

<b>Zeitschrift:</b>	Bollettino della Società ticinese di scienze naturali
<b>Herausgeber:</b>	Società ticinese di scienze naturali
<b>Band:</b>	32 (1937)
<b>Artikel:</b>	Osservazioni sulla Fertilità e ricerche citologiche-embriologiche in Tulipa Gesneriana
<b>Autor:</b>	Simoni, Diego
<b>DOI:</b>	<a href="https://doi.org/10.5169/seals-1003649">https://doi.org/10.5169/seals-1003649</a>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 31.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

Dr. Diego Simoni (\*)

## Osservazioni

sulla

### Fertilità e Ricerche Citológiche-Embriologiche in *Tulipa Gesneriana*

---

#### I. - Introduzione e Questionario

*Tulipa Gesn.* è, tra le *Gigliacee*, una delle piante su cui venne già molto esperimentato e scritto. In quasi tutti i lavori si trova un accenno alla spiccata sterilità di questa pianta; uno studio delle cause non fu però mai eseguito.

Il presente lavoro si propone quindi di riferire, nella sua prima parte, le osservazioni sulla fertilità, basandosi sui risultati ottenuti da impollinazioni fra individui della medesima o di diverse varietà. Nella seconda parte, vengono studiati alcuni stadi dello sviluppo del sacco embrionale e di quello dell'embrione.

Dai numerosi lavori pubblicati a questo riguardo risulta infatti come i diversi autori non concordino nell'interpretazione di parecchi stadi, sia per lo sviluppo del sacco embrionale, sia per quello dell'embrione. Noi non ci proponiamo quindi di riferire completamente su tutte le fasi di sviluppo fra la cellula archesporiale e il seme maturo, ma di chiarire, nel modo migliore, i punti oscuri e discordanti e specialmente il comportamento del sacco embrionale quattro-nucleato e l'origine dell'embrione.

---

(\*) Lavori eseguiti nell'Istituto di Botanica generale dell'Università di Zurigo.

Nelle pagine seguenti riportiamo i principali risultati ottenuti dai diversi autori sulla pianta in questione:

M. Treub & J. F. Mellink (1880) :

Una cellula sottoepidermale diventa direttamente cellula madre del sacco embrionale, senza subire divisione alcuna. Da questa cellula deriva il sacco embrionale due-nucleato e da questo il sacco embrionale quattro-nucleato dal tipo  $1 + 1 + 1 + 1$ <sup>1</sup>),  $2 + 2$ , e  $1 + 3$ . M. Treub & J. F. Mellink non parlano fino a questo punto di vacuoli.

Il tipo di sacco embrionale quattro-nucleato con i due nuclei alla calaza ingrossati ha, secondo loro, la seguente origine: i tre nuclei inferiori (alla calaza) del sacco quattro-nucleato, del tipo  $1 + 3$  possono dividersi di nuovo dando così origine a due gruppi con tre nuclei ciascuno. I nuclei di questi gruppi si uniscono generalmente tra di loro formando così due nuclei di grosso volume e dalla tipica forma a ciambella. Altre volte invece, i nuclei sopraccitati o non si fondono completamente o si dividono di nuovo; il loro comportamento è quindi molto vario. Nei sacchi otto-nucleati non si formano cellule antipodiali, ma i nuclei rispettivi degenerano quasi sempre.

L. Guignard (1900) :

Le indagini di L. Guignard si basano principalmente sullo sviluppo del sacco embrionale di *Tulipa celsiana* e di *Tulipa silvestris*. Egli rinuncia a dare una descrizione dello sviluppo del sacco embrionale di *Tulipa Gesn.* a causa delle grandi difficoltà che si hanno di ottenere un materiale adatto per le indagini. Crede di aver constatato che lo sviluppo del sacco embrionale delle diverse varietà di cui è ricco il genere *Tulipa*, sia differente da quello che caratterizza *Tulipa Celsiana* e *Tulipa silvestris*. Ammette l'esistenza di un'analogia con lo sviluppo del sacco embrionale di *Lilium* e *Fritillaria*.

---

<sup>1</sup>) Sotto l'indicazione  $1 + 1 + 1 + 1$ , intendiamo i quattro nuclei megasporiali disposti nella direzione dell'asse principale del sacco; l'indicazione  $2 + 2$  esprime la posizione di due nuclei nella regione micropilare e due nella regione calazale; l'indicazione  $1 + 3$ , vuol dire un nucleo al micropilo e 3 nella regione calazale.

A. Ernst (1901):

Describe pure la cellula archesporiale che immediatamente diventa cellula madre del sacco embrionale. Nella prima divisione, ritenuta come divisione riduzionale, (12 gemini) si sviluppa il sacco due-nucleato, nel quale il nucleo inferiore comincia ad ingrossarsi. Generalmente, in questo stadio si forma un vacuolo tra i due nuclei. Alla fine del primo giorno dell'antesi, ha luogo la seconda divisione. Il numero dei cromosomi nel nucleo superiore (al micropilo) è di 12, quello del nucleo inferiore (alla calaza) non ha potuto essere stabilito. Dopo questa divisione segue un periodo di pausa che varia dai due ai tre giorni. In questo tempo, il vacuolo centrale, formato già nel sacco due-nucleato, aumenta di volume, come fanno del resto i due nuclei superiori. Fortemente s'ingrossano pure i due nuclei inferiori i quali, appiattendosi nella loro larghezza, assumono generalmente una forma a ciambella. Dopo questo periodo di pausa, segue l'ultima divisione che darà il sacco otto-nucleato. I cromosomi dei due nuclei al micropilo compaiono dapprincipio in numero di sei, stadio intermediario per la formazione dei dodici cromosomi. A. Ernst aggiunge per ciò che riguarda i due nuclei ingrossati nella regione calazale del sacco quattro-nucleato: « Bei der Vergrösserung der beiden unteren Kerne, welche das 3-4 fache Volumen der an der Mikropyle gelegenen Kerne erreichen liess, hat sich ohne Zweifel auch die Cromatinsubstanz in bedeutendem Masse vermehrt. Ihre Knäuelstadien in den Fig. 13 und 14 zeigen viel längere Chromatinfäden und die Teilungsstadien, welche denjenigen der in den Fig. 15 - 17 dargestellten oberen Kerne entsprechen, eine grössere, leider nicht genau bestimmbarre Chromosomenzahl ».

I nuclei del sacco otto-nucleato presentano forme diverse. Dei 4 nuclei al micropilo, i due superiori sono, in considerazione del loro piccolo volume, da ritenersi come nuclei delle sinergidi; degli altri due nuclei, più voluminosi ed arrotondati, quello più vicino alle sinergidi è ritenuto come oosfera, l'altro come nucleo polare superiore.

Nella parte inferiore, si trovano i tre nuclei antipodiali ed un quarto nucleo gemello che aumenta di volume e si

differenzia come nucleo polare inferiore. A. Ernst mette poi in relazione i suoi calcoli con quelli ottenuti da M. Treub & J. F. Mellink ed arriva alla conclusione che molti degli stadi descritti dagli autori sopraccitati coincidono con gli stadi descritti da lui stesso. Stadi del tipo 1 + 3 sono da considerarsi come anormali.

*Fecondazione :*

Dal giorno dell'impollinazione a quello della fecondazione, trascorre un periodo di tempo che va dagli otto ai dieci giorni. La fecondazione avviene quando il fiore comincia ad appassire. Generalmente, un solo tubo pollinico entra nel micropilo. « Die beiden Spermakerne verlassen den Pollenschlauch gleichzeitig. Sie sind stäbchenförmig und zeigen bei Hämatoxylinfärbung einen feinkörnigen, homogenen Bau. Der eine von ihnen legt sich an den Eikern an und nimmt dabei eine gedrungenere ellipsoide Gestalt an; der andere wandert im seitlichen Wandbeleg tiefer in den Embryosack hinein ».

I due nuclei polari cambiano pure di posizione. Spesso il nucleo polare inferiore si dirige verso l'apparato oosferico con una grossa quantità di citoplasma. Il secondo sperma si unisce con il nucleo polare superiore e dopo l'unione si avviano ambedue ad incontrare il nucleo polare inferiore. In altri casi, invece, i due nuclei polari si uniscono prima, di modo che quando lo sperma arriva in loro contatto essi mostrano una fusione già avanzata. Anche questo sperma aumenta di volume e si arrotonda come il primo, quando viene a contatto con i nuclei polari. Al momento della copula dello sperma con l'oosfera si forma, attorno ai due nuclei, un abbondante plasma. Le due sinergidi cominciano a sciogliersi o sono ancora presenti.

*Sviluppo dell'embrione :*

Dopo la fecondazione, il sacco embrionale incomincia ad ingrandirsi, specialmente nelle parti medie ed inferiori, a spese del tessuto nucellare, ancora presente. Solo dopo la formazione di 4 o 8 nuclei dell'albumen, s'inizia la divisione dello zigoto che mostrava, fino ad ora, un volume abbastanza cospicuo ed era circondato da una netta membrana

cellulare. « Einen komplizierteren Verlauf der Embryobil-dung lernen wir bei *Tulipa Gesn.* kennen. Die ersten Teilungen der befruchteten Eizelle führen zur Bildung eines unregelmässigen, aus grossen plasma-und kernreichen Zellen zusammengesetzten Körpers ...

... Seiner Funktion wegen wollen wir diesen Zellkörper als *Vorkeimträger* bezeichnen. An seinem Scheitel spaltet er sich nähmlich in 2 - 5 Zellgruppen, die, wie ihre spätere Entwicklung zeigt, den Embryovorkeimen anderer Pflanzen entsprechen ».

Quasi senza eccezione si sviluppa uno solo di questi proembrioni (Embryovorkeime). In *Tulipa Gesn.* si ha quindi un tipo di poliembrionia analogo a quello che si trova in molte *Abietinee* e tra le *Cipressinee*.

#### *Sviluppo dell'endosperma :*

Dei tre nuclei che producono il primo nucleo dello albume, due, il nucleo spermatico e il nucleo polare superiore, posseggono dodici cromosomi ciascuno; il nucleo polare inferiore ha invece un numero di cromosomi che varia dai dodici ai ventiquattro cromosomi. I primi nuclei dell'albumen sono di un volume riguardevole e si trovano immersi in un abbondante plasma, mentre le parti alla periferia del sacco embrionale, posseggono numerosi vacuoli. Solo dopo la formazione di 16 - 32 nuclei, il plasma si raduna alla periferia del sacco embrionale. La crescita del « *Vorkeimträger* » e le divisioni dei nuclei dell'albumen hanno per conseguenza una crescita del sacco embrionale in senso della larghezza, con relativo schiacciamento delle cellule della nocella. « Die vollständige Resorption der Nuzelluszellen wird zuerst durch die mittleren Partien des Embryosackes vollzogen, so dass hier der kernreiche Wandbelag des Embryosackes unmittelbar auf das innere Integument zu liegen kommt ».

« Der beiderseits von einer Hautschicht begrenzte Wandbelag des Embryosackes ist bei *Tulipa Gesn.* sehr dünn ».

I nuclei dell'albumen risultano composti di tenui filamenti di lignina, nei quali stanno immersi numerosi corpuscoli cromatici. I nucleoli sono in numero di 2 a 5 ed hanno grandezza differente.

J. Schniewind - Thies (1901) :

La cellula archesporiale possiede una struttura speciale. Essa diventa direttamente cellula madre del sacco embrionale. Molto presto si opera la divisione longitudinale dei fili cromatici nucleari; dopo la divisione transversale, i nuovi cromosomi si uniscono al loro apice e assumono struttura diversa. In stadi più avanzati, i cromosomi si accorciano, la membrana nucleare si scioglie e i cromosomi vengono trasportati per mezzo di fibre cinoplasmatiche in una piastra equatoriale. « Die Chromosomen haben die Gestalt von geraden, an der Ansatzstelle der Zugfasern etwas auseinander gezogenen Stäbchen, von Kreuzen, deren Schenkel im Aequator miteinander verschmolzen und zuweilen kurz flügelförmig ausgebreitet sind, von geschlossenen und einseitig geöffneten Ringen. Im Dyaster erst wird die zweite Längsspaltung der Chromosomen kenntlich und tritt im Dispirem sehr deutlich hervor ».

I nuclei del sacco embrionale due-nucleato trascorrono un periodo di pausa relativamente lungo. Al momento della loro divisione, si riunisce nella loro zona circostante, una compatta massa plasmatica. I cromosomi, di nuovo individuati si dispongono in una piastra equatoriale. Nel piccolo fuso superiore, si contano 12 cromosomi, in quello inferiore, molto più grosso, se ne contano invece 15, 16, 21. « Die 4 jungen Kernlagen sind von derselben Grösse und Struktur, rund, senkrecht übereinander, oder je 2 Kerne sind seitwärts nebeneinander gelagert. Bald macht sich ein Größenunterschied zwischen den oberen und unteren Kernen geltend. Die oberen bleiben rund und verhältnismässig klein, während die unteren lang gestreckte oder unregelmässige, eckige Gestalt haben und zugleich an Grösse zunehmen ».

La differenza di grandezza tra il fuso del nucleo superiore e quello del nucleo inferiore è rimarchevole. Nonostante la divisione riduzionale, il nucleo inferiore possiede, al momento della seconda divisione, un numero di cromosomi quasi uguale a quello delle cellule vegetative (24) mentre il nucleo superiore conserva sempre 12 cromosomi.

P. Cattorini (1914) :

P. Cattorini si occupa del problema dei centrosomi e nega la loro esistenza nella cellula madre del sacco embrionale. Egli fa delle interessanti osservazioni sul com-

portamento della membrana nucleare, sui nucleoli e sull'esistenza di granulazioni plasmatiche nel citoplasma della cellula madre: « La membrana nucleare appare continua sotto forma di una sotolissima pellicola durante tutta la profasi e sparisce gradualmente dai poli verso l'equatore quando la divisione entra nella metafasi. A metafasi inoltrata non se ne trova generalmente nessuna traccia ». « Nel nucleo, che ha generalmente quasi una forma perfettamente rotonda, esiste una sola specie di nucleoli. Di solito si riscontra un unico nucleolo voluminoso: alcune volte se ne osservano da due a tre. Il loro volume è in ragione inversa del loro numero: hanno aspetto di globuli omogenei, fra di loro simili, privi di vacuoli ». (Cattorini non osserva una formazione di vacuoli anche con il progredire della divisione del nucleo ma una semplice diminuzione di volume). « In vicinanza del nucleo, nella zona circostante ai poli del fuso, fra le minutissime granulazioni plasmatiche, si osservano dei corpuscoli tondeggianti, alcuni dei quali sono sovente circondati da una aureola ». Cattorini divide questi corpuscoli in granuli formati da sostanze di riserva di natura grassa e in granuli di sostanza nucleare, residui o frammenti di nucleoli endonucleari.

V. Bambacioni & Giombini (1930):

Nella cellula archesporiale sottoepidermale, non si scorge una particolare struttura fibrillare. Essa cresce ben presto e diventa direttamente cellula madre del sacco embrionale. Nel suo nucleo si rinvengono gli stadi di sinapsi e di spirema. Lo stadio di diacinesi è più raro. Il numero dei gemini è di dodici. Nel sacco embrionale due-nucleato non compare mai un vacuolo centrale.

Nel sacco embrionale quattro-nucleato, i nuclei megasporiali sono disposti in modo alquanto vario a secondo dei casi: ora sono disposti in fila, ora uno nella regione micropilare, uno verso la calaza, e due verso la metà del sacco, oppure uno verso il micropilo, l'altro nella metà del sacco e due nella regione calazale; talora, ma più raramente, i quattro nuclei megasporiali si raccolgono nella parte centrale del sacco; altre volte i nuclei vengono spinti verso la regione calazale. La disposizione più frequente è quella, però, in cui un nucleo resta nella regione micro-

pilare e gli altri tre vengono spinti verso la calaza; in questo caso esiste sempre tra i tre nuclei inferiori e quello al micropilo un unico grande vacuolo. Questa disposizione è da considerarsi come quella normale costituente il sacco embrionale quattro-nucleato. Quando questi nuclei entrano in divisione, i tre spiremi che si formano alla calaza si avvicinano e i loro cromosomi, ormai individuati, si mescolano per produrre un'unica piastra equatoriale, nella quale si contano 32 cromosomi. Dalla divisione di questa fusione, risulta un sacco quattro-nucleato in cui i due nuclei alla calaza, hanno, ora, un aspetto spugnoso, ora, un aspetto a ciambella.

Gli stadi successi si riscontrano molto raramente.

V. Bambacioni & A. Giombini concludono dicendo che il gametofito di *Tulipa Gesn.* segue, normalmente, nella sua costruzione il tipo *Euphorbia dulcis* (1+3) e non quello di *Lilium* come era finora inteso, cioè con la disposizione 2+2.

V. Bambacioni - Mezzetti (1931):

« La grande maggioranza dei gametofiti femminili di *Tulipa Gesn.* degenera prima di raggiungere lo stadio adulto; solo raramente, anche osservando migliaia di ovuli, s'incontra un gametofito otto-nucleato normale ». « ... da un centinaio di piante coltivate, nel giugno 1929, potei raccogliere solo tre capsule, e nel luglio 1930, avendo adoperato tre ovari già allegati per l'osservazione microscopica, ne raccolsi una sola ». « Di questi quattro frutti, raccolti in due anni consecutivi, uno conteneva 204 semi, di cui però soltanto 135 apparentemente abboniti, un altro ne aveva 84 con 45 apparentemente abboniti, il terzo 75 con 10 soli abboniti e infine il quarto 119 (circa 40 per loggia) di cui 80 mostravano l'embrione ».

Dall'osservazione di questo materiale, V. Bambacioni cerca di dimostrare, che in *Tulipa Gesn.* si verifica la *poliembrionia estrasaccale di origine nucellare*.

Dalle sue indagini microscopiche risulta che, in sacchi embrionali impollinati da 8-10 giorni, le pareti dell'ovario sono discretamente accresciute, gli ovuli, invece, sono rimasti nelle stesse dimensioni che avevano prima dell'impollinazione. Altri sacchi embrionali sono completamente degenerati. Solo rarissimamente si presentano casi dove si può osservare l'unione dello sperma con l'oosfera o con i nuclei polari. « Un ovulo, tra gli altri, mi ha mostrato un fatto interessante: in esso il sacco embrionale conteneva

solo un piccolo nucleo centrale con scarso citoplasma, mentre la nocella presentava tre cellule della epidermide fortemente ingrossate una delle quali si era divisa longitudinalmente per metà. Quest'ovulo, manifesta una tendenza alla formazione o di sacchi aposporidici o anche di embrioni nucellari ».

I sacchi embrionali più adulti (15 giorni circa dopo l'impollinazione) contenevano dei piccoli embrioni di due o di quattro cellule e un numero variabile di nuclei dell'albumine. In tutti i casi, le cellule dell'epidermide nucellare non solo erano perfettamente conservate, ma per la loro ricchezza di contenuto assumevano l'aspetto di cellule giovanili, specialmente in corrispondenza all'apice della nocella. I sacchi embrionali, con circa 21 giorni di esistenza dopo l'impollinazione, lasciano scorgere « al di sotto delle cellule dell'epidermide nucellare ingrossate e quasi completamente svuotate in diretta continuazione con esse, una massa di cellule voluminose, ricche di contenuto, quindi con tutti i caratteri di un tessuto embrionale mostrante, all'estremità libera, un numero vario di abbozzi embrionali ». V. Bambacioni - Mezzetti attribuisce l'origine di questa massa embrionale non alla normale divisione dello zigoto, ma bensì alla proliferazione delle cellule nucellari. Questa proliferazione non s'osserva però in tutti gli ovoli dello stesso ovario.

\* \* \*

A ricerche terminate, apparvero ancora i due seguenti lavori dei quali crediamo opportuno dare un piccolo riasunto. I risultati contenuti in essi, tanto per il genere *Lilium*, quanto per *Gagea*, si avvicinano tra loro assai ed avvalorano quelli da noi ottenuti per *Tulipa*.

D. C. Cooper (1934):

Le ricerche eseguite da Cooper si basano sullo sviluppo del sacco embrionale di *Lilium Henryi* e prendono a confronto tre altre specie e cioè: *Lilium speciosum*, *L. philadelphicum*, *L. longiflorum* var. *eximium*, che mostrano un indentico sviluppo a quello di *Lilium Henryi*. Il tipo di sviluppo di *L. Henryi* non concorda con quello conosciuto sotto il nome di « *Lilium Tipo* ». La cellula archeosporiale dà, infatti, origine all'apparato oosferico solo dopo quattro divisioni e non dopo tre, come è normale per il « *Lilium tipo* ». Le divisioni etero - e omeotipiche danno origine a un sacco embrionale quattro-nucleato i cui quattro nuclei sono aploidi, con dodici cromosomi ciascuno. Tre di

questi nuclei si raccolgono nella regione calazale, lasciandone uno solo in quella micropilare. Al momento della terza divisione, nella metafasi, i cromosomi di questi tre nuclei calazali si riuniscono insieme, dando origine ad una unica piastra equatoriale provvista di 36 cromosomi. Risultato della terza divisione è la nuova formazione di un sacco embrionale quattro-nucleato, con due nuclei aploidi nella regione micropilare e due nuclei triploidi di maggiore dimensione in quella calazale. In questo stadio, il sacco embrionale aumenta di volume specialmente nel senso della lunghezza e i nuclei si preparano alla quarta divisione. I due nuclei aploidi della regione micropilare e un nucleo triploide della regione calazale attraversano una mitosi normale. L'altro nucleo triploide si divide invece in modo anormale. Nasce così un sacco embrionale otto-nucleato, con un gruppo di quattro piccoli nuclei al micropilo e un altro con due grandi e due piccoli nuclei nella regione calazale. I due nuclei piccoli della regione calazale sono di origine abortiva.

