ARMANDO SABBADIN

Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Padova
e Stazione Idrobiologica di Chioggia, diretti dal Prof. U. D'Ancona.

Osservazioni sullo sviluppo, l'accrescimento e la riproduzione di *Botryllus schlosseri* (Pallas), in condizioni di laboratorio

(Con 1 Tavola f. testo)

Estratto dal «BOLLETTINO DI ZOOLOGIA» pubblicato dall'Unione Zoologica Italiana

Vol. XXII – fasc. II. (1955)

XXVII Convegno dell' Unione Zoologica Italiana

(Rieti - Terminillo, 3-7 settembre 1955)

Casa Editrice Libraria ROSENBERG & SELLIER

TORINO — Via Andrea Doria N. 14

ARMANDO SABBADIN

Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Padova
e Stazione Idrobiologica di Chioggia, diretti dal Prof. U. D'Ancona.

Osservazioni sullo sviluppo, l'accrescimento e la riproduzione di *Botryllus schlosseri* (Pallas), in condizioni di laboratorio. (*)

(Con 1 Tavola f. testo)

Lo sviluppo delle colonie dei Botrilli è noto già da lungo tempo. Ricordo fra gli Autori che più espressamente se ne sono occupati Metschnikoff (1869), Krohn (1869 a, b), Della Valle (1882), Oka (1892), Hjort (1893), Pizon (1893, 1900), Berrill (1941 a, b), Watterson (1945). Le leggi generali della blastogenesi sono state enunciate da Pizon (1893). Una più completa seriazione degli stadi di sviluppo dei blastozooidi, in base a caratteri facilmente apprezzabili anche in vivo, è stata compiuta da Berrill (1941 a), che ha anche studiato il ritmo d'accrescimento degli zooidi e i rapporti che intercorrono fra le dimensioni iniziali delle gemme e lo sviluppo in esse delle gonadi (1941 b).

Nel presente lavoro sono riferite alcune particolarità del ciclo vitale delle colonie allevate in laboratorio in condizioni diverse di temperatura. Viene inoltre dato resoconto delle osservazioni compiute sull'accrescimento, sull'intensità della gemmazione e sulla riproduzione sessuata.

Metodi di studio.

Larve liberate da colonie raccolte nella Laguna di Venezia furono fatte metamorfosare in una goccia d'acqua deposta su vetrini, ai quali esse si attaccavano. I vetrini venivano quindi capovolti su

(1) Il presente lavoro è stato compiuto con un contributo della « New York Zoological Society » (Fondo per la ricerca biologica in Europa), alla quale esprimo il più vivo ringraziamento.

un supporto al fondo di capsule Petri introdotte in acquarietti contenenti 9 litri di acqua aereata e cambiata periodicamente. L'acqua era mantenuta ad una salinità media del 33.5 $^0/_{00}$, corrispondente alla salinità media dell'ambiente naturale da cui provenivano le colonie genitrici.

Nell'autunno e nell'inverno del 1954-55 alcune colonie provenienti da questi oozooidi furono allevate per 20-30 generazioni in stanza termostatica a 18°. Al naturale nutrimento disponibile nell'acqua venivano aggiunte *Chlamydomonas e Nitzschia* (1), secondo il metodo in uso anche per altri piccoli Invertebrati. Nuovi allevamenti sono stati eseguiti nella primavera e nell'estate di quest'anno, ancora in stanza termostatica a 18°, e inoltre in stanza termostatica a 10°, e a 2 diverse temperature ambientali, la prima su un valore medio di 21°, con oscillazioni fra i 19.5° e i 23.5°, e la seconda su un valore medio di 26.5°, con oscillazioni fra 25.5° e 29°.

Spesso negli allevamenti si sono manifestati fenomeni di sofferenza. Ciò può essere dipeso dal nutrimento e in parte dal progressivo inquinamento dell'acqua, oltre che da differenze difficilmente valutabili fra gli stessi campioni d'acqua spediti in laboratorio, di cui veniva controllata la sola salinità (2). Le osservazioni compiute su colonie in condizioni di sofferenza presentano pure un notevole interesse, perchè permettono di valutare le capacità di regolazione delle colonie dei Botrilli, anche in confronto a quelle ben note di altre Ascidie.

I fenomeni di sofferenza hanno una forte ripercussione sulla durata del ciclo vitale dei singoli blastozooidi, e particolarmente sulla blastogenesi e la riproduzione sessuata.

Il ciclo vitale e l'accrescimento dei blastozoidi.

È noto che, in linea generale e in condizioni normali, nelle colonie dei Botrilli si ha, in ogni momento dopo che l'oozooide ha raggiunto il completo sviluppo, la coesistenza di 3 generazioni di

---

(1) I ceppi per le culture di Chlamydomonas e Nitzschia mi furono cortesemente forniti dal Prof. G. Bacci della Stazione Zoologica di Napoli.

(2) L'introduzione di un sistema più efficiente di aerazione ha consentito, nel frattempo, di migliorare molto sensibilmente le condizioni di allevamento, rendendole del tutto soddisfacenti.

zooidi, delle quali la prima adulta, e le altre 2 in stadi diversi di accrescimento

Berrill (1941a) ha seriato il ciclo vitale del blastozooide in 11 stadi, nel seguente modo:

1° stadio. Primo abbozzo del blastozooide in forma di un ispessimento a disco della parete atriale della gemma genitrice;

2° stadio. Massimo diametro del disco;

3° stadio. Incurvamento e chiusura del disco a guisa di vescicola, inclusa in una vescicola esterna epidermica;

4° stadio. Comparsa, nella vescicola interna, della estroflessione intestinale e delle pieghe atriali, che daranno origine alle cavità peribranchiali;

5° stadio. Vescicola interna differenziata in camere branchiale e peribranchiali e tubo digerente; origine del cuore;

6° stadio. Comparsa degli ispessimenti della parete atriale, abbozzi delle gemme della generazione successiva;

7° stadio. Apertura degli stigmi branchiali;

8° stadio. Pulsazioni del cuore;

9° stadio. Maturità funzionale del blastozooidi: stigmi branchiali funzionanti e apertura dei sifoni;

10° stadio. Maturazione delle gonadi;

11° stadio. Dissoluzione del blastozooide, cui si accompagna il raggiungimento dello stato adulto nei blastazooide della generazione seguente.

