Ma questa nulla è più di una mera supposizione; nessun fatto positivo, sul quale basarci a questo proposito, abbiamo potuto attingere dalle nostre ricerche.

Relativamente alla seconda questione che mi sono or ora posto, rammento che Driesch ha dimostrato come nei germi sottoposti a riduzione delle dimensioni loro, mesenchima possa originarsi da territorii dell' uovo che nello sviluppo normale non sembrano formarne ('00, '02, '05). Questa stessa dimostrazione, che vale per le larve parziali normali, può essere invocata anche per le larve atipiche, le quali — ripetiamo — debbono considerarsi verosimilmente come provenienti da porzioni amicromeriche del germe. Insolubile ci sembra — allo stato attuale delle conoscenze nostre — la questione circa il significato da attribuire al «*quid*» a potenza mesenchimogena esistente anche fuori della zona micromerica, tale che in determinate condizioni di esperimento possa attuare la sua potenza: se esso sia un semplice fattore regolatore nel senso di Driesch, o se esso «determini» la differenziazione pei suoi

---

[1]) Possa, non debba: abbiamo visto ad esempio come Driesch e Zoja abbiano ottenuto i *Pluteus* anche dal cumulo amicromerico dei blastomeri nello stadio a 16.

[2]) Driesch non accenna mai, ch'io sappia, alla possibilità che cellule a tipo mesenchimale emigrino nella cavità delle blastule atipiche (*Echinus* e, forse, *Sphaerechinus*).

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

caratteri di massima «vegetatività», relativamente alla struttura polare dell' uovo (Boveri); oppure se si tratti di un fattore formativo concepibile come «protofermento», al quale sia da assegnare un semplice ufficio di presenza, catalitico quasi (Driesch); o non piuttosti si tratti di un materiale mesenchimogeno, simile sostanzialmente a quello (micromerico) che ha di norma il valore prospettico di mesenchima.

In ogni caso è chiaro tuttavia come codesto fattore — nei casi nei quali è assente il materiale del polo vegetativo (ad esempio negli $^1/_8$ o $^1/_{16}$ animali, ecc., isolati) — con una certa difficoltà dia l'impulso ad una normale gastrulazione con una tipica formazione di mesenchima primario. A tale difficolta è evidentemente legato il prodursi della blastula atipica — sia essa fornita o meno di elementi a tipo mesenchimale.

Se, come abbiamo ammesso, è condizione necessaria alla produzione della larva atipica la ablazione del polo vegetativo, come è possibile conciliare ciò coll' insorgenza di larve atipiche per sviluppo dei $^1/_2$ e dei $^1/_4$ isolati?

E noto come il 1° e il 2° solco (meridiani) siano di norma negli Echinoidi per loro natura tali da dividere l'uovo in parti perfettamente eguali. La prova fornita da Boveri ('02, '05) che il primo solco diviene in condizioni normali d'esperienza il piano mediano delle larva e il fatto che ognuno dei quattro blastomeri $^1/_4$ isolati da uno stesso uovo può normalmente dare, secondo Boveri ('07), il *Pluteus* — parlano ambedue questi fatti per una assoluta identità fra loro in valore e in potenza prospettica (in condizioni normali) dei primi 2 blastomeri da una parte e dei primi 4 dall' altra.

Quali possono essere le cause per le quali a taluno dei primi 2 o dei primi 4 blastomeri possa in rari casi far difetto la totipotenza abituale? Come — in altre parole — si rende possibile che a taluno dei $^1/_2$ o dei $^1/_4$ blastomeri isolati manchi o faccia fortemente difetto il substrato plasmatico del polo vegetativo?

Può darsi che cio stia in rapporto con un casuale spostamento del materiale polare vegetativo, determinato dallo scuotimento che è necessario di compiere sulle uova per togliere loro la membrana di fecondazione. Codesto spostamento renderebbe capace la 1a o la 2a divisione di segmentazione, di distribuire il materiale suddetto in modo ineguale fra i blastomeri $^1/_2$ o $^1/_4$ di uno stesso uovo; per modo che qualcuno di questi ultimi potrebbe restar privo del materiale potenzialmente micromerico.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Non ci nascondiamo però che questa interpretazione mal si accorda con quanto Morgan e Spooner ('09), a completamento delle osservazioni di Lyon ('07), hanno riconosciuto: che cioè nelle uova di *Arbacia* sottoposte a centrifugazione, nelle quali si determina meccanicamente una stratificazione del pigmento ch'è di solito diffuso a tutto l'uovo, la direzione dei primi solchi risulta, è vero, influenzata da codesta artificiale stratificazione, ma tuttavia la località ove si segmentano i micromeri è riferibile all' asse originario dell' uovo e si conserva approssimativamente antimicropilare. Gli Autori ritengono però che non si debba pensare ad un materiale micromerico preformato, invisibile e non spostabile colla centrifugazione; ma suppongono invece che durante la segmentazione (4° solco) si possa determinare, nell'uovo centrifugato, una regione micromerica nuova, correlativamente ad una flessibilità polare preesistente nell'uovo.

