Dai « Rendiconti dell'Accademia Nazionale dei Lincei »
(Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali)
serie VIII, vol. XX, fasc. 4 – Aprile 1956

**Embriologia.** — *Osservazioni sull'accrescimento delle gemme e degli zooidi di «Botryllus schlosseri» (Pallas) [Ascidiacea], in condizioni normali e sperimentali* (*). Nota di ARMANDO SABBADIN, presentata (**) dal Corrisp. U. D'ANCONA.

L'accrescimento delle gemme e degli zooidi, nelle colonie dei Botrilli, è stato studiato da Berrill (1). Alcune osservazioni sono state rese note anche da me in altro lavoro (2). Berrill ha messo in evidenza un progressivo aumento delle dimensioni delle gemme e degli zooidi col succedersi delle generazioni.

Gli abbozzi delle gemme compaiono sul genitore, ai 2 lati, in forma di un ispessimento a disco di un tratto limitato della parete atriale, il quale successivamente si estroflette e si incurva a vescicola e quindi inizia l'organogenesi. In un certo numero di casi il disco, prima di completare la chiusura, può sdoppiarsi e si hanno così 2 gemme sullo stesso lato, anteriore e posteriore. Secondo le osservazioni di Berrill, nelle successive generazioni aumentano le dimensioni dell'abbozzo iniziale delle gemme, che perciò porta a vescicole progressivamente maggiori. I processi organogenetici iniziano così da unità di diversa grandezza, e le dimensioni delle gemme ai vari stadi di sviluppo e quelle dei blastozooidi che ne derivano aumentano di generazione in generazione. Il blastozooide funzionalmente maturo continua ad accrescersi e raggiunge le dimensioni massime poco prima di entrare in regressione.

L'accrescimento delle gemme (e dei blastozooidi da esse derivati) è naturalmente condizionato, oltre che dalle dimensioni iniziali, dalla quantità di nutrimento che ad esse affluisce dai genitori e dalla durata dei diversi stadi di sviluppo. Talora negli allevamenti eseguiti in laboratorio si manifestano fenomeni di sofferenza nei blastozooidi adulti delle colonie, i quali anticipano la loro regressione, che inizia così prima che essi abbiano terminato il loro accrescimento. Le gemme della prima delle 2 generazioni seguenti, coesistenti nella colonia accanto ai blastozooidi adulti, in questi casi anticipano il raggiungimento della maturità funzionale (Sabbadin, loc. cit.) e si hanno perciò blastozooidi adulti di dimensioni iniziali minori.

Spesso nelle colonie un certo numero di gemme, specialmente le posteriori, arrestano il loro sviluppo, e con esso l'accrescimento, ad un determinato stadio, e successivamente regrediscono. È da ritenere che tale fatto dipenda da una sorta di competizione nutritiva che si stabilisce fra le gemme

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia e Anatomia Comparata della Università di Padova, con un contributo del C.N.R. e della New York Zoological Society.

(**) Nella seduta del 14 aprile 1956.

(1) N. J. BERRILL, *Size and morphogenesis in the bud of «Botryllus»*, « Biol. Bull. », *80*, 185 (1941).

(2) A. SABBADIN, *Osservazioni sullo sviluppo, l'accrescimento e la riproduzione di «Botryllus schlosseri» (Pallas) in condizioni di laboratorio*, « Boll. Zool. » (in corso di stampa).

portate dallo stesso genitore. Questi rapporti di competizione sono stati da me dimostrati in altra Nota [3]: asportando una delle gemme anteriori del blastozooide, a vari stadi di sviluppo e per più generazioni, si riesce ad impedire la regressione delle altre gemme presenti. Se l'asportazione viene eseguita prima che l'abbozzo delle gemme superstiti si sia richiuso a vescicola, esso genera un'altra gemma, e talora 2 altre gemme, in un numero molto maggiore di casi che non nei controlli.

Già ad una prima osservazione in questi esperimenti apparivano differenze notevoli nell'accrescimento delle gemme e dei blastozooidi fra la serie di controllo e le serie sperimentali. Esse vengono descritte in questa Nota.