I. D. Romanov (1936):

Le esperienze di Romanov comprendono lo studio dello sviluppo del sacco embrionale di *Gagea ova*, di *Gagea graminifolia* e di *Gagea tenera*.

I principali risultati del suo lavoro si possono riassumere nei punti seguenti:

1. La cellula archesporiale che si differenzia prima che si abbozzino gli integumenti, diventa direttamente cellula madre del sacco embrionale.
2. I due stadi della divisione riduzionale non vengono accompagnati da formazione di una membrana, di modo che dalla cellula madre del sacco embrionale nasce un sacco quattro-nucleato. Il nucleo inferiore della coppia che si trova nella regione micropilare si dirige verso quella che si trova nella regione calazale, formando così un gruppo di tre nuclei calazali (posizione 1 + 3).

3. Senza mutare la posizione 1 + 3, i nuclei del sacco quattro-nucleato si accingono alla terza divisione. Nella metafase di questa divisione si compie la fusione dei tre nuclei calazali, di modo che, nella metafase, si formano due nuclei gemelli triploidi, mentre nella regione micropilare il nucleo aploide dà origine a due nuclei gemelli aploidi.

4. La quarta divisione avviene solo in tre nuclei del sacco quattro-nucleato « *secondario* ». Il nucleo inferiore

calazale, generalmente, non si divide, e ben presto degenera. Dopo la quarta divisione, si osserva la formazione di cellule e ne derivano un sacco embrionale sette-nucleato con un apparato oosferico normale, due nuclei polari e due antipodi. Una delle cellule antipodiali contiene però un nucleo in via di degenerazione. Il nucleo polare inferiore e le due antipodi sono triploidi. La formazione di un sacco otto-nucleato viene considerata come eccezione.

\* \* \*

Per ciò che riguarda i rapporti di sterilità in *Tulipa Gesn.* si trovano qua e là brevi accenni; così A. Ern st (1901, pag. 38): « *Tulipa Gesn.* gehört zu den Pflanzen, welche nicht nur der Selbstbestäubung grossen Widerstand entgegensetzen, sondern auch bei Fremdbestäubung häufig nur taube (leere) Samen entwickeln, während die Carpelle zu scheinbar vollkommener Reife gelangen ».

V. Bambacioni e A. Giombini (1930, pag. 383):

« Le irregolarità della distribuzione dei nuclei megasporiali nel sacco embrionale debbono, certamente, contribuire in larga misura, alla sterilità dei gametofiti femminili, nessuno dei quali, in realtà, ci si è mostrato in istato adulto con aspetto normale ». V. Bambacioni - Mezzetti (1931, pag. 145) riporta il numero dei semi abboniti ottenuti dall'esame del contenuto di quattro frutti che soli pervennero a maturanza, su un centinaio di ovari impollinati.

L. Guignard (1900, pag. 368) scrive :

« Les nombreuses variétés des *Tulipes* que l'on cultive dans les jardins et qui dérivent pour la plupart du *Tulipa Gesn.* sont fréquemment stériles ou ne donnent qu'un petit nombre de graines. Quand la pollinisation naturelle ou artificielle a réussi on ne rencontre ordinairement que très peu d'ovules fertiles parmi tous ceux que renferme l'ovaire ».

\* \* \*

Dall'esame di questi numerosi lavori appare come gli autori siano su diversi punti d'accordo, su diversi altri completamente discordi. Incontrastata resta, per esempio, l'idea che la cellula archesporiale diventi immediatamente cellula madre del sacco embrionale. La divisione riduzionale non viene studiata con precisione da tutti gli autori. Le divergenze si appalesano a proposito della formazione del sacco due-nucleato, della formazione o meno di un vacuolo tra

i due nuclei, sulla diversità di volume tra il nucleo alla calaza e quello al micropilo. Le controversie crescono riguardo alla descrizione dei diversi tipi dei sacchi quattornucleati e riguardo l'aumento dei cromosomi dei nuclei alla calaza. Il sacco ottonucleato è anche diversamente descritto.

Gli studi successivi, cioè della fecondazione, dello sviluppo dello zigoto e dell'albumen vennero studiati solo da A. Ernst (1901) e da V. Bambacioni (1931). Sull'origine dell'embrione, le osservazioni di questi due autori conducono delle conclusioni completamente opposte.

Da queste diversità di vedute, specialmente per ciò che riguarda il sacco quattro-nucleato e l'origine dell'embrione, si rendeva necessaria una nuova revisione, la quale si basasse su gli studi già fatti e su precise osservazioni e indagini condotte su di un materiale adatto e abbondante.

## II. - Materiale e metodi delle ricerche

Dai lavori su *Tulipa Gesn.* citati nel capitolo precedente, risulta che gli autori hanno avuto parecchie difficoltà di ottenere un abbondante materiale adatto per le ricerche citologiche ed embriologiche a causa del debole grado di fertilità di questa pianta. Questo fatto e le diverse opinioni circa le cause ci sollecitò ad uno studio approfondito sui rapporti di fertilità in *Tulipa Gesn.*

Si rendeva necessaria una coltivazione di numerosi individui appartenenti a varietà diverse. Le esperienze cominciarono nella primavera del 1933 con la coltivazione di 400 piante distribuite in 4 varietà nelle proporzioni seguenti:

100	individui	della	varietà	<i>Brillant</i> ,
100	»	»	»	<i>Cardinal</i> ,
100	»	»	»	<i>Ibis</i> ,
100	»	»	»	<i>Prinz von Oesterreich</i> .

Queste varietà ottenute dalla ditta H o t t i n g e r (Zurigo) nella primavera stessa, vennero immediatamente trapiantate nel giardino annesso all' Università; la purezza delle singole varietà era però alquanto dubbia e per questo fatto non fu praticata su questi individui alcuna impollinazione artificiale; essi vennero lasciati liberi all' impollinazione naturale.

Nell'ottobre 1933, il prof. dott. A. Ernst riceveva, per il tramite del prof. dott. A. H. Blaauw, dalla ditta C. J. B r i e g e r (Hillegom, Olanda) 5 varietà,

specialmente adatte per essere fecondate, con ciascuna 200 bulbi. Detti bulbi, della varietà *City of Haarlem*, *Pink Beauty*, *La Tulipe noire*, *Mercurius*, *Louis XIV*<sup>1)</sup>, passarono l'inverno nel giardino dell'Università, trapiantati in aiuole, separatamente, varietà per varietà. Per proteggerli dai geli invernali si copersero con rami di conifere.

Le varietà si differenziavano chiaramente l'una dall'altra, sia per diversità di colore del fiore, sia per la loro forza vegetativa. Tutti i fiori erano semplici.

Nel mese di aprile della primavera 1934, gli individui delle diverse varietà cominciarono a fiorire e cioè la varietà:

<i>Pink Beauty</i>	fiorì il giorno	12 aprile,
<i>Mercurius</i>	»	18 aprile,
<i>La Tulipe noire</i>	»	1 <sup>o</sup> maggio,
<i>Louis XIV</i>	»	2 maggio,
<i>City of Haarlem</i>	»	2 maggio,

Ciò che rese facile il compito delle impollinazioni fu che tutti i fiori della stessa varietà si aprirono nello stesso giorno. Da questo momento in poi, noi separammo, in aiuole, 4 gruppi di circa 20 individui ciascuno per ogni varietà, per poter poi praticare le diverse impollinazioni. Tutti gli individui (ad eccezione di quelli impollinati con il proprio polline) vennero accuratamente privati del proprio polline, mediante l'ablazione delle antere che si mostravano completamente mature, mentre gli stimma dei pistilli non sembravano, a nostro avviso, adatti a ricevere il polline. Tra l'antesi e l'impollinazione trascorse quindi un intervallo di 2-3 giorni.

Sottoponemmo questi individui, così preparati, a tre impollinazioni diverse, e cioè:

- 1) Individui vennero impollinati con il proprio polline (*impollinazione autogama*).
- 2) Individui vennero impollinati con il polline di individui della stessa varietà (*impollinazione xenogama*).
- 3) Individui vennero impollinati con il polline di individui di varietà diversa (*impollinazione allogama*).

---

<sup>1)</sup> A scopo di brevità le singole varietà verranno scritte in seguito con indicazioni di cifre romane e cioè:

VII	vuol dire la varietà	<i>City of Haarlem</i> ,
VIII	»	<i>Pink Beauty</i> ,
IX	»	<i>La Tulipe noire</i> ,
X	»	<i>Mercurius</i> ,
XI	»	<i>Louis XIV</i> .

L'impollinazione autogama fu operata scuotendo leggermente un'antera, tolta per mezzo di una pinzetta, dallo stesso individuo, sullo stimma del fiore da impollinare. Il fiore così impollinato venne subito accuratamente involto in una leggera tela di seta, per proteggerlo ed isolarlo da altre impollinazioni non volute.

L'impollinazione xenogama fu eseguita con lo stesso mezzo, ed i fiori vennero pure avvolti in tela di seta.

Si eseguì l'impollinazione allogama con lo stesso sistema.

Il resto degli altri individui fu abbandonato all'impollinazione naturale.

Grande parte del materiale che proveniva dalle colture olandesi fu fissato per lo studio embriologico-citologico.

Dalla metà circa del mese di marzo, quando cioè i primi germogli cominciavano a uscire dalla terra, fino al giorno della maturanza dei frutti, venne fissato, ad intervalli più o meno lunghi, di 3-4 giorni, un certo numero di ovari di ciascuna varietà. Dal giorno della fecondazione in poi, vennero fissati, in maggior numero, individui dell'impollinazione allogama e con maggior riguardo quelli che mostravano un forte sviluppo. La fissazione degli ovari venne effettuata sul posto, nelle prime ore del dopomezzogiorno.

Dai diversi liquidi fissativi esperimentati, quello che si dimostrò migliore fu la miscela composta di 4 parti di *alcool assoluto* e di una parte di *acido acetico glaciale*. Questo metodo oltre a non procurare lacerazioni del protoplasma, non danneggia l'effetto di qualunque colorazione ulteriore. Tutti gli ovari vennero inclusi in *parafina*, furono così pronti per essere sezionati, secondo il metodo comune. Le sezioni furono eseguite tutte per mezzo del « *Mikrotom* » con uno spessore che va dai 10  $\mu$  per gli stadi giovani fino ai 50  $\mu$  per gli stadi ultimi dello sviluppo dell'embrione.

Come colorazioni si impiegarono, con buon successo: *l'ematossilina secondo Delafield*, più *eosina* oppure *saffranina*, *l'ematossilina ferrica dell' H e i d e n h a i n*, *la triplice colorazione saffranina-genziana-orange*, come pure la nuova colorazione *Nucplascol (Plurichrom)*.

Tutti i preparati vennero rinchiusi nel *balsamo del Canadà*.

### III. - I rapporti di fertilità nelle varietà esperimentate in *Tulipa Gesn.*

#### A) Esperienze di prova dell'anno 1933.

Sull'origine e la composizione del materiale impiegato nell'anno 1933 si riferì già a pag. 19.

Questa coltura fu praticata allo scopo di ottenere un abbondante materiale per le ricerche citologiche-embriologiche di questa pianta.

Le quattro varietà di questi individui vennero allevate, in aiuole separate, l'una dall'altra, di modo che tanto l'impollinazione autogama quanto quella allogama presentavano lo stesso grado di possibilità.

Gli ovari di quasi tutti gli individui si svilupparono normalmente fino al giorno dell'antesi e misuravano dai 2 ai 2,5 cm., a secondo della varietà. Questa lunghezza degli ovari aumentava ancora alquanto, durante dieci giorni, dopo l'antesi. Da questo momento in poi, quasi tutti gli ovari oltre a non mostrare un aumento del loro volume cominciavano ad appasire, a raggrinzarsi e finivano col degenerare. Dopo quaranta giorni circa, l'ovario si componeva dei soli tre carpelli, completamente degenerati e secchi, che contenevano nel loro interno i semi pure completamente secchi. Dai numerosi individui i cui fiori non vennero fisiati, noi potemmo ottenere non più di una quindicina di frutti maturi, che contenevano però un piccolissimo numero di semi abboniti.

Da queste esperienze non risulta però se i pochi frutti ottenuti abbiano origine da un'impollinazione autogama oppure da un'impollinazione allogama.

Un fatto più volte osservato è quello che *Tulipa Gesn.*, nonostante il denso e spiccatò colore dei suoi petali, è molto raramente visitata da insetti, ciò che ha per conseguenza una scarsa possibilità di impollinazione allogama.

E così si confermava ancora una volta lo scarso grado di fertilità di *Tulipa Gesn.* di modo che un esame, a questo riguardo, si rendeva necessario.

**B) Esperienze con le 5 varietà, importate direttamente dalle colture olandesi.**

Esperienze dell'anno 1934.

Lo studio atto a chiarire il debole grado di fertilità della pianta in questione doveva effettuarsi, praticando in e tra le diverse varietà di cui è ricco il genere *Tulipa Gesn.*, alcune impollinazioni artificiali. Cinque varietà diverse vennero quindi ottenute da colture olandesi; sulla loro composizione, sul modo di coltura, ecc. venne già riferito a pp. 19 - 20. Le impollinazioni che si rendevano possibili erano le seguenti: l'impollinazione autogama, quella xenogama e quella allogama. Come queste impollinazioni vennero ripartite nelle diverse varietà risulta dalla tabella seguente:

Tabella N. 1.

*Ripartizioni delle impollinazioni nelle diverse varietà*

Varietà	Impollinazione autogama	Impollinazione xenogama	Impollinazione allogama
VII	17 individui	14 individui	♀ VII $\times$ ♂ IX 15 individui ♀ VII $\times$ ♂ XI 11 »
VIII	15 »	13 »	♀ VIII $\times$ ♂ IV 16 » ♀ VIII $\times$ ♂ X 13 »
IX	10 »	11 »	♀ IX $\times$ ♂ VII 15 » ♀ IX $\times$ ♂ XI 12 »
X	16 »	17 »	♀ X $\times$ ♂ IV 16 »
XI	14 »	11 »	♀ XI $\times$ ♂ IX 14 » ♀ XI $\times$ ♂ X 11 »

Sulla tecnica delle impollinazioni e sul modo di isolamento venne già riferito nell'introduzione a pag. 21. Gli individui così impollinati non furono più sottoposti ad alcun trattamento speciale. Dal giorno dell'impollinazione alla completa maturazione dei semi, trascorse un periodo di tempo press'a poco uguale per tutte le varietà.

Gli individui della varietà *Pink Beauty* vennero impollinati il giorno 17 aprile, i loro frutti raccolti il 30 giugno;

trascorse quindi un periodo di tempo di 74 giorni. Gli individui della varietà *Mercurius* diedero frutti maturi 79 giorni dopo la loro impollinazione. *City of Haarlem* solo dopo 81 giorni, *Tulipe noire* e *Louis XIV* dopo 82 giorni. Si ritenne il frutto maturo, quando i suoi carpelli, completamente secchi, cominciavano ad aprirsi nella loro parte superiore, allo stimma cioè, e mostravano all'interno il loro contenuto. I frutti vennero divisi secondo il loro contenuto, e cioè in frutti con semi e in frutti vuoti.

Già fin dal giorno della raccolta, esisteva una netta differenza tra i frutti ottenuti dalla impollinazione autogama e xenogama e quelli ottenuti dall'impollinazione allogama. Mentre le prime impollinazioni avevano dato solamente quasi frutti vuoti, la seconda dava frutti sviluppati rigogliosamente e con semi. I primi erano completamente secchi; la loro lunghezza non era mai maggiore di 2,5 cm., mentre i secondi, oltre ad avere un ricco contenuto, possedevano un volume molto rilevante: alcuni frutti raggiungevano una lunghezza di 10 cm. ed una larghezza di 3,5 cm.

Il contenuto di ogni frutto venne poi esaminato e classificato in laboratorio.

I frutti ottenuti dall'impollinazione autogama erano veramente vuoti, come pure quelli ottenuti dall'impollinazione xenogama. Non esisteva differenza fra i frutti di queste due impollinazioni. Tutti i frutti contenevano nel loro interno semi non abboniti, di un minimo spessore, dall'aspetto quasi trasparente, evidente risultato di un sacco andato a male circondato ancora dai suoi integumenti. Pochissimi frutti contenevano alcuni semi abboniti, sull'origine dei quali verrà riferito più tardi.

Altro aspetto presentava invece il contenuto dei frutti ottenuti dall'impollinazione allogama, i cui semi, piuttosto abbondanti, vennero divisi in due categorie:

- 1) *semi abboniti* (tav. 1, fig. 4),
- 2) *semi non abboniti* (tav. 1, fig. 5).

I semi abboniti constano di uno strato sottile color marrone e di un piccolo embrione cilindrico, situato in corrispondenza dell'ilo, immerso in una massa cornea di riserva. I semi non abboniti, simili a quelli ottenuti nei frutti dell'impollinazione auto-xenogama, si trovano in maggior quantità nella parte superiore e in quella inferiore del frutto, mentre quelli abboniti, intercalati di tanto in tanto, quasi a mo' di cuscinetto, da semi non abboniti, si trovano invece in grande quantità nella parte media del frutto.

**1. I diversi gradi di fertilità delle impollinazioni autogame, xenogame ed allogame.**

Da un esatto calcolo dei semi abboniti e dei frutti ottenuti dalle diverse impollinazioni ci fu possibile compilare la tabella seguente:

Tabella N. 2.

*Risultati ottenuti dall' impollinazioni autogame, xenogame ed allogame*

Impollinazioni		Numero delle impollinazioni	Frutti contenenti semi	Numero dei semi abboniti	Frutti contenenti semi in % delle impollinaz.	Media dei semi		Quozienti di fertilità			
♀	♂					per frutto	per impollin.	I	II	III	Media
VII	VII	31	3	77	9,6	25	2,5	10,4	15	152	59,1
VII	IX	15	15	2981	100	199	199	1	1,9	1,9	1,6
VII	XI	11	11	2357	100	214	214	1	1,7	1,7	1,5
VIII	VIII	28	3	45	10,7	15	1,6	9,3	25	237	90,4
VIII	IV	16	15	1536	94	102	96	1,06	3,7	3,9	2,9
VIII	X	13	13	1472	100	115	115	1	3,3	3,3	2,5
IX	IX	21	4	616	19	154	29	5,3	2,4	13	7
IX	VII	15	14	3278	93	234	218	1,07	1,6	1,7	1,5
IX	XI	12	11	2278	92	207	189	1,09	1,8	2	1,6
X	X	33	0	0	0	0	0	∞	∞	∞	∞
X	IV	16	16	6080	100	380	380	1	1	1	1
XI	XI	25	5	40	20	8	1,6	5	47,5	237	96,5
XI	X	11	11	3838	100	349	349	1	1,09	1,09	1,06
XI	IX	14	14	5320	100	380	380	1	1	1	1
<i>Risultati riassuntivi dell' impollinazione allogama, confrontati con quella auto-xenogama</i>											
<b>Allogama</b>		123	120	29140	98	242	238	1,02	1,89	1,95	1,62
<b>Auto-xenogama</b>		138	15	778	12	40	7	6	22,5	159	62,5

In questa tabella è indicato, nella prima colonna, il modo di impollinazione; e cioè l'impollinazione autogama e quella xenogama vennero prese insieme, perchè i risultati non mostrarono alcuna differenza tra di loro. La citazione ♀ VII  $\times$  ♂ VII vuol dire quindi individui di *City of Haarlem* impollinati con il polline degli stessi individui e con il polline di individui della stessa varietà, in numero press'a poco uguale. In questo modo risalta anche più chiara la differenza tra l' impollinazione auto-xenogama e quella allo-gama.

Nella seconda colonna è riportato il numero degli individui impollinati, nella terza il numero dei frutti contenenti semi, nella quarta il numero dei semi contenuti nei frutti ottenuti da una data impollinazione, nella quinta viene calcolata la media dei semi contenuti per singolo frutto, e la media dei semi abboniti rispetto agli individui impollinati, nella sesta colonna infine vennero calcolati i quozienti di fertilità (Vedi A. Ernst, 1933, pag. 62-63).

I quozienti di fertilità non sono altro che numeri i quali esprimono, in modo chiaro, sicuro e riassuntivo il grado di fertilità dei singoli incroci.

Si calcolarono tre quozienti di fertilità e cioè:

*Quoziente di fertilità I.*, per la produzione dei frutti.

*Quoziente di fertilità II.*, per la media dei semi prodotti per ogni frutto.

*Quoziente di fertilità III.*, per la media dei semi prodotti per ogni impollinazione.

Un quarto risultato viene dato dalla media di questi tre quozienti.