Nella pratica corrente di laboratorio, per osservazioni periodiche compiute al binoculare, senza parallelo controllo istologico, lo stadio 1° non è sempre facilmente apprezzabile, per cui conviene conglobare gli stadi 1° e 2° di Berrill, indicando così come stadio 1° lo stadio a disco della gemma in formazione (Tavola f. t., Fig. 2).

Il progressivo incurvamento del disco fino alla sua chiusura a vescicola è un processo lento, le cui tappe possono essere seguite con tutta comodità. Fra lo stadio a disco e lo stadio a vescicola chiusa (Tav. f. t., Fig. 4) conviene intercalare lo stadio in cui la gemma ha assunto la forma di semisfera (Tavola f. t., Fig. 3). L'introduzione di questo stadio è fra l'altro opportuna perchè coincide con l'inizio dei battiti cardiaci nella gemma genitrice, cioè con il raggiungimento dello stadio 8° da parte di quest'ultima. Indicheremo lo stadio a semisfera come stadio 2°.

Perchè di osservazione piuttosto difficile non viene qui tenuto conto dello stadio 7° di Berrill (apertura degli stigmi branchiali).

Lo stadio 5° viene sdoppiato in stadio 5° e 6°, quest'ultimo caratterizzato dalla presenza di un cuore ben distinto e segregato nella sua sede definitiva. Così lo stadio 6° di Berrill diviene stadio 7°. Per gli altri stadi viene mantenuta la seriazione stabilita dal suddetto Autore.

Distingueremo nello stadio 8° una tappa di breve durata (8'), in cui i battiti cardiaci iniziano molto lenti, prima di raggiungere il ritmo normale (8'').

Alla maturità funzionale i blastozooidi giungono aprendo dapprima il sifone boccale, successivamente quello cloacale, e infine sviluppando le linguette cloacali che si riuniscono a delimitare la cloaca comune del sistema (Tavola f. t., Figg. 1 e 5). Sono 3 tappe dello stadio 9°, che indicheremo con 9', 9'', 9'''.

La dissoluzione del blastozooide, al termine del suo ciclo vitale, inizia con la retrazione dei sifoni, una tappa che indicheremo con 11', cui segue la dissoluzione della branchia e del tubo digerente (11'') (Tavola f. t., Fig.6). Per un certo tempo ancora persiste il battito del cuore (11'''), e poi si arresta (11''''). A questo punto possiamo considerare chiuso il ciclo vitale del blastozooide, sebbene un residuo di esso possa permanere ancora per qualche giorno.

La classificazione degli stadi di sviluppo secondo Berrill, con le modifiche suggerite, è riportata nella Tabella 1.

Poichè gli stadi di sviluppo dei blastozooidi delle 3 generazioni coesistenti nella colonia sono intimamente correlati tra loro, potremo indicare con una formula lo stadio della colonia nel suo insieme ad ogni determinato momento.

In condizioni normali sono state riscontrate le seguenti combinazioni: 11'''-11''''/9'-9'''/7/1, 9/7/1 (Tav. f. t., Fig. 2), 9-10/8'/2 (Tav. t., Fig. 3), 9-10/8 3-6 [1] (Tav. f. t., Figg. 4 e 5), 11'-11'''/8/6. In esse i 3 numeri (o gruppi di numeri) successivi indicano lo stadio della corrispondente generazione, dalla più vecchia alla più giovane. Nella prima formula è segnalata la coesistenza brevissima di 4 generazioni, delle quali la prima al termine della regressione, la seconda all'apertura dei sifoni e la quarta al suo primo abbozzo.

In un diagramma che, secondo la reppresentazione di Berrill (1941 a), esprima in forma di cono l'accrescimento di ciascuna ge-

---

[1] Nei casi molto frequenti nei quali il blastozooide adulto non giunge a maturare le gonadi (stadio 10), nelle formule riportate esso viene considerato fermo allo stadio 9.

TABELLA 1.

Classificazione degli stadi di sviluppo dei blastozooidi nelle colonie dei Botrilli (sec. BERRILL, con alcune modifiche).

Stadio 1. — Primo abbozzo del blastozooide in forma di un ispessimento a disco della parete atriale della gemma genitrice.

Stadio 2. — Disco estroflesso ed incurvato a semisfera.

Stadio 3. — Stadio a 2 vescicole, di cui l'interna originatasi per chiusura del disco, e l'esterna derivata da estroflessione della epidermide del genitore.

Stadio 4. — Comparsa, nella vescicola interna, della estroflessione intestinale e delle pieghe atriali, abbozzi delle cavità peribranchiali.

Stadio 5. — Vescicola interna differenziata in camere branchiale e peribranchiali e tubo digerente.

Stadio 6. — Cuore distinto.

Stadio 7. — Comparsa degli ispessimenti a disco della parete atriale, abbozzi delle gemme della successiva generazione.

Stadio 8. — Cuore pulsante (8': pulsazioni iniziali a ritmo lento; 8": pulsazioni a ritmo normale).

Stadio 9. — Maturità funzionale della gemma: apertura dei sifoni (9': apertura del sifone boccale; 9" apertura del sifone cloacale; 9"' : formazione della cloaca comune).

Stadio 10. — Maturazione delle gonadi.

Stadio. 11. — Dissoluzione del blastozooide (11': retrazione dei sifoni; 11": dissoluzione della branchia; 11"': ultimi battiti cardiaci; 11"": arresto delle pulsazioni del cuore).

razione, tali formule rappresentano altrettante sezioni attraverso a 3 (e per la prima formula 4) coni compenetrati l'uno nell'altro (Fig. 1).

