

(Istituto di Anatomia Comparata della R. Università di Roma  
diretto dal Prof. GIULIO COTRONEI.)

## RICERCHE DI INNESTI E DI TRAPIANTO SU PARTI EMBRIONALI ISOLATE NEGLI EMBRIONI DI ANFIBI.

di

ALDO SPIRITO

Con 38 figure nel testo.

(Eingegangen am 29. März 1932.)

### Sommario.

	Pag.
I. Introduzione . . . . .	62
II. Esperienze e risultati . . . . .	67
1°. Innesti di parti anteriori di embrioni di <i>Triton taeniatus</i> o <i>cristatus</i> su pezzi posteriori di embrioni di <i>Rana esculenta</i> . . . . .	67
Tecnica operatoria . . . . .	67
Composizione <i>Aa</i> . . . . .	68
Considerazioni sulla composizione <i>Aa</i> . . . . .	72
Composizione <i>Ab</i> . . . . .	73
Considerazioni sulla composizione <i>Ab</i> . . . . .	76
Composizione <i>Bb</i> . . . . .	76
Considerazioni sulla composizione <i>Bb</i> . . . . .	78
Composizione <i>Ba</i> . . . . .	79
Considerazioni sulla composizione <i>Ba</i> . . . . .	80
Considerazioni generali sulla esperienze delle composizioni <i>Aa</i> , <i>Ab</i> , <i>Bb</i> , <i>Ba</i> . . . . .	81
2°. Trapianti di abbozzi oculari di <i>Triton taeniatus</i> su parti isolate di embrioni di <i>Rana esculenta</i> . . . . .	82
Trapianti in pezzi <i>F</i> . . . . .	82
Trapianti in pezzi <i>C</i> . . . . .	83
Trapianti in pezzi <i>D</i> . . . . .	88
Trapianti in pezzi <i>E</i> . . . . .	90
Considerazioni generali sulle esperienze di trapianto dell'abbozzo oculare di <i>Triton</i> nei pezzi <i>F</i> , <i>C</i> , <i>D</i> , <i>E</i> , di embrioni di <i>Rana es-</i> <i>culenta</i> , in relazione a quelle precedenti di innesti (composizioni <i>Aa</i> , <i>Ab</i> , <i>Bb</i> , <i>Ba</i> ) . . . . .	91
3°. Trapianti omoplastici di abbozzi oculari su parti isolate di embrioni di <i>Rana esculenta</i> . . . . .	93
Trapianti in pezzi <i>C</i> e <i>F</i> . . . . .	94
Trapianti in pezzi <i>D</i> . . . . .	96
Trapianti in pezzi <i>E</i> . . . . .	97
Considerazioni generali sulle esperienze di trapianto omoplastico di abbozzi di <i>Rana esculenta</i> su pezzi <i>C</i> , <i>F</i> , <i>D</i> , <i>E</i> . . . . .	98
III. Conclusioni . . . . .	100
IV. Bibliografia . . . . .	104

### I. Introduzione.

Fin nell'estate del 1929 venivano pubblicate alcune prime ricerche sui trapianti xenoplastici di determinati abbozzi embrionali tra Anuri e Urodeli, eseguite nell'Istituto di Anatomia comparata di Roma. Da allora è stato un susseguirsi di nuovi studi e di nuove esperienze per sempre più concretare quelle prime ricerche, nella sperimentazione delle quali io ebbi l'onore di essere il collaboratore del Prof. GIULIO COTRONEI che le aveva impostate e che le dirigeva.

Non intendo, però, con l'espressione usata di «prime ricerche», dire che esse segnano l'inizio delle esperienze sui trapianti tra forme lontane, chè molti autori, anche negli anni precedenti, avevano già sperimentato tra esemplari appartenenti a specie e a ordini diversi in Anfibi o addirittura a classi differenti di vertebrati. Tra essi è primo il BORN (1894—1895—1896a—1896b) che iniziò la serie; seguono LEWIS (1907), OGAWA (1921), ADAMS (1924), HARRISON (1925), BALINSKY (1925), GEINITZ (1925), GUYÉNOT (1927), SCHAXEL e HAEDKE (1928), BYTINSKY-SALZ (1929), HOLTFFRETER (1929), MURPHY (1914—1915), HYRAIWA (1927) e altri ancora<sup>1</sup>. Vari furono gli scopi delle ricerche eseguite da questa cospicua serie di autori, ma tutti, in genere, diversi da quello precipuo del COTRONEI il quale, impostando tutta una grande serie di esperienze volle adoperare il metodo dei trapianti embrionali per lo studio di alcuni problemi sulla costituzione zoologica degli esemplari usati nelle esperienze e ciò in seguito allo stabilirsi o meno di incompatibilità di vita tra abbozzi di tessuti e d'organi di embrioni appartenenti ad Anfibi di ordini diversi (COTRONEI 1930, 1932; COTRONEI e SPIRITO 1929a, 1929b, 1930a, 1930b, 1930c, 1931; COTRONEI e GUARESCHI 1930, 1931a, 1931b; SPIRITO 1930, 1931a, 1931b, 1931c; GUARESCHI 1931; PERRI 1930, 1931; MARCUCCI 1931). E questo studio iniziato nel 1929 ha già dato, in un relativamente breve volger di tempo, tanti frutti; ciò che sta a dimostrare come queste ricerche, di cui la letteratura zoologica non si è mai preoccupata soverchiamente, abbiano una grande importanza nel momento presente delle scienze biologiche.

I risultati ottenuti sono stati infatti i più vari: dal differenziamento (durante il periodo embrionale), di determinati abbozzi, di Anuri posti su Urodeli, alla distruzione rapida di essi in certi trapianti inversi; dalle fusioni tra retine, tra encefali, tra retine e encefali, tra organi olfattori e tra otocisti appartenenti a embrioni di ordine diverso, allo stabilirsi di connessioni nervose tra l'organo di senso dell'Anuro e l'encefalo dell'Urodelo; dai trapianti ripetuti per studiare una eventuale condizione immunitaria, alla distruzione degli abbozzi di Anuri, dopo avvenuto il differenziamento, nell'Urodelo in seguito alle nuove condizioni biochimiche della vita larvale dell'ospite; dai trapianti xenoplastici di abbozzi embrionali

<sup>1</sup> Per queste indicazioni bibliografiche rimando al lavoro di Perri pubblicato in questo periodico, Vol. 126, 1932.

di organi su girini, all'influenza della metamorfosi dell'animale portainnesti su essi abbozzi; è stata tutta una serie di fatti accertati e che permette ormai un sempre più accentuato sviluppo di studi così interessanti.

Una parte delle suddette ricerche eseguite nell'Istituto di Anatomia comparata di Roma, con la quale il presente lavoro ha stretta attinenza, riguarda i trapianti di alcuni abbozzi embrionali di *Triton cristatus* o *taeniatus* su embrioni di *Rana esculenta*. Nei riguardi del destino di essi vi è già un accenno in una Nota (COTRONEI e SPIRITO, 1930a, Nota II) ove è detto: »che nelle nostre esperienze, eseguite già l'anno scorso, di trapianti di occhi di *Triton cristatus* in embrioni di *Rana esculenta*, abbiamo avuto, dopo cicatrizzazione della ferita, rapidissima necrosi del pezzo trapiantato«. Nella Nota seguente (COTRONEI e SPIRITO, 1930b, Nota III), in seguito ad esperienze nuove, si confermava definitivamente questo fatto che, ancora nell'anno successivo (COTRONEI e SPIRITO, 1931, Nota VII) veniva messo in risalto, anche nei riguardi di una diversità di comportamento operando in un senso o nell'altro, dall'affermazione che: »mentre la vescicola ottica di *Rana esculenta* si differenzia nell'embrione di *Triton*, nelle stesse condizioni sperimentali i trapianti inversi non si verificano!«

Si avevano così le prove dell'esistenza di due incompatibilità tra tessuti di *Rana* e di *Triton*: una precoce (incompatibilità embrionale fra ospite *Rana esculenta* e trapiantato di *Triton*) e una tardiva poichè iniziatesi dopo il differenziamento (incompatibilità larvale tra ospite *Triton* e trapiantato di *Rana*).

Insieme a questi risultati, intanto, se ne ottenevano altri, i quali facevano notare che, pur avendo gli abbozzi oculari di *Triton* e di un altro Urodelo (*Axolotl*) un ugual destino distruttivo allorchè posti su embrioni di altri Anuri (*Bufo vulgaris*, *Rana agilis*), questo comportamento però non si poteva generalizzare per gli abbozzi oculari di qualsiasi Urodelo posti su qualsiasi Anuro, dato che era stato contemporaneamente trovata la possibilità di differenziamento dei tessuti di *Triton* su *Hyla arborea* (COTRONEI e SPIRITO, 1930b, Nota III) e di quelli di *Axolotl* su una rana del gruppo delle temporarie (COTRONEI e SPIRITO, 1931, Nota VII).

Contemporaneamente ancora, nel nostro Istituto, veniva affidata dal Prof. COTRONEI all'allievo PERRI, il compito di analizzare minutamente le modalità della rapida distruzione cui vanno incontro gli abbozzi oculari di *Triton*, trapiantati su embrioni di *Rana esculenta*, tenendo conto della quantità di vitello contenutovi e alle possibilità di ricupero da parte di essi se riportati in embrioni *Triton*: già due suoi lavori (1930—1931) forniscono altri dati aggiuntissimi a quelli ora esposti e in un lavoro in esteso recentissimo egli ha ampliato le sue ricerche nei riguardi dello stadio degli impiantati, in relazione alla possibilità di un

differenziamento da parte di essi quando siano molto avanzati e alla rapidità più o meno grande in cui in tutti i casi vanno fatalmente distrutti.

Il COTRONEI — che era partito dalle sue idee sulle differenze tra il metabolismo vitellino e quello larvale per avanzare l'ipotesi che la prima incompatibilità sia in rapporto al metabolismo vitellino di *Rana esculenta*, durante il quale si formano sostanze nocive per gli abbozzi di *Triton* e che di fronte ai risultati differenti tra *Rana* e *Hyla* (COTRONEI e SPIRITO) sospettò dipendere ciò dalle differenze biochimiche stabilentisi tra i loro rispettivi metabolismi vitellini — ha visto suffragato queste sue idee dalle esperienze molteplici condotte con differenti punti di vista (COTRONEI e GUARESCHI, SPIRITO, PERRI).

E se fin dai primi risultati si era orientato nel senso di un perturbato equilibrio nel metabolismo vitellino, in seguito alle azioni che si svolgono tra gli embrioni di *Rana esculenta* e i trapiantati di Urodeli, ha potuto precisare (senza contraddirle) di recente le sue idee, confrontandole con i risultati acquisiti negli studi immunitari e soprattutto lumeggiati nella classica teoria di BORDET.

Il trapiantato di Urodeli agisce come antigene rispetto all'embrione di *Rana esculenta*, nel quale si trovano naturalmente anticorpi rispetto ad essi. Questi anticorpi sensibilizzano l'antigene e, per le esperienze di ricupero del PERRI, si deve ammettere che la fissazione del complemento si opera più energicamente soltanto quando l'antigene e l'anticorpo si trovano in determinate proporzioni. Soltanto allora intervengono processi litici che sono stabiliti dal complemento (corpuscoli vitellini o meglio disintegrazione proteica e forse lipoidea di essi).

È possibile che gli stessi anticorpi non siano estranei a quelle sostanze che entrano nel metabolismo del vitello e forse ai fermenti che lo provocano.

Di questi fenomeni di rapida distruzione dei tessuti embrionali di alcuni Urodeli posti su embrioni di alcuni Anuri vi sono appena degli accenni isolati in letteratura, per quanto non prospettati sotto nessuna luce interpretativa, nè in connessione con altri problemi biologici. È del 1894 quello del BORN di cui dirò in seguito e del 1925 l'altro dell'HARRISON riportato nel suo lavoro sul bilancere. Nella sua esposizione l'Autore descrive i risultati ottenuti nelle molteplici operazioni eseguite, tra le quali meritano speciale menzione, per lo scopo delle presenti ricerche, quelle di trapianto dell'ectoderma del bilancere di *Amblystoma punctatum* nella regione cefalica di embrioni di *Rana sylvatica*, risultanti in un imperfetto sviluppo del bilancere stesso. Nello stesso lavoro c'è ancora un accenno, sempre sullo stesso argomento, nei riguardi del l'ectoderma lentogeno. L'HARRISON parla in esso di esperimenti precedenti eseguiti con l'epitelio della lente e fa notare che, mentre gli embrioni di *Amblystoma* sono tolleranti rispetto all'ectoderma di *Rana palustris*

la reciproca combinazione ha per risultato il disfacimento dell'impiantato in circa 2 giorni.

Nel 1930 (Nota I) volendo estendere queste ricerche ad una nuova serie di osservazioni, impostai nuove esperienze, valendomi non più del metodo dei trapianti di singoli abbozzi o di un complesso di abbozzi embrionali, ma di operazioni tendenti a modificare, in una maniera molto più ampia, la composizione anatomica dell'individuo nella sua integrità, mediante le sostituzioni più varie di parti estesissime di embrioni appartenenti a Anfibi di ordini differenti. Nelle esperienze furono usati embrioni di *Triton*, di *Hyla*, di *Rana esculenta*, ma la descrizione delle composizioni tra gli esemplari delle prime due specie sarà oggetto di altro lavoro, come pure quella delle composizioni tra parti anteriori di *Rana* e parti posteriori di *Triton*.

Nel presente lavoro saranno descritte le sole operazioni di innesti tra parti anteriori di *Triton cristatus* o *taeniatus* e parti posteriori di *Rana esculenta*, poichè solo in questi ultimi si è potuto studiare l'influenza distruttiva degli embrioni *Rana* sui tessuti di *Triton*, così come ho riferito nell'esposizione bibliografica sull'argomento.

Degli innesti tra embrioni di Anfibi si sono occupati vari autori [BORN, HARRISON, GIARDINA, ANASTASI, EKMAN, COTRONEI ecc.<sup>1</sup>], e tra esemplari di specie differenti l'HARRISON (1904) (innesti tra embrioni di *Rana palustris* e *Rana silvatica*) il quale potè portare i suoi operati fino alla metamorfosi e prima ancora il BORN (1894, 1895, 1896a, 1896b).