L'unità di misura presa, uguale a 1, venne data dall'impollinazione più fertile e, nel nostro caso, dall' impollinazione ♀ XI  $\times$  ♂ IX che diede su 14 impollinazioni 14 frutti contenenti semi, cioè il 100 %. La media dei semi per frutto è data da 380 e quella per impollinazione pure da 380.

Per chiarire il modo in cui venne calcolato il quoziente di fertilità sarà bene riportare i risultati dell' impollinazione unità ♀ XI  $\times$  ♂ IX e di un'altra qualunque (Tab. N. 3):

Tabella N. 3.

*Confronto dei risultati ottenuti da un' impollinazione allogama  
con quelli ottenuti da una autogama*

Impollinazione		Numero delle impollinazioni	Frutti contenenti semi	Numero dei semi abboniti	Frutti contenenti semi in % delle impollinaz.	Media dei semi		Quozienti di fertilità			
♀	♂					per frutto	per impollin.	I	II	III	Media
XI	IX	14	14	5320	100	380	380	1	1	1	1
VIII	VIII	28	3	45	10,7	15	1,6	9,3	25	237	90,4

Come si è stabilito, i quozienti di fertilità per l' impollinazione ♀ XI  $\times$  ♂ IX sono uguali a 1. Per trovare il quoziente di fertilità dell' impollinazione ♀ VIII  $\times$  ♂ VIII si usò il seguente procedimento:

$$\text{Quoziente di fertilità I : } \frac{100}{10,7} = 9,3$$

$$\text{Quoziente di fertilità II : } \frac{380}{15} = 25$$

$$\text{Quoziente di fertilità III : } \frac{380}{1,6} = 237$$

$$\text{La loro media : } \frac{9,3 \times 25 \times 237}{3} = 90,4$$

Il più forte grado di fertilità è quindi dato dal valore 1. Quanto più il quoziente si allontana dal valore 1, in senso positivo, tanto più diminuisce il grado di fertilità.

Ciò premesso, si rende utile un confronto fra i risultati ottenuti dall'impollinazione auto-xenogama con quelli ottenuti dall' impollinazione allogama ed una piccola discussione sui singoli risultati raccolti nella Tabella N. 2.

L'impollinazione auto-xenogama venne praticata su 138 individui dai quali si ottennero solo 15 frutti contenenti semi abboniti; la raccolta dava cioè solo il 12 %. Dai pochi frutti maturati si poteva raccogliere un numero molto esiguo di semi abboniti; i 15 frutti maturati davano cioè solo 778

semi con una media di 40 semi per frutto maturato ed una media molto più bassa, di 7 semi, in rapporto con il numero delle impollinazioni.

La raccolta dei frutti ottenuti dall' impollinazione allogama dava invece altri risultati e cioè: da 123 impollinazioni si ottenevano 120 frutti maturi contenenti 29140 semi abbonditi con una media di 242 semi per ogni frutto maturato, e di 238, quale media in rapporto con le impollinazioni eseguite. L'impollinazione allogama dava il 98 % dei frutti contenenti semi, percentuale molto elevata, in confronto di quella ottenuta dall'impollinazione autozenogama (12 %).

La differenza tra i due modi di impollinazione risulta ancora più chiara dalla media dei quozienti di fertilità, e cioè mentre l'impollinazione allogama dava il risultato 1,62, valore che si allontana di sole 0,62 frazioni del valore base, l'impollinazione auto-xenogama è rappresentata da una cifra molto più alta, da 62,5 unità.

Sulla base di questi risultati si può dire che il grado di fertilità causato dall'impollinazione auto - xenogama è 39 volte minore di quello causato dall'impollinazione allogama.

I rapporti totali suddetti rispecchiano in modo quasi identico quelli che corrono tra le due impollinazioni nelle singole varietà. Giovà però far rimarcare alcuni valori che risultano da uno sguardo sulla tabella N. 2.

a) Mentre la maggior parte delle impollinazioni allogame dava il 100 % dei frutti contenenti semi in rapporto con l'impollinazioni praticate, l'impollinazione ♀ VIII × ♂ IV dava su 16 impollinazioni 15 frutti contenenti semi; quella ♀ IX × ♂ VII su 15 impollinazioni, 14 frutti; e quella ♀ IX × ♂ XI su 12 impollinazioni, 11 frutti. La causa per cui questi tre ovari non siano pervenuti ad una maturazione non va ricercata in una debolezza di fertilità delle varietà in questione, bensì in una qualsiasi malattia dell'individuo o dell'ovario stesso, intervenuta nel periodo dello sviluppo. Tenuto calcolo di questo fatto la percentuale dei frutti contenenti semi in rapporto alle impollinazioni allogame pratiche, va elevata da 98 a 100.

b) La media dei semi abboniti, per frutto, varia da 380 per la varietà più fertile, a 102 per quella meno fertile. Che non tutte le varietà abbiano lo stesso grado di fertilità è naturalissimo; probabile è però anche, che ad aumentare questa forza produttiva sia intervenuto il fatto che il polline adoperato nelle diverse impollinazioni sia stato troppo giovane o già troppo vecchio; incapace quindi a causare una fecondazione di tutti gli ovuli contenuti nell'ovario.

c) Un terzo fatto di maggiore importanza è la presenza di frutti, contenenti semi, ottenuti da impollinazioni auto-xenogame. A primo avviso si avrebbe potuto, considerando i risultati ottenuti da quest'ultima impollinazione, classificare, seguendo la terminologia di F. B r i e g e r 1930, *Tulipa Gesn.* tra le piante che mostrano una « *unwollkommene Sterilität* ». Un esame attento del raccolto delle singole varietà faceva però nascere il dubbio seguente: mentre la maggior parte dei frutti erano completamente secchi e mostravano nessun contenuto, alcuni invece si erano sviluppati e contenevano qualche seme abbonito (Vedi tabella N. 4). Il raccolto della stessa impollinazione si poteva così dividere in due categorie distinte: in quella cioè dei frutti completamente secchi e privi di semi abboniti e in quella dei frutti poveramente sviluppati e contenenti uno scarso numero di semi abboniti.

Queste prime osservazioni ci fecero nascere il dubbio che alla formazione di questi frutti abbia concorso una involontaria impollinazione allogama. E' possibile che, nonostante le nostre numerose cautele, una piccola quantità di polline estraneo sia giunta, sia al momento stesso dell' impollinazione artificiale, sia dopo di essa, sullo stimma delle piante in questione. Crediamo di poter documentare questo nostro dubbio con la tabella seguente, nella quale vengono riportati i risultati dell' impollinazione auto-xenogama nelle singole varietà :

Tabella N. 4.  
*Risultati ottenuti dalle impollinazioni auto-xenogame*

Impollinazione		Numero delle piante impollinate	Frutti		Semi abboniti	Impollinazione		Numero delle piante impollinate	Frutti		Semi abboniti
♀	♂		vuoti	sviluppati		♀	♂		vuoti	sviluppati	
VII	VII	1	—	1	20	VIII	VIII	1	—	1	16
		2	—	1	35			2	—	1	11
		3	—	1	22			3	—	1	18
		4-31	28	—	—			4-28	25	—	—
IX	IX	1	—	1	120	XI	XI	1	—	1	12
		2	—	1	196			2	—	1	6
		3	—	1	51			3	—	1	8
		4	—	1	249			4	—	1	10
		5-21	17	—	—			5	—	1	4
								6-25	20	—	—
X	X	1-33	33	—	—						

Da questa tabella si rileva che le singole varietà presentano un risultato più o meno identico, vale a dire un forte gruppo di frutti non sviluppati e un debole gruppo di frutti sviluppati. Il numero dei semi abboniti nei pochi frutti sviluppati è piccolissimo, in confronto alla media ottenuta nei frutti dell'impollinazione allogama. Importante è però il risultato ottenuto nella varietà « *Tulipe noire* » e « *Mercurius* »; nella prima, i frutti sviluppati contenevano un numero abbastanza forte di semi che variava da 51 a 249; nella seconda non si otteneva un solo frutto su 33 impollinazioni praticate. Ciò si spiega tenendo calcolo delle condizioni in cui queste due varietà venivano impollinate. Gli individui della varietà « *Tulipe noire* » si aprivano il giorno 1.º maggio e venivano impollinati il giorno 4 maggio. Nei tre giorni occorsi tra l'antesi e la impollinazione, gli individui si erano impollinati in nu-

mero assai forte, di modo che ci fu difficile trovare 21 individui il cui stimma si trovasse apparentemente privo di polline. Su questi 21 individui venne praticata l'impollinazione auto-xenogama ed è ora probabile che i frutti sviluppati siano nati da ovari il cui stimma, nonostante il nostro controllo, sia stato in anticipo visitato da polline straniero. Il fatto contrario mostra invece il risultato ottenuto dall'impollinazione auto-xenogama nella varietà « *Mercurius* ». Questa varietà, infatti, apriva i suoi fiori il giorno 18 aprile, quando i fiori di « *Pink Beauty* » non possedevano più polline atto a fecondare, ed i fiori delle altre varietà erano ancora completamente chiusi. Nei giorni della antesi di « *Pink Beauty* » un'impollinazione allogama si rendeva impossibile; eliminata quindi la possibilità di una eventuale impollinazione allogama, l'impollinazione auto-xenogama praticata sugli individui della varietà « *Mercurius* » dava il miglior risultato: da 33 impollinazioni non si otteneva nessun frutto sviluppato che contenesse semi abboniti.

Da questi due fatti risulta che i pochi frutti poveramente sviluppati e provvisti di semi abboniti, ottenuti nelle diverse impollinazioni auto-xenogame sono nati dall'effetto prodotto da una scarsa quantità di polline straniero caduto sullo stimma degli ovari in questione.

L'impollinazione auto-xenogama in *Tulipa Gesn.* sarebbe quindi da ritenere completamente sterile, ciò che venne ancora dimostrato in modo più categorico dalle esperienze praticate nella primavera dell'anno 1935, e su cui verrà più tardi riferito.

#### Esperienze dell'anno 1935.

Allo scopo di controllare le impollinazioni eseguite nell'anno 1934 si rendeva necessaria un'ultima prova.

Questo controllo venne eseguito basandosi sulle esperienze acquistate nelle colture praticate l'anno precedente. Il primo punto da chiarire era di sapere se i frutti, scarsamente sviluppati e con pochi semi, presumibilmente prodotti dalle impollinazioni auto-xenogame, fossero invece l'effetto di una impollinazione allogama.

Ma nasceva un altro dubbio: si sa che diverse impollinazioni auto-xenogame ritenute completamente sterili, si possono rendere fertili praticando, durante o prima della impollinazione, piccole cicatrici nello stimma. Lo stimma così ferito emana probabilmente delle sostanze che permet-

tono al polline di svilupparsi e di penetrare nell'interno dell'ovario e di provocare una fecondazione. Anche questo fatto doveva essere esperimentato.

Nella primavera dell'anno 1935, fu quindi nostra cura, di praticare sugli stessi individui dell'anno precedente, impollinazioni di controllo. I nostri dubbi si estendevano solo all'impollinazione auto-xenogama, ma a scopo di controllo si praticarono anche delle impollinazioni allogame. Il procedimento da noi seguito risulta dalla tabella seguente N. 5.

Tabella N. 5.

*Impollinazioni eseguite nell'anno 1935*

Impollinazione		Stato dello stimma	Numero delle im- pollinaz.	Giorno dell' isolamento	Giorno dell' antesi	Giorno de impollinazione
♀	♂					
VII	VII	non ferito	15	4.V.35	7.V.35	9.V.35
VII	VII	ferito	15	4.V.35	7.V.35	9.V.35
VII	XI		87		7.V.35	9.V.35
X	X	non ferito	10	27.IV.35	1.V.35	2.V.35
X	X	ferito	10	27.IV.35	1.V.35	2.V.35
X	VII		47		1.V.35	5.V.35
X	IX		28		1.V.35	5.V.35
XI	XI	non ferito	10	5.V.35	8.V.35	10.V.35
XI	XI	ferito	10	5.V.35	8.V.35	10.V.35
XI	IX		35		8.V.35	10.V.35
XI	VII		17		8.V.35	10.V.35

Dalla tabella precedente N. 5 risulta che vennero praticate tre generi di impollinazioni e cioè: impollinazione auto-xenogama su stimma intatto, impollinazione auto-xenogama su stimma ferito e impollinazione allogama.

Il numero delle impollinazioni auto-xenogame non venne aumentato in confronto di quello dell'anno precedente; aumentate però furono le cautele per impedire una

possibile impollinazione allogama. Ogni individuo destinato ad una impollinazione auto-xenogama fu rinchiuso, alcuni giorni prima della sua antesi, in sacchetti di carta isolante, trasparente e leggerissima. Alcuni giorni dopo l'antesi, venivano tolti i sacchetti di carta e contemporaneamente si eseguiva l'impollinazione stabilita. L'individuo così impollinato veniva di nuovo isolato.

L'impollinazione auto-xenogama venne praticata oltre che su individui dallo stimma intatto anche su altri, dallo stimma leso con opportune incisioni. I risultati ottenuti sono riportati nella seguente tabella N. 6:

Tabella N. 6.  
*Risultati ottenuti dalle impollinazioni praticate  
nell' anno 1935*

Impollinazione		Numero delle impollinazioni	Frutti contenenti semi	Numero dei semi abboniti	Frutti contenenti semi in % delle impollinaz.	Media dei semi		Quozienti di fertilità			
♀	♂					per frutto	per impollinazione	I	II	III	Media
VII	VII	15	0	0	0	0	0	∞	∞	∞	∞
VII	VII	15	0	0	0	0	0	∞	∞	∞	∞
VII	XI	87	87		100	250	250				
X	X	10	0	0	0	0	0	∞	∞	∞	∞
X	X	10	0	0	0	0	0	∞	∞	∞	∞
X	VII	47	47		100	357	357				
X	IX	28	28		100	390	390				
XI	XI	10	0	0	0	0	0	∞	∞	∞	∞
XI	XI	10	0	0	0	0	0	∞	∞	∞	∞
XI	IX	35	35		100	365	365				
XI	VII	17	17		100	400	400				

Questa tabella N. 6, venne compilata con lo stesso metodo col quale fu compilata la tabella N. 2. Da essa risulta che l'impollinazione allogama diede risultati analoghi a

quelli ottenuti dalle impollinazioni allogame praticate nell'anno precedente e riportati nella tabella N. 2.

I risultati dell'impollinazione auto-xenogama sono pure soddisfacenti. Essi dimostrano chiaramente l'errore incorso, quando praticammo queste impollinazioni nell'anno 1934, come risulta anche dai nostri dubbi espressi a pag. 29. Nessuna differenza, di grado di fertilità, corre infine, fra individui dallo stimma intatto e quelli dallo stimma ferito. Un ferimento dello stimma è da considerarsi incapace di aumentare il grado di fertilità dell'impollinazione auto-xenogama ed è quindi inutile.

#### Conclusione :

Gli individui delle diverse varietà di *Tulipa Gesn.* si comportano completamente *ferti* se impollinati con polline proveniente da individui di varietà diversa (*impollinazione allogama*), completamente *sterili* se impollinati con polline proprio o con polline della stessa varietà (*impollinazione auto-xenogama*).

Secondo la terminologia di F. B r i e g e r (1930 pagina 1), *Tulipa Gesn.* è da classificare come una pianta *completamente parasterile* (vollkommene Parasterilität).

#### 2. Sviluppo del pistillo dopo l'impollinazione.

Si constata l'effetto delle diverse impollinazioni osservando la crescita dei carpelli dei pistilli impollinati. A questo scopo vennero eseguite misurazioni, a diversi intervalli l'una dall'altra, si misurò cioè la distanza che corre dalla base di inserzione dell'ovario sulla parte superiore dell'asse fioreale, fino allo stimma, questo compreso.

La prima misurazione venne praticata il giorno stesso dell'impollinazione, la seconda 20 giorni dopo, la terza 40 giorni dopo e la quarta il giorno stesso della raccolta dei frutti maturi. Queste misurazioni diedero un'idea di massima sul comportamento dell'ovario durante il suo sviluppo postfloreale. I valori furono calcolati prendendo la media aritmetica della lunghezza degli ovari di 20 individui circa; queste medie danno la lunghezza degli ovari in un dato periodo di sviluppo. La tabella seguente rappresenta chiaramente l'effetto differente delle varie impollinazioni:

Impollinazione		1 <sup>o</sup> giorno	Dopo 20 giorni	Dopo 40 giorni	Giorno della raccolta	Impollinazione		1 <sup>o</sup> giorno	Dopo 20 giorni	Dopo 40 giorni	Giorno della raccolta
♀	♂					♀	♂				
<b>1. City of Haarlem</b>		cm.	cm.	cm.	cm.	<b>3. Tulipe noire</b>		cm.	cm.	cm.	cm.
VII	XI	2	6	6.9	6.2	IX	VII	2	5.8	6.7	6.5
VII	IX	2	5.9	6.8	5.9	IX	XI	2	5.5	6.8	6.8
<i>xenogama</i>		2	3.7	3	2.6	<i>xenogama</i>		2	4	3.4	3
<i>autogama</i>		2	3.7	2.9	2.9	<i>autogama</i>		2	4.5	3.8	3.4
<b>2. Pink Beauty</b>						<b>4. Louis XIV</b>					
VIII	X	2	5.5	6.6	6.3	XI	IX	3	7.2	9.	8
VIII	IV	2	5.3	6.3	6	XI	X	3	7.2	9.2	8.7
<i>xenogama</i>		2	3.8	3	2.6	<i>xenogama</i>		3	4.5	4.3	3.2
<i>autogama</i>		2	3.8	3	2.6	<i>autogama</i>		3	4.6	4.4	3.1
<b>5. Mercurius</b>											
X	IV	2.5	6.4	7.4	6.8						
<i>xenogama</i>		2.5	4.1	3.6	3						
<i>autogama</i>		2.5	4.1	3.2	2.5						

Tabella N. 7.  
*Misurazioni dei pistilli  
dopo le diverse impollinazioni*

Da uno sguardo alla tabella precedente risulta che tutte le impollinazioni allogame, nelle diverse varietà, hanno un effetto analogo, molto diverso però da quello ottenuto dalle impollinazioni auto-xenogame. Considerando, per esempio, i risultati ottenuti per la varietà *Pink Beauty* si vede che gli ovari avevano al giorno della loro impollinazione una lunghezza di 2 cm.; lo stesso si può dire degli individui delle altre varietà. Alla seconda misurazione, gli ovari impollinati con polline straniero aumentavano di circa 2,5 cm., mentre quelli xenogami ed autogami aumentavano di soli 1,8 cm. Alla terza misurazione, dopo 40 giorni, gli ovari allogami crescevano ancora, misurando 6,6 e 6,3 cm.; un aumento dunque di 1,1 e 1 cm, dalla seconda misurazione,

mentre gli altri ovari impollinati nel modo auto-xenogamo mostravano già una diminuzione di 0,8 cm. della loro lunghezza. Al giorno della loro raccolta, l'impollinazione allogama dava degli ovari che misuravano in media 6,3 cm. e 6 cm., ovari che erano diminuiti di 0,3 cm. in lunghezza dal giorno della terza misurazione. Gli ovari delle impollinazioni auto-xenogame erano pure diminuiti di lunghezza, in modo però molto più pronunciato di quelli allogami, perché misuravano solo 2,6 cm.

La grande differenza dei frutti ottenuti dalle diverse impollinazioni non consisteva solo nella diversità delle loro lunghezze, ma anche nella diversità del loro diametro; i frutti ottenuti dalle impollinazioni allogame avevano un diametro medio di 2,5 cm., quelli ottenuti dalle impollinazioni auto-xenogame non misuravano oltre 0,9 cm. Per di più, i frutti ottenuti dalle impollinazioni autogame non mostravano nessuna differenza da quelli ottenuti dalle impollinazioni auto-xenogame: ambedue erano dissecati e completamente privi di semi; gli altri invece, ottenuti dalle impollinazioni allogame, contenevano evidentemente grandi quantità di semi. Le dimensioni e le caratteristiche dei frutti sopradetti sono riprodotte nelle figg. 1, 2, 3, della tav. 1.

Le misurazioni ottenute per le altre varietà sono analoghe a quelle sopra discusse a proposito di *Pink Beauty*. Una nuova discussione si rende quindi inutile.

Ciò che si può ancora aggiungere è che gli ovari impollinati con polline straniero raggiungono il loro massimo sviluppo dopo 40 giorni circa dalla loro impollinazione; dopo questo periodo non crescono più, anzi diminuiscono alquanto di volume. Le impollinazioni auto-xenogame danno invece ovari che raggiungono il loro massimo volume (sempre, però inferiore a quello ottenuto dalle impollinazioni allogame) dopo 20 giorni.

#### IV. - Sviluppo del sacco embrionale

##### 1. La cellula archesporiale e la sua divisione.

Negli abbozzi ovulari contenuti in ovari di una lunghezza di cm. 1,5 - 1,8 si scorge entro le cellule subepidermali, all'apice della nocella, la cellula archesporiale, (tavola 2, fig. 1). Essa sorpassa nelle sue dimensioni di molto le cellule circostanti della nocella, misurando la prima un diametro medio di 30,8  $\mu$  e le seconde di 14  $\mu$ . Anche il

suo nucleo supera in grossezza le dimensioni dei nuclei nocellari. La cellula archesporiale si differenzia dalle cellule circostanti oltre che per il suo volume, anche per la struttura speciale del suo protoplasma.