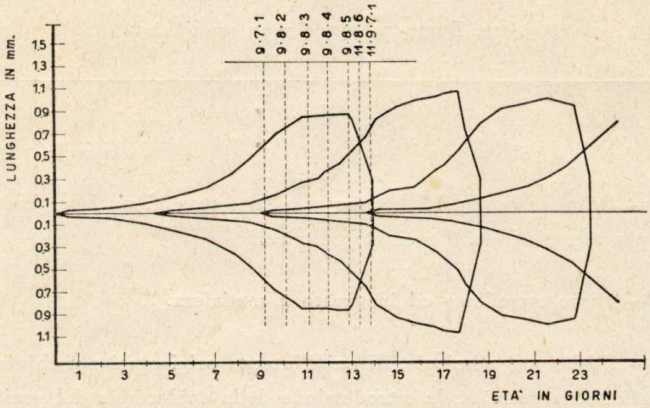


Fig. 1. — Accrescimento e relazioni fra gli stadi di sviluppo dei blastozooidi delle generazioni coesistenti in una colonia allevata alla temperatura media di 26.5°. Sono rappresentate le generazioni 4ª (2 blastozooidi), 5ª (2 blast.), 6ª (4 blast.) e in parte la 7ª (6 blast.).

Le condizioni di sofferenza che, come ho ricordato, si manifestano frequentemente in laboratorio, portano ad alcune modificazioni nella correlazione degli stadi di sviluppo della colonia, che possono venire espresse con queste altre formule: 11'/8/2-5, 11'-11''''/8/3-6, 0/8/3-6. Esse indicano un anticipo nella regressione dei blastozooidi della generazione più vecchia, i quali così non completano il loro accrescimento (le dimensioni massime vengono raggiunte dal blastozooide adulto quando esso si trova nelle condizioni espresse dalla formula 9/8/4-5). Essi permangono per un certo tempo in condizioni di retrazione dei sifoni, e successivamente vanno incontro alla totale dissoluzione. Pertanto, per un tempo più o meno lungo, nella colonia non è rappresentato alcun blastozooide in stato di piena funzionalità e, dopo la scomparsa della generazione più vecchia, nella colonia figurano 2 sole generazioni (formula 0/8/3-6).

In casi di estrema sofferenza, come ho potuto verificare, la generazione più vecchia addirittura non giunge mai allo stato funzionale, perchè si ha il passaggio diretto dallo stadio 8 allo stadio 11. Queste condizioni possono essere espresse con le formule:

11/7/1, 0/8/2, che indicano il massimo anticipo nella regressione della generazione più vecchia.

Ricorderò, come caso estremo, quello di una colonia allevata in stanza termostatica a 18°, nella quale la 10ª generazione adulta ha iniziato la regressione quando la generazione più giovane, la 12ª, aveva appena raggiunto lo stadio 3. Nè la 11ª, nè la 12ª generazione sono mai giunte alla maturità funzionale. La colonia è tornata allo stato normale solo con la 13ª generazione, dopo un intervallo di circa 20 giorni. Un caso perfettamente simile si è verificato in un'altra colonia, in cui nè la 5ª, nè la 6ª generazione sono mai state funzionanti, e che si è ripresa alla 7ª generazione. In tutto questo periodo le colonie sono vissute in condizioni di assoluta inanizione e di respirazione molto attenuata, limitata probabilmente quasi al solo livello delle ampolle del sistema vascolare della tunica, che hanno avuto una parte importante anche nell' assicurare la circolazione. (Questa ultima funzione è dimostrata dalla lunga persistenza della circolazione sanguigna anche in assenza di blastozooidi adulti o di gemme con cuore funzionante: per un periodo di oltre 10 giorni in un caso da me osservato).

I fatti ora riferiti dimostrano in maniera particolarmente evidente l'importanza, ai fini della nutrizione, di determinati tipi di cellule sanguigne, in ispecial modo dei *leucociti* e delle *cellule morulari adipose*, di cui il sangue dei Botrilli è così ricco, come io stesso ho segnalato in un altro lavoro (1955 a). Essi dimostrano anche i notevoli poteri di regolazione di cui sono dotate le colonie.

Ho potuto osservare con sicurezza che un anticipo nella regressione della generazione adulta determina un anticipo del raggiungimento della maturità funzionale nei blastozooidi della generazione seguente, per cui si manifestano spesso condizioni esprimibili con la formula 0/9/3-6, in cui 0/9/3 è il caso estremo osservato.

La durata del ciclo vitale dei blastozooidi è ovviamente funzione della temperatura. A parte le deviazioni determinate da condizioni di sofferenza, di cui abbiamo già parlato, possiamo stabilire questa sequenza di tempi che corrispondono a temperature progressivamente più basse: ad una temperatura media di 26.5° la durata del ciclo vitale è di circa 13 giorni; alla temperatra media di 21° il ciclo vitale ha una durata di circa 15.70 giorni; ad una temperatura di 18° corrisponde un ciclo di giorni 21.50; e finalmente ad una temperatura di 10° il ciclo vitale ha una durata di 65-66 giorni. Quest'ultimo dato ha un certo interesse perchè indica come, in ambienti a temperatura media invernale piuttosto bassa, come ad es.

TABELLA 2.

Differente velocità di sviluppo dei blastozooidi a diverse temperature.

Stadio	Temperatura			
	10°	18°	∾ 21°	∾ 26.5°
1–2	giorni 7.75	ore 59	ore 44	ore 38
2–3	» 4.75	» 35	» 26	» 23
3–4	» 4.50	» 33	» 23	» 20
4–7	» 7.00	» 64	» 44	» 31
7–8	» 5.00	» 46	» 30	« 27
8–9	» 13.00	» 97	» 76	» 60
9–11	» 20.00	» 153	» 114	» 99
11	» 3.50	» 30	» 20	» 17
Durata complessiva	giorni 65.50	giorni 21.50	giorni 15.70	giorni 13.10

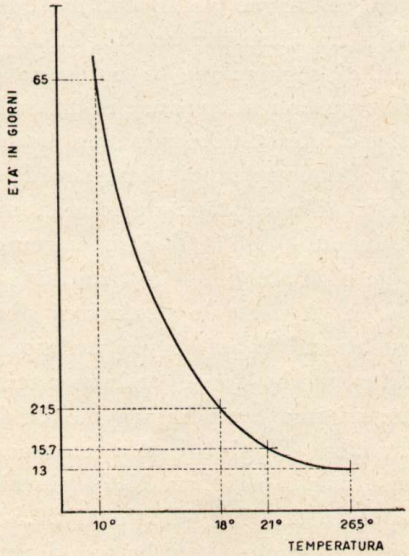


Fig. 2. — Relazioni tra temperatura e durata del ciclo vitale dei blastozooidi.

la Laguna di Venezia, dalla quale proveniva il materiale con cui sono stati iniziati gli allevamenti, la stessa generazione riesce praticamente a svernare.