Le osservazioni si riferiscono ad una serie di controllo di 14 colonie e a 3 lotti sperimentali rispettivamente di 12, 10 e 11 colonie, seguìti a partire dall'oozoide fino ai blastozooidi adulti della 7ª generazione. Nel 1° lotto sperimentale veniva eseguita, ad ogni successiva generazione blastogenetica, a partire dalla 2ª, l'asportazione di una delle gemme anteriori, alternativamente la destra e la sinistra, allo stadio 2 (gemma in forma di semisfera). Nel 2° esperimento l'asportazione veniva eseguita 24 h. dopo che era stato raggiunto lo stadio 2, e precisamente allo stadio 3 (vescicola chiusa) o in prossimità di esso. Nel 3° lotto sperimentale le gemme venivano estirpate 72 h. dopo il raggiungimento dello stadio 2, dopo che avevano superato lo stadio 4 (abbozzo delle camere branchiale e peribranchiali e del tubo digerente). In tutti e 3 gli esperimenti le gemme posteriori, se presenti, venivano asportate quando avevano raggiunto lo stadio 7 (comparsa sulla parete atriale degli abbozzi delle gemme della generazione seguente). Così ad ogni generazione nelle colonie in esperimento maturava l'unica gemma anteriore superstite [4].

Gli allevamenti sono stati eseguiti in stanza termostatica a 19°. Per questa temperatura la durata del ciclo vitale delle singole generazioni nella serie di controllo è dell'ordine di 17–18 giorni.

In tutti i lotti sono state prese le misure del diametro massimo delle gemme e dei blastozooidi delle varie generazioni, a partire dallo stadio 3, seriate di 24 in 24 h. Verranno qui considerate le sole misure riferentisi allo stadio 7 iniziale (prima dell'inizio dell'incurvamento dell'abbozzo delle gemme figlie), 8 iniziale (inizio delle pulsazioni del cuore) e terminale e 2 misure dello stadio 9 (blastozooide funzionalmente maturo), la prima presa quando le gemme figlie avevano raggiunto lo stadio 8 iniziale e la seconda alla fine dell'accrescimento o comunque 24 h. prima dell'inizio della regressione.

Nelle colonie la durata degli stadi 8 e 9, come ho già ricordato, non è costante, perché si può verificare un anticipo nella regressione dei blastozooidi allo stadio 9, cui corrisponde nelle gemme figlie un passaggio anticipato dallo stadio 8 allo stadio 9. Per contro, nelle serie sperimentali è stata spesso

(3) A. SABBADIN, *Studio sperimentale della gemmazione in «Botryllus schlosseri» (Pallas)*, «Rend. Accad. Naz. Lincei», *20* (1956).

(4) Per maggiori indicazioni sugli esperimenti e sulla classificazione degli stadi di sviluppo, cfr. la Nota già citata, nei «Rendiconti della Accademia Nazionale dei Lincei».

notata una più lunga persistenza dei blastozooidi in condizioni di funzionalità, cui si accompagnava una maggiore durata dello stadio 8 nelle gemme della generazione immediatamente successiva. Questi 2 fenomeni opposti hanno avuto profonde ripercussioni sull'accrescimento massimo raggiunto dalle gemme e dai blastozooidi a tali stadi.

Tutte le misure sono state eseguite allo stereomicroscopio Zeiss con oculare micrometrico Reichert 6× combinato con i 2 obiettivi maggiori e l'obiettivo addizionale dello stereomicroscopio. Ai 2 differenti ingrandimenti