Il suo nucleo di forma arrotondata mostra un reticolato di finissimi fili di lignina, fra i quali sono sparsi numerosi corpuscoli cromatici. Tipica è pure la formazione di due o tre nucleoli i quali mancano nei nuclei delle cellule vegetative. I nucleoli si colorano con la saffranina di un bel rosso intenso.

Il citoplasma lascia scorgere una struttura fibrillare a reticolato. Non ci fu possibile constatare le tipiche strutture descritte da D. M. Mottier per *Lilium Martagon*, (1898). In questo stadio non ci fu pure concesso di vedere « die grossen, sich violett färbenden, kugelförmigen Körper » descritti da J. Schneid - Thies, (1901).

La cellula archesporiale comincia a crescere nella parte inferiore dell'ovolo, assumendo così una forma più o meno ovale. Il nucleo si sposta, il più delle volte, verso la metà della cellula; altre volte resta al suo posto primitivo. Dal momento in cui la cellula madre ha cominciato il suo ingrossamento, schiacciando, in parte, le cellule nocellari circostanti, anche il nucleo subisce dei cambiamenti. Giova a questo punto ricordare che la cellula archesporiale diventa direttamente cellula madre del sacco embrionale, come fu già riconosciuto da diversi autori che studiarono lo sviluppo del sacco embrionale di *Tulipa Gesn.* I cambiamenti della struttura nucleare sono da considerarsi quali preparativi per la divisione riduzionale. I corpuscoli cromatici irregolarmente sparsi, fino ad ora, nel nucleo cominciano ad ordinarsi in sottilissimi fili che riempiono, a mezzo di numerosi e complicati intrecci, il nucleo intero. Questi intrecci, da principio, sottilissimi, vanno di mano in mano ingrossandosi, in quanto che i corpuscoli cromatici appiccicandosi ai fili di lignina si uniscono tra di loro, formano quasi piccoli agglomerati: il sottilissimo filo prende così una maggiore consistenza e l'insieme assume l'aspetto di una minuta collana, (tav. 2, fig. 2). A questo punto, i fili cromatici si contraggono verso una parte del nucleo, (tav. 2, fig. 3) e formano un gomitolo; questo stadio è conosciuto sotto il nome di sinapsis, (tav. 2, fig. 4). J. Schneid - Thies (1901) che descrisse la meiosi in *Tulipa Gesn.* non fa cenno di questo stadio. Il nucleolo, nel quale si incominciano a scorgere piccoli vacuoli, solitamente si confonde nel gomi-

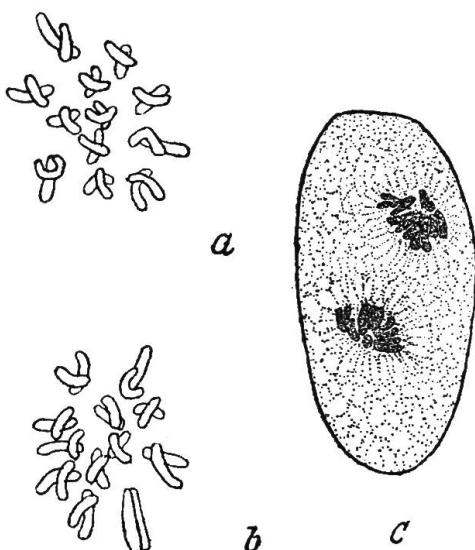
tolo. Probabilmente in questo stadio se non si compie la separazione longitudinale della sostanza cromatica, essa è per lo meno preparata, di modo che lo studio successivo si presenta come nella tav. 2, fig. 5. I corpuscoli cromatici formanti la minuziosa collana si sono separati su tutta la lunghezza del filo e in seguito alla divisione della sostanza lignosa appaiono due fili che corrono parallelamente e riempiono di nuovo gran parte del nucleo. I nucleoli sono ancora presenti e si trovano nuovamente spostati verso il centro del nucleo. Nelle immediate vicinanze dei nucleoli, i fili cromatici sembrano essere più numerosi. Segue quindi la segmentazione trasversale dei fili cromatici: i singoli pezzi che ne risultano si intrecciano tra di loro, assumendo le tipiche forme a X, Y e V. Essi si dispongono, il più delle volte, intorno al nucleolo, che ora contiene un certo numero di vacuoli e si lascia colorare dalla eosina o dalla saffranina molto più debolmente, a mo' di raggi diretti verso la membrana nucleare (tav. 2, fig. 6).

I singoli cromosomi, mantenendo in parte le forme sopra descritte, in parte disponendosi parallelamente l'uno all'altro, si raccorcianno, aumentano così di spessore e assumono un contorno regolare (tav. 2, fig. 7). I vacuoli del nucleolo aumentano di numero e di volume contrariamente all'opinione di P. Cattorini (1914), che afferma di non aver potuto osservare la loro esistenza nei nucleoli della cellula madre del sacco embrionale di *Tulipa Gesn.* Questi vacuoli aumentano sempre di volume, di modo che il nucleolo si presenta ulteriormente come una sfera vuota il cui contorno viene facilmente sciolto. Negli stadi successivi non si ha più traccia alcuna di nucleoli. La membrana nucleare si scioglie pure completamente e nello spazio precedentemente delimitato appaiono i singoli gemini disposti nella tipica forma della piastra equatoriale. Il numero dei gemini è sicuramente eguale a quello della maggior parte delle *Gigliacee*, di 12.

I singoli gemini sono formati dai due cromosomi che ora si sono disposti quasi indistintamente paralleli tra di loro (tav. 2, fig. 8).

Le fibrille cinoplasmatiche, formatesi da poco tempo, si dispongono in un fuso bipolare dirigendosi, in parte, verso la piastra equatoriale, dove afferrano i singoli cromosomi, li staccano l'uno dall'altro e li trasportano in numero uguale verso i due poli diametralmente opposti.

Immediatamente dopo lo stadio di diacinesi, i cromosomi si accingono alla separazione longitudinale di modo che, a mezza strada circa, tra la piastra equatoriale, da essi stessi poco prima formata, e un polo, si possono vedere i singoli cromosomi di nuovo divisi longitudinalmente e formanti le tipiche forme a X, Y e V già sopra osservate, (tavola 2, fig. 9 e ripr. 1 a - b).



Ripr. 1. - a) Cromosomi della divisione omeotipica in anafase, che si dirigono già longitudinalmente scissi, mostrando le tipiche forme a croce, verso il polo superiore; b) Idem. I cromosomi si dirigono verso il polo inferiore. Ingr. 1500 : 1; c) I cromosomi della divisione omeotipica sono giunti ai due poli e si dispongono parallelamente l'uno all'altro. Ingr. 660 : 1.

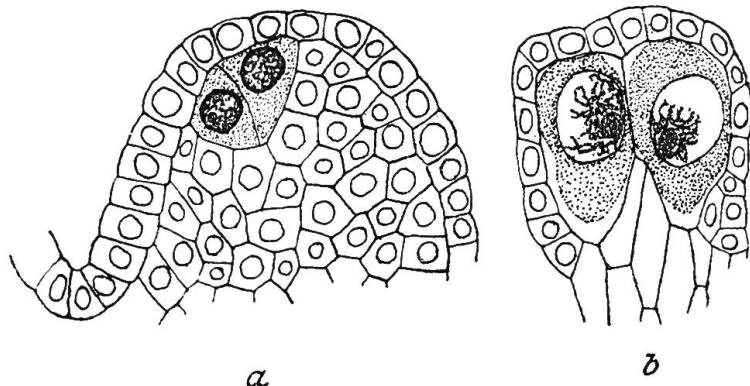
Tra lo stadio di diaster a quello di dispirema, i 12 cromosomi si dispongono di nuovo parallelamente l'uno all'altro ed entrano in istretto contatto (ripr. 1 c).

\* \* \*

Prima di chiudere questo capitolo vogliamo descrivere alcune anomalie osservate, esaminando questi giovani stadi:

Generalmente, come si disse sopra, una sola cellula sottoepidermica dell'apice nocellare diventa cellula madre del sacco embrionale. Nella ripr. 2 a vediamo invece nettamente come due cellule sottoepidermiche si siano di molto ingrossate unitamente al loro nucleo; vediamo pure che esse posseggono un denso citoplasma e che mostrano i caratteri tipici i quali differenziano le cellule archesporiali dalle cel-

lule nucellari. Questo stadio ci si è mostrato raramente, come del resto, accade per il loro successivo sviluppo.



Ripr. 2. - a) Abbozzo ovulare con due cellule archesporiali; b) Le due cellule archesporiali in istadio di sinapsis. Ingr. 400:1.

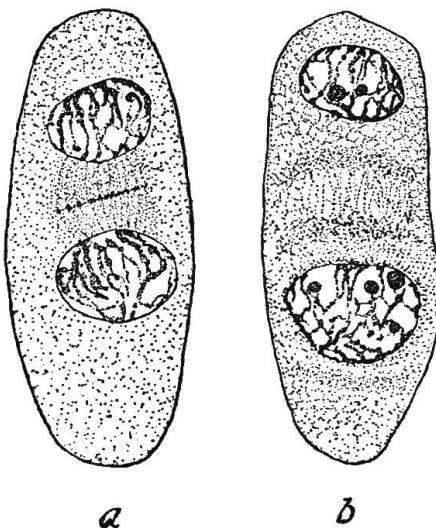
Nella ripr. 2 b si vedono le due cellule sopra dette, in uno stadio di sinapsi. Il loro contenuto mostra però un leggero stato di degenerazione. Non crediamo che queste due cellule giungano ad uno stadio adulto, anzi crediamo probabile che vadano a male già avanti la prima divisione, non avendole mai riscontrate in stadi successivi.

## 2. Il sacco embrionale due-nucleato e la successiva divisione omeotipica.

Nella anafase della divisione eterotipica, i cromosomi si sciolgono in fili cromatici sempre più fini e presentano le stesse figure già osservate nel nucleo archesporiale, immediatamente prima dello stadio di sinapsi. I nucleoli si presentano in numero variante da uno a quattro. I nuclei gemelli sono immersi in un citoplasma molto denso e sono uniti tra di loro da fibrille cinoplasmatiche. Un fragmoplasta ben distinto è quasi sempre presente, (ripr. 3 a). I nuclei gemelli si spostano l'uno dall'altro, dirigendosi, l'uno, verso il micropilo, l'altro, verso la regione calazale. Le fibrille cinoplasmatiche ed il fragmoplasta scompaiono ben presto. Il citoplasma che si trova tra i due nuclei è abbastanza rarefatto, la formazione di un vacuolo non si è mai verificata (tav. 2, fig. 10). In alcuni casi abbiamo potuto osservare un debole aumento di volume del nucleo alla calaza (ripr. 3 b) come fu già osservato da diversi autori.

Sebbene si constati la formazione di nucleoli e di una membrana nucleare ben distinta, i due nuclei gemelli non

trascorrono, contrariamente a ciò che afferma J. Schneidewind - Thies (1901), un periodo di pausa relativamente lungo, ma si accingono ben presto alla divisione omeot-



Ripr. 3. - a) Sacco embrionario due-nucleato. Formazione di un fragmoplasta tra i due nuclei megasporiali; b) Sacco embrionario due-nucleato. Il nucleo inferiore mostra un leggero aumento del suo volume. Formazione di zone con citoplasma di maggiore densità nelle vicinanze dei due nuclei. Ingr. 660 : 1.

pica. Essi non hanno infatti mai mostrato un tipico stadio di riposo. Nelle vicinanze dei due nuclei, il citoplasma si congloba e forma delle zone molto dense che si lasciano pure intensamente colorare (ripr. 3 b). Poco dopo, i fili cromatici dei due nuclei si ingrossano, si accorciano, la membrana nucleare scompare, scompaiono pure i nucleoli, ed i due nuclei si preparano alla divisione (tav. 2, fig 11). In questo stadio appaiono, sparsi nel citoplasma che ancora non presenta nessun vacuolo, numerosi corpuscoli che si lasciavano colorare fortemente in nero dalla *Ematossilina* di Heidenhain. Noi crediamo di vedere in queste formazioni i corpuscoli citoplasmatici descritti da P. Cattorini (1914), per la cellula madre del sacco embrionario di *Tulipa Gesn.*, e da molti altri. Queste formazioni si ripresentano ancora qua e là anche in istadi successivi. Fra le diverse colorazioni impiegate, solo quella con la *Ematossilina* dell' Heidenhain — una tipica colorazione per la sostanza nucleare — rende manifesti questi corpuscoli. E' probabile che essi siano già presenti nel ci-

toplasmà della cellula madre; non ci fu possibile però constatarne la presenza non avendo impiegato, o solo raramente, per questi giovani stadi la colorazione in questione.

Nello stadio di diacinesi della seconda divisione, si vede una netta formazione dei fusi fibrillari. Essi non sono sempre disposti ugualmente: ora giacciono in una linea longitudinale parallela all'asse maggiore del sacco, ora sono obliqui tra di loro (tav. 2, fig. 12), altre volte corrono paralleli tra di loro ma obliqui all'asse principale del sacco (tav. 3, fig. 1); altre volte infine il fuso superiore giace parallelo all'asse principale, quello inferiore obliquo ad esso (tav. 3, fig. 2).

I cromosomi dei due nuclei sono piuttosto allungati e perciò abbastanza sottili; dirigendosi verso i due poli, essi presentano quasi sempre una forma ad uncino. In questo stadio abbiamo potuto contare, con sicurezza, 12 cromosomi tanto per il nucleo superiore quanto per il nucleo inferiore (tav. 3, fig. 1 e ripr. 4 a). Il frequente aumento di volume del nucleo inferiore non causa, a nostro avviso, un rispettivo aumento del numero dei cromosomi, contrariamente a ciò che veniva affermato da J. Schneid - Thies (1901) che contava nel nucleo alla calaza un numero di cromosomi di 15, 16, 21.

Esso confondeva questa divisione con la divisione ulteriore rappresentata nella nostra tav. 4 dalla fig. 2. A. Ernst (1901): « vermag nach den vorliegenden Präparaten nicht sicher zu entscheiden, ob in der unteren, grössten Theilungsfigur die Zahl der Chromosomen wieder eine grösse geworden ist ».

### 3. I diversi tipi di sacco embrionale quattro-nucleato e le loro divisioni.

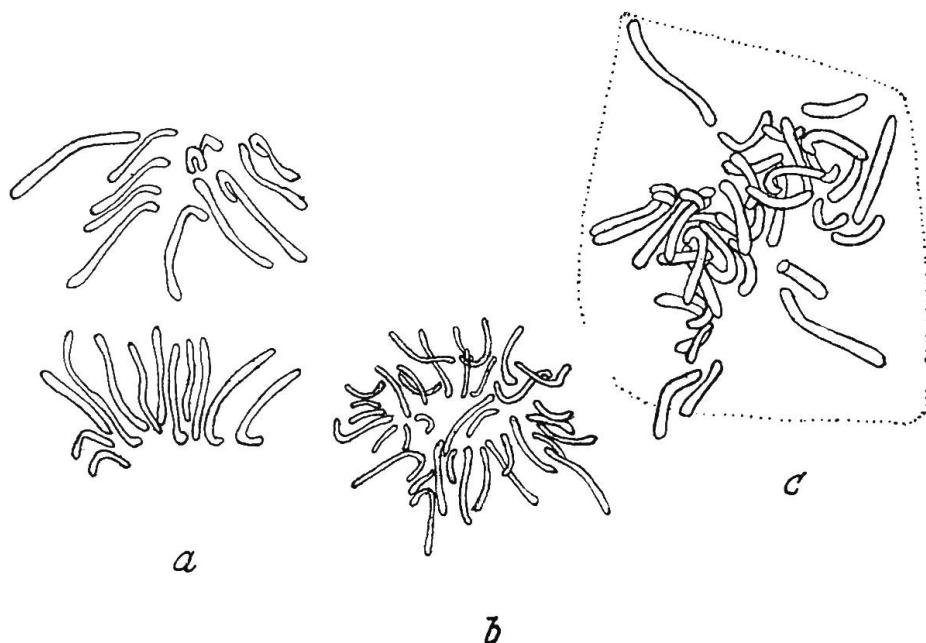
Immediatamente dopo la divisione omeotipica, ossia nella telofase, i quattro nuclei, avvolti in una netta membrana nucleare e forniti di 1-3 nucleoli, giacciono irregolarmente sparsi in un denso citoplasma privo di vacuoli. Fibbrille fusali collegano generalmente i quattro nuclei megasporiali fra di loro; molto spesso abbiamo potuto osservare la formazione di fragmoplasti. I nuclei non ancora polarizzati si trovano, in relazione colla posizione dei fusi bipolari, tutti e quattro nello stesso piano parallelo all'asse principale del sacco embrionale (tav. 3, fig. 3), o sono disposti in modo da formare uno zig-zag più o

meno regolare (tav. 3, fig. 4), od anche, un nucleo si trova al micropilo, due sono nella parte centrale del sacco ed uno è alla calaza (tav. 3, figg. 5, 6). Questi tipi di sacchi quattro-nucleati già rilevati da V. Bambacioni e A. Giombini (1930) per *Tulipa Gesn.* e da altri autori per altre piante, sono da ritenersi come gli stadi più giovani del sacco embrionale quattro-nucleato. Essi si trovano infatti solo in ovari molto giovani, dove si possono vedere ancora moltissimi sacchi embrionali due-nucleati in via di divisione.

Questo primo stadio non è permanente. Nel citoplasma che contiene i quattro nuclei si osservano ben presto dei cambiamenti: con lo scomparire delle fibrile cinoplasmatiche e dei fragmoplasti dei vacuoli compaiono per la prima volta nel sacco. Essi si formano dapprincipio irregolarmente sparsi in tutto il sacco embrionale (tav. 3, fig. 7). Interessante è, a questo punto, il fatto che, mentre i vacuoli che si erano formati nella parte inferiore del sacco non mostrano nessun aumento di volume, quelli della parte superiore s'ingrossano sempre più, confluendo in un unico vacuolo che lascia un solo nucleo al micropilo e spinge gli altri nella parte calazale del sacco. Si ha così un sacco quattro-nucleato già osservato da M. Treub e J. F. Melink (1880) da E. Sargent (1896) per *Lilium Martagon*, da A. Ernst (1901) per *Tulipa Gesn.*, e descritto e ritenuto come normale da E. Carano (1925) per *Euphorbia dulcis* indi da V. Bambacioni per *Fritillaria persica*, id. (1928) per *Lilium candidum*, id. nell'anno (1930) per *Tulipa Gesn.*, da D. C. Cooper (1934) per *Lilium Henryi*, *L. speciosum*, *L. philadelphicum*, *L. longiflorum* var. *eximium* e da I. D. Romanov, (1936) per il genere *Gagea*.

Questo tipo con un nucleo al micropilo e due alla calaza ( $1 + 3$ ) separati da uno o più vacuoli centrali, si riscontra frequentemente in numerosi ovoli e può essere ritenuto come sacco quattro - nucleato « *primario* » (tav. 3, fig. 8). Esso non attraversa però un lungo periodo di pausa. In quasi tutti i casi, noi abbiamo potuto scorgere questo tipo nello stadio di spirema (tav. 3, fig. 9) di modo che è da ritenere che questi nuclei comincino la loro profase molto presto, già al momento del loro spostamento verso la regione calazale.

I quattro nuclei entrano ben presto in divisione, e mentre si osserva che i cromosomi del nucleo al micropilo si dividono normalmente, originando due nuclei figli, quelli



Ripr. 4. - a) Cromosomi del nucleo inferiore di un sacco embrionario due-nucleato in divisione. 12 cromosomi si dirigono verso i due poli opposti; b) Piastra equatoriale triploide con 36 cromosomi formata dalla fusione dei tre nuclei della regione calazale, di un sacco embrionario quattro-nucleato primario ( $1+3$ ); c) Fuso bipolare triploide formato dalla fusione dei tre nuclei calazali di un giovane sacco embrionario quattro-nucleato primario. La maggior parte dei cromosomi si dirige verso il polo superiore. Ingr. 1600 : 1.

dei nuclei calazali tendono ad avvicinarsi sempre più (tavola 3, figg. 10, 11) dando così origine ad un'unica piastra equatoriale nella quale siamo riusciti a contare, con sicurezza, 36 cromosomi (tav. 4, fig. 1 e ripr. 4 b).

Mentre si riscontrano frequentemente i quattro nuclei nel loro stadio di spirema, raramente ci fu possibile di vederli nello stadio di diacinesi; rara è anche la formazione di una tipica piastra equatoriale. Molto frequente è invece l'anafase. Intorno alla piastra equatoriale si forma un unico fuso bipolare che si differenzia da quello formatosi intorno al nucleo al micropilo, per la sua maggiore grossezza (tavola 4, fig. 2). E' questo lo stadio confuso da alcuni autori con lo stadio della divisione omeotipica rappresentato nella nostra tav. 2, fig. 12.