Si potrebbe forse invece supporre, in accordo alle idee di Morgan e Spooner, che nel caso nostro lo scuotimento dell' uovo, invece di riuscire a spostare il substrato potenzialmente micromerico, possa produrre anche nello *Strongylocentrotus* in rari casi un disassettamento sostanziale dell'uovo tale, da determinare un primo solco che non è perfettamente assile. Un solco siffatto potrebbe operare una ripartizione non eguale, ai due primi blastomeri, del substrato dell' abbozzo micromerico, fornendone uno e privandone l'altro di essi.

Driesch aveva cercato ('92) di interpretare la possibile genesi della blastula atipica ottenuta eccezionalmente dai blastomeri $^1/_4$ isolati, supponendo la esistenza di un anacronismo dei solchi, cioè di un precoce presentarsi del solco equatoriale; sulla medesima supposizione è tornato D. più recentemente ('05).

Ritengo che l'assenza del materiale del polo vegetativo non sia però da sola sufficente a render possibile al germe lo sviluppo verso la larva atipica. Incontriamo infatti in quest' ultima i segni caratteristici di una differenziazione citologica che trae evidentemente la sua origine dalla presenza di abbondante materiale del polo animale, il quale tende a conferire alla larva l'impronta atipica. L'ispessimento notevolissimo e la produzione di lunghe ciglia da parte di una zona dell' epitelio blastulare, parla secondo noi per la natura squisitamente animale di codesta zona ispessita della parete blastulare atipica.

Correlativamente a ciò, rileviamo il fatto inverso, dimostrato da Driesch ('05): che cioè le larve di Echinoide provenienti da germi puramente vegetativi (ad esempio dai $^2/_8$ vegetativi) mancano al loro polo

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

anteriore (opposto all' invaginazione gastrulare) del ciuffo di lunghe ciglia — che è invece presente, come è noto, così nelle larve totali, come nelle gastrule parziali fornite di materiale dell' emisfero animale.

L'assenza di gastrulazione e la insorgenza possibile della nostra larva atipica, stanno adunque in rapporto e con una inadatta mesenchimazione (assenza o disordine) e col precoce ed esagerato ispessirsi e differenziarsi dell' emisfero anteriore della blastula destinata a divenire atipica.

* * *

La possibilità di ottenere indifferentemente — così da uova insegmentate frammentate prima o dopo la fecondazione, come da uova dissociate nei loro blastomeri fino ad un certo stadio della segmentazione — la larva atipica, offre il destro ad un ultimo ordine di considerazioni. Ammessa la necessità di concepire la formazione della blastula atipica come il resultato della concomitanza di alcuni fattori che hanno la loro base in una costituzione materiale dell' uovo, eterogenea secondo l'asse; risulta necessario altresì di arguire che esista prima della segmentazione una distribuzione tale dei varii materiali morfogenetici entro l'uovo, che un frammento di esso sia suscettibile di una evoluzione — riguardo alla produzione della larva atipica — simile a quella eventualmente possibile per parte di determinati blastomeri isolati.

La predistribuzione di materiali morfogeneticamente diversi nei varii distretti dell' uovo di Echinoide è — come abbiamo detto altrove — già stata ammessa da altri in base a ricerche puramente morfologiche oppure di analisi dei limiti della potenzialità normale di frammenti e di blastomeri isolati. Colle mie ricerche mi sembra di esser riuscito a fornire ancora una prova della eterogeneità sostanziale dell' uovo di *Strongylocentrotus* vergine e fecondato: eterogeneità a funzione morfogenetica, che si conserva durante il processo di segmentazione.

Sassari, Gennaio 1914.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Elenco bibliografico.

Boveri, Th., (1895), Über die Befruchtungs- und Entwicklungsfähigkeit kernloser Seeigel-Eier und die Möglichkeit ihrer Bastardierung, in: Arch. Entw.-Mech. 2. Bd.

— (1901a), Über die Polarität des Seeigel-Eies, in: Verh. Phys. Med. Ges. Würzburg (2). 34. Bd.

— (1901b), Die Polarität von Ovocyte, Ei und Larve des *Strongylocentrotus lividus*, in: Z. Jahrb., Abt. Morph. 14. Bd.