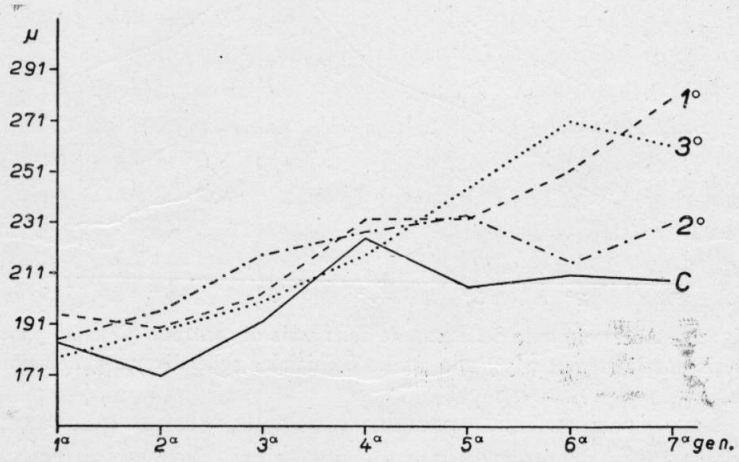


Fig. 1. – Accrescimento delle gemme della serie di controllo (C) e dei 3 lotti sperimentali (1°, 2° e 3°) allo stadio 7 iniziale, nelle diverse generazioni.

così realizzati, ciascuna divisione dell'oculare micrometrico corrispondeva rispettivamente a μ 17,5 e 27,5.

L'esame dell'accrescimento in tutte le serie mostra la tendenza generale all'aumento delle dimensioni sia delle gemme che dei blastozooidi ai vari stadi di sviluppo, con il passare delle generazioni, già segnalata da Berrill. Ciò è chiaramente visibile nelle figg. 1–5, specialmente per lo stadio 8 terminale (fig. 3) e lo stadio 9 (figg. 4–5). Il fenomeno mi è sembrato molto meno evidente per lo stadio 3. Solo un'ulteriore elaborazione statistica delle misure permetterà di apprezzare il grado di significatività delle differenze riscontrate a tale stadio.

Nelle prime generazioni in linea generale è stata notata una più breve durata degli stadi 8 e 9, e il minore accrescimento di questi stadi in tali generazioni è certamente in parte dovuto a questo fatto, poiché le gemme allo stadio 8 continuano ad accrescersi ininterrottamente fino al passaggio alla maturità funzionale e i blastozooidi allo stadio 9 nelle prime generazioni raramente giungevano ad un arresto dell'accrescimento e quindi al massimo accrescimento.

A stadi corrispondenti di sviluppo, nelle serie sperimentali le dimensioni delle gemme e dei blastozooidi sono maggiori che nella serie di controllo.

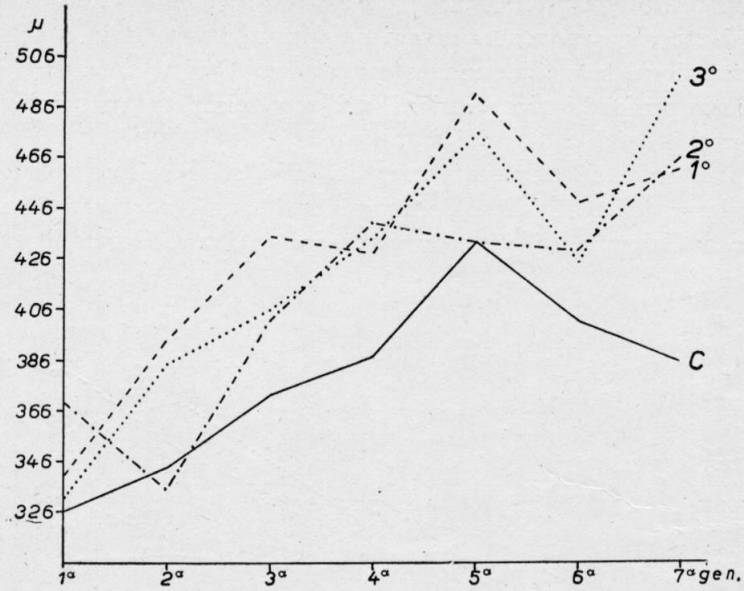


Fig. 2. – Accrescimento delle gemme della serie di controllo (C) e dei 3 lotti sperimentali (1°, 2° e 3°) allo stadio 8 iniziale, nelle diverse generazioni.