Le relazioni tra temperatura e durata del ciclo dei blastozooidi sono espresse dalla curva della Fig. 2, e nella Tabella 2 sono riportate le corrispondenti durate medie dei singoli stadi di sviluppo.

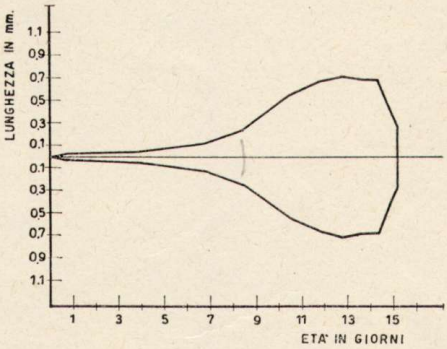


Fig. 3. — Accrescimento nella 3ª generazione di blastozooidi di una colonia allevata alla temperatura media di 21°. (La generazione era costituita da 2 individui).

Dall'esame della Tabella, come del resto anche dall'esame delle curve di accrescimento (Figg. 1,3-5), si può riconoscere che la durata di ciascun stadio, alle varie temperature, è sostanzialmente proporzionale alla durata complessiva del ciclo vitale del blastozooide, cioè la differenza di temperatura incide in maniera uniforme sulla durata dei vari stadi.

I grafici delle Figure 1,3-5 esprimono l'andamento dell'accrescimento alle varie temperature. L' esame delle curve, a regolare andamento sigmoide, mette in evidenza una velocità massima di accrescimento agli stadi 7-8, che corrispondono al differenziamento definitivo della branchia. Come ho già ricordato, il massimo accrescimento viene raggiunto dal blastozooide un certo tempo dopo che esso è giunto alla maturità funzionale.

La blastogenesi.

Come è noto, nei Botrilli vi è una gemmazione bilaterale (Tavola f. t., Figg. 3 e 5), che dovrebbe portare, ad ogni successiva generazione, al raddoppiamento del numero di blastozooidi costituenti

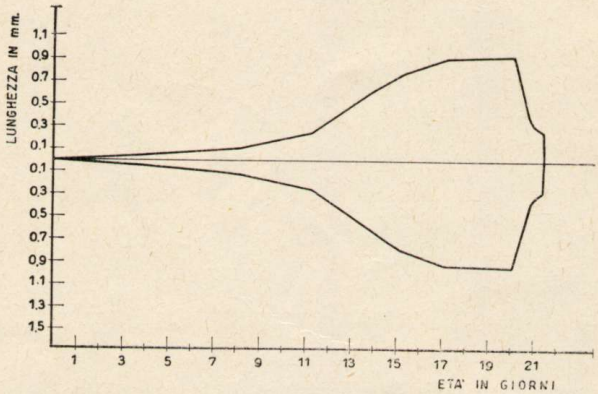


Fig. 4. — Accrescimento nella 9ª generazione di blastozooidi di una colonia allevata alla temperatura di 18°. (La generazione era costiluita da 2 soli individui).

la colonia. È stata anche riscontrata la possibilità della formazione di doppie gemme specialmente al lato destro (Tav. f. t., Fig. 4). Ciò avviene in seguito allo sdoppiamento della gemma inizialmente unica, quando essa si trova press'a poco allo stadio di semisfera. In questo caso tuttavia le gemme posteriori difficilmente riescono a portare a termine lo sviluppo, quelle di sinistra più difficilmente di quelle di destra. Del resto, anche nel caso più comune in cui si formano 2 sole gemme, una per lato, può avvenire che la gemma sinistra degeneri nel corso dello sviluppo (Tav. f. t., Fig. 2 e 6). È veramente eccezionale che si arresti nello sviluppo la gemma destra e maturi la sinistra.

In condizioni di particolare sofferenza possono arrestarsi nello sviluppo tutte le gemme di sinistra e parte di quelle di destra, per cui il numero di blastozooidi, nel passaggio da una generazione alla successiva, può anche diminuire. La gemmazione riprende poi il suo ritmo normale al ristabilirsi di condizioni ottimali.

Nei miei allevamenti l'arresto nello sviluppo di una parte delle gemme delle varie colonie si è verificato con grande frequenza.

TABELLA 3.

Differente vitalità delle gemme di destra e di sinistra in colonie allevate a varie temperature per più generazioni.

Temperatura	N° gemme di destra maturate	N°. gemme di sinistra maturate	N° totale blastozooidi adulti	Rapporto bl. s./bl. d.
18°	576	63	639	1/9.14
21°	191	48	239	1/3.97
26.5°	111	21	132	1/5.28

Dell'intensità del fenomeno dà un'idea la Tabella 3. In essa, per 3 diverse temperature, è indicato il numero di blastozooidi adulti di varie colonie seguite per più generazioni, distinti in blastozooidi di destra e blastozooidi di sinistra. Si può osservare come i primi siano in netto predominio sui secondi. In base a questi dati, delle 3 temperature sperimentate quella di 21° sembrerebbe la più favorevole per la gemmazione.