Questo geniale autore, che per primo introdusse le operazioni d'innesto su embrioni di Anfibi, fondando così per essi tutta una nuova tecnica che si estese successivamente in quella dei trapianti embrionali di singoli abbozzi, fece le più svariate composizioni tra gli embrioni usati per gli esperimenti. Così si ebbero unioni di segmenti posteriori, unioni di segmenti anteriori, e, ancora più interessanti, unioni di parti anteriori di larve con segmenti posteriori di altre e infine unioni di due larve per mezzo di alcune regioni del loro corpo. Il materiale era formato da embrioni di *Rana esculenta*, *Rana fusca*, *Rana arvalis*, *Bombinator igneus*, *Triton* e *Bufo*, ma i migliori tra essi si dimostrano quelli delle prime quattro specie.

Le esperienze di innesti furono eseguite non solo tra parti di embrioni della stessa specie (e i mostri ottenuti si mantennero in vita per parecchio tempo) ma anche tra pezzi appartenenti a embrioni di specie diverse. I risultati ottenuti di fusione perfetta tra le varie parti, proprie dei pezzi messi a contatto, hanno così posto in luce quelle proprietà di affinità e di attrazione, che si stabiliscono tra organi simili, giustamente valorizzate nel 1921 e 1922 dal COTRONEI, che nel 1929 (COTRONEI e

<sup>1</sup> Tengo a mettere in risalto che intendo parlare di innesti di grosse parti e non di trapianti di singole zone: in tal caso la letteratura è molto vasta.

SPIRITO, 1929a, Nota I) le dimostrava esistenti anche tra tessuti appartenenti addirittura ad Anfibi di ordini differenti.

La parte, però, che, delle belle ricerche del BORN, ha una speciale importanza per il presente lavoro, riguarda gli innesti tra *Triton* e *Rana*. Nel suo lavoro del 1894 egli, in un capitolo dal titolo: „Vereinigung von Teilstücken von Amphibienlarven verschiedener Art, Gattung und Familie“, incomincia appunto la sua esposizione, parlando di queste esperienze. Il BORN univa in esse un pezzo anteriore appartenente a una larva di *Triton*, col pezzo posteriore di una larva di *Rana esculenta* e vide che la saldatura tra essi riusciva perfettamente alla stessa guisa di quando aveva operato tra pezzi appartenenti a embrioni della stessa specie. Alcuni giorni più tardi però il pezzo anteriore di *Triton* andava in disfacimento ciò che contrariò molto il BORN il quale, alla riunione dove fu svolto il lavoro in questione, non potè fare a meno di riferire della soddisfazione che provò quando in seguito gli vennero recati gli embrioni di *Bombinator*, poichè tra questi e quelli di *Rana* non si verificarono fenomeni distruttivi impedenti lo sviluppo embrionale di pezzi saldati insieme.

Questo risultato del BORN, di cui oggi noi sappiamo le cause, non fu potuto valutare dall'autore nei suoi giusti limiti perchè gli mancarono i risultati comparativi con altre combinazioni sperimentali tra Anuri e Urodeli. Il BORN pensò all'inutilità di estendere i risultati e quando con le ricerche di LEWIS e di altri si stabilì la possibilità di differenziamiento in esperienze di trapianto tra Anuri e Urodeli, nessun autore, come abbiamo visto nella parte generale, pensò con ricerche sistematiche, come quelle condotte nell'Istituto di Anatomia comparata di Roma, di analizzare la ragione di incompatibilità che si verificano solo tra alcune forme di Anfibi e non tra altre. Non mancarono anzi quelli che, appena pubblicati i primi risultati di COTRONEI e SPIRITO espressero immediatamente la loro ironica svalutazione di tali problemi!

Questi sono, brevemente esposti, i precedenti bibliografici sull'argomento riguardante il presente lavoro, soprattutto in relazione alle ricerche eseguite nell'Istituto di Anatomia comparata di Roma.

Impostando le mie esperienze nel 1930 ho voluto appunto studiare, sulla base dei fatti accertati dalle ricerche sui trapianti xenoplastici di abbozzi di *Triton* su *Rana esculenta*, culminanti nella distruzione degli abbozzi dell'Urodelo, se si potesse rendere possibile, mediante alcune disposizioni sperimentali, la coesistenza e il differenziamento dei tessuti delle parti anteriori di embrioni di *Triton cristatus* o *taeniatus* innestate su parti posteriori di embrioni di *Rana esculenta*, anche in relazione alle cospicue proprietà di vita autonoma possedute da esse parti isolate, proprietà studiate molto accuratamente da vari autori (VULPIAN, BORN, RAFFAELE, GOGGIO, GIARDINA, COTRONEI ecc.<sup>1</sup>) e che forse

<sup>1</sup> Per queste indicazioni bibliografiche rimando al lavoro del COTRONEI (1922).

avrebbero potuto salvare i tessuti dell'Urodelo dall'azione distruttiva degli umori di *Rana esculenta*.

Questa è stata la prima impostazione del presente lavoro. I risultati ottenuti negli innesti hanno portato in seguito, la necessità di impostare nuove serie di esperienze logicamente connesse le une alle altre per la spiegazione di alcuni fatti ottenuti in alcuni gruppi di esse.

Le operazioni, di cui rendo conto nel presente lavoro, in tutto ammontano a 171 positive, tutte col relativo controllo istologico avendo io scartato quelle che mi erano sembrate per il momento non degne di considerazione.

Lo svolgersi delle impostazioni e delle considerazioni su esse esperienze è quindi necessariamente legato all'esposizione dei risultati; cioè che forma appunto l'oggetto del seguente capitolo.

## II. Esperienze e risultati.

### I. Innesti di parti anteriori di embrioni di *Triton cristatus* o *taeniatus* su pezzi posteriori di embrioni di *Rana esculenta*.

#### *Tecnica operatoria.*

Premetto alla descrizione dei risultati alcuni cenni delle modalità operatorie, usate per le ricerche che vengono trattate in questa prima parte.

Posti in una stessa vaschetta di cera, contenente soluzione fisiologica del Ringer, i due esemplari da usarsi nella esperienza (un embrione di *Rana esculenta* e un altro di *Triton*) essi venivano tagliati, per mezzo di piccole forbici sotto il campo del microscopio binoculare, a vari livelli a seconda del tipo di composizione voluta. Il pezzo anteriore dell'Urodelo e il pezzo posteriore dell'Anuro venivano quindi messi accanto e fatti combaciare per mezzo delle loro superfici cruenti. Una cura particolare veniva usata a che il neurasse del pezzo anteriore venisse a trovarsi in continuazione con quello del pezzo posteriore e uguali precauzioni venivano prese per quel che riguardava l'abbozzo dell'intestino.

I pezzi erano tenuti aderenti per mezzo di piccoli speroni di cera, rialzati con una lancetta dal fondo del recipiente usato durante l'operazione. Dopo un tempo variabile dalle 3 alle 5 ore «i mostri» venivano rimossi e al microscopio binoculare veniva osservata attentamente la linea di fusione tra l'ectoderma di *Rana esculenta* e quello di *Triton*. Non sempre è avvenuto che tutta la circonferenza si trovasse saldata alla prima osservazione poichè a volte delle porzioni di essa si presentavano aperte. Si ovviava a tale inconveniente tagliuzzando con le forbici i lembi liberi dell'ectoderma ed esercitando ancora sul complesso fuso la stessa pressione esercitata la prima volta e ripetendo queste operazioni fino alla riuscita completa di una perfetta fusione; dopo di che gli esemplari operati venivano trasferiti in capsule di vetro sempre contenenti soluzione fisiologica di Ringer.

Un inconveniente che è stato anche necessario subito eliminare era conseguenza della diversa grandezza degli animali sperimentati (diametro della superficie del taglio di *Rana* più grande che in *Triton*) sì che gli orli delle superfici cruenta destinate a fondersi non venivano a contatto nella loro integrità. Si è ovviato a tale inconveniente tagliando dapprima il pezzo posteriore di *Rana esculenta* e poi ritardando l'atto della sua unione col pezzo anteriore di *Triton*, del tempo necessario a che la superficie cruenta degli embrioni dell'Anuro si impiccolisse adeguatamente, grazie ai fenomeni di arrotondamento e di riparazione che intervengono di regola subito dopo il taglio.

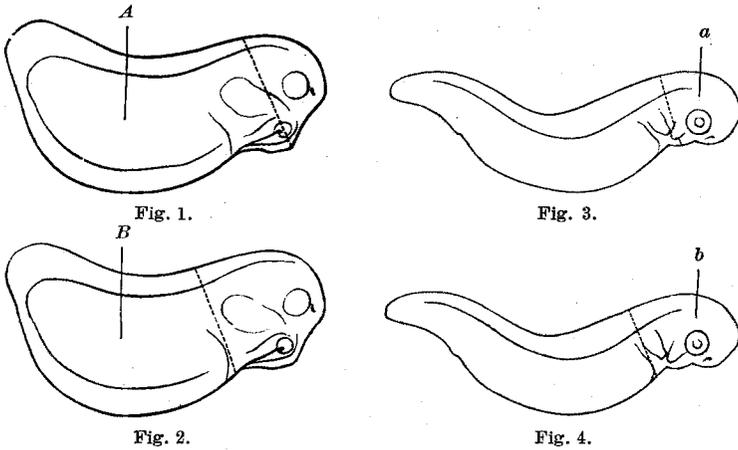


Fig. 1—4. Figure schematiche degli stadi embrionali di *Rana esculenta* (fig. 1, 2) e di *Triton* (fig. 3, 4). Le linee tratteggiate indicano il livello del taglio dei pezzi A e B di *Rana esculenta* e dei pezzi a e b di *Triton*.

Per quel che riguarda gli stadi degli esemplari usati nelle operazioni si può dire che per la *Rana esculenta* sono stati sempre usati embrioni allo stadio di bottone codale, nel tempo stesso che per quelli di *Triton* venivano adoperati embrioni col bilancere accennato. (Vedi schemi delle figure 1—4.)

I tagli dei pezzi embrionali sono stati eseguiti a vari livelli nel susseguirsi delle varie operazioni. Per comodità espositiva, come si può vedere dagli annessi schemi (vedi figure 1—4) ho contrassegnato con lettere maiuscole dell'alfabeto i pezzi posteriori degli embrioni di *Rana esculenta*, laddove le lettere minuscole indicano i pezzi anteriori degli embrioni di *Triton*.

#### Composizione Aa (Operazioni 8).

[In A è stata rispettata del taglio tutta la parte posteriore con gli abbozzi branchiali inclusi (fig. 1); in a tutti gli organi cefalici fino alle otocisti incluse (fig. 3)].

Gli esemplari operati sono stati oggetto di ripetute osservazioni eseguite al microscopio binoculare per seguire di momento in momento il destino delle zone di *Triton* innestate su *Rana esculenta*. Essenzialmente il comportamento è stato presso a poco uguale per tutti e perciò cercherò di unificare la presente esposizione per quanto è possibile, descrivendo i casi più salienti e ai quali si possono ricondurre a gruppi tutti gli altri.

Fin dal primo giorno dopo l'operazione si può notare una certa migrazione degli elementi dell'ectoderma di *Rana* sopra il territorio di *Triton*. Quest'ultimo subisce un graduale raccorciamento fino alla sparizione completa o si presenta disfatto nella maniera che descriverò in seguito.

Gli esemplari sono stati fissati in tempi variabili da 5 a 8 giorni dopo l'operazione e si è tenuto conto, nel valutare l'entità dei fenomeni verificatisi, della temperatura del liquido ambiente, mantenuto a temperatura costante con l'aiuto di termostati a regolazione automatica.

Le sezioni seriali degli animali sono state eseguite secondo piani frontali in modo da poter agevolmente osservare, negli eventuali casi positivi, processi di fusione tra i tessuti e organi proprii delle due parti della composizione usata.

Descrivo prima alcuni casi nei quali il pezzo *a* appartiene a embrioni di *Triton cristatus*.

Esperienza *a 1*. Data l'operazione 15. 3. 30; data della fissazione 20. 3. 30. Temperatura della soluzione fisiologica 21°.

L'esame microscopico delle sezioni seriali dimostra forti soluzioni di continuità dell'ectoderma della parte rostrale e laterale destra del pezzo *a*, e parti di esso mancanti come, ad esempio l'occhio destro del quale rimane solo qualche frammento e ambedue gli organi olfattori. L'occhio di sinistra è invece conservato: tutta la retina è presente senza però tracce di differenziamento in strati ed ancora ricca di corpuscoli vitellini. In questo caso manca il nervo ottico che però in un altro identico (esperienza *a 5*), è presente. Il cristallino, ancora munito di cavità, è poco avanzato nello sviluppo.

Dell'encefalo di *Triton* rimangono vari pezzi tutti frammentati, una parte dei quali si trova nel lume del neurasse di *Rana*. Questa è la regione che si presenta più disfatta fra tutte; molto vitello ancora l'infarcisce, molti nuclei sono con cromatina addensata e sparsi tra essi si trovano molti granuli intensamente colorati con l'ematosilina. Essi si possono ritenere come prodotti della disintegrazione dei nuclei. Intorno alle suddette masse encefaliche si notano delle fibre nervose, ciò che sta a dimostrare che, dopo l'innesto, il pezzo *a* è stato sede di processi differenziativi, se pure di leggera entità, a opera dei tessuti in esso contenuti.

Le otocisti sono presenti in forma di due piccole vescicole ben conservate, con le cellule ancora piene di vitello. Esse sono rotondegianti senza traccia di estroflessioni di sorta.

Il mesenchima circondante i residui degli organi è pieno di corpuscoli vitellini e senza segni di differenziamento istologico. I nuclei in genere si presentano in cattive condizioni, con cromatina addensata in lunule disposte perifericamente sotto la membrana nucleare, o spezzettati in sferule cromatiniche intensamente colorate.

Qualche rara mitosi è presente nell'occhio sinistro e nel mesenchima; nessuna nelle parti residue del cervello.

Nel pezzo *a* non vi è affatto traccia di globuli rossi di *Rana*: molti di essi invece sono nella zona di fusione tra le due parti.

Il pezzo posteriore *A* possiede ancora molto vitello sia nella parte ventrale, ove già si nota il canale intestinale, sia negli organi in via di differenziamento. Il neurasse è aperto anteriormente e per l'apertura penetrano, come è detto sopra, frammenti in disfacimento dell'encefalo di *Triton*.