Che il grosso fuso bipolare alla calaza non derivi da un aumento di numero dei cromosomi del nucleo inferiore del sacco due-nucleato risulta dalle seguenti considerazioni:

1. I due nuclei nati dalla divisione eterotipica si dividono senza passare per un lungo periodo di pausa e formano due fusi bipolari di uguale grossezza e con lo stesso numero di cromosomi in sacchi embrionali di una lunghezza media di  $100\text{ }\mu$  (tav. 2, fig. 12). Detti fusi omeotipici si trovano già nella parte media di ovoli molto giovani, mentre nella parte superiore ed inferiore di essi si notano ancora cellule madri di sacchi embrionali in via di divisione.

2. Quando nella parte superiore ed inferiore degli ovari compaiono i primi fusi della divisione omeotipica, nella parte media di essi si riscontrano gli stadi giovanissimi del sacco embrionale quattro-nucleato, rappresentati nella tav. 3 dalle figg. 3, 4, 5, 6, 7. In ovari, di un giorno più vecchi dei primi, si osservano quasi esclusivamente sacchi embrionali quattro-nucleati del tipo 1 + 3 (tav. 3, figg. 8, 9), in parte già in via di divisione avanzata.

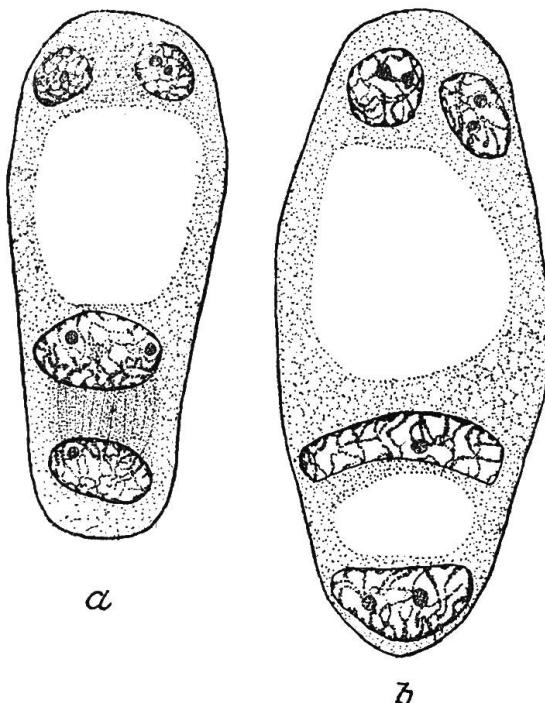
3. Il grosso fuso bipolare calazale (tav. 4, fig. 2) si ha solo in sacchi più vecchi, di una lunghezza di circa  $117\text{ }\mu$ . Essi appaiono dapprincipio nella parte media dello ovario, mentre nella parte superiore e in quella inferiore si trovano esclusivamente sacchi quattro-nucleati dal tipo 1 + 3. Frammisti a sacchi con i due fusi di differente grossezza, si trovano già i sacchi quattro-nucleati da essi medesimi generati con due grossi nuclei nella regione calazale, e due altri di minore dimensione nella regione micropilare, separati dai primi da un grosso vacuolo centrale (tipo 2 + 2).

I due fusi di differente dimensione giacciono quasi in tutti i sacchi nella stessa posizione, e cioè, quello al micropilo contenente il numero aploide di cromosomi perpendicolare o leggermente obliquo all'asse principale del sacco, quello inferiore parallelo o leggermente obliquo ad esso.

I cromosomi del fuso inferiore sono alquanto sottili ed allungati e mostrano nell'anafase generalmente una forma ad uncino. A causa del loro grosso numero, non ci fu sempre possibile poter stabilire in quale esatta proporzione essi si separino e si dirigano verso i due poli. Nella fig. 2 della tav. 4 e nella ripr. 4 c si vede come la maggior parte dei cromosomi di detta piastra si dirigano verso il polo su-

riore, e come il resto si avvii verso il polo inferiore (probabilmente nella proporzione 24 : 12).

Come risultato di questa divisione e della divisione del nucleo al micropilo si ha un sacco embrionale quattro-nucleato dove si vedono due piccoli nuclei al micropilo con 12 cromosomi ciascuno, e due alla calaza di dimensioni molto maggiori, separati dai primi da un grosso vacuolo centrale. I nuclei figli restano uniti per un certo periodo di tempo da fibrille cinoplasmatiche (ripr. 5 a); raramente



Ripr. 5. - a) Sacco embrionale quattro-nucleato secondario, alcuni giorni prima dell'antesi del fiore. I nuclei gemelli sono ancora uniti tra di loro da fibrille cinoplasmatiche; b) Sacco embrionale quattro-nucleato secondario con i due nuclei della regione calazale enormemente ingrossati, nella tipica forma a ciambella, quello superiore, e adattato alla forma della cavità del sacco, quello inferiore. Ingr. 660 : 1.

si ha avuto la formazione di un fragmoplasta. I sacchi hanno in questo stadio una lunghezza di 120  $\mu$  circa. Con lo scomparire delle fibrille cinoplasmatiche, si nota per lo più la comparsa di un vacuolo fra i due nuclei, alla calaza: questi ultimi allora assumono diverse forme. Il nucleo superiore prende talora una forma ovale molto allungata, occupando così quasi tutta la larghezza del sacco, talora invece una forma a ciambella; quello inferiore si adatta gene-

ralmente alla forma del sacco (ripr. 5 b). Tutte e due hanno quasi sempre un aspetto spugnoso e contengono da uno a tre nucleoli come i nuclei al micropilo.

Questo stadio attraversa un lungo periodo di pausa, durante il quale il sacco aumenta di volume, allungandosi specialmente nella sua parte inferiore (tav. 4, fig. 4). Questo ultimo tipo di sacco quattro-nucleato si presenta in quasi tutti gli ovoli pochi giorni prima e pochi giorni dopo l'antesi. E' da ritenersi quindi che pochissimi sacchi quattro-nucleati vadano a male nei loro giovani stadi intermedi, e che la maggior parte di essi concorrono a formare l'ultimo tipo caratteristico con i due nuclei ingrossati alla calaza. Questo tipo può essere denominato, in relazione con il sacco quattro-nucleato *primario*, come sacco quattro-nucleato *secondario*.

E' pure probabile che qui esista una differenza di sviluppo tra varietà e varietà: mentre le varietà *Louis XIV*, *Mercurius*, *City of Haarlem*, *Tulipe noire* si sviluppano nel modo sopra indicato, la varietà *Prinz von Oesterreich*, coltivata nell'anno 1933 ed esaminata nell'estate dello stesso anno, mostrava oltre ai sacchi quattro-nucleati del tipo 2 + 2, altri sacchi cinque e sei-nucleati come quelli già descritti da M. Treub & J. F. Mellink (1880) e da V. Bambacioni & Giombini (1930) per *Tulipa Gesn.* e provenienti da una divisione di sacchi quattro-nucleati del tipo 1+1+2, cioè con un nucleo al micropilo, uno verso la metà del sacco e due nella regione calazale. Noi riteniamo inoltre che questi sacchi cinque e sei-nucleati non concorrono alla formazione di sacchi otto-nucleati normali ma che, in parte, degenerino prima della formazione di essi.

Questa differenza di sviluppo tra le diverse varietà può quindi concorrere a determinare oltre ad altri fattori, anche il grado di sterilità delle diverse varietà di *Tulipa Gesn.*

I sacchi quattro-nucleati con i due nuclei ingrossati alla calaza, attraversano un lungo periodo di riposo. Essi si rinvengono infatti in ovari di fiori uno o due giorni prima della loro antesi e persistono fino a cinque sei giorni dopo. Durante questo periodo di tempo, il sacco embrionale registra un grande sviluppo del suo volume. Mentre i sacchi embrionali osservati in ovari, uno o due giorni prima della antesi del fiore, misurano una lunghezza media di 120  $\mu$  ed una larghezza media, nella loro parte centrale, di 45  $\mu$  (ripr. 5 a, b), quelli trovati in ovari cinque o sei giorni dopo

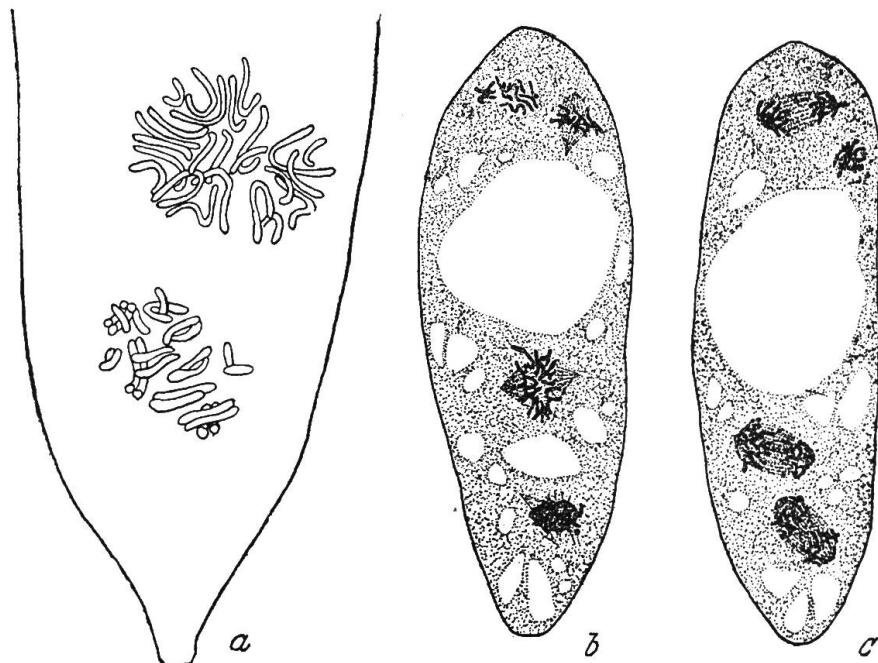
l'antesi, avevano una lunghezza media di 206  $\mu$  ed una larghezza di 60  $\mu$  (tav. 4, fig. 4). Il vacuolo centrale si è ingrossato di molto, di modo che il citoplasma si riduce nella parte centrale del sacco a un sottile strato appoggiato alla parete. In altri casi si osservano da due a tre vacuoli di forma ovale allungata nella direzione dell'asse principale del sacco, di modo che solo talune striscie di citoplasma stabiliscono il contatto tra la parte micropilare e la parte calazale del sacco embrionale. Numerosi altri vacuoli di minore dimensione occupano la parte calazale.

I quattro nuclei del sacco cominciano, dopo circa sei o sette giorni dall'antesi, a mostrare i primi stadi della profase. I fili cromatici dei singoli nuclei non si sono mai sciolti completamente, anche durante il lungo periodo di pausa attraversato dal sacco, ma hanno sempre conservato una struttura più o meno notevole. Il primo fatto che si osserva, al cominciare della profase, è l'ingrossamento dei singoli fili cromatici. I nuclei scompaiono ben presto, ed al momento dello spirema sono completamente sciolti. Lo stadio di spirema è molto pronunciato in tutti quattro i nuclei: i fili cromatici di uno spessore rimarchevole si lasciano fortemente colorare in nero dalla ematossilina di Heidenhain. Essi riempiono a mo' di gomitolo il nucleo intero. Lo stadio seguente è quello della metafase, dove i singoli cromosomi vengono a disporsi regolarmente nella piastra equatoriale. Bellissime piastre abbiamo potuto osservare in questo stadio, nei nuclei del micropilo, dove abbiamo potuto ancora una volta contare con sicurezza 12 cromosomi. Le piastre dei nuclei alla calaza non si presentarono mai in modo così chiaro e così numerose come quelle dei nuclei al micropilo, cosicchè la determinazione dei loro cromosomi non potè esser fatta con piena sicurezza. Normalmente, in queste piastre si dovrebbero trovare 18 cromosomi, numero corrispondente a quello che dovrebbe derivare dalla divisione del grosso fuso calazale precedente. Non ci riuscì però di osservare questo numero di cromosomi.

Nella ripr. 6 a è rappresentata la regione calazale di un sacco embrionale quattro-nucleato, con i due nuclei inferiori ingrossati, in via di divisione.

La piastra equatoriale del nucleo superiore mostra una guarnitura di 24 cromosomi; il nucleo inferiore invece, solo 12 cromosomi già longitudinalmente divisi. La presenza di

questo numero di cromosomi nei due nuclei giustifica quanto fu già detto a pp. 45 - 46 per la divisione del grosso fuso triploide della ripr. 4 c, nella quale, dei 36 cromosomi, 24 si



Ripr. 6. - a) Regione calazale di un sacco embrionario quattro - nucleato secondario in divisione: nucleo superiore con una piastra equatoriale di 24 cromosomi, nucleo inferiore con 12 cromosomi già divisi in senso longitudinale. Ingr. 1600 : 1; b) Sacco embrionario quattro-nucleato secondario in divisione. Ad ogni polo si dirigono 12 cromosomi, tanto per i nuclei al micropilo come per quello alla calaza. Nucleo inferiore calazale in degenerazione avanzata; c) Idem. Nuclei in anafase. Ingr. 660 : 1.

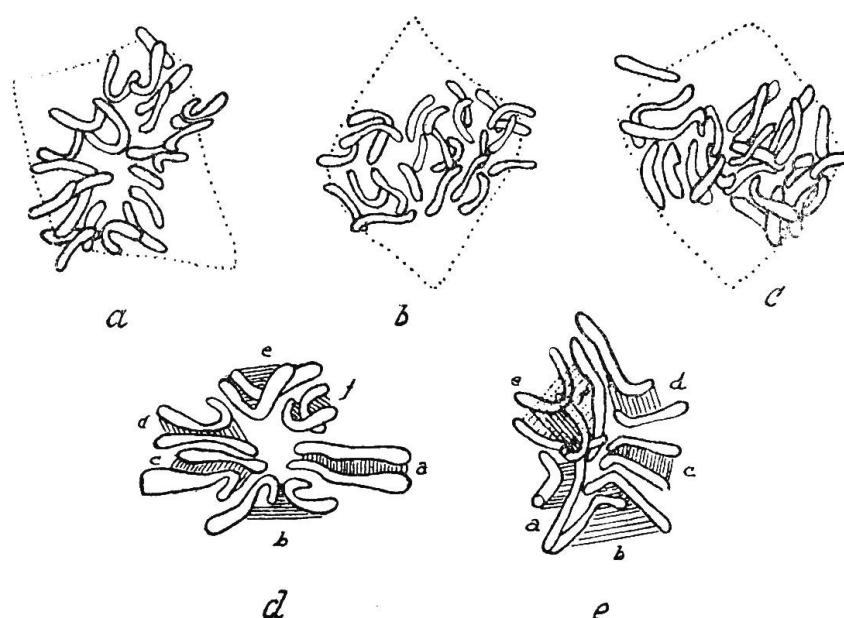
dirigono verso il polo superiore e 12 verso quello inferiore. Un comportamento speciale si rileva infine nella anafase di questi due nuclei calazali. La divisione dei 12 cromosomi del nucleo inferiore avviene in modo normale e dirige 12 cromosomi gemelli ai due poli opposti; i 24 cromosomi del nucleo superiore invece non si dividono più longitudinalmente, ma si separano l' uno dall' altro dirigendosi, 12 verso un polo e 12 verso l' altro.

E' questo un caso eccezionale che non corrisponde al processo normale della mitosi.

Se questo fatto sia la regola o l' eccezione non ci fu possibile constatare con sicurezza. Certo è però che l' ana-

fase dell'ultima divisione che conduce alla formazione del sacco embrionale otto-nucleato, mostra regolarmente 12 cromosomi diretti verso ai poli dei quattro nuclei in divisione (ripr. 6 b, c).

Questo fatto venne constatato in numerosi sacchi e nelle ripr. 7 a, b sono rappresentati i cromosomi di due nuclei calazali superiori in anafase, diretti ai due poli op-



Ripr. 7. - a) Cromosomi del fuso bipolare del nucleo superiore calazale di un sacco embrionale quattro-nucleato secondario. Ad ogni polo si dirigono 12 cromosomi; b) Idem; c) Cromosomi del fuso bipolare del nucleo inferiore calazale di un sacco embrionale quattro-nucleato secondario. Ad ogni polo si dirigono 12 cromosomi; d) Piastra equatoriale del nucleo al micropilo di un sacco embrionale due-nucleato in divisione. I 12 cromosomi formano 6 coppie di 2 cromosomi ciascuna. (Le coppie sono rese più chiare per mezzo di tratteggi e denominate con le lettere dell'alfabeto a, b, c, d, e, f); e) Piastra equatoriale di un nucleo al micropilo di un sacco embrionale quattro-nucleato in divisione. I 12 cromosomi sono pure accoppiati come nella piastra rappresentata nella ripr. 7 d. Ingr. 1600 : 1.

posti nella proporzione 12 : 12; nella ripr. 7 c si hanno quelli di un nucleo calazale inferiore, pure nelle stesse proporzioni. Questo modo di divisione ha per conseguenza che il sacco embrionale otto-nucleato contenga gli otto nuclei con un corredo di 12 cromosomi ciascuno.

La posizione dei fusi bipolari è generalmente costante. Nella maggior parte dei casi i due fusi dei nuclei al micropilo si dispongono in modo che i quattro nuclei che si formeranno più tardi daranno origine ad una tipica tetra-de; cioè, il fuso del nucleo superiore si dispone generalmente nel piano orizzontale del sacco, obliquamente all'asse principale, quello del nucleo inferiore invece si dispone nel piano verticale, in senso più o meno obliquo ad esso (tav. 4, figg. 5, 6). Grazie a questa disposizione dei fusi ci fu possibile osservare tipiche piastre equatoriali, specialmente del nucleo inferiore. Risultato di questa divisione è la tipica tetra-de rappresentata nella ripr. 8 a i cui nuclei daranno più tardi l'apparato oosferico con quattro nuclei di una guarnitura di 12 cromosomi ciascuno.

La posizione dei fusi bipolari dei due nuclei alla calaza differisce alquanto da quella dei nuclei al micropilo, e non mostra costanza tra sacco e sacco. I fusi giacciono orizzontali nello stesso piano, quello superiore generalmente obliquo all'asse principale, quello inferiore più o meno parallelo ad esso (tav. 4, fig. 6) oppure sono tutt'e due obliqui all'asse e paralleli tra di loro (ripr. 8 a).

In molti casi, il comportamento del nucleo calazale inferiore è anormale come già risulta da accenni di E. Sargent (1896), da Ed. Strasburger (1908), e da J. Heimans (1928) per *Lilium Martagon*, da V. Bambacioni e A. Giombini (1930) per *Tulipa Gesn*, da D. C. Cooper (1934) per *Lilium Henryi*, *L. speciosum*, *L. philadelphicum*, *L. longiflorum* var. *eximium* e da I. D. Romanov (1936) per il genere *Gagea*.

Esso può infatti degenerare in diverse maniere: in alcuni casi nascono da questo nucleo, per un processo di amitosi, due altri nuclei che danno due antipodi. Nella ripr. 6 b i suoi cromosomi si sono uniti in una massa irregolare amorfa ed intorno ad essa si scorgono fibrille cino-plasmatiche che non danno però l'aspetto di un fuso bipolare. Nella maggior parte dei casi, questo nucleo si divide regolarmente (ripr. 6 c).

#### 4. Il sacco embrionale otto-nucleato ed i suoi mutamenti prima della fecondazione.

Nei numerosi ovari, fecondati da circa otto giorni, abbiamo potuto, fortunatamente constatare la regolare presenza di sacchi embrionali otto-nucleati. Il loro numero cor-

risponde, molto da vicino, a quello dei sacchi quattro-nucleati secondari, di modo che nelle nostre varietà non si può parlare di una così forte degenerazione dei gametofiti femminili come quella rilevata da V. B a m b a c i o n i nel suo materiale 1931 : « Lo studio embriologico di *Tulipa Gesn.* mi aveva mostrato che la grande maggioranza dei gametofiti di questa pianta degenera prima di aver raggiunto lo stadio adulto a causa delle frequenti anomalie di sviluppo interessanti la prima comparsa di vacuoli nel citoplasma del sacco embrionale e la conseguente polarizzazione dei nuclei megasporiali; per questo, solo raramente, anche osservando migliaia di ovoli, s'incontra un gametofito otto-nucleato normale ».