— (1902), Über mehrpolige Mitoten als Mittel zur Analyse des Zellkerns, in: Verh. Phys. Med. Ges. Würzburg (2). 35. Bd.

— (1903), Über den Einfluß der Samenzelle auf die Larvencharaktere der Echiniden, in: Arch. Entw.-Mech. 16. Bd.

— (1905), Über die Abhängigkeit der Kerngröße und Zellenzahl der Seeigellarven von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen, in: Jen. Zeitschr. 39. Bd.

— (1907), Die Entwicklung dispermer Seeigel-Eier, Ein Beitrag zur Befruchtungslehre und zur Theorie des Kerns, ibid. 43. Bd.

Chun, C., (1892), Die Dissogonie. Festschrift Leuckart, Leipzig.

Delage, Y., (1899), Études sur la mérogonie. — Sur l'interpretation de la fécondation mérogonique et sur une théorie nouvelle de la fécondation normale, in: Arch. Zool. Exper. (3). Tome 7.

Driesch, H., (1891), Entwicklungsmechanische Studien. 1. Der Wert der beiden ersten Furchungszellen in der Echinodermenentwicklung, in: Zeit. wiss. Z. 53. Bd.

— (1892a), Idem. 3. Die Verminderung des Furchungsmaterials und ihre Folgen, ibid. 55. Bd.

— (1892b), Idem. 5. Von der Furchung doppeltbefruchteter Eier, ibid.

— (1896a), Die taktische Reizbarkeit der Mesenchymzellen von Echinus microtuberculatus, in: Arch. Entw.-Mech. 4. Bd.

— (1896b), Betrachtungen über die Organisation des Eies und ihre Genese, ibid.

— (1898), Über rein-mütterliche Charaktere an Bastardlarven von Echiniden, ibid. 7. Bd.

— (1900), Die isolierten Blastomeren des Echinidenkeimes, ibid. 10. Bd.

— (1902), Neue Ergänzungen zur Entwicklungsphysiologie des Echinidenkeimes, ibid. 14. Bd.

— (1903), Drei Aphorismen zur Entwicklung jüngster Stadien, ibid. 17. Bd.

— (1905), Über das Mesenchym von unharmonisch zusammengesetzten Keimen, ibid. 19. Bd.

Garbowski, Th., (1905), Über die Polarität des Seeigel-Eies, in: Bull. Acad. Sc. d. Cracovie.

Herbst, C., (1892), Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der veränderten chemischen Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Entwicklung der Tiere. 1. Teil, Versuch an Seeigeleiern, in: Zeit. Wiss. Z. 55. Bd.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Herbst, C. (1900), Über das Auseinandergehen von Furchungs- und Gewebezellen in kalkfreiem Medium, in: Arch. Entw.-Mech. 9. Bd.

— (1904), Über die zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorganischen Stoffe, ihre Rolle und ihre Vertretbarkeit. 3. Teil, in: Arch. Entw.-Mech. 17. Bd.

Hertwig, O. u. R., (1887), Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter d. Einfluß äußerer Agentien, in: Jena. Zeit. Nat. 13. Bd.

Jenkinson, W. J., (1911), On the origin of the polar and bilateral structure of the egg of the Sea-urchin, in: Arch. Entw.-Mech. 32. Bd.

Lyon, E. P., (1909), Results of centrifuging eggs, ibid. 28. Bd.

Meves, Fr., (1912), Verfolgung des sogenannten Mittelstückes des Echinidenspermiums im befruchteten Ei bis zum Ende der ersten Furchungsteilung, in: Arch. Mikr. Anat. 80. Bd., 2. Abt.

Morgan, T. H., (1894), Experimental studies on Echinoderm Eggs, in: Anat. Anz. 9. Bd.

— (1895a), Studies of the »partial« larvæ of Sphærechinus, in: Arch. Entw.-Mech. 2. Bd.

— (1895b), The fertilization of non-nucleated fragments of Echinoderms eggs, ibid.

Morgan, T. H. u. G. B. Spooner, (1909), The polarity of the centrifuged egg, ibid 28. Bd.

Selenka, E., (1883), Die Keimblätter der Echinodermen. Wiesbaden.

Wilson, E. B., (1903), Experiments on cleavage and localization in the Nemertine-egg, in: Arch. Entw.-Mech. 16. Bd.

Wilson, E. B. u. A. P. Mathews, (1895), Maturation, fertilization and polarity in the Echinoderm egg, in: Journ. Morphol. Vol. 10.