I vari stadi di sviluppo dei blastozooidi non dimostrano la stessa facilità di degenerazione. In rari casi, gemme di sinistra, o gemme posteriori di destra, possono arrestarsi nello sviluppo prima ancora di essersi richiuse a vescicola. Molto più frequente è il caso di gemme le quali, raggiunto lo stadio 3, a vescicola chiusa, non riescono poi ad iniziare, o non riescono a portare a termine, i processi morfogenetici della formazione delle cavità branchiale e peribranchiali, del tubo digerente e del cuore, e che pertanto rimangono bloccate allo stesso stadio 3 o ad uno degli stadi 4-6. Anche il differenziamento definitivo della branchia, con il forte accrescimento che esso comporta, rappresenta un momento critico dello sviluppo: un numero considerevole di gemme rimangono bloccate allo stadio 7 o 8. Eccezionalmente si può avere la degenerazione di qualche blastozooide che, raggiunto lo stadio 9, non riesce ad en-

trare nella composizione del sistema e resta compresso fra i blastozooidi fratelli.

Le conclusioni dello studio fatto su questo punto, per diverse temperature, sono raccolte nella Tabella 4, nella quale sono riportate le gemme delle quali è stata seguita con sicurezza la degene-

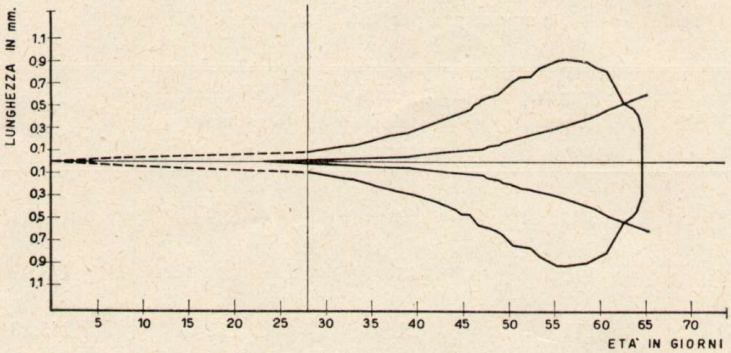


Fig. 5. — Accrescimento nella 5ª e 6ª generazione di blastozooidi di una colonia allevata alla temperatura di 10° (Per la 5ª generazione le misure sono state iniziate a partire dal 28° giorno d'età. Entrambe le generazioni erano costituite da 3 individui).

razione a partire dallo stadio 2. Complessivamente, nei 3 allevamenti, si può osservare come delle gemme prese in considerazione il 7.25% degeneri dopo raggiunto lo stadio 2, il 43% allo stadio 3, il 26.94% agli stadi 4-6, l'8.29% allo stadio 7, il 13.99% allo stadio 8, e lo 0.52% allo stadio 9.

La riproduzione sessuata.

Lo gonadi si originano assai precocemente nel giovane blastozooide. Secondo le osservazioni di Berrill (1941 a, b), la segregazione delle cellule germinali dalla porzione di parete atriale coinvolta nella formazione della gemma inizia press'a poco allo stadio 2 (prima della chiusura del disco a vescicola), e cessa quando la gemma ha raggiunto lo stadio 4. Allo stadio 7 e negli stadi successivi, le gonadi appaiono disposte immediatamente dietro alle gemme della generazione successiva (Tav. f. t., Fig. 3). Tuttavia, nelle prime generazioni di blastozooidi, le gonadi possono mancare del tutto; suc-

cessivamente, per alcune altre generazioni si riscontrano solo testicoli, e finalmente seguono generazioni di blastozooidi con gonadi maschili e femminili ai 2 lati. Secondo Berrill questa sequenza di fatti è direttamente correlata con le dimensioni iniziali delle gemme, che vanno progressivamente aumentando nel passaggio da

TABELLA 4.

Gemme degenerate ai diversi stadi di sviluppo in colonie allevate per più generazioni a varie temperature

Temperatura	N° totale gemme degenerate	N° gemme degenerate agli stadi:					
		2	3	4-6	7	8	9
18°	29	—	8 (27.59%)	11 (37.93%)	5 (17.24%)	5 (17.24%)	—
21°	77	4 (5.19 %)	33 (42.86%)	21 (27.27%)	7 (9.09%)	12 (15.58%)	—
26°. 5	87	10 (11.49%)	42 (48.27%)	20 (22.99%)	4 (4.60%)	10 (11.49%)	1 (1.15%)
Totale	193	14 (7.25%)	83 (43.00%)	52 (26.94%)	16 (8.29%)	27 (13.99%	1 (0.52%)

una generazione alla successiva. Sotto certe dimensioni il disco gemmante non sarebbe in grado di segregare cellule germinali, e solo alle maggiori dimensioni verrebbero segregrate, oltre a cellule della linea maschile, anche cellule femminili.

È tuttavia certo che la riproduzione sessuata è influenzata, più che ogni altro processo, dalle condizioni ambientali. Ogniqualvolta si verificano nella colonia condizioni di sofferenza, per una o più generazioni non sono più visibili gonadi al binoculare, anche se esse erano presenti nelle generazioni precedenti; oppure, gonadi che si erano appena accennate più tardi scompaiono del tutto. Quest'ultimo fatto, del resto, si verifica nelle prime generazioni anche in condizioni normali. Inoltre, colonie della stessa età e dello stesso allevamento possono comportarsi in modo molto diverso: in alcune le gonadi si rendono visibili molte generazioni prima che in altre.

Questi fatti sembrano difficilmente riconducibili a semplici differenze nelle dimensioni iniziali delle gemme.

Nei miei allevamenti, la riproduzione sessuata è giunta a compimento in una percentuale relativamente scarsa di casi. Spesso gli ovociti arrestavano il loro sviluppo ad un determinato stadio

TABELLA 5.

Riproduzione sessuata in 6 colonie allevate alla temperatura di 18° per un numero di generazioni variante dalle 20 alle 30.

N° blastozooidi		N° blastozooidi con uova mature		N° uova mature	
		ai 2 lati	14	a sinistra	41
		solo a sinistra	25	a destra	16
di destra	127				
		a 1 solo lato non controllato	14	in posizione non controllata	15
di sinistra	6	—	—		
N° totale	133		53		72

dell' accrescimento, oppure giungevano alla maturità ma, a causa di un anticipo nella regressione del blastozooide che li portava, venivano eliminati dopo la fecondazione in una fase dell'organogenesi larvale tale da non permettere il completo sviluppo fuori del genitore. Pochi comunque furono gli ovociti maturati, in genere in un numero limitato di blastozooidi della colonia, e spesso ad un solo lato di essi.