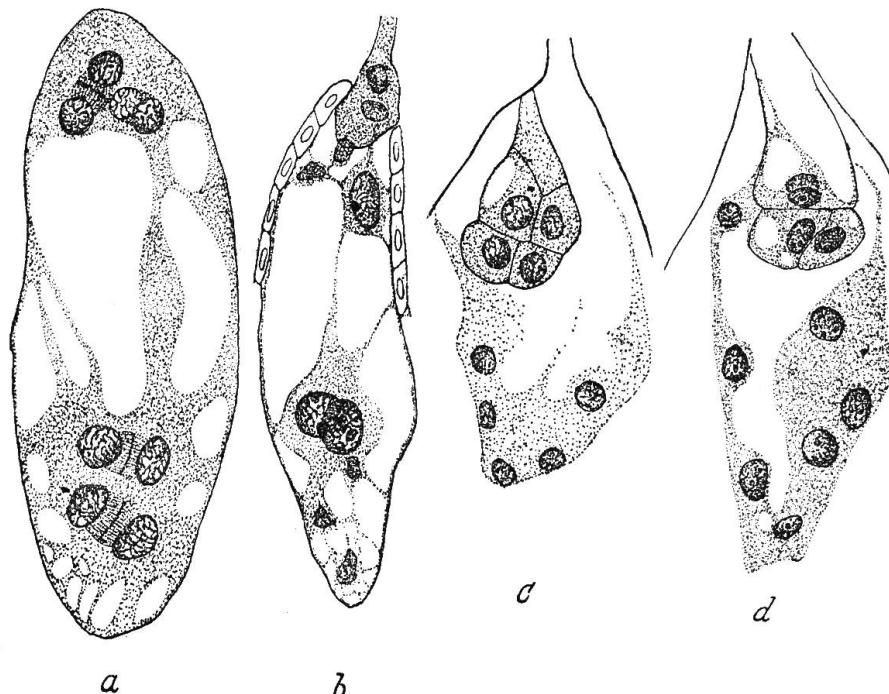
I gametofiti otto-nucleati da noi riscontrati presentano tutti un aspetto normale. Nei sacchi, immediatamente dopo la telofase dell'ultima divisione, si osservano due gruppi di quattro nuclei ciascuno, uno al micropilo, l'altro alla calaza. I nuclei del gruppo al micropilo assumono quasi sempre forma di tetrade e sono uniti tra di loro da tipiche fibrille cinoplasmatiche che contengono generalmente un bellissimo fragmoplasta (ripr. 8 a).

I quattro nuclei del gruppo alla calaza che giacciono invece, nello stesso piano, sono legati a due a due da fibrille cinoplasmatiche e, come avviene tra i nuclei al micropilo, si osserva un fragmoplasta ben distinto (ripr. 8 a). Numerosi vacuoli, fra i quali uno di dimensioni maggiori sono sparsi nella parte centrale del sacco, altri invece di dimensioni minori, nella regione calazale.

Ben presto le fibrille cinoplasmatiche tendono a scomparire, e con loro, i fragmoplasti. Mai abbiamo potuto osservare uno sviluppo dei fragmoplasti e per conseguenza la formazione di membrane cellulari tra i diversi nuclei. Interessante è poi il fatto che mentre nei sacchi quattro-nucleati secondari esiste una grande differenza di volume tra i nuclei alla calaza e quelli al micropilo, questa è completamente scomparsa per i nuclei del sacco otto-nucleato (tavola 4, fig. 7 e ripr. 8 a).

Con il progredire dello sviluppo, si stacca tanto dal gruppo micropilare come da quello calazale, contemporaneamente, un nucleo che si dirige verso il centro del sacco. Sono questi i due nuclei polari e cioè quello che si stacca dal gruppo micropilare, il nucleo polare superiore, quello che si stacca dal gruppo calazale, il nucleo polare inferiore. Essi tendono, con l'allontanarsi dai due gruppi, ad aumen-

tare di volume. Se l'aumento del loro volume provoca un relativo aumento della sostanza cromatica non ci fu possibile costatare. Essi posseggono da uno a tre nucleoli, come gli altri nuclei del sacco.



Ripr. 8. - *a*) Giovane sacco embrionario otto-nucleato. I fusi einoplasmatici come i fragmoplasti sono ancora presenti. Tipica formazione di una tetrade dei nuclei al micropilo. Ingr. 660:1; *b*) Sacco embrionario otto-nucleato con il tubo pollinico al micropilo contenente i due nuclei spermatici. Oosfera, e nuclei polari, in contatto tra di loro, pronti per la fecondazione. Sinergidi ed antipodi in via di degenerazione; *c*) Giovane embrione quadricellulare e nuclei dell'albumine; *d*) Idem. Ingr. 400:1.

Sul valore dei nuclei del sacco otto-nucleato resta da dire che nella tetrade al micropilo si differenziano due sinergidi, l'oosfera, e il nucleo polare superiore gemello con l'oosfera. L'oosfera si distingue dalle sinergidi per il fatto che, mentre le seconde non tendono ad aumentare di volume, ma bensì a degenerare, l'oosfera al contrario, pur non aumentando di molto il suo volume, mostra e conserva sempre un aspetto giovanile.

Dei quattro nuclei alla calaza, tre formano le antipodi, uno il nucleo polare inferiore. Tra le antipodi non abbiamo mai potuto constatare la formazione di membrane

cellulari, ma solo una forte degenerazione. Esse occupano quasi sempre una parte minima della regione calazale. La loro degenerazione comincia molto presto, in alcuni casi già al momento della divisione del sacco quattro-nucleato. Con la loro degenerazione è congiunta anche una fragmentazione della loro massa cromatica come già osservò A. Ernst (1901). Al momento della fecondazione, le antipodi si presentano quasi sempre come masse cromatiche di contorno irregolare senza una tipica membrana nucleare, in completa via di degenerazione e riposano in un citoplasma ricco di vacuoli (tav. 4, fig. 8).

##### 5. Cromosomi accoppiati nei nuclei megasporiali.

I cromosomi dei nuclei megasporiali di *Tulipa Gesn.* si distinguono per la loro struttura in modo evidente da quelli dei nuclei vegetativi. Nel loro numero di dodici, nella loro dimensione, come nella loro posizione, si prestano nelle diverse fasi del loro sviluppo, per un bellissimo soggetto di studio. Interessanti e chiari sono per esempio gli stadi della divisione riduzionale, i quali possono essere osservati, anche in grande quantità, sezionando pochissimo materiale.

Ancora più interessanti sono le posizioni dei singoli cromosomi che abbiamo avuto occasione di costatare in diverse piastre equatoriali dei nuclei al micropilo. Sono queste le fasi nelle quali i cromosomi si mostrano accoppiati a due a due, formando così sei gruppi di due cromosomi ciascuno. Questo accoppiamento nella fase aploide, fu già descritto, per diverse piante, da altri autori e specialmente da J. Heimans (1928) che lo notò, nelle cellule generative di *Lilium Martagon*: le sue figg. 8 e 10 corrispondono molto da vicino alle nostre due ripr. 7 d, e. La ripr. 7 d rappresenta la piastra equoriale di un nucleo al micropilo di un sacco embrionale due-nucleato in divisione. Da un primo sguardo si scorge come l'accoppiamento dei singoli cromosomi non avvenga per puro caso, perchè sempre due e sempre quelli di uguale dimensione e forma si avvicinano l'uno all'altro. Abbiamo avuto cura, per meglio mostrare queste coppie, di unire i due « Partner » formanti una coppia con finissimi tratteggi. Così si può chiaramente vedere come le sei coppie distinte dalle lettere a, b, c, d, e, f, risultino composte di cromosomi simili tra di loro, i quali però, mostrano sempre una piccola differenza con i cromosomi che formano un'altra coppia.

Lo stesso fatto di accoppiamento si riscontra anche in piastre equatoriali al micropilo del sacco quattro-nucleato secondario in divisione rappresentato dalla fig. 5 della tavoletta 4. Nella ripr. 7 e è disegnata una di queste piastre. L'accoppiamento dei singoli cromosomi non avviene più così regolarmente come nella ripr. 7 d. Per mezzo dei tratteggi si scorgono però ancora le sei coppie che mostrano una certa analogia con quelle rappresentate dalla ripr. 7 d.

Non possiamo affermare se questo accoppiamento di cromosomi succede anche nelle piastre equatoriali degli altri nuclei megasporiali.

## V. - La fecondazione

A quanto ci consta, la fecondazione in *Tulipa Gesn.* venne studiata fino ad ora solo da A. Ernst (1901). Dai nostri preparati abbiamo potuto rilevare che questo studioso ha descritto il fatto con grande esattezza ed in modo molto approfondito.

Come risulta da quello già detto a pag. 20 fu nostra cura di praticare sul numeroso materiale messo a nostra disposizione parecchie impollinazioni. I granelli pollinici variano tanto di volume quanto di diametro; questo fatto non provoca però una diminuzione della loro forza vegetativa sullo stimma del gametofito femminile: la loro provenienza è bensì la causa di un'eventuale mancata germinazione.

Sezioni longitudinali attraverso ovari impollinati da alcuni giorni mostrano infatti due categorie diverse fra loro :

1. Ovari impollinati con polline di individui di altra varietà (impollinazione allogama) posseggono sezioni nelle quali si trovano numerosissimi tubi pollinici che si spingono verso le parti inferiori degli ovari e che raggiungono gli ovuli, comportandosi nella maniera già descritta da A. Ernst (1901). « Die Pollenschläuche wachsen den Papillen entlang in die drei eng ausgezogenen Rinnen des Kanals hinein, welcher sich im oberen Theile des Fruchtknotens zwischen den nicht vollständig verwachsenen Fruchtblättern befindet. Auf Längsschnitten durch diese Fruchtknotenpartien sind immer eine grosse Zahl von Pollenschläuchen zu sehen, die zwischen den ein- und zweizelligen Papillen der Epidermis oder in dem, von diesen abgesonderten Schleime nach unten wachsen. Sie

sind hier dünner als nach dem Austritt aus dem Pollenkorn. Häufig nimmt man in ihrem Innern die Cellulosepfropfen wahr, durch welche die leeren hinteren Partien des Pollenschlauches von dem plasmaerfüllten jüngsten Theile abgeschlossen werden. Der Form des Pollenschlauches entsprechend sind auch die Kerne länger und dünner geworden ».

2. Ovari impollinati nel modo auto-xenogamo presentano invece sezioni nelle quali si vede che i numerosi granellini pollinici che stanno tra le papille dello stimma producono tubetti di lunghezza minima; detti tubetti non riescono mai a penetrare attraverso il canale formato dalla riunione dei tre carpelli, ma si limitano a vegetare tra le papille dello stimma, ove degenerano di modo che si può affermare che nessun tubetto pollinico proveniente dal polline auto-xenogamo riesce mai a raggiungere la parte inferiore dell'ovario. E' questa la ragione per la quale le impollinazioni auto-xenogame riescono sempre sterili.

Gli stadi di fecondazione dai noi descritti si riferiscono quindi solo ad individui sottoposti ad un' impollinazione allogama.

In ovuli, fecondati da 8 - 10 giorni, si scorge all'apice dei sacchi embrionali, come osserva A. Ernest (1901), il tubo pollinico. Esso si lascia colorare in un rosso intenso dalla saffranina o dalla eosina. Il suo comportamento è, da ovulo ad ovulo, assai diverso : nella prima parte del canale formato dal combaciare dei due integumenti interni, possiede ancora il suo spessore normale che va però aumentando di mano in mano che il tubo s'avvicina alle cellule della nocella. Al momento in cui il tubo pollinico entra in contatto con le cellule nocellari, possiede uno spessore medio di 24  $\mu$  mentre il suo normale spessore era di soli 9,5  $\mu$ . Esso schiaccia le cellule nocellari e le spinge lateralmente di modo che esso le può attraversare con tutto il suo volume (tav. 5, fig. 1). In altri casi, solo una minima parte entra nell'interno del sacco, mentre il resto del protoplasma si sparge sulla parte esterna della nocella (tav. 5, fig. 4). Solo una minima porzione del tubo pollinico entra nell'interno del sacco embrionale, perchè svuota i suoi due nuclei germinativi, contemporaneamente, all'apice del sacco. Nella nostra ripr. 8 b abbiamo avuto la fortuna di cogliere lo stadio che precede immediatamente la fecondazione. Il tubo pollinico entrato con tutto il suo spessore attraverso le cellule nocellari contiene ancora i due nuclei generativi. Essi

sono di forma ovale alquanto allungata e posseggono un denso protoplasma dotato di una finissima struttura cromatica, priva però di nucleoli.

L'apparato oosferico subisce a questo punto, dal momento cioè in cui il tubo pollinico si avvicina all'apice della nocella, un cambiamento notevole; mentre i suoi quattro nuclei non mostravano, negli stadi precedenti, quasi nessuna differenza tra di loro, ora offrono un notevole cambiamento di volume. La massa citoplasmatica nella quale giacevano le due sinergidi e l'oopsfera tende a ritirarsi dalle prime per raccogliersi intorno alla seconda. L'oopsfera tende inoltre ad aumentare alquanto il suo volume ed assume un aspetto giovanile, perchè possiede da due a tre nucleoli ed una densa sostanza nucleare; e mentre le sinergidi diminuiscono il loro volume e si lasciano tingere debolmente dall'ematossilina, i vacuoli cominciano a comparire nel loro interno, tendendo sempre più a degenerare. Solo deboli fili citoplasmatici le congiungono alla massa che circonda la oosfera. Il nucleo polare superiore si dirige, aumentando molto di volume, verso il centro del sacco per fondersi con il nucleo polare inferiore, pure aumentato di volume e proveniente dalla regione calazale. Essi vengono circondati da un denso citoplasma che si mette in comunicazione con la parte superiore e con quella inferiore del sacco.

Le tre antipodi sono a questo punto, come le sinergidi quasi completamente degenerate: non rimane che una piccolissima massa plasmatica di aspetto molto irregolare. Esse nuotano in un citoplasma ricco di vacuoli.

Qui giova ricordare la speciale struttura di un gruppo di cellule che mettono in diretta comunicazione la parte calazale del sacco embrionale con le piccole cellule nelle quali termina il fascio fibro-vascolare. Le cellule di questo gruppo, già da lungo tempo differenziate, si allungano ora, — come del resto fa il loro nucleo — quasi tre volte più della loro larghezza; il loro protoplasma è molto denso. La loro presenza è, a ragione, da A. Ernst (1901), spiegata con le parole seguenti: « Die Untersuchungen W e s t e r - m a i e r ' s haben gezeigt, dass bei vielen Pflanzen den Antipoden in ihren späteren Stadien eine bedeutende ernährungsphysiologische Funktion zukommt. Bei *Tulipa* *Gesn.* gehen die Antipoden schon vor der Befruchtung oder dann unmittelbar nach derselben zu Grunde. Man wird nun wohl nicht fehlgehen, wenn man annimmt, dass die physiologische Funktion der Antipoden in diesem Falle

von dem eigenthümlichen Zellenstrang übernommen worden ist, welcher den Embryosack mit dem Leitbündel in Verbindung setzt und so die direkte Zufuhr von Nahrungsstoffen aus demselben erleichtert ».

I due nuclei generativi lasciano contemporaneamente il tubo pollinico e si dirigono, secondo le nostre esperienze, con grande velocità, l'uno verso l'oosfera, l'altro verso i nuclei polari. Nei numerosi stadi di fecondazione, da noi esaminati, non riscontrammo mai i nuclei generativi maschili sulla via che li conduce verso l'oosfera o verso i nuclei polari; essi erano, sia contenuti nel tubo pollinico sia già in contatto con i nuclei sopradetti. Perciò crediamo di poter affermare che il tempo che corre tra lo svuotamento del tubo pollinico ed il momento in cui gli anterozoi entrano in contatto con i nuclei megasporiali sia minimo. Non ci fu quindi possibile constatare se gli anterozoi assumano nel frattempo un aspetto vermifugo oppure mostrino i movimenti attivi, che diversi autori descrissero a proposito dei nuclei germinativi maschili di *Lilium Martagon*. Abbiamo però potuto constatare in essi un piccolo cambiamento di struttura, che si ha quando vengono a contatto con l'oosfera o con i nuclei polari (tav. 5, figg. 1, 2). Nella tav. 5, fig. 1 si vede come il nucleo maschile sia alquanto incurvato e assuma quasi una forma di mezzaluna. L'oosfera molto ingrandita è circondata da un denso citoplasma, privo però fino ad ora, di una vera membrana cellulare. Il citoplasma si allunga verso l'apice del sacco emettendo deboli prolungamenti nei quali si trovano ancora resti delle sinergidi. Lo stesso aspetto del nucleo maschile che si unisce alla oosfera, assume l'altro, quando si mette in contatto con uno o con ambedue i nuclei polari. Generalmente, esso raggiunge i due nuclei polari quando essi sono già entrati in contatto, come risulta dalla fig. 2 nella tav. 5. In questo caso, il nucleo maschile, alquanto incurvato, si appoggia con i suoi due apici su ambedue i nuclei polari, stabilendo tra di loro una specie di legame. Nella fig. 8 della tav. 4 invece, il nucleo spermatico si è unito solo ad uno dei nuclei polari, probabilmente al superiore, avendolo raggiunto prima che esso venisse in contatto con il nucleo polare inferiore. Come l'oosfera, anche i tre nuclei vengono circondati da un denso citoplasma che si prolunga come già si disse, verso la parte micropilare e la parte calazale.

Non ci fu possibile osservare l'unione di questi tre nuclei, ma solo la presenza dei due primi nuclei dell'albumen

(tav. 5, fig. 3), fra i quali si scorgono ancora appena i fili cinoplasmatici. Crediamo di poter affermare che la divisione del primo nucleo dell'albumen segua immediatamente la fusione dei due nuclei polari con lo sperma e che tutto il processo si svolga in un tempo brevissimo.

Il risultato dell'unione dell'oosfera con lo sperma è un grande nucleo contenente diversi nucleoli. Il citoplasma circostante si è avvolto in una netta membrana cellulare, trasformando il nucleo oosferico in una cellula che nella maggior parte dei casi, ha la forma di una clava fortemente ingrossata nella sua parte inferiore (la parte rivolta verso il centro del sacco embrionale), (tav. 5, fig. 4), la quale si attacca all'apice del sacco mediante finissimi fili citoplasmatici.

## VI. - Sviluppo dell'embrione

Lo sviluppo dell'embrione di *Tulipa Gesn.* fu studiato dapprima da A. Ernst (1901), indi da V. Bambacioni (1931). I risultati dei due autori concordano nell'affermare che in *Tulipa Gesn.* si ha un caso di poliembrionia simile a quello che si riscontra in *Erythronium americanum* (E. C. Jeffrey, 1895) in *Cynanchum vincetoxicum* (G. Seefeldner 1912), in *Cynanchum nigrum* (M. L. Guignard 1922), e probabilmente anche in *Erythronium dens canis*, secondo quanto afferma W. Hofmeister (1861) nelle figg. 4 - 6 della tav. XIX del suo lavoro.

Altre piante infine mostrano il fenomeno della poliembrionia che si differenzia da quello delle piante sopra indicate per la sua origine estrasaccale come per esempio in *Coelebogyne ilicefolia*, *Funkia ovata*, *Nothoscordon fragrans* (E. Strasburger 1878), in *Opuntia vulgaris* (W. F. Ganoong 1898), in *Ochna serrulata* (A. Chiariugi e E. Francini 1930), in *Spathiphyllum Patinii* (P. N. Schürhoff e Frz. J. Jussen 1925), in *Nigritella nigra* (K. Afzelius 1928), in *Sarcococca pruniformis* (J. Wiger 1930), in *Allium roseum* (C. Cappelletti 1930).

Diametralmente opposte sono le conclusioni sull'origine dell'embrione alle quali arrivano i due autori sopra citati.

A. Ernst (1901) considera l'embrione di *Tulipa Gesn.* quale prodotto diretto di numerose divisioni della oosfera; V. Bambacioni (1931) afferma che esso ha origine dalla proliferazione delle cellule dell'apice nucellare.

Riteniamo quindi nostro compito seguire lo sviluppo della oosfera e, contemporaneamente, quello delle cellule nucellari onde poter chiarire le due opposte affermazioni.

Il sacco embrionale di *Tulipa Gesn.* è, al momento della sua fecondazione, completamente circondato dalle cellule nucellari le quali nella parte inferiore del sacco, formano un tessuto composto di due o tre strati che si prolungano fino oltre la metà del sacco. All'apice, la nocella si compone sempre di un solo strato di cellule, provviste di un grosso nucleo e ricche di citoplasma. Il sacco ha una forma ovale molto allungata, specialmente nella sua parte superiore, con un apice alquanto allungato (tav. 4, fig. 8), mentre la parte calazale si mostra di preferenza allungata e schiacciata. Le prime divisioni che avvengono nel sacco, dopo la fecondazione, sono quelle dei nuclei dell'albumen.

Dopo la formazione di nuclei da quattro a otto dell'albumen, si osserva la prima divisione del nucleo oosferico. Durante questo tempo esso ha attraversato un periodo di pausa.

Le cellule nocellari dell'apice non presentano più la loro forma cubica, ma si sono di molto allungate mostrando inoltre diverse divisioni trasversali. L'apice nocellare ha, ora, assunto una forma prolungata e alquanto schiacciata (tav. 5, figg. 4 - 5).

Le nostre osservazioni sulla divisione dello zigoto concordano completamente con quelle di A. Ern st (1901). Noi descriveremo soltanto alcune fasi per dimostrare le relazioni che corrono tra esse ed il modo di comportarsi delle cellule della nocella.