Un po'diversi dal caso descritto sono invece quelli contrassegnati da *a 3* e *a 4*, essenzialmente simili tra loro e di cui perciò descrivo unicamente l'*a 4*. All'esame *in vivo* eseguito al microscopio binoculare avevano già mostrato al 4° giorno il pezzo anteriore *a*, con forti soluzioni di continuità dell'ectoderma e fuoriuscita di sostanze in esso contenute.

Esperienza *a 4*. Data dell'operazione 16. 3. 30; data della fissazione 23. 3. 30. Temperatura della soluzione fisiologica 21°.

Del pezzo *a* rimangono solo alcune cellule in preda a processi degenerativi e corpuscoli vitellini. Una belle rete sanguigna piena di globuli rossi di *Rana* arriva fin tra i detriti di *Triton*. Tra essi si notano pure leucociti sparsi.

Il pezzo posteriore *A* mostra già delineate le spire intestinali ancora ricche di vitello, nel tempo stesso che esso è già esaurito nel tubo neurale. Quest'ultimo si è chiuso anteriormente con parete sottilissima ependimale.

Le sopradescritte esperienze hanno presentato un inconveniente consistente nel verificarsi di brutali rotture dell'ectoderma del pezzo anteriore *a* di *Triton*, con conseguente fuoriuscita di organi e tessuti in esso contenuti. Tutto ciò avrebbe arrecato un grande svantaggio, data la perdita di materiali all'esterno, per l'esatta valutazione dell'entità dell'influenza distruttrice esercitata dal pezzo posteriore *A* di *Rana* sulla testa di *Triton*, oltre che all'impossibilità di seriare giustamente la diversa suscettibilità degli organi in esso contenuti, sempre rispetto alla suddetta azione disgregatrice. Sono stati perciò adoperati, per il prelevamento dei pezzi anteriori, embrioni di *Triton taeniatus* (invece di *Triton cristatus* come era stato fatto precedentemente), i quali hanno corrisposto esattamente alla aspettativa, non presentando i pezzi anteriori di essi mai processi disgregativi esterni, ma soltanto un progressivo raccorciamento fino alla sparizione più o meno completa. Essi sono stati inoltre più resistenti alla distruzione.

Descrivo per primo il caso di maggior conservazione del pezzo *a*, dipendente dal minor tempo nel quale è stato tenuto in vita l'animale dopo l'operazione.

Esperienza *a 8*. Data dell'operazione 25. 3. 30; data della fissazione 30. 3. 30. Temperatura della soluzione fisiologica 25°.

Questo è l'unico esemplare, tra quelli della presente categoria che mostri gli organi olfattori. Essi sono in forma di piccole masserelle cellulari piene, con i nuclei in evidenti cattive condizioni. Gli occhi sono ambedue presenti, col *tapetum* debolmente pigmentato e con le retine mostranti qualche accenno di formazione di strati, senza tuttavia che si possano notare i nervi ottici. I nuclei delle cellule retiniche mostrano in parte segni di degenerazione. I cristallini sono avanzati nello sviluppo, con le fibre già completamente allungate. L'encefalo, a prescindere da qualche fibra nervosa non si presenta progredito neanche morfologicamente,

con i nuclei in parte distrutti. Le otocisti sono in forma di piccole vescicole senza differenziazioni morfologiche di sorta.

Il vitello è presente nel mesenchima, nell'encefalo, ma non negli occhi e negli organi olfattori. Qualche nucleo in cariocinesi si può notare nel mesenchima, ma non nelle altre parti.

Molti globuli rossi di *Rana* si trovano nel territorio di *Triton* e anche dei leucociti sono sparsi tra le cellule di esso.

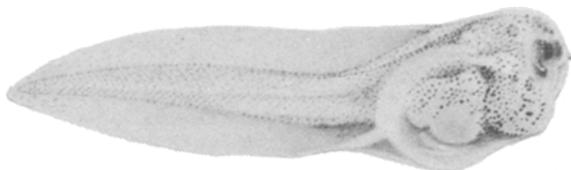


Fig. 5. Esemplare operato della composizione Aa, disegnato al momento della fissazione.

Il pezzo posteriore A di *Rana* è molto avanti nel suo sviluppo embrionale. Le spire intestinali sono delineate, ma in esse e negli annessi vi è ancora del vitello. Il tubo neurale è tuttora aperto anteriormente, ma l'apertura è tamponata da uno zaffo di encefalo di *Triton* penetrato nel suo lume.

Esperienza a 6 (fig. 5).  
Data dell'operazione 24. 3. 30; data della fissazione 30. 3. 30. Temperatura della soluzione fisiologica 25°.

All'esame microscopico delle sezioni si nota che dell'encefalo di *Triton* è rimasta ancora una parte; una certa quantità della quale è nel lume del tubo neurale di *Rana*, tutta frammentata con i nuclei in cattive condizioni. Qualche rara fibra nervosa è presente. Ancora a questo stadio si trovano corpuscoli vitellini nell'encefalo frammati a globuli rossi di *Rana* penetrativi.

Degli occhi è rimasto ben poco (fig. 6). Si notano infatti solo dei frammenti di *tapetum* pigmentati e alcune cellule retiniche, senza tracce di fibre nervose.

Questo caso è l'unico che presenti conservato un accenno del bilancere, per quanto per nulla progredito nello sviluppo.

Delle otocisti vi è solo quella di destra (può essere che la mancanza dell'otocisti sinistra debba essere attribuita a non essere stata compresa dal taglio nel pezzo a) molto piccola, senza alcuna traccia di differenziazione morfologica.

Varie sono le condizioni delle cellule e dei nuclei del pezzo a: abbastanza ben conservati quelli dell'ectoderma, dell'otocisti e del mesenchima; in disfacimento quelli dei residui dell'encefalo e degli occhi.

Nessun nucleo in mitosi è presente nei residui di questi ultimi; nel tempo stesso che se ne possono trovare frequenti nell'ectoderma, nel mesenchima e una nell'otocisti. Un po' di vitello è ancora sparso dappertutto.

Una grande quantità di globuli rossi di *Rana* è nel territorio di *Triton*, insieme a leucociti sparpagliati tra le cellule di esso.

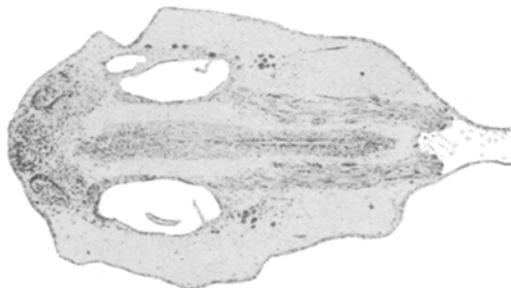


Fig. 6. Microfotografia di una sezione frontale dell'esemplare disegnato nella figura 5. Obb. 16 mm. apocr. Leitz.

Il pezzo posteriore *A* (*Rana*) si presenta notevolmente progredito nello sviluppo. Le spire intestinali sono ben delineate, ma ancora in esse sono rimaste vari corpuscoli vitellini. Il tubo neurale è ancora aperto anteriormente, ma l'apertura è tamponata da uno zaffo di encefalo di *Triton* penetrato nel suo lume.

Esperienza *a 7*. Data dell'operazione 24. 3. 30; data della fissazione 30. 3. 30. Temperatura della soluzione fisiologica 25°. Nel corso delle osservazioni *in vivo* aveva mostrato annerimento dei territori oculari.

All'esame microscopico delle sezioni si nota che non vi è più alcuna traccia di organi olfattivi, dell'encefalo e degli occhi. Sono rimaste del pezzo *a* soltanto alcune masserelle cellulari ricche di vitello, e le otocisti. Queste ultime sono in forma di piccolissime vescicole, ancora infarcite di corpuscoli vitellini.

Le condizioni dei residui cellulari di *Triton* sono varie: in parte buone e in parti indicanti evidenti processi degenerativi. Nessuna mitosi è presente.

Molti globuli rossi di *Rana* sono tra i residui di *Triton* e anche dei leucociti sono sparsi tra gli elementi di questi ultimi.

Il pezzo posteriore *A* è notevolmente progredito nello sviluppo. Le spire intestinali sono ben delineate, ma in esse vi è ancora del vitello. Il tubo neurale di *Rana* si è ormai chiuso rostralmente con parete notevolmente spessa.

Del tutto uguale a quest'ultima esperienza è quella contrassegnata con *a 2* il cui esemplare è stato tenuto in vita 8 giorni dopo l'operazione, in soluzione fisiologica alla temperatura di 21°.

#### *Considerazioni sulla composizione Aa.*

Dall'esposizione analitica dei casi più salienti riguardanti esemplari operati della composizione *Aa* risulta per primo un ugual comportamento del pezzo *a*, sia che esso appartenga a embrioni di *Triton cristatus* o di *Triton taeniatus*. Quest'ultimi, però, si sono meglio prestati per i fini operativi.

Nei casi nei quali è rimasto qualcosa delle regioni innestate (pezzi *a*) si è potuto vedere, confrontando con sezioni di esemplari normali di *Triton* fissati allo stadio operativo, che c'è stato un leggero avanzamento nei processi differenziativi degli organi e tessuti in esse contenuti; differenziamento che ha avuto la sua massima estrinsecazione nel cristallino (*a 1 — a 5 — a 8*). Anche l'encefalo e gli occhi hanno formato a volte qualche rara fibra nervosa e lo strato esterno del calice ottico (*tapetum*) si è, più o meno, debolmente pigmentato (*a 1 — a 5 — a 8*). Nessun differenziamento si è avuto, invece, negli organi olfattori; ciò che è stato visto nell'unico caso, in cui essi erano ancora presenti (*a 8*).

Nella distruzione, la parte che ha sempre più risentito è l'organo olfattorio poichè esso non si è trovato nelle sezioni degli esemplari di questa serie, tranne che nell'esperienza *a 8*; nè si può dire che essa mancanza sia da attribuirsi semplicemente al fatto che esso non si sia sviluppato e ciò perchè è risultato, dai controlli fissati allo stadio operativo, essere già allora esistente in forma di piccola fossetta. Anche nei trapianti di abbozzi di *Rana esculenta* su *Triton*, del resto era stato visto che l'organo olfattivo era più suscettibile alla distruzione tardiva larvale (COTRONEI e SPIRITO) dell'occhio e dell'encefalo.

Per gli altri organi, si sono dimostrati suscettibili dal maggiore al minor grado, l'encefalo, gli occhi, le otocisti e il mesenchima. L'essere l'encefalo la parte del pezzo *a* più suscettibile, dopo l'organo olfattorio, alla distruzione, di tutti gli altri organi o tessuti in esso contenuti, è avvalorato da tutto l'insieme di fatti osservati negli esemplari di questa serie.

È interessante pure la presenza del sangue di *Rana* nei territori di *Triton* inviatovi dall'impulso del cuore dell'Anuro, attraverso i monconi dei vasi rostrali.

Oltre alle considerazioni più sopra esposte c'è da aggiungere un'altra nei riguardi degli esemplari della composizione *Aa*. Essa considerazione, in ultima analisi, è la constatazione di una perfetta uguaglianza di comportamento, rispetto all'azione distruttrice di *Rana esculenta*, degli organi embrionali isolati di *Triton* trapiantativi o nell'embrione o nell'adulto di essa (COTRONEI e SPIRITO, COTRONEI e GUARESCHI, PERRI) o di essi organi uniti un complesso innestato (pezzo *a*) e che si può considerare, durante il periodo embrionale, come una regione autonoma allorchè venga separato dal resto dell'organismo. Ciò viene anche avvalorato dall'esito delle esperienze delle composizioni *Bb* e *Ba* che saranno descritte in seguito.

Per saggiare quindi le possibilità di una autonomia tale da preservare il pezzo embrionale anteriore di *Triton* dalla distruzione causata dagli umori di *Rana esculenta*, ho eseguito altri gruppi di esperienze, spostando caudalmente il livello del taglio negli esemplari dell'Urodelo, in modo da aumentare la massa del pezzo anteriore, oltre che a dotarla di complessi di organi dimostratisi necessari per uno sviluppo, più simile al normale, delle parti embrionali, isolate (vedi autori nella esposizione bibliografica). È stata così formata una nuova composizione di cui descrivo i casi più salienti.

#### *Composizione Ab* (Operazioni 6).

[Il pezzo *A* ha uguali caratteristiche di quelle descritte nella precedente composizione (fig. 1); nel pezzo *b* il taglio ha rispettato l'abbozzo del cuore e gli abbozzi branchiali (fig. 4).]

L'esame *in vivo*, eseguito al microscopio binoculare, degli esemplari di questa serie ha fatto notare per primo la possibilità, in queste condizioni sperimentali, della funzione cardiaca nel pezzo anteriore *b* di *Triton*, poichè in esso si è potuto vedere, nei primi giorni dopo l'operazione, in tutti i casi un cuore pulsante come normalmente.

In modo generale si può dire che ogni cuore ha avuto il ritmo del tutto uguale a quello proprio degli esemplari interi normali<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Ricerche in corso del prof. COTRONEI dimostrano che abbozzi cardiaci di Anuri trapiantati negli Urodeli riescono a raggiungere lo stadio di pulsazione, ma il battito non si sincronizza con quello dell'ospite.

Dopo un certo numero di giorni (4—5) però il cuore del pezzo *b* ha smesso di battere in tutti gli esemplari, per poi scomparire nel tempo stesso che si verificava il raccorciamento progressivo di esso pezzo (riassorbimento interno e non mai rottura all'esterno), con la successiva sparizione delle regione branchiale e poi di tutte le altre parti più rostrali; fino alla sparizione completa di tutto il pezzo *b* di *Triton*.

Dell'esame *in vivo* si è pure potuto osservare qualche tentativo di sviluppo di alcune parti del pezzo *b*.

Descrivo brevemente i reperti, dedotti dall'esame microscopico delle sezioni seriali, dei casi più salienti ai quali si possono ricondurre tutti gli altri di questa serie di esperienze.

Esperienza *a 9*. Data dell'operazione 15. 5. 30; data della fissazione 24. 5. 30. Temperatura della soluzione fisiologica, 24°.

Del pezzo anteriore *b* si trova solamente la parte più rostrale: è stata infatti già riassorbita la regione comprendente le branchie e il cuore. Anche delle otocisti è rimasto ben poco sotto forma di piccolissime vescicole frammentate.