Nelle serie sperimentali, specialmente nelle ultime generazioni, nelle quali era costante la presenza di gemme posteriori, che nei controlli in genere non riuscivano a superare i primi stadi di sviluppo, l'unico blastozooide maturato presentava spesso un carico di gemme allo stadio 7 maggiore che nei controlli. A tale stadio le gemme posteriori giungevano frequentemente in

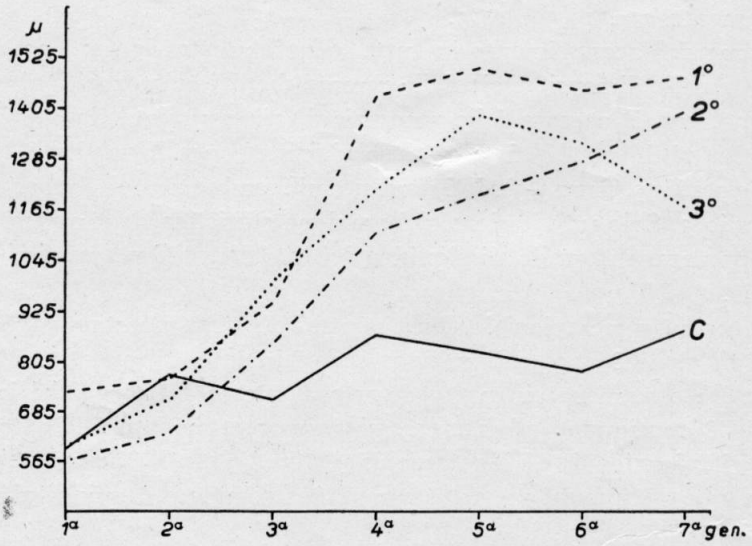


Fig. 3. – Massimo accrescimento delle gemme della serie di controllo (C) e dei 3 lotti sperimentali (1°, 2° e 3°) allo stadio 8, nelle diverse generazioni.

ritardo rispetto alla gemma anteriore superstite e spesso le gemme posteriori di sinistra vi arrivavano solo dopo che erano state asportate le posteriori di destra. Come si osserva nella fig. 1, nelle serie sperimentali vi è una graduale tendenza delle gemme allo stadio 7 a superare le dimensioni delle gemme di pari stadio della serie di controllo, che si rende evidente a partire dalla 2ª generazione, cioè dalla generazione sulla quale è stata iniziata l'asportazione delle gemme.

Evidenti differenze di accrescimento fra gemme delle serie sperimentali e quelle della serie di controllo si osservano pure allo stadio 8 (figg. 2–3),

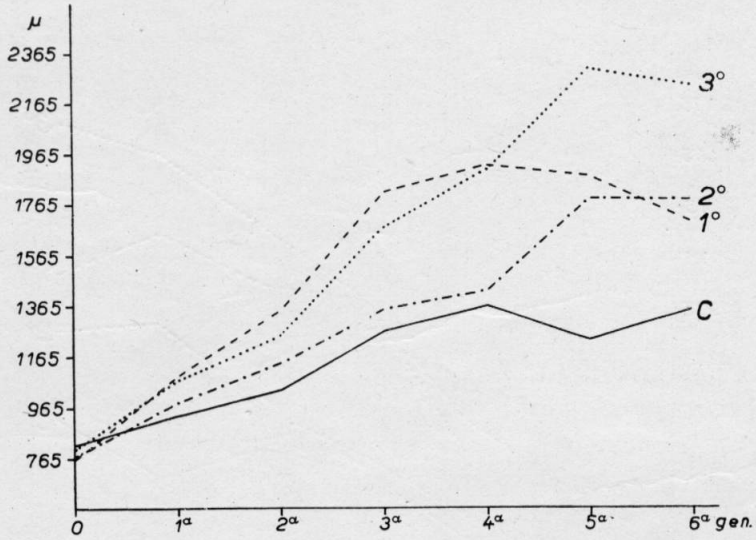


Fig. 4. – Accrescimento degli oozooidi (generazione 0) e dei blastozooidi delle diverse generazioni, al momento in cui le gemme della generazione successiva hanno raggiunto lo stadio 8 iniziale, nella serie di controllo (C) e nei 3 lotti sperimentali (1°, 2° e 3°).

quando, estirpate le gemme posteriori, il blastozooide adulto veniva a portare un'unica gemma a tale stadio.