Risultati diversi da quelli riferiti da V. B a m b a c i o n i (1931), noi ottenemmo, studiando lo sviluppo dell'embrione di *Tulipa Gesn.*

Il primo punto discordante sta in questo che V. B a m b a c i o n i attribuisce a *Tulipa Gesn.* una pronunziata sterilità; essa scrive infatti: « Se seguiamo, in natura, il graduale sviluppo dei fiori, ci accorgiamo con facilità che quasi tutti gli ovari, una volta caduti i tepali, si raggrinzano e finiscono con il disarticolarsi; solo alcuni cominciano ad ingrossare e di essi pochissimi soltanto continuano ad accrescere fino alla formazione dei frutti maturi: infatti da un centinaio di piante coltivate nel giardino annesso allo Istituto, nel giugno 1929 potei raccogliere solo tre capsule e nel luglio 1930, avendo adoperati tre ovari già allegati per l'osservazione microscopica, ne raccolsi una sola. Di

questi quattro frutti, raccolti in due anni consecutivi, uno conteneva 204 semi, dei quali però soltanto 135 sembravano abboniti, un altro ne aveva 84 con 45 apparentemente abboniti, il terzo 75 con 10 soli abboniti, e infine il quarto 119 di cui 80 mostravano l'embrione ».

Dalle nostre colture del 1934 ottenemmo invece, dalla impollinazione allogama, su 123 individui, 120 frutti maturi con 29140 semi abboniti e una media di 242 semi per frutto.

I pochi frutti ottenuti da V. Bambacioni non derivano quindi che da una scarsa impollinazione allogama, ciò che spiega il debole grado di fertilità degli individui in questione.

Gli stadi degli ovuli rimasti con le stesse dimensioni che avevano prima dell'impollinazione, stadi in cui i sacchi embrionali o sono completamente degenerati, o contengono soltanto masse basofile in cui difficilmente si possono riconoscere dei nuclei, riscontrate dall'A. sopra citata, ebbero occasione di osservare in ovari sottoposti all'impollinazione auto-xenogama. E' probabile che i sacchi embrionali degenerino alla loro volta o che non arrivano al loro sviluppo completo per la mancata germinazione del polline fecondatore. I tubetti pollinici osservati da V. Bambacioni nel canale micropilare provengono sicuramente dai granellini di polline straniero il quale solo è in grado di produrre una fecondazione. Da questa infatti, derivano i pochi semi abboniti, ottenuti nei frutti raccolti dalla stessa. Noi crediamo che gli stadi disegnati da V. Bambacioni nel suo lavoro del 1931, nelle figg. 1 a, 1 b, 2, 3. e 4 della tav. VI non abbiano mostrato il tubetto pollinico nel canale micropilare quale risulta anche dalle figg. 2 e 3 della stessa tavola, ma che siano, come sopra detto, stadi degenerati in conseguenza di una mancata fecondazione. Spiegata quindi la causa di questi stadi andati a male passiamo a descrivere i sacchi nei quali si sviluppano le fasi successive della divisione dello zigoto.

Negli ovari impollinati con polline straniero, da noi esaminati, sta raccolto in ogni sacco fecondato da alcuni giorni, lo zigoto in via di divisione. La prima divisione seziona lo zigoto in due cellule: una piccola cellula apicale con ricco citoplasma ed una basale di maggiore dimensione, che manda dei prolungamenti citoplasmatici verso l'apice del sacco (tav. 5, fig. 5). La membrana cellulare divisoria si dispone per lo più orizzontalmente; alcune volte

è leggermente obliqua, in altri casi infine è completamente longitudinale. Le due cellule così formate non si dividono contemporaneamente; nella maggior parte dei casi, la divisione della cellula basale precede quella della cellula apicale (tav. 5, fig. 6). I fusi bipolari non si dispongono sempre nello stesso modo, sicché si ottiene già in questo stadio un corpo embrionale di quattro cellule differenti (ripr. 8 c, d). Le divisioni successive avvengono in modo molto irregolare, e producono una massa di aspetto alquanto irregolare.

V. Bambacioni (1931), scrive a pag. 149: « Negli ovuli centrali, che corrispondono ai semi abboniti, si trovano piccoli embrioni di due o di quattro cellule e un numero variabile di nuclei dell'albumine. Questi embrioni distaccati dalla parete del sacco non avevano sospensore ed alcuni di essi, sia per la presenza di molti vacuoli nelle loro cellule, sia per la loro posizione laterale, sia infine per la forma arrotondata delle cellule, non avevano un aspetto normale; alle volte anzi erano manifestamente in via di degenerazione ». Questi stadi di degenerazione non vennero mai osservati nei nostri numerosi preparati: al contrario, le cellule onde risultavano composti questi piccoli embrioni, avevano tutte un aspetto giovanile; contenevano cioè un grosso nucleo, con 1 o 2 nucleoli, ed un ricco protoplasma. Solo alcune cellule, verso l'apice del sacco, mostravano alcuni vacuoli e mandavano prolungamenti citoplasmatici, quasi a sostegno del resto della massa, verso le cellule nocellari (tav. 5, fig. 7). Inoltre, i giovani embrioni rappresentati nelle figg. 6 e 7 della tav. VII del lavoro di V. Bambacioni (1931), non mostrano un così forte stadio di degenerazione come l'A. stessa vuol far valere: infatti due delle quattro cellule componenti il piccolo embrione della fig. 7 tav. VII offrono una mitosi completamente rigogliosa e normalissima. Giudicando solamente dalle figure sopra dette, noi non crediamo di poter parlare di una probabile degenerazione degli embrioni in questione.

Dall'osservazione del nostro materiale crediamo di poter affermare, con completa sicurezza, che gli stadi derivati dalla divisione dello zigoto non degenerano ma, che continuano a regolarmente dividersi, in uno stato giovanile.

Importantissimo per comprendere la conformazione di questa massa embrionale nei suoi stadi successivi è lo aspetto che presentano l'apice del sacco embrionale e le sue cellule nocellari.

Non osservammo mai il gruppo di cellule ingrandite dell'apice nocellare, osservate da V. B a m b a c i o n i (1931), in un sol ovo e che fece pensare a una probabile proliferazione di esse con formazione di embrioni avventizi.

L'allungamento delle cellule nocellari, già osservato al tempo della formazione dello zigoto, si è fatto sempre più evidente; la maggior parte delle singole cellule hanno una lunghezza doppia della loro larghezza, e la densità del loro protoplasma è di molto diminuita. Anche il nucleo, conformemente si è allungato alla forma assunta dalle cellule. Il prolungamento delle cellule nocellari presenta per conseguenza un allungamento dell'apice del sacco e contemporaneamente, per la pressione esercitata dalle cellule degli integumenti, uno schiacciamento di esso verso l'interno.

La massa embrionale non viene schiacciata da questo processo, ma il tutto si ritira leggermente, sempre dividendosi, nella parte più larga del sacco. La parte superiore del sacco prende l'aspetto di un triangolo isoscele, con i lati uguali molto lunghi ed una base stretta, sulla quale giace la base della massa embrionale.

Il continuo progredire del processo di compressione delle cellule vegetative dell'apice nocellare ed il continuo aumento di volume della massa embrionale provoca un avvicinamento delle prime cellule alle seconde, di modo che, negli stadi in cui si osservano all'estremità libera del « *Vorkeim* » i primi abbozzi embrionali, le cellule nocellari dell'apice possono da una superficiale osservazione venire confuse con quelle embrionali. In sezioni di 30, 40  $\mu$  si osservano sempre, a motivo del forte schiacciamento della regione apicale, le cellule formanti la calotta quasi nello stesso piano ottico, di modo che difficilmente si riesce a distinguere le cellule appartenenti alla parte inferiore o a quella superiore, da quelle appartenenti alle parti laterali della calotta apicale. In queste condizioni si può credere che si trovi lo stadio disegnato nella fig. 9 della tav. VII da V. B a m b a c i o n i (1931) dove si possono vedere le cellule nocellari della parte laterale della calotta apicale, in sezione transversale e quelle della parte inferiore o superiore, con le quali sono apparentemente in comunicazione le cellule embrionali del « *Vorkeim* ». Questo stadio è pure rappresentato dalle nostre figg. 8 e 9, tav. 5. Queste figure sono state disegnate con un forte ingrandimento, affinchè i confini tra le cellule nocellari e quelle embrionali potessero apparire chiaramente.

La massa embrionale si differenzia infatti da quella nocellare, in quanto che mai una cellula delle prime, pur essendo nelle immediate vicinanze e quasi addossata alle seconde, mostra una diretta continuità che faccia pensare ad una derivazione dalle cellule nocellari. Enormemente grande è la differenza di volume delle cellule nocellari con quelle embrionali nel loro punto di contatto. Non ci fu mai possibile osservare un graduale aumento di volume delle prime nelle seconde; le cellule embrionali sono alla loro base (nel punto di contatto con le cellule nocellari) due o tre volte più voluminose di quelle nocellari e s'incuneano nella stretta calotta apicale formata dallo schiacciamento della nocella che avvolge, a guisa di velo, parte di esse.

Un carattere che potrebbe indurre in errore è quello derivante dal fatto che le cellule nocellari sono quasi completamente svuotate e se ne scorgono le sole membrane come pure le cellule embrionali in diretta comunicazione con esse; quest'ultime a differenza delle prime, pur provviste di scarso citoplasma, mostrano quasi sempre da due a tre nucleoli, ciò che raramente si osserva ancora nelle cellule nocellari. Avvicinandosi all'apice della massa embrionale, il contenuto delle singole cellule cresce di volume e si fa denso e compatto. In questa regione, appunto, si sviluppano gli abbocchi embrionali dei quali uno solo continuerà a svilupparsi e produrrà il vero embrione.

Lo svuotamento delle cellule basali del « *Vorkeim* » venne già osservato da A. Ernst (1901), e descritto come segue: « Während der Entwicklung des Embryo verschwindet allmählich der Inhalt der grossen, vorher so plasma-und kernreichen Zellen, des *Vorkeimträgers*. Dieser ist nutzlos geworden und degeneriert. Die in den flüssigen Bestandteilen seiner Zellen noch aufgespeicherten Stoffe finden zum Aufbau des Embryo Verwendung ». Noi possiamo aggiungere che lo svuotamento delle cellule del « *Vorkeimträger* » avviene già prima della formazione dell'embrione, e prima di esso si effettua lo svuotamento delle cellule della nocella.

Da quanto fu sopra riferito crediamo di poter affermare con sicurezza che l'embrione di *Tulipa Gesn.* non deriva dalla proliferazione delle cellule epidermiche dell'apice nocellare, ma bensì da un graduale sviluppo dello zigoto, secondo la descrizione fatta da A. Ernst (1901).

I singoli stadi dello sviluppo dello zigoto, dell'ulteriore sviluppo dell'embrione, come pure della formazione dei nu-

clei dell'albumen da noi osservato concordano pienamente con i risultati di A. Ernest (1901), riferiti a pag. 52 - 62 e illustrati nelle tav. VI, VII, VIII, dello stesso lavoro.

### Conclusione

I caratteri tipici dello sviluppo del gametofito femminile e dell'embrione di *Tulipa Gesn.* si lasciano riassumere nei punti seguenti :

1. La cellula archesporiale diventa direttamente cellula madre e questa, senza attraversare lo stadio di tetrade, cellula del sacco embrionale.
2. Nel nucleo inferiore del sacco embrionale due-nucleato non si nota un aumento di cromosomi.
3. La polarizzazione normale dei nuclei megasporiali del sacco embrionale quattro-nucleato avviene nel tipo  $1 + 3$  e dà origine al sacco embrionale quattro-nucleato *primario*. La terza divisione dà origine a due nuclei nella parte superiore del sacco, mentre dai tre nuclei calazali, fusi insieme nel loro stadio di metafase, nascono i due grossi nuclei della parte basale del sacco. I cromosomi dei tre nuclei basali non si dividono longitudinalmente ma si separano, nei casi da noi osservati, 24 si avviano verso il polo superiore, e 12 verso quello inferiore dando così origine a un sacco embrionale quattro-nucleato *secondario*.
4. I 24 cromosomi del grosso nucleo calazale superiore si separano senza dividersi longitudinalmente, dirigendosi in numero di 12 verso i due poli opposti. I 12 cromosomi del grosso nucleo calazale inferiore, si dividono invece longitudinalmente nello stesso modo dei cromosomi dei due nuclei micropilari.
5. I nuclei del sacco embrionale otto-nucleato possiedono, per conseguenza, il numero aploide di 12 cromosomi. Nel sacco embrionale otto-nucleato non si osserva mai una formazione di cellule.
6. In *Tulipa Gesn.* si osserva una doppia fecondazione normale. Sinergidi ed antipodi degenerano ben presto.
7. L'embrione di *Tulipa Gesn.* si forma dall'oosfera fecondata. Non abbiamo mai constatato una proliferazione delle cellule nocellari apicali e per conseguenza un embrione di origine estrasaccale.

## Bibliografia

1. Afzelius K., 1928: Die Embryobildung bei *Nigritella nigra*. Svensk. Bot. Tidskr. Bd. 22, H. 1—2. S. 82—91.
2. Bambacioni V., 1927: Come avviene in *Fritillaria persica* lo sviluppo del gametofito femminile e l'aumento dei cromosomi nella regione calazale. Rend. R. Acc. Lincei, Cl. fis. mat. e nat. Ser. VI, Vol. VI, II sem. pp. 544—546.
3. — — 1928: Ricerche sulla ecologia e sulla embriologia di *Fritillaria persica*, Annali di Botanica, Vol. 18, fasc. I, pp. 7—37.
4. — — 1928: Contributo alla embriologia di *Lilium candidum*, Rend. R. Acc. Lincei, Cl. sc. fis. mat. e nat. Sez. VI, Vol. VIII, II sem. pp. 612—618.
5. Bambacioni V. e Giombolini A., 1930: Sullo sviluppo del gametofito femminile in *Tulipa Gesn.* Annali di Botanica, Vol. XVIII, fasc. 3, pp. 373—386.
6. Bambacioni V.—Mezzetti, 1931: Sullo sviluppo dell'embrione in *Tulipa Gesn.* Annali di Botanica, Vol. XIX, fasc. 1, pp. 145—155.
7. Brieger F., 1930: Selbststerilität und Kreuzungssterilität.
8. — — 1932: *Hyazinthen und Tulpen*. Züchter IV. Heft 6. S. 137—147.
9. Carano E., 1925: Sul particolare sviluppo del gametofito femminile di *Euphorbia dulcis* 1. ser. 6, pp. 633—635.
10. Cappelletti C., 1930: Sull'azione dei prodotti del ricambio dei miceli micorizogeni sulle piante ospiti. Annali di Botanica, Vol. 19, fasc. I, pp. 1—62.
11. Cattorini P., 1914: Intorno all'esistenza delle sfere diretrici o centrosfere nelle cellule del sacco embrionale della *Tulipa*. Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. II, Vol. XIII, pp. 299—307.
12. Chiarugi A. e Franchini E., 1930: Apomissia in *Ochna serrulata* Walp. Nuovo giornale Bot. It., Vol. 37, pp. 1—250.
13. Cooper D. C., 1934: Development of the Embryo sac of *Lilium Henryi*. Proceedings National Acad. of Sciences, 20, 163—166.
14. Ernst A., 1901: Beiträge zur Kenntniss der Entwicklung des Embryosackes und des Embryos (Polyembryonie) bei *Tulipa Gesn. L.* Flora Bd. 88, S. 37—77.
15. Ganoong W. F., 1898: Upon polyembryonie and its morphology in *Opuntia vulgaris*. Bot. Gaz. Vol. 25, pp. 221—228.

16. Guignard M. L., 1900 : L'appareil sexuel et la double fécondation dans les *Tulipes*. Annales des sciences nat. VIII, série Botanique, Tome XI, Nr. 5 et 6.
17. — — 1922 : La fécondation et la polyembryonie chez les *Vincetoxicum*. Memoires de l'Acad. de l'Institut de France, T. 57, II Ser., pp. 1—25.
18. Hall, Sir A. D., 1929: The Book of the *Tulip*. London.
19. — — 1936: Polyploidy in *Tulipa*, Journal Linnean Society (in stampa).
20. Heimans J., 1928: Cromosomen und Befruchtung bei *Lilium Martagon*. Recueil Travaux Botaniques Néerlandais, 25, A. S. 138—167.
21. Hofmeister W., 1861 : Neue Beiträge zur Kenntniss der Embryobildung der *Phanerogamen*. II *Monocotylen*. Abhandl. d. K. S. Ges. d. Wissensch. Bd. VII.
22. Jeffrey E. C., 1895 : Polyembryonie in *Erythronium americanum*. Annals of Botany, Vol. 9, pp. 537-541.
23. Mol, de W. E., 1927: Producing at will of fertile diploid and tetraploid gametes in *Duc van Thol, Scarlet Tulipa suaveolens Roth*. Festschrift Hans Schinz. S. 74—97.
24. — — 1928 : Zusammenfassung der cytologischen und genetischen Ergebnisse des Versuchs zur Duplizierung und Quadruplizierung von Sexualkernen bei *Hyazinthen* und *Tulpen*. Zeitschrift für Induktive Abstammungs-und Vererbungslehre. XLVIII, S. 146—148.
25. — — 1929 : The originating of diploid and tetraploid Pollen—grains in *Duc van Thol-Tulips (Tulipa suaveolens)* dependent on the method of culture applied. Genetica, XI, S. 122—210.
26. Mottier D. M., 1898 : Ueber das Verhalten der Kerne bei der Entwicklung des Embryosackes und die Vorgänge bei der Befruchtung. Jahrb. f. wiss. Bot. Vol. XXXI. S. 125—158.
27. Newton W. C. F., 1925 : Cromosome studies in *Tulipa* and some related Genera. Journal Linnean Society Botany, 47, S. 339—354.
28. Newton W. C. F., Darlington C. D., 1927: Meiosis in Triploid *Tulip*. Nature, 120. S. 13.
29. — — — 1929 : Meiosis in Polyploids. Part I. Triploid and Pentaploid *Tulips*. Journal of Genetics, XXI. S. 1—56.
30. Romanov I. D., 1936: Die Embryosackentwicklung in der Gattung *Gagea, Salisb.* Planta, Bd. 25. Heft 3. S. 438—458.
31. Sargent E., 1896 : The formation of the nuclei in *Lilium Martagon*. Ann. of Botany, Vol. 10. S. 445—477.

32. Schni ewind - Thies J., 1901 : Die Reduktion der Cromosomenzahl und die ihr folgenden Kernteilung in den Embryosackmutterzellen der *Angiospermen* Jena. S. 26.
  33. Shürrhoff P. N., Jüsssen Frz. J., 1925 : Nuzellarpolyyembryonie bei *Spathiphyllum Patinii*. Berichte der Deut. Bot. Ges. Bd. 43, Heft 8. S. 454—456.
  34. Seefeldner G., 1912: Die Polyembryonie bei *Cynanchum vincetoxicum* (L.) Pers. Sitzungsber. Kais. Acad. der Wissensch., Wien Math. Nat. Kl., Bd. 121. Abt. 1, S. 273—296.
  36. Strasburger Ed., 1878: Über Polyembryonie. Zeitschr. für Naturwiss., Bd. 12, 647—670.
  37. — — 1908 : Chromosomenzahl, Plasmastruktur, Vererbungsträger und Reduktionsteilung. Jahrb. f. wiss. Bot., Vol. XLV, Heft 3, S. 479—570.
  35. Stenar H., 1927 : Ueber die Entwicklung des siebenkernigen Embryosackes bei *Gagea lutea*. Ker. Sv. bot. Tidskr. 21.
  38. Upcott M., and La Cour L., 1936: The genetic structure of *Tulipa*. Ia. chromosome survey. Journal of Genetics, Vol. 33, No. 2, S. 237—254.
  39. Wiger J., 1930 : Ein neuer Fall von autonomer Nucellarpolyembryonie. Botaniska Notiser, För Ar. H. 5, S. 368—370.
-

## Spiegazione delle tavole

(Le linee esterne che circondano in parte le singole figure delle tavole II, III, IV, V sono prodotte da ombre di contorno nei clichés, esse non appartengono ai disegni)

### TAV. I.

#### Figura

(La tavola venne ridotta di  $\frac{1}{4}$  della sua grandezza naturale).

1. Frutti ottenuti nelle diverse varietà dall'impollinazione allogena, con ricco contenuto di semi. Grandezza naturale dei frutti: 10,5 - 7 cm.
2. Frutti ottenuti nelle colture impollinate nel modo auto-xenogamo e provenienti da una scarsa impollinazione allogena, con scarso contenuto di semi. Grandezza naturale dei frutti: 4,5 - 3,5 cm.
3. Frutti ottenuti coll'impollinazione auto-xenogama, completamente privi di semi. Grandezza naturale dei frutti: 4 - 2,5 cm.  
(I frutti vennero fotografati e ridotti di  $\frac{1}{3}$  della loro grandezza naturale).
4. Semi abboniti.
5. Semi non abboniti.  
(Tutti i semi vennero fotografati nella loro grandezza naturale).

### TAV. II.

1. Cellula madre delle megaspore con nucleo in riposo. Ingr. 660 : 1.
2. Cellula madre delle megaspore con il nucleo in cui la sostanza cromatica si dispone in fili a forma di collana. Ingr. 660 : 1.
3. Cellula madre delle megaspore con il nucleo nei primi stadi della sinapsis. Ingr. 660 : 1.
4. Cellula madre delle megaspore con il nucleo in sinapsis avanzata. Ingr. 660 : 1.
5. Cellula madre delle megaspore in cui il nucleo contiene i fili cromatici disposti paralleli l'uno all'altro. Ingr. 660 : 1.
6. Cellula madre delle megaspore con il nucleo in giovane stadio di diacinesi. Ingr. 660 : 1.
7. Cellula madre delle megaspore con il nucleo in diacinesi. Ingr. 660 : 1.
8. Metafase del fuso eterotipico con una tipica piastra equatoriale di 12 gemini. Ingr. 660 : 1.
9. Anafase del fuso eterotipico. Ingr. 660 : 1.
10. Sacco embrionale due-nucleato. Ingr. 660 : 1.
11. Nuclei del sacco embrionale due-nucleato che si accingono alla divisione omeotipica. Ingr. 660 : 1.
12. Fusi bipolari di uguale dimensione della divisione omeotipica. Ingr. 660 : 1.