Fig. 7. Esemplare operato della composizione *A*, disegnato al momento della fissazione.

Nella parte più rostrale, ancora presente, si possono notare gli organi olfattori in forma di piccole masserelle piene senza indizio di differenziamento nè morfologico, nè istologico.

Le cellule di essi sono in parte in via di degenerazione.

Degli occhi la parte migliore è formata dai cristallini; ben conservati. Le retine si presentano distinte negli strati e munite di nervi ottici. Il *tapetum* è abbastanza pigmentato.

La parte ancora residua dell'encefalo mostra segni evidenti di un avvenuto differenziamento, poichè sono ben visibili la sostanza grigia all'interno circondata da sostanza bianca. Tuttavia i suoi elementi cellulari sono, nella maggior parte, in preda a fenomeni disgregativi, specie nella zona prospiciente all'asse nervoso del pezzo, posteriore *A* di *Rana esculenta*.

Nel mesenchima, le cui cellule sono le migliori di tutte quelle del complesso innestato, si nota per la prima volta un frammento di cartilagine.

Nessuna cariocinesi è osservabile in alcun organo o tessuto contenuti nel pezzo *b*. Il vitello è scomparso da per tutto, tranne, in piccolissime quantità, nel mesenchima.

Molti globuli rossi e leucociti di *Rana* sono vicini alla zona di fusione tra i pezzi *A* e *b*, ma non penetrano affatto nel pezzo *b*.

Il pezzo posteriore *A* di *Rana* non è molto sviluppato in grandezza rispetto agli altri esemplari della serie, ma il vitello è completamente riassorbito da per tutto.

Il neurasse è ancora aperto anteriormente, perchè unito a quello del pezzo *b*, ma la fusione non si può considerare perfetta, dato il continuo disfarsi e riassorbirsi dell'encefalo di *Triton*, come è detto più sopra. Questa è l'esperienza della serie che ha presentato nel pezzo *b* di *Triton* maggior lentezza dei processi di distruzione e di riassorbimento dovuto all'azione del pezzo *A* di *Rana*, al quale era innestato.

Esperienza *a 10* (fig. 7). Data dell'operazione 25. 5. 30; data della fissazione 2. 6. 30. Temperatura della soluzione fisiologica 24°.

Del pezzo anteriore *b* di *Triton* rimane ben poco (fig. 8). Dell'encefalo è rimasto solo un piccolissimo ammasso informe, sporgente nel lume del neurasse del pezzo posteriore *A* di *Rana*. Questo frammento è fortemente pigmentato, con i nuclei in via di degenerazione.

Per quel che riguarda gli occhi si nota che sono residuati solo due piccoli ammassi frammentati di pigmento, con nessuna traccia di cellule retiniche e di cristallini.

Le otocisti sono ancora presenti, per quanto in via di distruzione: esse sono in forma di piccole vesciolette che, confrontate a quelle normali degli esemplari fissati allo stadio operativo, mostrano di non essersi affatto sviluppate. Le cellule che le compongono sono, in parte, in cattive condizioni.

Per la parte restante del pezzo *b* si nota che sono già scomparsi il cuore e tutta la regione branchiale: rimangono solo due cortissimi accenni dei bilanceri, cellule mesenchimatiche sparse e due frammenti di tessuto, nei quali si può scorgere, nei riguardi degli elementi che li compongono, un accenno di differenziamento in cellule cartilaginee.

Nessuna cellula in cariocinesi è visibile nelle suddette parti residue. In esse il vitello è quasi del tutto scomparso. Tra i residui del pezzo *b* di *Triton* si scorgono leucociti di *Rana*.

Il pezzo posteriore *A* di *Rana esculenta* è molto sviluppato. Il suo neurasse anteriormente sta per chiudersi con parete sottile, tranne per un breve tratto, occluso dal frammento residuo dell'encefalo del pezzo *b* di *Triton*.

Esperienza *a 11*. Data dell'operazione 25. 5. 30; data della fissazione 2. 6. 30. Temperatura della soluzione fisiologica 24°.

All'esame microscopico delle sezioni seriali si può notare che, del pezzo anteriore *b* di *Triton* innestato sul pezzo posteriore *a* di *Rana*, rimane ben poco.

Sono stati già distrutti e riassorbiti, infatti, gli organi olfattori, gli occhi, il neurasse, le branchie, il cuore. Delle otocisti rimane solo quella di destra, non integra e piccolissima. È residuo altresì un po' di mesenchima, le cui cellule sono ancora, in parte, in buono stato. Nessuna mitosi è però visibile in questi frammenti non ancora riassorbiti.

Globuli rossi e corpuscoli bianchi di *Rana* sono sparsi tra i residui sopradetti.

Il vitello è quasi del tutto scomparso.

Il pezzo posteriore *A* di *Rana* è molto progredito nello sviluppo. L'asse nervoso si è ormai chiuso rostralmente con parete sottile.

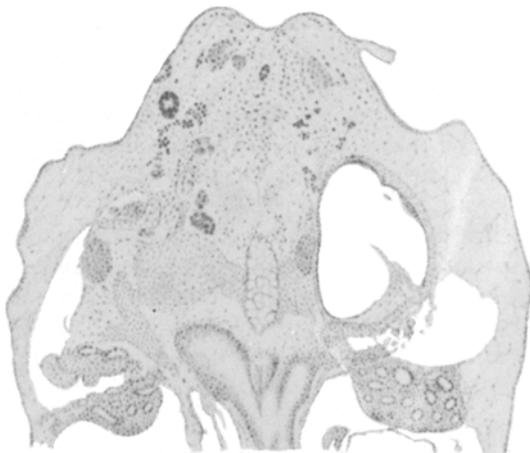


Fig. 8. Disegno di una sezione frontale dell'esemplare disegnato nella fig. 7. Obb. 1 Koristka, Oc. 4 K.

*Considerazioni sulla composizione Ab.*

Le esperienze di questa serie (composizione *Ab*), di cui ho descritto solo i casi più salienti, hanno fatto vedere alcuni fatti, dai quali si possono dedurre alcune considerazioni.

Per primo si può dire, in modo generale, nei riguardi del destino del pezzo anteriore *b* di *Triton* innestato su pezzi posteriori *A* di *Rana esculenta*, che in questa serie si sono verificati gli stessi fenomeni di distruzione e riassorbimento che hanno avuto luogo negli esemplari della composizione *Aa*. La maggior grandezza, quindi, del pezzo dell'Urodelo innestato e il maggior valore delle autonomie di vita, che necessariamente deve essere ad esso attribuita per la presenza di funzioni vitali di primaria importanza (circolazione sanguigna e respirazione), non sono stati capaci di salvare la parte innestata dell'azione dissolvitrice degli umori del pezzo posteriore di *Rana*. Tuttavia il pezzo anteriore *b* ha mostrato in questi casi segni evidenti di avanzamento. Si è avuto infatti in tutti i casi l'iniziarsi della funzione cardiaca, la circolazione sanguigna e l'accennarsi dei ciuffi branchiali.

Anche in questa serie di esperienze viene confermata la graduatoria delle diverse suscettibilità, rispetto all'azione distruttrice degli umori di *Rana*, da parte dei vari organi e tessuti contenuti nel pezzo *b* di *Triton* innestato. In questo gruppo, però, agli ultimi termini della serie (organo olfattorio, cervello, occhio, otocisti, mesenchima) se ne deve aggiungere uno nuovo, costituito dalla cartilagine che ha mostrato le cellule in buono stato ancora quando tutto il restante del pezzo *b* era completamente sparito.

Anche negli esemplari di questa serie è da tener presente il fatto che tra i residui della parte anteriore *b* di *Triton*, si trovano abbondanti globuli rossi e leucociti di *Rana*.

Come è detto più sopra lo spostamento caudale del livello del taglio dell'embrione di *Triton* non è stato sufficiente a salvare la parte di quest'ultimo dalla distruzione embrionale cui vanno incontro i tessuti dell'Urodelo allorchè sono trapiantati su embrioni di *Rana esculenta* (COTRONEI e SPIRITO, PERRI).

È stata quindi eseguita una nuova serie di esperienze — sempre per tentare una qualsiasi disposizione di esperimento tale da permettere la possibilità di una coesistenza tra pezzi posteriori di *Rana esculenta* e pezzi anteriori di *Triton* — spostando caudalmente (ferme restanti le dimensioni del pezzo *b* di *Triton*) il livello del taglio in *Rana* in modo da togliere ai pezzi embrionali di questa specie le regioni branchiali col cuore incluso.

Si è avuta così la composizione *Bb* di cui segue la descrizione.

*Composizione Bb (Operazioni 8).*

[Per il pezzo *B* il taglio è stato praticato caudalmente alle regioni branchiali sì che manca in esso la suddetta regione col cuore incluso

(fig. 2); in *b* sono mantenute le stesse disposizioni della composizione precedente (fig. 4).]

Dalle osservazioni eseguite *in vivo*, con l'aiuto del microscopio binoculare, si è rilevato qualche tempo dopo l'operazione l'inizio delle pulsazioni del cuore del pezzo anteriore *b* di *Triton*, ciò che si è seguito sempre fino al momento della fissazione degli esemplari. Si sono visti svilupparsi i ciuffi branchiali, i bilanceri, nel tempo stesso che si osservavano i processi di pigmentazione degli occhi. Fino al momento della fissazione non si è mai visto un qualsiasi raccorciamento o segni di atrofia dei pezzi *b* (fig. 9 e 10).



Fig. 9. Esemplare operato della composizione *Bb*, disegnato al momento della fissazione.

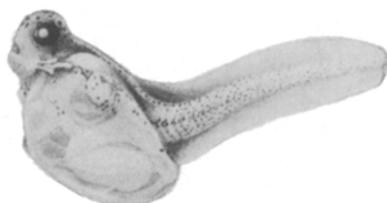


Fig. 10. Altro esemplare operato della composizione *Bb*, disegnato al momento della fissazione.

I pezzi posteriori *B* di *Rana* hanno mostrato innanzi tutto il fenomeno già noto di una accentuata idropisia in conseguenza all'assenza del cuore, e un non normale delinarsi dell'anse intestinali. Qua e là sparsi per il corpo, grumi rossi determinati dell'accumulo di eritrociti di *Rana*.

L'esame microscopico delle sezioni frontali degli esemplari così operati mostra essenzialmente le stesse disposizioni in tutte le esperienze. Descrivo, quindi solo, come al solito, i casi tipo ai quali si possono ricondurre tutti gli altri.

Esperienza *a 19* (fig. 9). Data dell'operazione il 16. 6. 30; data della fissazione 24. 6. 30. Temperatura della soluzione fisiologica 24°.

Nel pezzo *b* di *Triton* l'encefalo si presenta sviluppato sia morfologicamente che istologicamente in maniera pressochè normale. La parte anteriore di esso ha dato luogo agli emisferi cerebrali dove, come in tutte le altre regioni, si può notare la sostanza grigia ben differenziata e rivestita dalle zone di fibre nervose. La parte caudale si è fusa perfettamente col tubo neurale del pezzo *B* di *Rana*, sì che le cavità dei due assi nervosi sono in comunicazione.

Gli occhi si presentano normali con ottimi cristallini. Le retine sono differenziate in tutti gli strati come normalmente e posseggono nervi ottici unentisi al diencefalo. Gli organi olfattori sono in forma di fossette a fondo cieco, con evidente sviluppo istologico del tessuto che le forma.

I bilanceri e le branchie sono sviluppati. Le otocisti sono grandi vescicole senza traccia di canali semicircolari, munite di gangli in posizione normale.

Cellule in mitosi se ne trovano nell'encefalo e nei gangli delle otocisti; sono assenti da tutti gli altri tessuti. Le cellule di essi si trovano tutte in buono stato. Il vitello è scomparso totalmente dagli occhi, dagli organi olfattori, dalle otocisti; un po' ve n'è sparso nel mesenchima.

Il pezzo posteriore *B* di *Rana* presenta le anse intestinali delineate con ancora un po' di vitello e i tubuli del rene cefalico enormemente dilatati. Globuli rossi e leucociti si trovano sparsi dappertutto, formando in alcuni punti dei veri ammassi.

Esperienza *a 21* (fig. 11). Data dell'operazione 16. 6. 30; data della fissazione 24. 6. 30. Temperatura della soluzione fisiologica 24°.

L'encefalo di *Triton* si presenta ben sviluppato sia morfologicamente che istologicamente, oltre che fuso col neurasse di *Rana* del pezzo *B*.

Gli occhi sono progrediti nello sviluppo, muniti di ottimi cristallini molto avanzati. Le retine si sono differenziate negli strati e hanno il nervo ottico che si unisce all'encefalo in maniera normale.



Fig. 11. Microfotografia di una sezione frontale di un esemplare operato della composizione *Bb*. Obb. 16 mm. aprocr. Leitz.

Gli organi olfattori, ben differenziati istologicamente, sono in forma di fossette molto approfondate, ma terminanti a fondo cieco. I bilancieri e le branchie si sono sviluppate. Le otocisti sono grandi, munite di canali semicircolari, gangli e nervi collegati al cervello in maniera normale.

Lo stato delle cellule di tutti i tessuti del pezzo *b* è buono e anche in questo caso di possono trovare cellule in attività cariocinetica nell'encefalo.

Il vitello, totalmente scomparso dagli occhi, dagli organi olfattori e dalle otocisti, si trova in piccola quantità sparso nel mesenchima circostante.

Il pezzo posteriore *B* di *Rana* mostra le stesse caratteristiche di quello dell'esperienza *a 21*.

Esperienza *a 23*. Data dell'operazione 16. 6. 30; data della fissazione 26. 6. 30. Temperatura della soluzione fisiologica 24°.

L'encefalo del pezzo *b* si presenta differenziato in sostanza grigia e fibre nervose, e altresì sviluppato morfologicamente in maniera pressochè normale.

Gli occhi sono ben sviluppati con cristallini ottimi. Le retine sono distinte in tutti gli strati e munite di nervi ottici, unentisi al diencefalo in posizione normale.

Gli organi olfattori sono ben sviluppati istologicamente e, in questo caso, le cavità sono comunicanti con la cavità boccale. Essi sono, molto medializzati e avvicinati fra loro.

I bilancieri e le branchie sono sviluppate.