Sia nei controlli che nelle serie sperimentali le gemme di sinistra crescevano quasi costantemente meno di quelle di destra e le gemme posteriori meno di quelle anteriori. Il fenomeno diveniva particolarmente evidente allo stadio 8, nel quale si verifica il massimo accrescimento della gemma, in seguito al differenziamento definitivo della branchia. Esso ha influenzato l'andamento delle curve delle figg. 2–3. Nella serie di controllo col passare delle generazioni un numero maggiore di gemme di sinistra raggiungevano lo stadio 8, e in rapporto a ciò si nota che l'incremento delle curve relative alla serie di controllo, costruite sulle misure delle gemme allo stadio 8, si arresta nelle ultime generazioni. Il fenomeno è pure evidente per le stesse gemme allo stadio 7, nella fig. 1. Analogamente nelle curve della fig. 2, relative alle serie sperimentali, si nota spesso una caduta in corrispondenza delle generazioni

2ª, 4ª, 6ª, nelle quali l'unica gemma superstite era appunto la sinistra. Per questa stessa ragione, verosimilmente, nella fig. 3 le curve relative alle serie sperimentali nella 2ª generazione si mantengono ancora al disotto di quella relativa alla serie di controllo.

Le differenze di accrescimento fra controlli e lotti sperimentali diventano veramente imponenti allo stadio 8 terminale (fig. 3) e allo stadio 9 (figg. 4–5). Per le gemme che stanno per giungere alla maturità funzionale (stadio 8 terminale), una sorgente cospicua di nutrimento è rappresentata dagli zooidi genitori che a questo stadio regrediscono e vengono appunto riassorbiti dalle gemme stesse. Poiché nelle serie sperimentali ad ogni generazione matu-

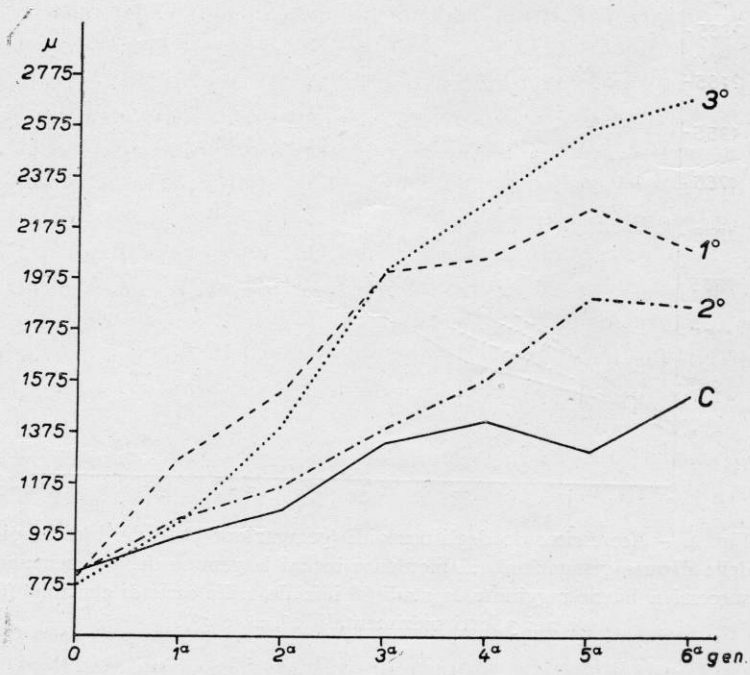


Fig. 5. – Massimo accrescimento degli oozooidi (generazione o) e dei blastozooidi delle diverse generazioni nella serie di controllo (C) e nei 3 lotti sperimentali (1°, 2° e 3°).

rava un'unica gemma, essa veniva ad usufruire da sola di tutti i prodotti di degradazione del genitore, e si può ritenere che il suo maggiore accrescimento (fig. 3) ne sia dipeso in larga misura. Esso si mantiene e si accentua nei blastozooidi giunti da un paio di giorni alla maturità funzionale (fig. 4).