Figura

TAV. III.

1. Anafase della divisione omeotipica. Ad ogni polo si dirigono 12 cromosomi. Ingr. 660 : 1.
2. Anafase della divisione omeotipica. I cromosomi giacciono ai poli, strettamente congiunti l'uno l'altro. Ingr. 660 : 1.
3. Giovane sacco embrionale quattro-nucleato. I nuclei megasporiali sono disposti in pila. Ingr. 400 : 1.
4. Giovane sacco embrionale quattro-nucleato. I nuclei megasporiali sono disposti due al micropilo, uno al centro e uno verso la regione calazale del sacco. Ingr. 660 : 1.
5. Giovane sacco embrionale quattro-nucleato. Un nucleo megasporiale al micropilo, due verso la metà del sacco e uno alla calaza. Formazione di un vacuolo tra il nucleo al micropilo e i due che si trovano verso la metà del sacco. Ingr. 660 : 1.
6. Giovane sacco embrionale quattro-nucleato. I nuclei megasporiali sono disposti quasi in croce. Ingr. 660 : 1.
7. Formazione di vacuoli in un giovane sacco embrionale quattro-nucleato. Ingr. 660 : 1.
8. Giovane sacco embrionale quattro-nucleato primario del tipo 1 + 3. Un nucleo della regione micropilare si è spostato verso quella calazale. Ingr. 660 : 1.
9. Giovane sacco embrionale quattro-nucleato primario del tipo 1 + 3 nello stadio di spirema. Grosso vacuolo tra il nucleo al micropilo e i tre alla calaza. Ingr. 660 : 1.
10. Giovane sacco embrionale quattro-nucleato primario in divisione. Ingr. 660 : 1.
11. Giovane sacco embrionale quattro-nucleato primario in divisione. I cromosomi dei tre nuclei alla calaza tendono a confluire in un'unica piastra equatoriale. Ingr. 660 : 1.

TAV. IV.

(La tavola venne ridotta di  $\frac{1}{4}$  della sua grandezza naturale).

1. Stadio successivo a quello rappresentato nella fig. 11, tav. III. La piastra equatoriale del fuso triploide inferiore mostra 36 cromosomi. Ingr. 660 : 1.
2. Giovane sacco embrionale quattro-nucleato primario (1 + 3) in divisione. Nucleo micropilare con una tipica piastra equatoriale con 12 cromosomi accoppiati a due a due. Fuso bipolare inferiore in anafase: la maggioranza dei cromosomi si dirige verso il polo superiore del fuso. Ingr. 660 : 1.
3. Sacco embrionale quattro-nucleato secondario (2 + 2) ottenuto da un ovario prima dell'antesi. L'aumento di volume dei due nuclei inferiori deriva dalla divisione precedente, rappresentata dalla fig. 2 Ingr. 660 : 1.
4. Sacco embrionale (2 + 2) quattro-nucleato secondario ottenuto da un ovario dopo l'antesi. Nuclei megasporiali nello stadio di spirema. Nucleo inferiore in via di degenerazione. Ingr. 660 : 1.

Figura

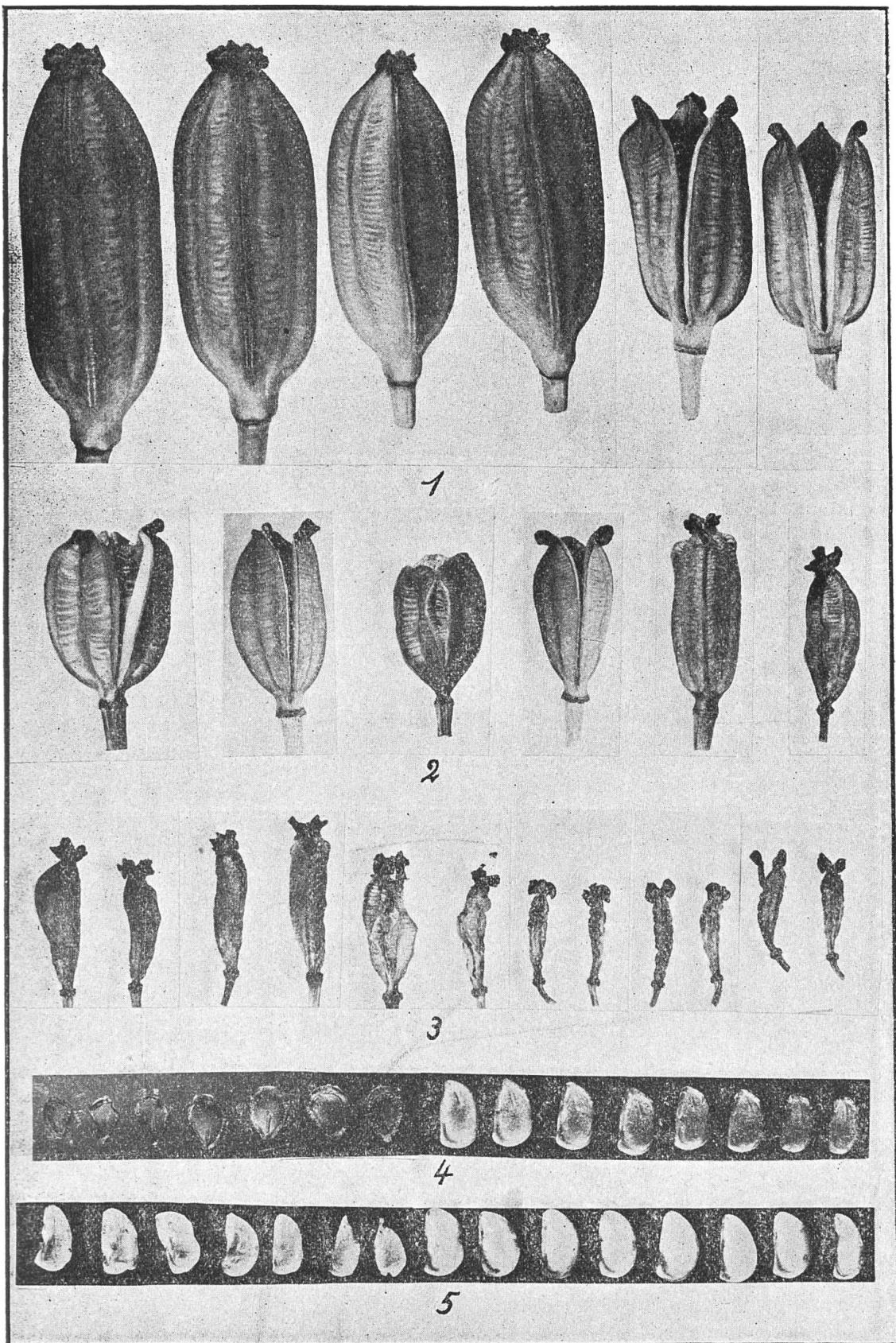
5. Sacco embrionale quattro-nucleato secondario (2 + 2) in divisione. Nucleo micropilare inferiore con una tipica piastra equatoriale di 12 cromosomi accoppiati a due a due. Nucleo calazale superiore con una piastra equatoriale di 24 cromosomi. Nucleo calazale inferiore con 12 cromosomi già longitudinalmente divisi. Ingr. 660 : 1.
6. Stadio successivo al precedente. Nei due fusi bipolari della regione calazale si contano 12 cromosomi diretti ai poli. Ingr. 660 : 1.
7. Sacco embrionale otto-nucleato. Due delle antipodi in via di degenerazione. Ingr. 400 : 1.
8. Doppia fecondazione. Sinergidi e antipodi in degenerazione avanzata. Ingr. 400 : 1.

TAV. V.

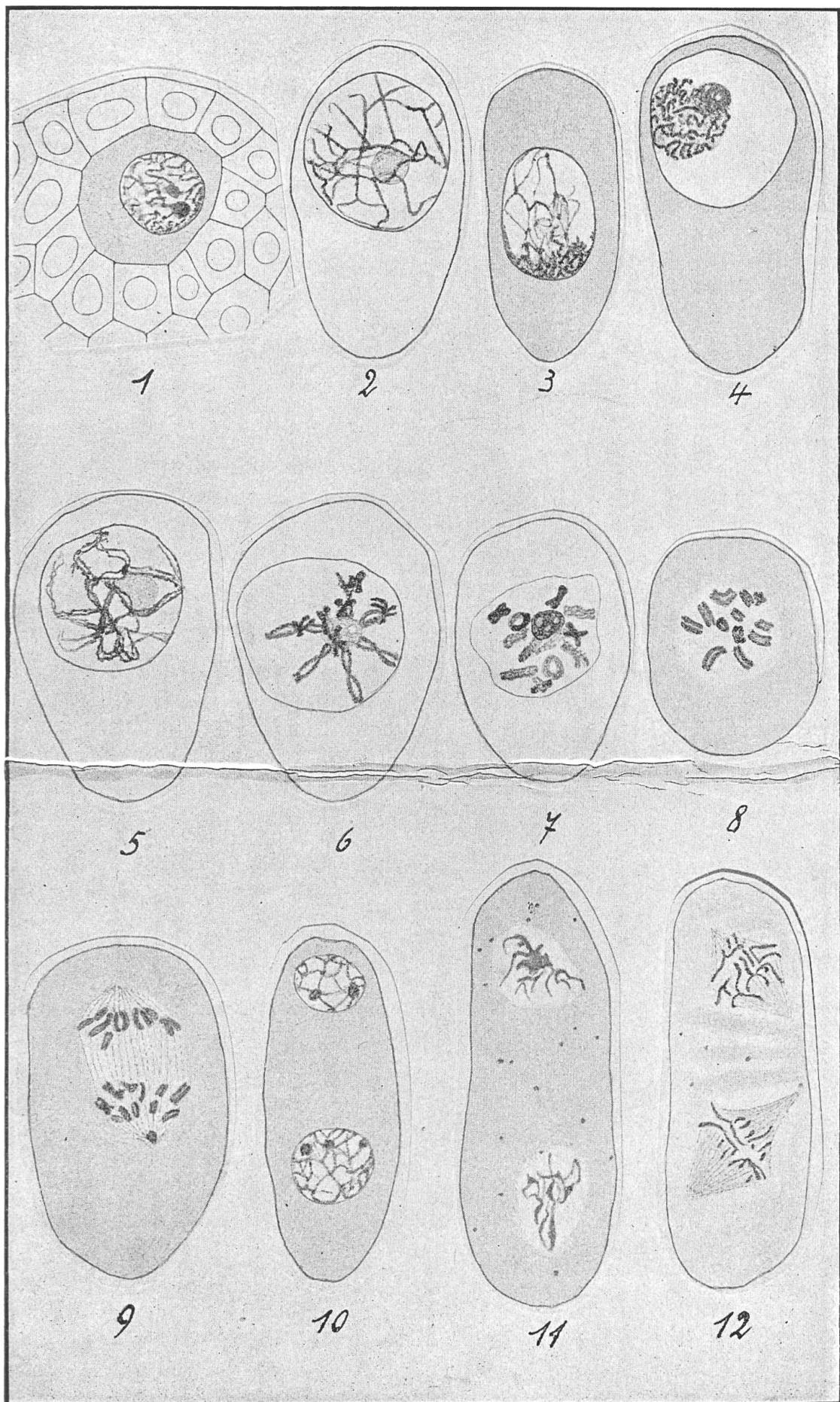
(La tavola venne ridotta di  $\frac{1}{4}$  della sua grandezza naturale).

1. Fecondazione dell'oosfera. Nucleo spermatico adagiato, in una tipica forma incurvata, sull'oosfera. Sinergidi in degenerazione avanzata. Ingr. 660 : 1.
2. Fecondazione dei nuclei polari. Il nucleo spermatico stabilisce nella sua forma incurvata come un legame tra i due nuclei polari. Ingr. 660 : 1.
3. I due primi nuclei dell'albume. Antipodi in degenerazione avanzata. Ingr. 400 : 1.
4. Giovane oosfera a forma di clava. Formazione di una membrana cellulare. All'apice della nocella, tubo pollinico. Ingr. 400 : 1.
5. Giovane embrione bicellulare prodotto dalla fecondazione dell'oosfera. L'apice nocellare presenta uno schiacciamento. Ingr. 400 : 1.
6. Giovane embrione tricellulare. Cellula apicale in divisione. Ingr. 400 : 1.
7. Giovane embrione multicellulare di aspetto rigoglioso sospeso all'apice nucellare da prolungamenti citoplasmatici. L'apice nucellare presenta un forte schiacciamento verso l'interno. Cellule nucellari con scarso contenuto fortemente stirate nella loro lunghezza. Ingr. 400 : 1.
8. « Vorkeim » con abbozzi embrionali al suo apice. Le cellule della calotta apicale della nocella giacciono nello stesso piano e vengono a contatto con le cellule della massa embrionale. Ingr. 400 : 1.
9. Idem. Si noti l'aumento del contenuto protoplasmatico delle cellule nucellari verso l'apice della massa embrionale. Ingr. 400 : 1.

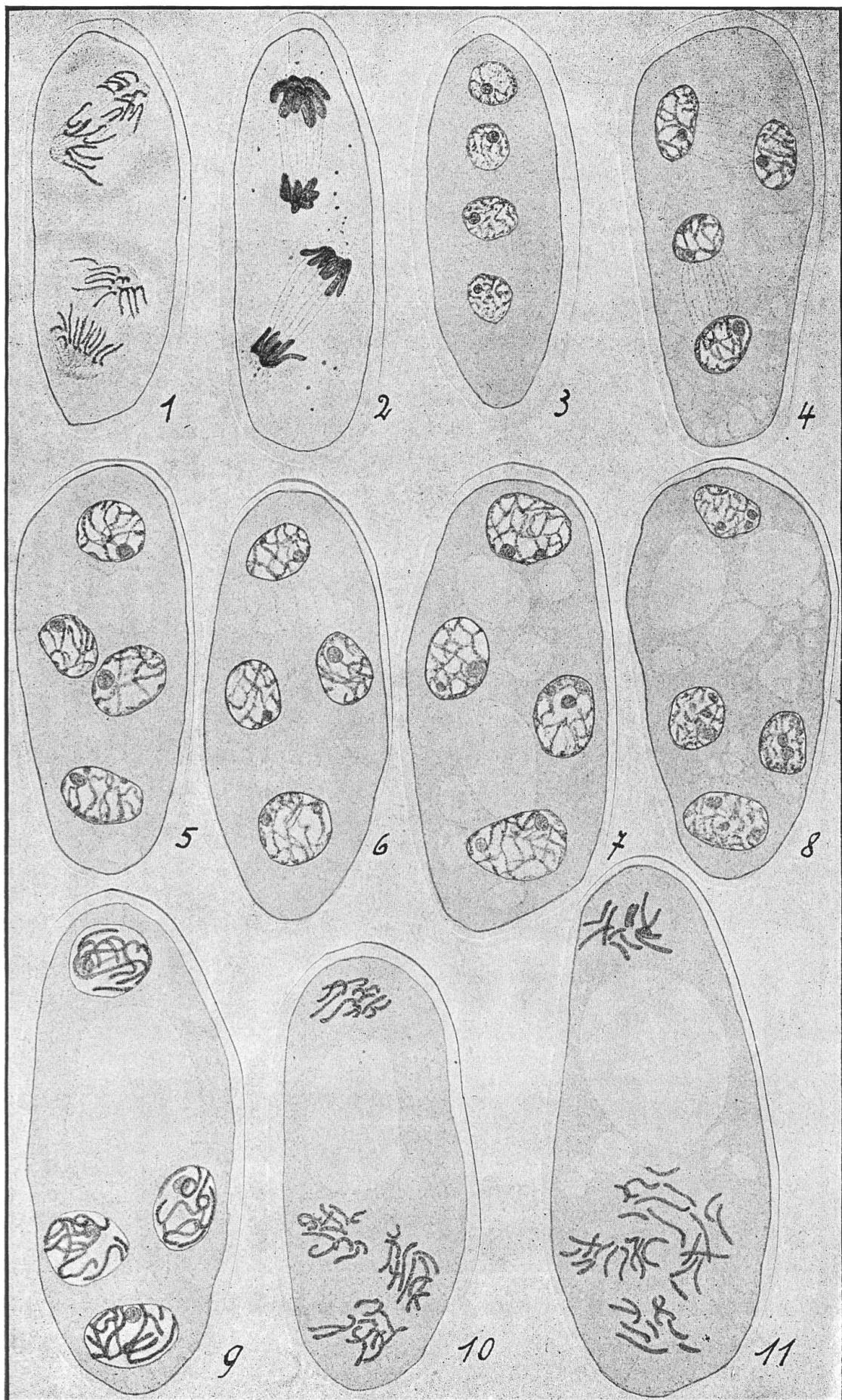
Tav. I.



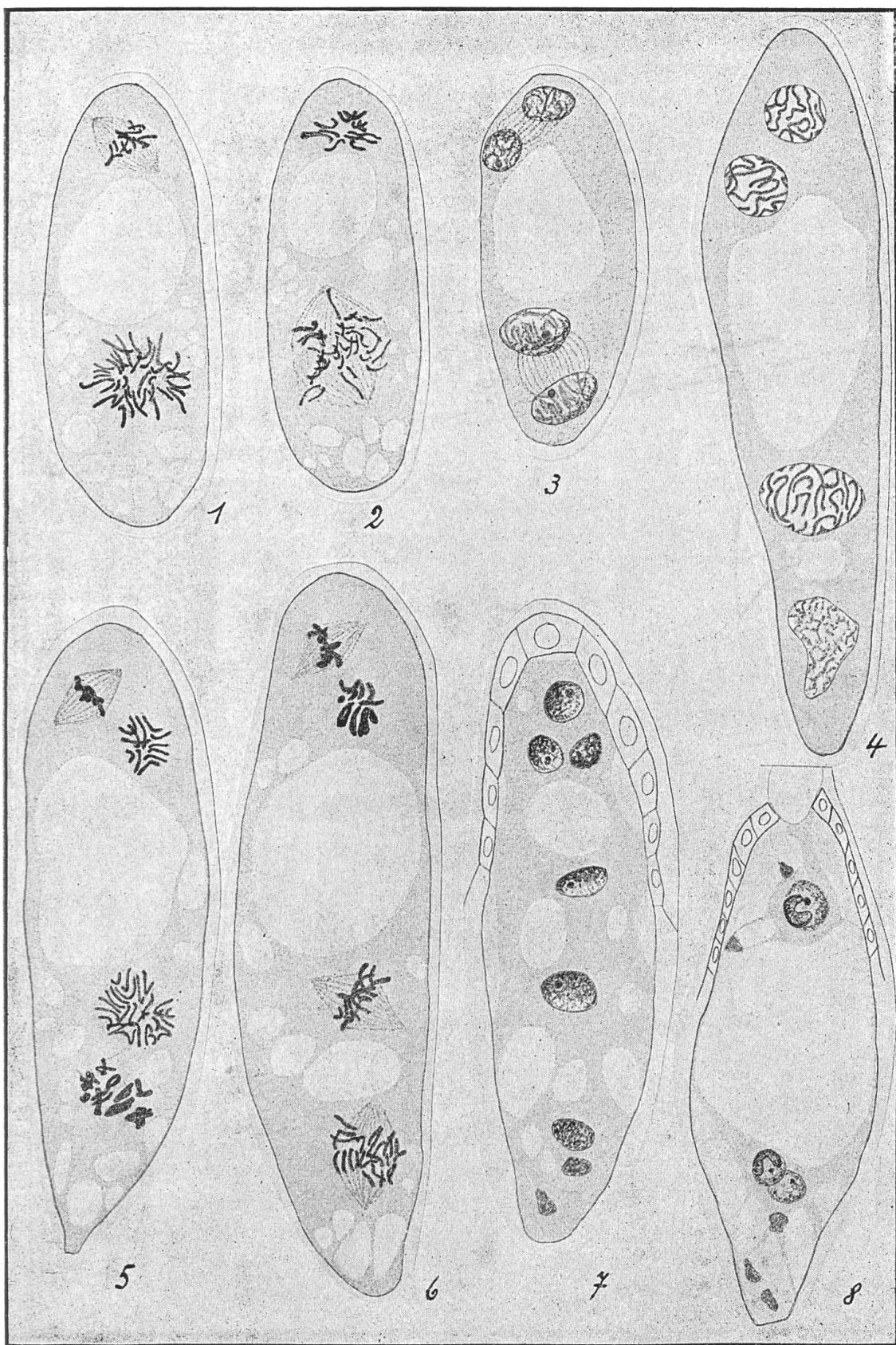
Tav. II.



Tav. III.



Tav. IV.



Tav. V.