Anche in questo caso le otocisti sono munite di canali semicircolari e gangli. Le cellule di tutti i tessuti del pezzo *b* sono in buono stato: alcune cellule dell'encefalo sono in cariocinesi. Il vitello è scomparso quasi dappertutto.

Il pezzo posteriore *B* di *Rana* presenta le stesse disposizioni, come nell'esperienze precedentemente descritte.

#### Considerazione sulla composizione *Bb*.

Con le esperienze di questa serie si è così finalmente dimostrata possibile la coesistenza della parte anteriore *b* di *Triton*, innestata su pezzi *B* di *Rana esculenta*.

Si è ottenuto infatti il perfetto differenziamento sia istologico che morfologico (vedi i tre casi tipo descritti, nei quali si hanno gradi sempre più elevati di sviluppo) delle parti contenute nei pezzi *b* e ottimo stato di esse, laddove, a parità di tempo e di temperatura, si era avuto distruzione e riassorbimento di esse parti nelle composizioni *Aa* e *Ab*, precedentemente descritte.

Rimanevano così dall'essere eseguite altre esperienze logicamente connesse a quelle della composizione *Bb* e consistenti nel ridurre — ferme restanti le disposizioni del pezzo posteriore *B* di *Rana* —, la parte anteriore dell'embrione di *Triton*, togliendo a essa la cospicua zona branchiale col cuore incluso (come nella composizione *Aa*) e cioè una parte contribuente a rendere vieppiù autonoma la regione suddetta, e soprattutto più isolata dall'eventuali influenze tossiche che potrebbero esercitare gli embrioni di *Rana esculenta*.

Si è formata così la composizione *Ba*.

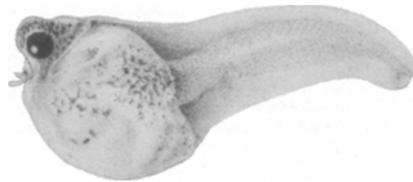


Fig. 12. Esemplare operato della composizione *Ba*, disegnato al momento della fissazione.

*Composizione Ba* (Operazioni 3).

[Le disposizioni dei due pezzi *B* (fig. 2) e *a* (fig. 3) sono descritte nelle composizioni precedenti.]

Esperienza *a 15* (fig. 12). Data dell'operazione 26. 6. 30; data della fissazione 3. 7. 30. Temperatura della soluzione fisiologica 25—27°.

All'esame *in vivo* eseguito al microscopio binoculare si è notato la pigmentazione degli occhi e lo sviluppo dei bilancieri del pezzo *a* di *Triton*, senza poter scorgere a suo carico alcun segno di regressione.

All'esame microscopico delle sezioni frontali si è avuta conferma di tale fatto.

L'encefalo del pezzo *a* di *Triton* è fuso perfettamente (fig. 13) con il neurasse del pezzo *B* di *Rana*. Il suo differenziamento è molto progredito sia morfologicamente (sono visibili, ad esempio, gli emisferi cerebrali, l'epifisi ecc.) sia istologicamente (sostanza grigia e sostanza bianca normalmente disposte). Molte cellule non distanti dal lume del neurasse sono in varie fasi di attività cariocinetica.

Gli occhi sono in buonissime condizioni e muniti di ottimi cristallini perfettamente sviluppati. Il *tapetum*, normalmente pigmentato, ah molte propaggini filiformi tra i coni e i bastoncelli delle retine, le quali sono distinte in tutti gli strati. Da esse partono nervi ottici che si vanno a unire col diencefalo in posizione normale.

Gli organi olfattori sono anch'essi differenziati istologicamente e muniti di cavità comunicanti con l'esterno, ma a fondo cieco verso la volta della cavità



Fig. 13. Disegno di una sezione frontale dell'esemplare disegnato nella fig. 12. Obb. 1 Koristka; Oc. 4 K.

boccale. Essi sono pure forniti di normali nervi olfattori. Anche in questi organi si hanno cellule in cariocinesi.

I bilanceri sono bene sviluppati. Le otocisti si trovano proprio adiacenti al piano di fusione tra i due pezzi *B* e *a*: esse non presentano canali semicircolari, ma solo il dotto endolinfatico. Quella di destra, possiede un nervo, col quale è connesso al neurasse del pezzo *B* di *Rana*.

Gli elementi cellulari di tutti i tessuti del pezzo *a* di *Triton*, sono in ottime condizioni senza che dimostrino traccia alcuna di fenomeni distruttivi. Il vitello è riassorbito dappertutto, tranne un po' (scarsissimo) nel piano di fusione tra le due parti *B* e *a*.

Non si riescono a notare conseguenze di processi di idropisia.

Il pezzo posteriore *B* di *Rana esculenta* è idrope, con le spire intestinali già delineate, ma sformate e ancora in parte con vitello. I tuboli del rene cefalico sono enormemente dilatati. Qua e là si trovano sparsi globuli rossi e leucociti di *Rana*, i quali in alcune parti formano dei veri ammassi cospicui.

Questo caso descritto rappresenta quanto di meglio si potesse ottenere nelle

esperienze di tutte le serie già riportate. Desidero però descrivere un altro caso della composizione *Ba* perchè presentante un comportamento diverso del precedente e perfettamente spiegabile da alcune disposizioni del pezzo posteriore di *Rana*, rilevate già dall'esame eseguito *in vivo* e convalidato poi dallo studio delle sezioni seriali dell'esemplare operato.

Esperienza *a 17* (fig. 14). Data dell'operazione 28. 6. 30; data della fissazione 2. 7. 30. Temperatura della soluzione fisiologica 25—27°.

Nella mattinata del 30, all'esame *in vivo*, la parte anteriore *a* di *Triton*, appare molto raccorciata e con evidenti segni di degenerazione. Questo caso è stato tenuto in grande considerazione poichè nel pezzo posteriore di *Rana*, vicino alla zona di fusione, vi era qualcosa che pulsava ritmicamente, come un cuore. L'esemplare non si presenta idrope, ciò che appoggia l'idea dell'esistenza di una circolazione sanguigna, se pur non del tutto normale.

L'esame microscopico delle sezioni seriali mostra che quel che è residuo della parte anteriore di *Triton* è ben poco. Sono stati già riassorbiti gli organi olfattori, parte dell'encefalo e degli occhi.

Le cellule dei residui di *Triton*, sono, in parte, in cattive condizioni e nessuna cellula è in cariocinesi. Il vitello è ancora abbondante, sparso dappertutto.

Il pezzo posteriore di *Rana esculenta* ha ancora molto vitello. Vicino al piano di fusione vi sono due grossi vasi pieni di sangue di *Rana*, che in questo caso non è sparso come nei pezzi *B* già descritti.

#### Considerazioni sulla composizione *Ba*.

Anche per gli esemplari della composizione *Ba* si è quindi dimostrata la possibilità di vita e di differenziamento, sia istologico che morfologico della parte anteriore *a* di *Triton*, pur piccola in confronto dei pezzi *b* usati dalla precedente composizione, nella quale si era avuto ugual comportamento.

L'esemplare dell'esperienza *a 17*, da principio mi era sembrato, durante le ricerche sperimentali, in contraddizione con queste conclusioni,



Fig. 14. Esemplare operato della composizione *Ba*, ma rientrante, per le disposizioni riscontrate all'esame microscopico, nella composizione *Aa*.

poichè esso ha mostrato per il pezzo *a* di Triton un destino di distruzione, ma l'esame microscopico ha fatto vedere, per la mancanza di idropisia e per la presenza di una, se pur debole, circolazione sanguigna, delle diverse condizioni sperimentali che lo fanno radiare dalla composizione *Ba*, facendolo rientrare in quella contrassegnata con *Aa*.

*Considerazioni generali sulle esperienze delle composizioni Aa, Ab, Bb, Ba.*

Le due prime composizioni descritte (composizioni *Aa* e *Ab*) ci hanno fatto vedere in modo generale che i pezzi anteriori di embrioni di *Triton taeniatus*, a prescindere dalla grandezza, si comportano rispetto al tronco di embrioni di *Rana esculenta* al quale sono innestati nella stessa maniera (distruzione e riassorbimento) che risulta dalle operazioni di trapianto xenoplastico (tra le stesse forme sopradette) di abbozzi di organi (COTRONEI e SPIRITO, PERRI).

Lo spostamento del livello del taglio nella composizione *Ab* a carico dell'Urodelo, in modo da rendere più grande la parte anteriore di *Triton*, non è stato sufficiente a salvare quest'ultimo dalla distruzione e dal riassorbimento.

Lo spostamento del livello del taglio a carico del pezzo posteriore di *Rana* nelle composizioni *Bb* e *Ba*, si è dimostrato invece efficacissimo per il raggiungimento di quel che ci si era proposti nelle impostazioni successive delle esperienze e cioè la possibilità di vita e di sviluppo di tessuti di *Triton*, innestati su *Rana esculenta*. E a tal riguardo nella Nota preventiva, in cui esponevo i primi risultati, scrivevo obbiettivamente, senza ancora voler tentare una qualsiasi spiegazione dei fenomeni avvenuti che: »le parti anteriori più o meno grandi di embrioni di Urodeli vanno rapidamente distrutte quando siano innestate su esemplari di *Rana esculenta* mutilati della regione anteriore, ma che conservino la regione degli abbozzi branchiali. Nelle esperienze, invece, nelle quali viene asportata anche questa regione si è avuto a parità di tempo e di temperatura, un completo differenziamento e sviluppo degli abbozzi di organi e di tessuti in esse contenuti.«

Alla presenza o meno della regione compresa fra due piani paralleli passanti anteriormente e posteriormente agli abbozzi branchiali, negli embrioni allo stadio operativo, devono quindi attribuirsi le differenze di comportamento tra le composizioni *Aa*, *Ab* e le composizioni *Bb*, *Ba*, descritte nel corso di questa esposizione. Vedremo in seguito come la causa di esse differenze, sia in rapporto a condizioni biochimiche e non sia invece insita nella suddetta regione, ma soltanto messa in atto, o no, da quest'ultima, rispettivamente con la sua assenza o presenza nelle varie esperienze di innesti da me eseguite.

2. *Trapianti di abbozzi oculari di Triton taeniatus su parti isolate di embrioni di Rana esculenta.*

Riprendendo nel 1931 (vedi Nota II) le esperienze di innesti precedentemente descritte, per indagare le ragioni del diverso comportamento, ho creduto opportuno tentare, anche per ragioni di semplicità operatoria non più l'innesto delle regioni anteriori di *Triton* sul tronco di *Rana*, ma semplicemente il trapianto di qualche abbozzo in esse contenuto e che, insieme al resto del complesso cefalico, si era dimostrato suscettibile di distruzione o di differenziamento nelle due coppie di composizioni *Aa*, *Ab*, e *Bb*, *Ba*. Ho scelto all'uopo le

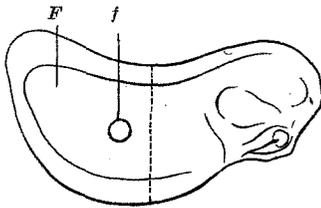


Fig. 15.

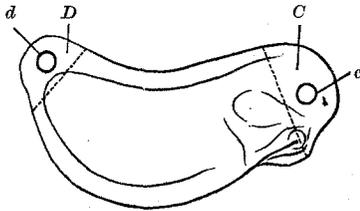


Fig. 16.

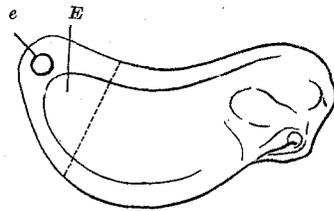


Fig. 17.

Fig. 15—17. Figure schematiche degli stadi embrionali di *Rana esculenta* adoperati per i trapianti su parti isolate. Le linee tratteggiate indicano appunto il livello del taglio dei suddetti pezzi e i cerchi il luogo d'impianto delle vescicole ottiche.

vescicole ottiche primarie o appena introflesse<sup>1</sup> di *Triton taeniatus*, laddove il materiale di *Rana esculenta* era formato di parti isolate o di embrioni interi, allo stadio di bottone codale.

Anche in questa descrizione analitica dei risultati, riporto per comodità espositiva le figure schematiche dei pezzi isolati usati nel trapianto e indicanti altresì la regione in cui esso fu praticato (fig. 15—17).

*Trapianti in pezzi F (Operazioni 50).*

La prima serie delle nuove esperienze doveva logicamente aver per materiale di *Rana esculenta* i pezzi *F* (pezzi di embrioni ai quali era stata tolta tutta la parte anteriore, abbozzi branchiali inclusi) (fig. 15) e cioè pezzi presso a poco uguali a quelli, che, negli esemplari delle composizioni

<sup>1</sup> Ho scelto materiale giovanissimo perchè come ha dimostrato il PERRI (1931) le vescicole ottiche di *Triton*, quando il vitello non è più visibile sotto forma di corpuscoli, possono vivere integre, e anche avanzare, per un tempo maggiore di quando le cellule retiniche contengono vitello; ciò che dovevo assolutamente escludere per la valutazione esatta delle mie esperienze, nelle quali doveva essere logicamente usato un materiale dimostratosi sempre soggetto alla rapida distruzione embrionale (COTRONEI e SPIRITO, PERRI).

*Bb* e *Ba*, avevano permesso la vita e lo sviluppo delle parti anteriori di *Triton* innestatevi.

Le operazioni sono state tutte fornite di controllo poichè delle due vescicole ottiche dell'embrione di *Triton* donatore, una è stata utilizzata per trapianto come è indicato nella figura 15, e l'altra per trapianto, nella stessa posizione, su embrione intero sviluppatosi dalla stessa covata d'ova.

L'esito delle esperienze è stato completamente contrario a quel che era avvenuto nelle operazioni di innesto, poichè le vescicole ottiche di *Triton* poste su pezzi *F* sono andate distrutte (a parità di temperatura della soluzione fisiologica) insieme a quelle trapiantate sugli esemplari interi.