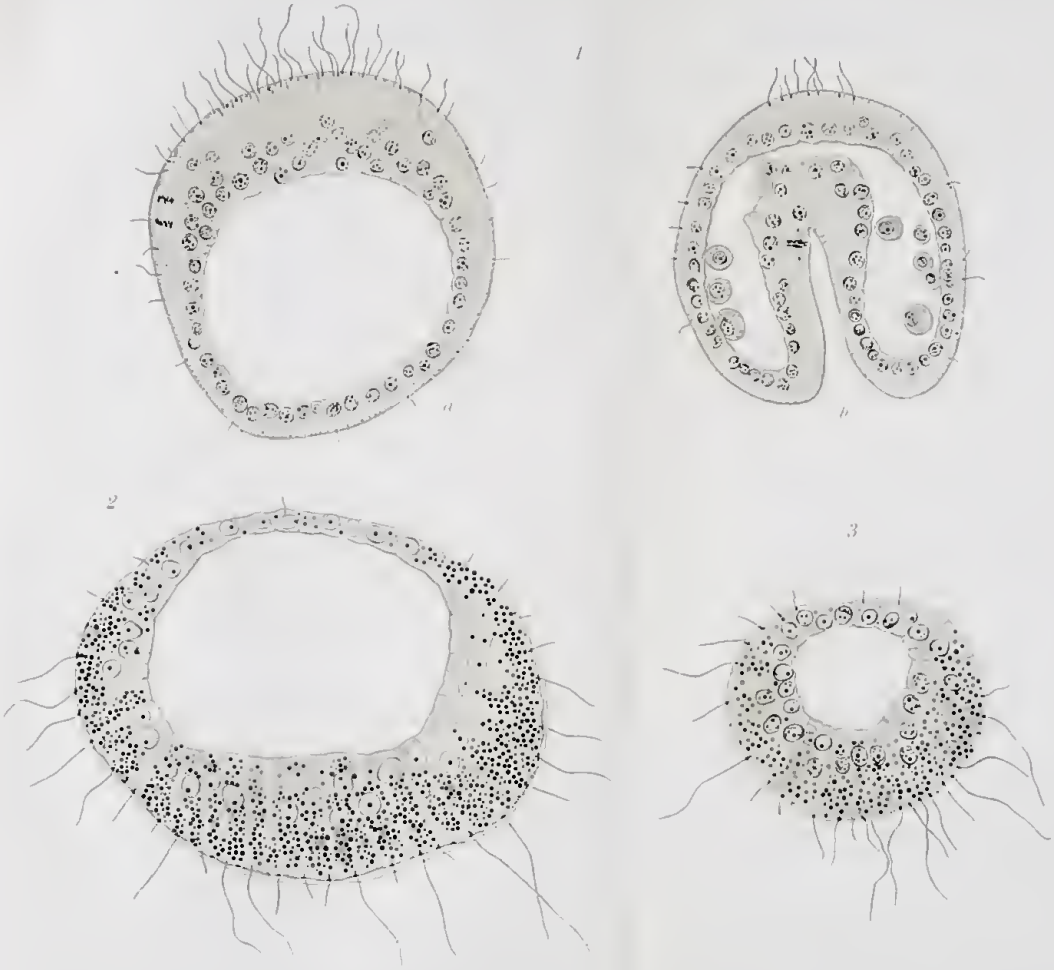
Zoja, R., (1895), Sullo sviluppo dei blastomeri isolati dalle uova di alcune meduse (e di altri organismi), in: Arch. Entw.-Mech. 2. Bd.

Spiegazione delle figure della Tav. 2.

Fig. 1. Larve parziali galleggianti da $^1/_2$ blastomero (esperienza di Driesch-Herbst), fissate in liquido di Flemming circa 2 giorni dopo la fecondazione; sezioni colorate coll' ematossilina ferrica di Heidenhain: *a*) larva atipica $^1/_2$, *b*) gastrula tipica $^1/_2$; appartenenti ambedue alla medesina cultura. Ingr. 900× circa.

Fig. 2 e 3. Larve atipiche di differente valore germinale sviluppate in una esperienza di Morgan, fissate dal fondo in liquido di Benda (procedimento completo) circa 3 giorni dopo la fecondazione. Sezioni colorate coll' ematossilina ferrica Heidenhain. Ingr. 1400× circa.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Mittheilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel

Jahr/Year: 1914-1921

Band/Volume: 22

Autor(en)/Author(s): Terni Tullio

Artikel/Article: Ricerche sulle larve atipiche (blastule permanenti) degli Echinoidi. (Analisi della limitata equipotenzialità dell'uovo di Echinoide) 59-98