Quando un blastozooide presenta gemme ai due lati, le gonadi compaiono preferibilmente in quella di destra che, come abbiamo visto, è anche la più vitale. Ma sia nella comparsa che nella maturazione delle gonadi, si osserva che non vi è equivalenza fra i 2 lati della stessa gemma. Contrariamente a quanto si verifica nella blastogenesi, si nota infatti una netta preferenza per il lato sinistro.

Questi fatti risultano chiaramente dalle Tabelle 5-7. Nella Tabella 5 sono raccolti i dati riguardanti la riproduzione sessuata di 6 colonie allevate per 20-30 generazioni alla temperatura di 18°. Solo alcune generazioni hanno maturato uova. Nella Tabella è riportato il numero di blastozooidi adulti figuranti in queste generazioni, distinti in blastozooidi di destra e blastozooidi di sinistra, ed è indicato quanti fra essi hanno maturato uova ai 2 lati o ad un solo lato, destro o sinistro, ed il numero di uova e la loro distribuzione.

TABELLA 6.

Riproduzione sessuata in 4 colonie allevate alla temperatura di 26.5° fino all'8ª generazione.

N° Blastozooidi		N° blastozooidi con gonadi evidenti			
		ai 2 lati	solo a destra	solo a sin.	N° totale
di destra	37	28	—	7	35
di sinistra	13	7	—	5	12
N° totale	50	35	—	12	47

Nella Tabella 6 sono riferiti i dati riguardanti la riproduzione sessuata di 4 colonie allevate alla temperatura di 26.5° fino all'8ª generazione. In 3 di esse le gonadi furono visibili a partire dalla 5ª generazione e nell'altra a partire dalla 7ª. (In altre 10 colonie dello stesso allevamento, all'8ª generazione non vi erano ancora tracce sicure di gonadi). La Tabella 7 riporta, con lo stesso criterio, i dati sulla riproduzione sessuata di 8 colonie allevate alla temperatura di 21° per un periodo variabile dalle 10 alle 20 generazioni. In 1 di esse le gonadi furono osservate a partire dalla 4ª generazione, in 4 a partire dalla 5ª generazione, in 3 a partire dall'8ª. (In altre colonie dello stesso allevamento non furono mai osservate gonadi).

Fenomeni simili a quelli segnalati nelle Tabelle 5-7 si sono ripetuti anche in altre 2 colonie allevate alla temperatura di 18°. Su 36 blastozooidi, 23 di destra e 13 di sinistra, le gonadi furono osservate in 22 blastozooidi di destra e 5 di sinistra: ad entrambi i

lati in 12 blastozooidi di destra e 1 di sinistra, e solo a sinistra in 10 blastozooidi di destra e 7 di sinistra.

Come già per la blastogenesi, queste osservazioni sulla riproduzione sessuata non permettono di trarre nessuna conclusione certa

TABELLA 7.

Riproduzione sessuata in 8 colonie allevate alla temperatura di 21°, per un numero di generazioni variante dalle 10 alle 20.

N° blastozooidi		N° blastozooidi con gonadi evidenti			
		ai 2 lati	solo a destra	solo a sin.	N. totale
di destra	71	51	—	14	65
di sinistra	48	11	—	17	28
N° totale	119	62	—	31	93

sull'influenza della temperatura. Più ancora che la blastogenesi, la riproduzione sessuata esige condizioni ottimali, in cui la temperatura entra come solo uno dei fattori.

Discussione.

Molte delle osservazioni riferite implicano problemi la cui soluzione va ricercata sperimentalmente.

È stata segnalata da Berrill (1941 a) la perfetta correlazione fra gli stadi di sviluppo delle varie generazioni di blastozooidi che compongono la colonia. Essa può venire tuttavia turbata in condizioni di sofferenza, perchè si verifica allora un anticipo della regressione della generazione adulta, e rispettivamente un anticipo del raggiungimento della maturità funzionale della generazione immediatamente successiva. Nelle colonie in condizioni normali, alcuni AA. hanno supposto l'esistenza di un rapporto di causa ad effetto fra passaggio alla maturità funzionale della generazione intermedia e dissoluzione della generazione adulta: quest'ultima non sarebbe più in grado di far fronte alle richieste nutritive della prima se non dissolvendosi e venendo riassorbita da essa. In con-

dizioni di sofferenza, tuttavia, ho osservato che si stabilisce esattamente il rapporto inverso: la grande quantità di sostanze nutritive rappresentata dai blastozooidi in dissoluzione della generazione adulta determina un'anticipata maturazione della generazione seguente. Ciò non esclude la validità della prima ipotesi, ma tutto il fenomeno va ristudiato sperimentalmente, anche per chiarirne l'aspetto quantitativo.

Analogamente per via sperimentale deve essere determinata l'entità dei poteri regolativi che si manifestano nelle gemme della colonia dopo la degenerazione della generazione adulta: dalle osservazioni compiute risulterebbe che solo le gemme che hanno raggiunto lo stadio 8 possono completare lo sviluppo in assenza dei genitori, ma i casi osservati sono troppo pochi per escludere che si tratti di pura coincidenza. È inoltre verosimile che tale limitazione dei poteri regolativi possa essere dipesa dal fatto che le cattive condizioni che hanno portato alla morte i blastozooidi adulti si siano ripercosse anche sulle gemme.

Evidenti rapporti esistono fra l'intensità della gemmazione e le condizioni di maggiore o minore floridezza delle colonie. In condizione ottimali, le gemme dei 2 lati, specialmente la destra, possono sdoppiarsi originando una gemma posteriore. Per contro, ogniqualvolta nella colonia si manifestano fenomeni di sofferenza, rilevabili soprattutto in un'anticipata regressione dei blastozooidi adulti, una parte delle gemme arresta il suo sviluppo e successivamente degenera. Le gemme soccombenti sono quelle più arretrate nello sviluppo: nell'ordine, le gemme posteriori rispetto alle anteriori, e le gemme di sinistra rispetto a quelle di destra. L'asportazione di una parte delle gemme del blastozooide potrà dimostrare se questi fenomeni dipendano dalla impossibilità in cui viene a trovarsi il blastozooide di far fronte alle esigenze nutritive di tutte le sue gemme, o da fattori intrinseci alle gemme stesse. Potrà inoltre dimostrare fino a che punto le gemme rimaste bloccate nello sviluppo mantengano il potere di riprendersi successivamente, e la possibilità di indurre le gemme superstiti a sdoppiarsi.