Le coppie degli operati sono state fissate in tempi vari dopo l'operazione; da un minimo di 3 giorni a un massimo di 11 e ciò per vedere gradualmente lo svolgersi dei fenomeni a carico delle vescicole ottiche di *Triton* trapiantate. Si sono avuti così tutti i gradi di passaggio nei fenomeni distruttivi delle vescicole poste sui pezzi *F* (pezzi di embrioni mancanti di tutta la parte anteriore, abbozzi branchiali inclusi), perfettamente sincroni a quelli verificatisi per i trapiantati sugli embrioni interi. Dopo 4—6 giorni in genere non si può notare, all'esame microscopico, delle sezioni seriali, alcuna traccia degli impiantati (su pezzi *F* e sugli embrioni interi) alla stessa guisa di quanto era stato visto e descritto da COTRONEI e SPIRITO e da PERRI; tralascio quindi di descrivere analiticamente le immagini distruttive osservate nelle mie esperienze.

#### *Trapianti in pezzi C* (Operazioni 40).

La distruzione a carico degli abbozzi oculari di *Triton* sui pezzi *F* di *Bana esculenta*, similmente a quel che si verifica per gli impiantati sugli esemplari interi, veniva ad essere apparentemente in antitesi con i risultati precedenti degli innesti (composizione *Bb* e *Ba*) e poteva essere spiegata in due sole maniere: o esservi proprio nel tronco (vitello) le sostanze distruttrici gli abbozzi degli Urodela trapiantativi, o comportarsi diversamente l'abbozzo oculare isolato da quando è insieme a tutto il resto della testa.

Scartando provvisoriamente questa seconda ipotesi, che infatti non si è poi verificata, e tenendo presente l'idea del COTRONEI sulla incompatibilità del metabolismo vitellino, tra abbozzi embrionali di *Triton* trapiantati sugli embrioni di *Rana esculenta*, ho eseguito numerose nuove esperienze.

Questo nuovo gruppo di operazioni ha avuto lo scopo logico di attuare delle condizioni mancanti nel primo gruppo e cioè di porre le vescicole ottiche di *Triton* in un ambiente con scarso vitello e per di più rapidamente assorbibile dagli stessi tessuti in cui si trova inglobato: ciò che viene ad essere perfettamente realizzato nei pezzi *C* [regione cefalica anteriore isolata (fig. 16)].

Le operazioni venivano eseguite nella maniera seguente: su due esemplari di *Rana esculenta*, di una stessa deposizione, allo stadio di bottone codale, al posto dei propri abbozzi oculari di destra (vedi la posizione indicata sugli schemi) venivano poste le vescicole ottiche di uno stesso embrione di *Triton taeniatus*, e, appena dopo la cicatrizzazione, in un esemplare veniva separato il pezzo *C* (regione cefalica anteriore isolata), laddove l'altro, usato per controllo, veniva lasciato intero o quasi.

In tutta questa serie di operazioni, si è potuto notare già con l'esame eseguito *in vivo* al microscopio binoculare, che, mentre gli abbozzi oculari di *Triton* andavano perdendo la loro forma e sparendo negli esemplari



Fig. 18. Pezzo *C* isolato di *Rana esculenta*, disegnato al momento della fissazione. Vi si nota l'occhio di *Triton* sviluppatosi dall'abbozzo trapiantatovi.

interi, nei pezzi *C* rimanevano integri e dopo un po' di tempo si poteva perfino osservare la presenza di cristallini ben formati e i primi accenni della pigmentazione del *tapetum*. Qualche tempo dopo l'operazione (6 giorni) gli occhi di *Triton* apparivano ben formati (fig. 18) e quindi le coppie (girino intero e pezzo *C*) sono state fissate. Nell'animale intero già da 2 giorni si era perduta qualsiasi traccia visibile degli abbozzi trapiantati.

All'esame microscopico delle sezioni si può notare infatti assenza degli occhi di *Triton* negli esemplari interi e disposizioni essenzialmente uguali per tutti gli impiantati nei pezzi *C* (regione cefalica anteriore isolata).

Descrivo brevemente, quindi, solo alcuni casi ai quali si possono ricondurre tutti gli altri.

Esperienza *aa 3* (fig. 19). Data dell'operazione 8. 6. 31; data della fissazione 14. 6. 31. Temperatura della soluzione fisiologica 26°. Le vescicole ottiche di *Triton* erano allo stadio di leggera introflessione.

L'occhio di *Triton* si presenta in forma di calice perfetto munito di cavità del vitreo come normalmente. La retina si è differenziata in tutti gli strati e da quello ganglionare parte un fascio di fibre nervose, formanti un accenno di nervo ottico, che si arresta però al *tapetum*. Le cellule retiniche sono in ottimo stato e molte di esse sono in attività cariocinetica. L'occhio è fornito di un ottimo cristallino completamente differenziatosi in capsula e zona centrale di fibre.

Vicino all'occhio è visibile un frammento di organo olfattorio (fig. 19), incidentalmente trapiantato insieme all'abbozzo oculare. Esso è in forma di vescicola chiusa, con il suo tessuto differenziato. Le sue cellule sono in ottimo stato e anche qui alcune sono in mitosi. Il vitello è stato riassorbito sia nelle parti di *Triton* trapiantate, sia nei tessuti del pezzo *C*.

Esperienza *aa 6*. Data dell'operazione 8. 6. 31; data della fissazione 14. 6. 31. Temperatura della soluzione fisiologica 26°. Le vescicole ottiche di *Triton* erano allo stadio di leggera introflessione.

L'occhio di *Triton* si è sviluppato in un bel calice con cavità del vitreo. La retina è distinta in tutti gli strati e possiede un nervo, partente dallo strato ganglionare, che si unisce a un gruppo di cellule dell'encefalo di *Triton*, incidentalmente trapiantate e che si sono intimamente fuse alla parete dell'infundibolo di *Rana*. Le cellule retiniche sono in ottimo stato e varie di esse sono in mitosi. Il cristallino è molto sviluppato ed è in buonissime condizioni. Anche in questo caso è stato

trapiantato un frammento dell'abbozzo olfattorio di *Triton*, che si è differenziato istologicamente presentandosi in forma di masserella con cavità non aperta all'esterno. Il vitello è stato riassorbito dappertutto.

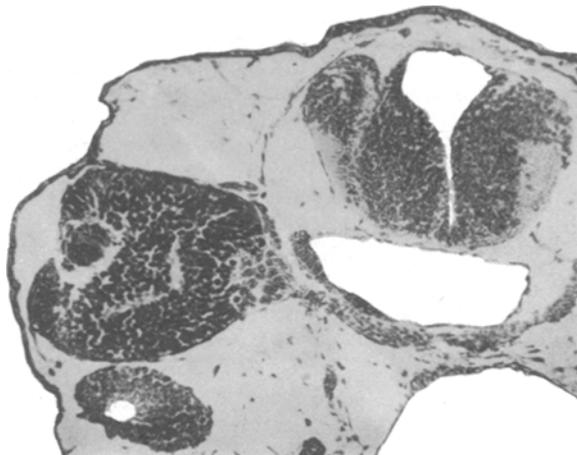


Fig. 19. Microfotografia di una sezione trasversale del pezzo C isolato di un embrione di *Rana esculenta*. Vi si notano l'occhio e l'abbozzo olfattorio di *Triton* trapiantativi. Obb. 6 a Leitz.

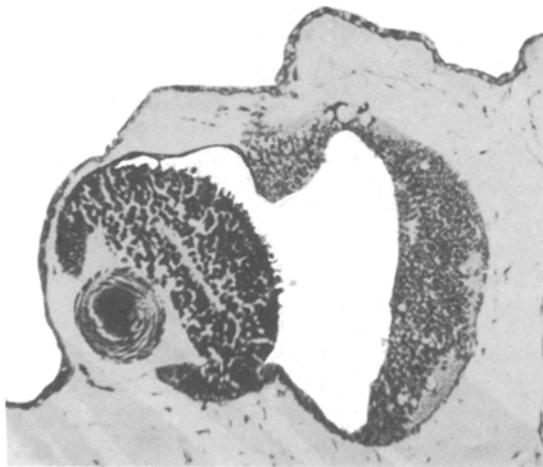


Fig. 20. Microfotografia di una sezione trasversale del pezzo C di *Rana esculenta* disegnato nella fig. 18. Vi si nota l'occhio di *Triton* ben differenziato. Obb. 6 a Leitz.

Esperienza aa 8. Data dell'operazione 8. 6. 31; data della fissazione 15. 6. 31. Temperatura della soluzione fisiologica 26°. Le vescicole ottiche di *Triton* erano allo stadio di leggera introflessione.

L'occhio di *Triton* si è sviluppato in un calice perfetto munito di cavità del vitreo. In questo caso il *tapetum* non circonda tutta la retina, poichè esso, lesa nell'operazione, si unisce alla parte ventrale del diencefalo di *Rana* (alla stessa

guisa delle fusioni descritte da COTRONEI e SPIRITO) che è risultato perciò aperto in questa zona, sì che lo strato dei coni e bastoncelli sporge nel terzo ventricolo del pezzo *C*. La retina, che in una regione è fusa con l'encefalo di *Rana* si è differenziata in tutti gli strati e possiede un bel nervo ottico che parte dallo stato ganglionare e si unisce al diencefalo di *Rana*. Le cellule retiniche sono in ottimo stato e varie sono in mitosi. Il cristallino è perfettamente sviluppato.

Un frammento dell'abbozzo olfattorio è stato incidentalmente trapiantato insieme alle vescicole ottiche di *Triton* e si è differenziato istologicamente. Esso si presenta in forma di piccola masserella senza cavità. Le sue cellule sono in

buono stato e molte di esse sono in mitosi. Il vitello è stato riassorbito da per tutto.

Esperienza *aa 9'* (fig. 18). Data dell'operazione 8. 6. 31; data della fissazione 15. 6. 31. Temperatura della soluzione fisiologica 26°. Gli abbozzi oculari di *Triton* erano allo stadio di vescicole ottiche primarie.

L'occhio di *Triton* si è sviluppato in un bel calice (fig. 20) con cavità del vitreo. Il *tapetum*, non riveste tutta la retina poichè, lesa nell'operazione, si è fuso con la parte ventrale del diencefalo del pezzo *C*, che è aperto in questa regione, sì che lo strato dei coni e bastoncelli sporge nel lume del terzo ventricolo. La retina è distinta in tutti gli strati, ma non ha nervo: solo alcune brevi fibre nervose partono dallo strato delle cellule ganglionari. Le cellule retiniche sono in ottimo stato e molte di esse sono in mitosi. Il cristallino è ben sviluppato.

Un frammento di organo olfattorio è presente, in questo caso, in

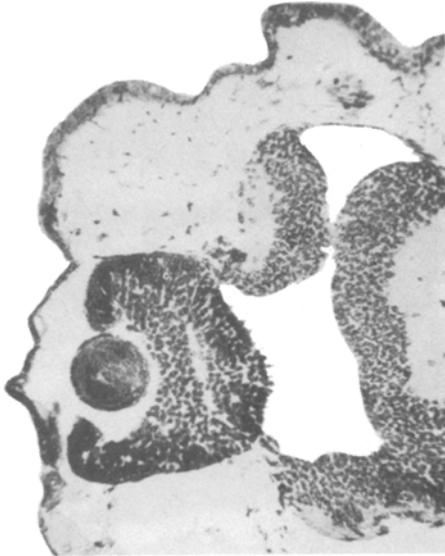


Fig. 21. Microfotografia di una sezione trasversale di un altro pezzo *C* di *Rana* con occhio di *Triton* ben sviluppato. Obb. 6 a Leitz.

forma di una piccola masserella cellulare senza cavità, con alcune cellule in cariocinesi. Il vitello è assente dappertutto.

Esperienza *aa 11*. Data dell'operazione 8. 6. 31, data della fissazione 15. 6. 31. Temperatura della soluzione fisiologica 26°. Gli abbozzi oculari di *Triton* erano allo stadio di vescicole con inizio di introflessione.

L'occhio di *Triton* si è sviluppato in un bel calice con cristallino ottimo ed è fornito della cavità del vitreo. La retina, con cellule in ottimo stato e varie in cariocinesi, è distinta in tutti gli strati. Dallo strato ganglionare parte un bel nervo che si unisce al diencefalo del pezzo *C* di *Rana*.

Un frammento di organo olfattorio incidentalmente trapiantato insieme all'abbozzo oculare dell'Urodelo, si è differenziato con cellule in ottimo stato e anche in divisione. Esso è in forma di una piccola masserella senza cavità ed è un munito di un fascio di fibre nervose che si vanno ad unire all'encefalo di *Rana*. Il vitello è assente dappertutto.

Esperienza *aa 15* (fig. 21). Data dell'operazione 9. 6. 31; data della fissazione 16. 6. 31. Temperatura della soluzione fisiologica 26°. Gli abbozzi oculari di *Triton* erano allo stadio di vescicole ottiche primarie.

L'occhio di *Triton* si è sviluppato in un bel calice, fornito di cavità del vitreo e di un bel cristallino perfettamente differenziato. Il tapetum non circonda totalmente la retina poichè, lesa nell'operazione, si è fusa colla parte ventrale del diecefalo del pezzo *C*, aperto in questa zona, sì che lo stato più interno della retina sporge nel lume III ventricolo.

La retina, le cui cellule sono in ottimo stato e molte in mitosi, è differenziata in tutti gli strati. Un fascio di fibre nervose parte dallo stato gangliolare e si arresta dopo breve tratto. Il vitello è stato riassorbito dappertutto; sia nell'occhio di *Triton* che nei tessuti del pezzo *C*.

I pochi casi sopradescritti (scelti come indicativi) e ai quali si possono ricondurre tutti quelli di questa serie, fanno vedere chiaramente per la prima volta che la vescicola ottica primaria o appena introflessa di embrioni di *Triton taeniatus* (nel tempo stesso che va distrutta negli esemplari interi di *Rana*), se trapiantata in pezzi *C* isolati di embrioni di *Rana esculenta*, può differenziarsi sia morfologicamente in un calice perfetto, che istologicamente e presentante perciò la retina distinta in tutti gli strati. Anche l'ectoderma lentogeno di *Triton* subisce le normali modificazioni, dando luogo a bellissimi cristallini, ottimamente sviluppati.

La ragione di questo comportamento, rispetto a quello distruttivo verificatosi nei trapianti in pezzi *F*, deve essere quindi logicamente attribuito a quella condizione sperimentale presente o no nei due gruppi di operazioni e cioè, come era stato prospettato nell'impostazione di quest'ultime esperienze (verifica dell'ipotesi del COTRONEI), l'esistenza di abbondanti prodotti metabolici del vitello in un caso (pezzi *F*) e la scarsità di essi nell'altro (pezzi *C*).