Tuttavia una notevole influenza sull'accrescimento delle gemme allo stadio 8 ha anche avuto la durata spesso maggiore di tale stadio nelle serie sperimentali. Mentre nella serie di controllo le misure che dànno il massimo accrescimento delle gemme allo stadio 8 sono spesso quelle prese 48 h. dopo raggiunto lo stadio 8 iniziale, poiché alla successiva misurazione le gemme

erano già passate allo stadio 9, nelle serie sperimentali le stesse misure corrispondono spesso a quelle prese 72 h. e anche 4 ed eccezionalmente 5 e 6 giorni dopo lo stadio 8 iniziale. Per tutto questo periodo le gemme avevano infatti continuato ad accrescersi, permanendo allo stadio 8.

La più lunga durata dello stadio 8 delle gemme era condizionata da una più lunga persistenza dei genitori allo stato funzionale, prima dell'inizio della regressione. Nella serie di controllo le misure che dànno il massimo accrescimento dei blastozooidi, prima dell'inizio della regressione o all'arresto dell'accrescimento stesso, sono quelle prese 48 h. dopo che le gemme della generazione immediatamente successiva avevano raggiunto lo stadio 8 iniziale, talora quelle prese dopo 24 h. e solo eccezionalmente dopo 72 h. Nelle serie sperimentali invece è stata spesso notata la persistenza dei blastozooidi allo stato funzionale per 3, 4 ed eccezionalmente 5 giorni dopo che le gemme figlie erano giunte allo stadio 8 iniziale. Spesso essi avevano continuato ad accrescersi per un periodo notevolmente maggiore che nei controlli, giungendo a dimensioni molto maggiori (fig. 5), che non sono giustificate solo dalle dimensioni maggiori raggiunte, al termine dello sviluppo, dalle gemme da cui essi avevano preso origine (fig. 3).

Questi fatti verrebbero a confermare l'ipotesi, già avanzata da altri Autori, che a determinare la regressione, e possiamo aggiungere anche l'arresto dell'accrescimento, nei blastozooidi adulti possa concorrere l'impossibilità del genitore di far fronte alle esigenze nutritive delle sue gemme nello stadio finale del loro sviluppo, che corrisponde anche al periodo del loro più rapido e maggiore accrescimento.

In tutti gli stadi considerati, non si notano sensibili differenze di accrescimento fra le 3 serie sperimentali. In tutte e 3 infatti si è sempre ripetuto lo stesso fatto della maturazione di un'unica gemma per generazione, il più importante ai fini dell'accrescimento.

Le osservazioni sull'accrescimento qui riferite e le osservazioni, già rese note, sull'intensità della gemmazione nelle stesse serie di colonie concordano nel dimostrare i rapporti di competizione che nelle colonie dei Botrilli si stabiliscono fra le gemme e fra le gemme e i blastozooidi adulti. In condizioni normali di allevamento i blastozooidi non riescono in genere a realizzare tutte le loro potenzialità blastogenetiche, per cui si formano abitualmente gemme posteriori in numero scarso e queste spesso non riescono a completare lo sviluppo, come succede talora anche alle gemme di sinistra. Nelle condizioni sperimentali indicate, l'intensità della blastogenesi è molto maggiore, e maggiore è la vitalità delle gemme formate. I blastozooidi riescono pienamente a sopperire alle richieste nutritive di tutte le loro gemme, e queste raggiungono dimensioni maggiori che nei controlli. Alleggerendo il blastozoide del carico di gemme, mediante l'asportazione di una parte di queste, esso può continuare il suo accrescimento per un tempo maggiore, e può persistere più a lungo in condizioni di funzionalità.

Roma, 1956. – Dott. G. Bardi, Tipografo dell'Accademia Nazionale dei Lincei.