Non è inverosimile che rapporti di competizione esistano anche fra blastogenesi e riproduzione sessuata. Il problema potrebbe essere affrontato sperimentalmente in modo analogo.

Riassunto e conclusioni.

1) È stata determinata la durata del ciclo vitale dei blastozooidi di *Botryllus* a diverse temperature (10°, 18°, 21°, 26.5°). Ciò permette anche di giungere ad un'idea abbastanza esatta sul ritmo di successione delle generazioni in natura.

2) Sono state studiate le capacità di regolazione delle colonie in cattive condizioni ambientali, che si sono ripetute frequentemente in laboratorio. Nei blastozooidi della più vecchia delle generazioni che costituiscono la colonia, si osserva un anticipo della regressione, per cui essi non raggiungono il pieno accrescimento o addirittura, in condizioni estreme, non giungono mai alla maturità funzionale. La colonia può allora persistere per una o più generazioni in condizioni di inanizione e di respirazione molto attenuata, e ritornare poi alla normalità al ristabilirsi di condizioni ottimali, qualora le gemme della generazione immediatamente successiva abbiano raggiunto un certo grado di organizzazione. Ciò dimostra l'importanza di determinati tipi di cellule sanguigne come elementi di riserva, e conferma anche la funzione respiratoria e contrattile delle ampolle del sistema vascolare comune.

L'anticipo della dissoluzione dei genitori determina, entro certi limiti, un anticipato raggiungimento della maturità funzionale nelle gemme figlie della generazione immediatamente successiva.

3) Le osservazioni compiute sulla blastogenesi hanno portato ad una valutazione quantitativa della differente vitalità delle gemme. Nello sviluppo dei blastozooidi gli stadi più facilmente colpiti da degenerazione sono quelli che corrispondono ad una più intensa attività morfogenetica. Gemme nelle quali siano completate le tappe fondamentali della organogenesi possono giungere alla maturità funzionale anche in assenza dei genitori.

Fra le diverse temperature sperimentate quella di 21° sembra assicurare un ritmo più intenso di gemmazione.

4) Le osservazioni sulla riproduzione sessuata hanno messo in evidenza, nell'ambito dello stesso allevamento, forti differenze fra colonie di pari età nell'epoca della prima comparsa delle gonadi. In condizioni di sofferenza, in colonie che avevano già iniziato a riprodursi sessualmente, vi può essere interruzione della riproduzione sessuata per una o più generazioni.

Come nella blastogenesi, nella riproduzione sessuata gli individui di destra sono nettamente favoriti nei confronti di quelli di sinistra; inoltre, contrariamente a quanto si osserva nella blastogenesi, il lato sinistro è decisamente favorito rispetto al lato destro. La percentuale di blastozooidi di destra che recano gonadi è infatti superiore a quella di blastozooidi di sinistra, e nel caso in cui le gonadi siano evidenti ad un solo lato, questo è quasi senza eccezione il lato sinistro, ed è comunque maggiore il numero di uova maturate a sinistra.

BIBLIOGRAFIA

ABBOTT D. P. – 1953 – Asexual reproduction in the colonial Ascidian Metandrocarpa Taylori Huntsman. *Univ. Calif. Publi. Zool. 61, 1.*

ARNBACK-CHRISTIE-LINDE A. – 1922 – Northern and arctic Invertebrates in the collection of the Swedish State Museum. IX: Tunicata. 2. Botryllidae: reproductive organs of *Metrocarpa* (n. g.) *leachi* Savigny and *Botryllus schlosseri* Pallas. *Kungl. Svenska Vet.-Akad. Handl. 63, n. 9, 1.*

BANCROFT F. W. – 1899 – A new function of the vascular ampullae in the Botrillidae. *Zool. Anz. 22, 450.*

BERRILL N. J. – 1935 – Studies in tunicate development. IV. Asexual reproduction. *Phil. Trans. Roy. Soc. London, B, 225, 327.*

— — – 1941a – The development of the bud in Botryllus. *Biol. Bull. Woods Hole, 80, 169.*

— — – 1941b – Size and morphogenesis in the bud of Botryllus. *Biol. Bull. Woods Hole 80, 185.*

— — – 1941c – Spatial and temporal growth patterns in colonial organisms. *Growth 5, suppl., 89.*

DELLA VALLE A. – 1883 – Sur le bourgeonnement des Didemnides et des Botryllides et sur le type enterocoelien des Ascidies. *Arch. It. Biol. 2, 50.*

HJORT J. – 1893 – Uber den Entwicklungscyclus der zusammengesetzten Ascidien. *Mitt. Zool. Station Neapel 10, 584.*

KROHN A. 1869a – Uber die Fortpflanzungsverhältnisse bei den Botrylliden. *Arch. Naturgesch. 35, 190.*

— — – 1869b – Uber die früheste Bildung der Butryllusstöche. *Arch. Naturgesch. 35, 326.*

METSCHNIKOFF E. – 1869 – Entwicklungsgeschichtliche Beiträge. VII. Uber die Larven und Knospen von Botryllus. *Bull. Acad. Imp. Sc. St-Pétersbourg 13, 291.*

OKA A. – 1892 – Uber die Knospung der Botrylliden. *Zeitschr. wiss. Zool. 54, 521.*

PIZON A. – 1893 – Histoire de la blastogénèse chez les Botryllides. *Ann. Sc. Nat., s. 7, Zool., 14, 1.*

— — – 1893 – Etudes biologiques sur les Tuniciers coloniaux fixés. II. Botryllidés et Distomidés. *Bull. Soc. Sc. Nat. Ouest Fr. 10, 1.*