Nelle operazioni, si è visto, è stato a volte incidentalmente trapiantato una porzione dell'abbozzo olfattorio di *Triton* che si è anch'esso differenziato istologicamente, con cavità chiusa o in forma di masserella piena. È da tener presente che l'abbozzo olfattorio di *Triton* trapiantato su *Rana esculenta* si era dimostrato ancor più suscettibile dell'abbozzo oculare ai fenomeni distruttivi verificatisi negli innesti delle composizioni *Aa* e *Ab*.

I processi di differenziamento e sviluppo a opera degli abbozzi oculari e olfattivi di *Triton* posti sui pezzi *C* di *Rana* sono andati anche più oltre poichè, a volte, come si è visto, si riscontra nei preparati la presenza di veri nervi ottici e olfattori unentisi all'encefalo di *Rana esculenta*. La presenza di nervi di organi di senso di *Triton* [erano stati ottenuti nervi ottici di *Rana* collegati al cervello di *Triton* (COTRONEI e SPIRITO 1930 a, 1930 b, 1931) e nervi olfattori di *Bufo* collegati all'encefalo di *Axolotl* (SPIRITO 1931)], collegati all'encefalo di *Rana* proprio del pezzo *C* ospite, rappresenta un reperto del tutto nuovo data l'impossibilità finora riscontrata di far differenziare su embrioni di *Rana esculenta* gli abbozzi ottici e olfattori di embrioni di *Triton*; e forniscono una ben chiara prova della vitalità degli organi trapiantati, per nulla impedita dall'ambiente biochimico del pezzo *C*. Un altro fatto a favore di tale modo di vedere è

rappresentato dall'ottimo stato delle cellule componenti i suddetti abbozzi e dalle frequenti cariocinesi che in esse si riscontrano.

*Trapianti in pezzi D (operazioni 14).*

Ottenuti così per la prima volta i suddetti risultati positivi di differenziamento morfologico e istologico dell'abbozzo oculare (vescicola ottica primaria o appena introflessa) e dell'abbozzo olfattivo di embrioni di *Triton taeniatus* su pezzi *C* di embrioni di *Rana esculenta*, è stata mia cura estendere le esperienze a altre regioni embrionali aventi le stesse caratteristiche delle parti cefaliche isolate, e cioè scarso vitello rapidamente assorbibile nell'ulteriore sviluppo dalle stesse cellule in cui si trova inglobato. Ho scelto per queste operazioni il bottone codale (pezzi *D*, fig. 16) come la parte più rispondente all'impostazione delle esperienze, e come una regione ben sviluppabile anche se separata dall'organismo intero.

Le operazioni sono state eseguite trapiantando le due vescicole ottiche dell'embrione di *Triton* adoperato come donatore, sul bottone codale (vedi posizione negli schemi) di due embrioni di *Rana esculenta* sviluppatasi da uova di una stessa deposizione e separando, dopo avvenuta la cicatrizzazione, in uno dei due esemplari il pezzo *D*<sup>1</sup> rimanendo l'altro intero per controllo. Questi ultimi esemplari interi sono serviti ancora una volta per dimostrare che l'abbozzo oculare di *Triton*, anche se posto sul bottone codale, va, come al solito, rapidamente in distruzione.

In bel'altra maniera, invece, si sono comportate le vescicole dell'Urodelo poste sui pezzi *D*, poichè già all'esame *in vivo* si è potuto notare, fin dai primi giorni dopo l'operazione, un processo di pigmentazione dell'abbozzo oculare e la formazione di una lente evidentissima. Le coppie (pezzi *D* e girini interi) sono state fissate 6 giorni dopo l'operazione. Degli abbozzi oculari posti sul bottone codale degli embrioni interi non vi è più traccia.

Descrivo brevemente alcuni risultati dedotti dallo studio delle sezioni serali dei pezzi *D* (bottone codale isolato).

Esperienza *aa 21*. Data dell'operazione 15. 6. 31; data della fissazione 21. 6. 31. Temperatura della soluzione fisiologica 27°. Gli abbozzi oculari di *Triton* erano allo stadio di vescicole appena introflesse.

L'occhio di *Triton* si è sviluppato in calice ed è munito di un bel cristallino occupante totalmente la cavità del vitreo, sì che in questo caso essa manca.

La retina si è differenziata in tutti gli strati, ma essi sono un pò disordinati nelle loro disposizioni. Manca il nervo ottico.

<sup>1</sup> Ho eseguito anche le operazioni trapiantando l'abbozzo di *Triton* su pezzi *D* già isolati, ma come il lettore può facilmente comprendere le modalità dell'operazione sono molto più difficoltose e d'altra parte nessuna utilità deriva da quest'altro procedimento, poichè i risultati sono nei due casi identici, data la rapidità dell'isolamento dei pezzi *D* dopo l'attaccamento del trapianto.

Un frammento dell'abbozzo olfattorio è stato trapiantato insieme all'occhio e si è differenziato in una masserella aderente all'ectoderma, con cavità non aperta all'esterno. Le cellule dell'occhio e del frammento di organo olfattorio sono in buono stato e molte di esse sono in piena attività cariocinetica. Il vitello è stato riassorbito dapertutto.

Esperienza aa 24. Data dell'operazione 22. 6. 31; data della fissazione 28. 6. 31. Temperatura della soluzione fisiologica 27°.

Gli abbozzi oculari di *Triton* erano in forma di vescicole appena introflesse.

L'occhio si è sviluppato in un calice, ma la cavità del vitreo è divenuta virtuale, poichè il fondo dell'occhio è occupato da un bel cristallino. La retina si è differenziata negli strati, ma essi sono un pò disordinati. Manca il nervo ottico.

Un frammento dell'abbozzo dell'organo olfattorio, incidentalmente trapiantato insieme all'occhio di *Triton*, si è differenziato ed è in forma di una bella fossetta aperta all'esterno.

Le cellule di ambedue gli organi sono in perfetto stato; di più, molte di esse sono in cariocinesi attestando la piena vitalità dei tessuti che li compongono. Il vitello è assente dapertutto.

Esperienza aa 26 (fig. 22). Data dell'operazione 22. 6. 31; data della fissazione 30. 6. 31. Temperatura della soluzione fisiologica 27°. Gli abbozzi oculari di *Triton* erano in forma di vescicole appena introflesse.

In questo caso il calice sviluppatosi dell'abbozzo oculare di *Triton* è sviluppato in modo (fig. 23) che la cavità del vitreo è quasi tutta occupata dal cristallino. La retina si è differenziata in tutti gli strati, che in qualche zona non sono molto evidenti. Manca il nervo ottico.

Le cellule retiniche sono tutte in ottimo stato e molte di esse sono in attività cariocinetica. Il vitello è assente, come nei casi precedenti, sia nell'occhio di *Triton*, sia nei tessuti del pezzo D.

I pochi casi sopradescritti e ai quali si possono ricondurre tutti gli altri di questa serie di esperienze di trapianto, fanno vedere chiaramente che l'abbozzo oculare di *Triton*, in forma di vescicola appena introflessa, se trapiantato sul bottone codale isolato (pezzi D) di embrioni di *Rana esculenta*, si può differenziare in un calice, con la retina distinta in tutti gli strati, similmente

a quanto è avvenuto per i trapianti in pezzi C e quindi per le stesse ragioni riportate nelle conclusioni di quel gruppo di esperienze. L'ectoderma lentogeno ha dato luogo a ottimi cristallini, perfettamente sviluppati.

Anche frammenti dell'abbozzo olfattorio di *Triton*, coinvolti nelle operazioni di trapianto dell'occhio, sono stati sede di fenomeni differenziativi, sia istologici che morfologici.



Fig. 22. Pezzo D di *Rana esculenta* disegnato al momento della fissazione con occhio di *Triton* sviluppato.

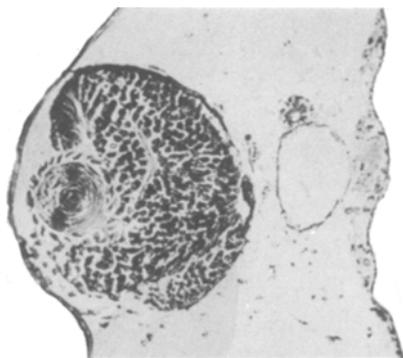


Fig. 23. Microfotografia di una sezione trasversale del pezzo D disegnato nella figura 22. Obb. 6 a Leitz.

La condizione degli organi suddetti è ottima e i tessuti che li compongono sono, al momento della fissazione, in piena vitalità, ciò che è convalidato dalla presenza di abbondanti cellule in cariocinesi.

È da notare tuttavia una leggera differenza di comportamento tra gli abbozzi dell'Urodelo nei trapianti in pezzi *C* e in pezzi *D*, poichè in questi ultimi si possono trovare delle leggere malformazioni a carico degli occhi (strati disordinati, mancanza della cavità del vitreo). Credo però che esse non abbiano grande importanza per lo studio del problema trattato in questo lavoro, chè possono spiegarsi come causate da un più notevole trauma operatorio, come viene descritto per altre operazioni anche da altri autori (l'operazione è più difficoltosa che nei pezzi *C*, data la grandezza della vescicola ottica di *Triton* e il piccolo volume del bottone codale) e forse pure, nel corso del differenziamento, dalle contrazioni muscolari verificantisi nella coda isolata.

#### *Trapianti in pezzi E* (operazioni 6).

Ottenuti così i risultati positivi sopradescritti nei trapianti in pezzi *C* e *D*, sono state eseguite nuove operazioni per dimostrare ancor meglio come l'azione distruttrice dell'ambiente di *Rana esculenta*, a carico degli



Fig. 24. Pezzo *E* di *Rana esculenta* disegnato al momento della fissazione, mostrando il residuo dell'occhio di *Triton* trapiantatovi.

abbozzi oculari e olfattori di *Triton*, fosse rappresentata dalle sostanze derivate dal metabolismo del vitello, come si è visto nei casi precedenti. Alle operazioni del gruppo precedente ho apportato la modifica di separare, dopo eseguito il trapianto delle vescicole ottiche di *Triton*, non più il solo bottone codale di *Rana*, ma con esso un piccolo segmento ventrale ricco di vitello. Si sono avute così le espe-

rienze di trapianto in pezzi *E* (vedi disposizioni negli schemi) (fig. 17). Esempari interi, operati identicamente, fungevano come sempre da controllo.

All'esame *in vivo* dei pezzi *E* (fig. 24) non si è potuto osservare alcun segno di pigmentazione e di formazione del cristallino da parte degli abbozzi oculari di *Triton* trapiantativi: che però non sono spariti come sugli esemplari interi. Le coppie (pezzo *E* e girino intero) sono state fissate 6 giorni dopo l'operazione.

Esperienza *aa 29* (fig. 25) data dell'operazione 24. 6. 31; data della fissazione 30. 6. 31. Temperatura della soluzione fisiologica 27°. Gli abbozzi oculari di *Triton* erano in forma di vescicole appena introflesse.

L'occhio non si è sviluppato. Esso si presenta come una piccola masserella piena, senza cristallino, circondata dal *tapetum* debolmente pigmentato. Non vi è traccia di differenziazione in strati. Le cellule componenti questo residuo oculare sono in parte ben conservate; altre mostrano segni di degenerazione. Qualche

rara cellula è in mitosi. Il vitello è assente nel residuo di *Triton* e nella coda del pezzo *E*: rimane in parte nel segmento di tronco separato insieme ad essa.

Esperienza *aa 30*. Data dell'operazione 24. 6. 31; data della fissazione 30. 6. 31. Temperatura della soluzione fisiologica 27°. Gli abbozzi oculari di *Triton* erano in forma di vescicole appena introflesse.

Anche in questo caso si è sviluppata della vescicola ottica di *Triton*, trapiantata, soltanto una piccola massa piena, contenente nel suo interno un gruppetto di cellule formanti un piccolo lenticolo. Nella masserella cellulare non si possono notare tracce di differenziazione in strati. Lo strato delle cellule che la compongono è in generale buono. Qualche rara mitosi è presente. Il vitello è stato completamente riassorbito nella masserella oculare e nella coda del pezzo *E*: rimane in parte nel segmento di tronco separato insieme ad essa.

Le esperienze di questa serie di cui ho descritto brevemente i casi tipo hanno dato alcuni risultati che si potevano logicamente attendere, in relazione a quanto era stato detto nelle conclusioni dei gruppi precedenti, data la possibilità di una diffusione di sostanze del ricambio del



Fig. 25. Microfotografia di un pezzo *E* di *Rana esculenta* mostrante il residuo dell'abbozzo oculare di *Triton* trapiantato. Obb. 6 a Leitz.

vitello del segmento di tronco isolato insieme al bottone codale di *Rana*, fin nella coda sviluppatasi da esso.

E infatti non si è ottenuto alcun differenziamento degli abbozzi oculari di *Triton* trapiantati nei pezzi *E*, ma soltanto una maggiore resistenza, ai fenomeni distruttivi, rispetto a quelli verificatisi per gli stessi abbozzi posti sul bottone codale di esemplari interi, completamente riassorbiti a parità di tempo e di temperatura. Ciò si può spiegare pel fatto che nei pezzi *E* vi è stato un minore e più lento apporto di sostanze distruttrici, là dove si sono verificati quei difetti di circolazione, dovuti alla assenza del cuore.

*Considerazioni generali sulle esperienze di trapianto dell'abbozzo oculare di Triton nei pezzi F, C, D, E, di embrioni di Rana esculenta, in relazione a quelle precedenti di innesti (composizione Aa, Ab, Bb, Ba).*

Dall'esposizione precedente risultano alcuni fatti che brevemente riassumo. Gli abbozzi oculari di *Triton taeniatus*, allo stadio di vescicola ottica primaria o appena introflessa, e l'abbozzo olfattivo, sempre distrutti

allorchè trapiantati in embrioni interi di *Rana esculenta* allo stadio di bottone codale, possono differenziarsi e svilupparsi, più o meno normalmente, se trapiantati in regioni cefaliche isolate (pezzi *C*) o su bottoni codali isolati (pezzi *D*) di embrioni di *Rana esculenta*. Essi non si sviluppano e poi si distruggono, ma permangono in vita un tempo un po' maggiore di quello impiegato nelle usuali distruzioni, se trapiantati in bottoni codali isolati insieme ad un segmento del tronco ricco di vitello (pezzi *E*) e vanno rapidamente distrutti se posti sul tronco isolato (pezzi *F*).