SABBADIN A. – 1955 a – Studio sulle cellule del sangue di *Botryllus schlosseri* (Pallas). *Arch. It. Anat. Embriol., 60, 33.*

— — – 1955b – Il ciclo biologico di *Botryllus schlosseri* (Pallas) nella Laguna di Venezia. *Arch. Ocean. Limnol. 10, 217.*

SALFI M. – 1954 – Valore degli elementi blastogenetici e significato della agamogonia e dell'anfigonia. In: *Problemi di sviluppo. Casa Ed. Ambrosiana, Milano, 1954.*

WATTERSON R. L. – 1945 – Asexual reproduction in the colonial tunicate, *Botryllus schlosseri* (Pallas) Savigny, with special reference to the developmental history of intersiphonal bands of pigment cells. *Biol. Bull. Woods Hole 88, 71.*

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

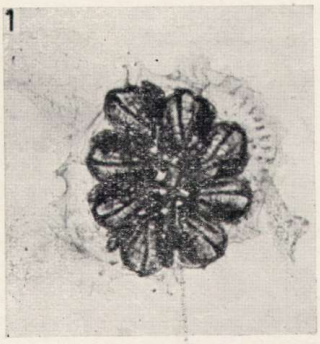
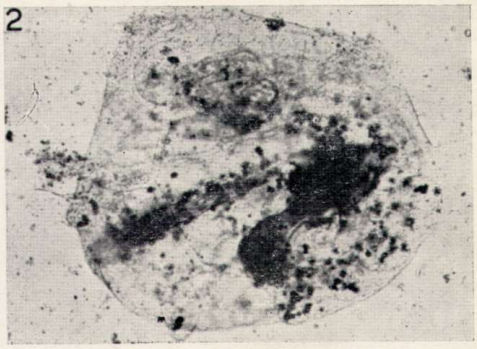
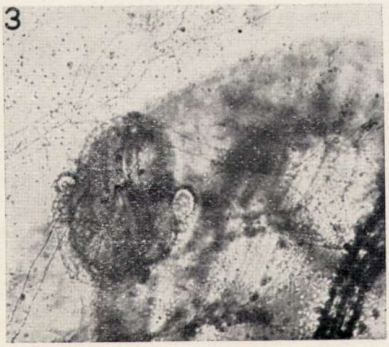
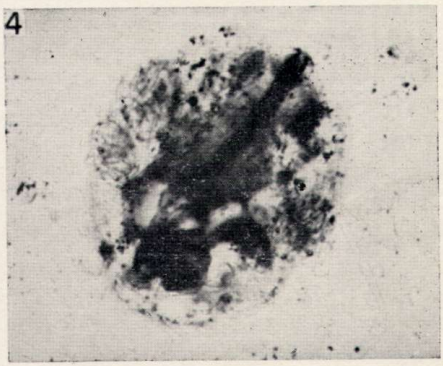
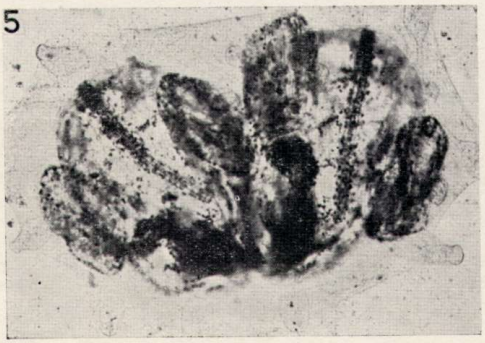
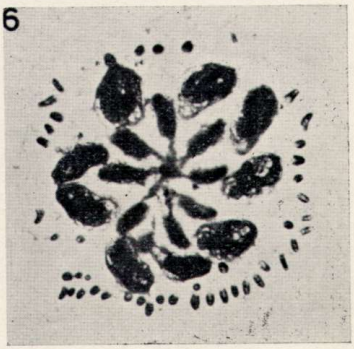
Fig. 1. — Colonia costituita da un sistema di 8 blastozooidi adulti di 15ª generazione, con gemme intercalate di 16ª e 17ª generazione. (Fotogr. dal lato dorsale; ingrànd. ca. 5 X).

Fig. 2. — Colonia costituita da un solo blastozooide adulto di 2ª generazione, che porta una sola gemma di 3ª generazione sul lato destro allo stadio 7, provvista a sua volta di gemme di 4ª generazione ancora in forma di disco che comincia ad incurvarsi (stadio della colonia: 9/7/1+). (Fotogr. dal lato ventrale; ingrand. ca. 36 X).

Fig. 3. — Particolare di una colonia formata da 4 blastozooidi di 6ª generazione. È rappresentata una gemma destra di 7ª generazione allo stadio 8 provvista di gemme di 8ª generazione in forma di vescicola non ancora richiusa (stadio della colonia: 9/8/2+). Posteriormente alle gemme di 7ª generazione sono visibili ai due lati piccole gonadi. (Fotogr. dal lato ventrale; ingrand. ca 56 X).

Fig. 4. — Colonia di un solo blastozooide adulto di 2ª generazione, provvisto di 3 gemme (2 sul lato destro) di 3ª generazione allo stadio 8, che recano gemme di 4ª generazione allo stadio 3 (stadio della colonia : 9/8/3). (Fotogr. dal lato ventrale; ingrand. ca 24X).

Fig. 5. — Colonia costituita da 2 blastozooidi adulti di 4ª generazione, recanti ai 2 lati gemme di 5ª generazione, che sono a loro volta provviste di gemme di 6ª generazione allo stadio 4 (stadio della colonia: 9/8/4). (Fotogr. dal lato ventrale ; ingrand. ca. 18 X).

Fig. — Colonia costituita da 9 blastozooidi di 17ª generazione in regressione (stadio 11), che recano gemme di 18ª generazione allo stadio 8, solo a destra. (Fotogr. dal lato dorsale; ingrand. ca. 6 X).

SABBADIN A. — *Osservazioni sullo sviluppo, l'accrescimento e la riproduzione ecc.*