Tenendo presente, come è scritto precedentemente che le precipue differenze dei pezzi di *Rana* sopradetti sono in ultima analisi la scarsezza e rapida esauribilità del vitello nei pezzi *C* e *D*; la possibilità di un apporto, se pur lento, delle sostanze del suo ricambio nei pezzi *E* e la presenza di esse sostanze nei pezzi *F*, si può concludere — in relazione alle idee del COTRONI sul valore del metabolismo vitellino nella vita embrionale, e sull'antagonismo risultante tra alcune specie di Urodeli (don.), e Anuri (osp.) — che la distruzione cui vanno incontro gli abbozzi di *Triton* trapiantati in *Rana esculenta*, deve essere funzione delle sostanze del metabolismo vitellino degli esemplari di quest'ultima specie.

E così alla luce delle sue idee, già riportate nella parte bibliografica, si deve ritenere che nei pezzi *C* e *D* (regione cefalica anteriore e bottone codale isolati) vi sia scarsezza sia degli anticorpi come del complemento e che quindi l'antigene, forse insufficientemente sensibilizzato verso l'azione litica, non può andare soggetto alla distruzione per la sopradetta scarsezza (conseguente a quella del vitello) degli altri due fattori necessari per il verificarsi di essa. Nei pezzi *F* e *E*, invece, tutte le condizioni sono presenti e quindi sono avvenuti gli stessi fenomeni distruttivi che di regola si stabiliscono per gli abbozzi di *Triton* trapiantati in embrioni di *Rana esculenta*. E che anche gli anticorpi debbano essere necessariamente in non sufficiente quantità risulta logico, quando si tengano presenti le esperienze del PERRI, che dimostrano come il complemento può essere dato anche dal vitello proprio dell'abbozzo di *Triton* trapiantato in *Rana*; vitello che nei miei casi era ancora presente, avendo sperimentato con la vescicola ottica primaria dello stesso Urodelo.

Il fattore isolamento dei pezzi *C* e *D* (permettente il differenziamento e sviluppo, mai prima ottenuto, degli abbozzi oculari e olfattori di *Triton* in *Rana esculenta*) deve essere quindi interpretato, per la conseguente mancanza di una normale circolazione, come determinante l'impossibilità, di apporto, in esse zone, delle sostanze del ricambio del vitello di riserva del tronco.

Le conclusioni sopra dette danno finalmente la spiegazione delle differenze di comportamento verificatisi nelle esperienze di innesti di parti anteriori di embrioni di *Triton* su parti posteriori di *Rana esculenta* e descritte nelle composizioni *Aa*, *Ab*, *Bb*, *Ba*. Nelle prime due di esse (*Aa* e *Ab*) si ottenne distruzione e riassorbimento della parte dell'Urodelo, nel tempo stesso che, nelle composizioni *Bb* e *Ba*, si otteneva differenziamento e sviluppo di esse parti.

Dato il fatto accertato, esposto al principio di queste conclusioni, che le sostanze derivanti dal metabolismo del vitello degli embrioni di *Rana esculenta* sono la causa della distruzione dei tessuti di *Triton* trapiantati in essi, si comprende benissimo la ragione del diverso comportamento delle due coppie di esperienze di innesti.

Infatti nelle composizioni *Aa* e *Ab*, per la presenza di un cuore funzionante, e quindi di una circolazione, nella parte di *Rana esculenta* (pezzi *A*), si è potuto avere un apporto delle sostanze vitelline distruttrici fin nei pezzi anteriori di *Triton* (pezzi *a* e *b*) (e di ciò fan fede i globuli rossi dell'Anuro presenti in essi pezzi), laddove nelle composizioni *Bb* e *Ba*, per la assenza, nel pezzo *B* di *Rana* del cuore e quindi di una normale circolazione, i pezzi anteriori dell'Urodelo (pezzi *a* e *b*), non hanno ricevuto le sostanze in questione, comportandosi in questi casi come regioni del tutto autonome e quindi aventi insite in loro tutte le potenze di sviluppo necessarie durante la vita embrionale.

La regione dell'embrione di *Rana esculenta* da me già indicata come determinante le differenze di comportamento tra le composizioni *Aa*, *Ab*, e le composizioni *Bb* e *Ba*, e compresa, nell'embrione allo stadio operativo, tra due piani passanti anteriormente e posteriormente agli abbozzi branchiali, ha quindi il suo valore semplicemente nel fatto di avere in se l'abbozzo cardiaco e perciò il centro più importante della circolazione embrionale, apportatrice, in tutto il corpo dell'embrione, dei prodotti nutritivi (distruttrici per gli abbozzi di *Triton*) derivanti dal ricambio metabolico del vitello.

### 3. *Trapianti omoplastici di abbozzi oculari su parti isolati di embrioni di Rana esculenta.*

Risolto così, con le esperienze di innesto di parti anteriori di embrioni di *Triton* su parti posteriori di embrioni di *Rana esculenta* e con quelle di trapianto di abbozzi oculari (vescicole ottiche primarie o appena introflesse) e olfattori di embrioni dello stesso Urodelo su parti embrionali isolate dello stesso Anuro, il problema della possibilità di coesistenza, durante il periodo embrionale, di tessuti appartenenti a embrioni delle specie sopradette, rimanevano ancora da eseguire altre esperienze per convalidare ancor più i fatti accertati e per chiarire alcuni punti (vedi Nota III).

Primo tra questi era il valore dell'isolamento delle parti embrionali di *Rana esculenta* in quanto fornitrici o meno agli abbozzi impiantativi dalle sostanze del metabolismo del loro vitello.

È stata impostata perciò una nuova serie di esperienze di trapianto omoplastico di abbozzi oculari (allo stadio di vescicole ottiche primarie estroflesse), su parti isolate (le stesse usate per i trapianti xenoplastici) di embrioni di *Rana esculenta*. Con queste esperienze si sarebbe potuto

avere una esatta valutazione delle potenze insite di sviluppo dell'abbozzo oculare di *Rana* (allo stadio sopradetto), e, cosa ancora più importante, della capacità delle varie zone di impianto a fornire o meno agli abbozzi stessi le sostanze nutritive (distruttrici per gli abbozzi di *Triton*) dimostratesi, in queste esperienze, necessarie per il loro normale accrescimento embrionale.

*Trapianti in pezzi C e F* (operazioni 10).

Le operazioni sono state eseguite nella maniera seguente. Le vescicole ottiche primarie, di uno stesso esemplare di *Rana esculenta*, sono state trapiantate omoplasticamente su due embrioni sviluppatasi da uova di una medesima deposizione, nelle posizioni indicate negli schemi. Dopo avvenuta la cicatrizzazione, sono stati separati i pezzi *F* e *C* (fig. 15—16) i quali sono stati tenuti in vita fino al 6° giorno dopo l'operazione (temperatura della soluzione fisiologica 26°), e cioè fino al termine del riassorbimento vitellino per i pezzi che ne contenevano quantità maggiore.



Fig. 26.



Fig. 27.

Fig. 26—27. Pezzi *F* (fig. 26) e *C* (fig. 27) di *Rana esculenta*, al momento della fissazione con occhi sviluppatisi dagli abbozzi oculari trapiantativi omoplasticamente.

All'esame eseguito *in vivo* al microscopico binoculare, gli occhi trapiantati nei pezzi *C* e quelli posti nei pezzi *F* hanno mostrato, essenzialmente per ogni tipo, un uguale comportamento e perciò riporto il disegno di una sola coppia di essi. Vi si può notare facilmente la differenza di grandezza tra l'occhio e il cristallino sviluppatisi nel pezzo *C* e quelli sviluppatisi nel pezzo *F*.

All'esame microscopico delle sezioni seriali si sono viste per tutte le coppie di pezzi di questa serie, le medesime disposizioni nei riguardi dei processi differenziativi verificatisi negli abbozzi oculari trapiantati in essi, sì che limito l'esposizione in modo da riassumere tutti i casi osservati.

Occhi sviluppati nei pezzi *F* (fig. 26, 28).

L'occhio si è sviluppato in forma di calice, ma la cavità del vitreo è virtuale, poichè essa è occupata totalmente dal cristallino, perfettamente differenziato.

La retina è distinta in tutti i suoi strati; anche lo strato ganglionare si presenta cospicuo. Il nervo ottico è presente e si unisce a un frammento di encefalo coinvolto nell'operazione di trapianto della vescicola ottica. Mitosi, nelle cellule retiniche, non se ne trovano. Il vitello è stato completamente riassorbito.

Occhi sviluppati nei pezzi *C* (fig. 27, 29).



*Trapianti in pezzi D* (operazioni 11).

Le operazioni venivano eseguite trapiantando omoplasticamente le due vescicole ottiche primarie di un embrione di *Rana esculenta* sul bottone codale di due esemplari sviluppati da uova di una stessa deposizione. Dopo l'attaccamento del trapianto, in un embrione è stato



Fig. 30.

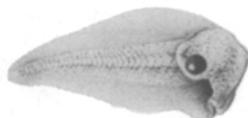


Fig. 31.

Fig. 30—31. Coda di un girino intero (fig. 30) e pezzo *D* isolato (fig. 31) di *Rana esculenta* disegnati al momento della fissazione e mostrandoci gli occhi sviluppatisi dagli abbozzi oculari trapiantativi omoplasticamente.

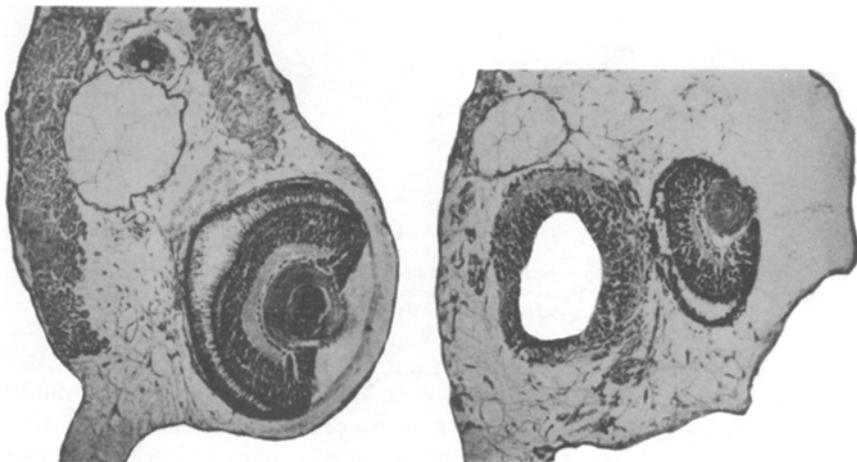


Fig. 32—33. Microfotografie di sezioni, eseguite allo stesso ingrandimento, di coda di girino intero (fig. 32) e di un pezzo *D* (fig. 33) di *Rana esculenta*, mostrandoci gli occhi sviluppatisi dagli abbozzi oculari trapiantativi omoplasticamente. Obb. 6 a Leitz.

separato il bottone codale (pezzo *D*; fig. 16), laddove l'altro veniva lasciato intero. Le figure riportate di una coppia, fissata come tutte le altre 5 giorni dopo l'operazione (temperatura 26°), fanno vedere lo scarso accrescimento dell'occhio sul pezzo *D* e quello quasi normale nella coda del girino intero. Riassumo, anche qui la descrizione dei risultati.

occhi sviluppati nelle code di girini interi (fig. 30, 32).

L'esame microscopico delle sezioni seriali ha fatto notare per questi occhi un differenziamento perfetto di tutti gli strati, per quando lo strato delle cellule ganglionari si presenti esiguo e spesso interrotto. Il nervo ottico è spesso presente.

Il cristallino si è sviluppato benissimo e in alcuni casi occupa tutta la cavità del vitreo, che in altri casi è invece presente.

Occhi sviluppati nei pezzi D (fig. 31, 33).

Questi occhi sono poco cresciuti. All'esame microscopico si nota però l'avvenuto differenziamento delle retine in tutti gli strati e anche qui la scarsità dello strato delle cellule ganglionari. I cristallini si sono ben differenziati e occupano totalmente la cavità del vitreo. La capsula di essi è un po' sottile rispetto a quella osservata negli impiantati su bottoni codali di embrioni interi.

Riporto brevemente qui alcune medie dei diametri degli occhi sviluppatisi nelle coppie, ma con esse ancora, per una migliore valutazione delle differenze di grandezza, come ho già detto, le fotografie, eseguite allo stesso ingrandimento, degli occhi di una delle coppie.

Diametro massimo degli occhi	sviluppati	nelle code dei girini interi	. . .	360 $\mu$
"	"	"	"	nei pezzi D. . . . . 233 $\mu$
"	"	dei cristallini	"	nelle code di girini interi . . . 127 $\mu$
"	"	"	"	nei pezzi D. . . . . 72 $\mu$

*Trapianti in pezzi E (Operazioni 12).*

Le operazioni venivano eseguite identicamente a quelle del gruppo precedente, con la differenza che, nell'isolamento del bottone codale di uno degli embrioni di *Rana esculenta*, veniva ad esso assegnato un segmento di tronco facendovi comprendere una zona ventrale ricca di vitello (pezzo E; fig. 17).

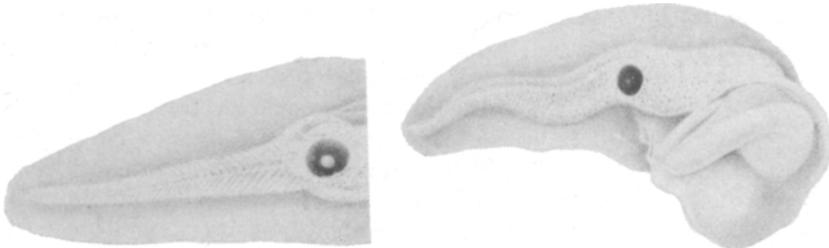


Fig. 34.

Fig. 35.

Fig. 34-35. Coda di girino intero (fig. 34) e pezzo E (fig. 35) di *Rana esculenta* disegnati al momento della fissazione e mostrandoti gli occhi sviluppatisi dagli abbozzi oculari trapiantativi omoplasticamente.

Le coppie sono state fissate 5 giorni dopo l'operazione (temperatura 26°) e cioè al termine del riassorbimento del vitello. Le figure mostrano appunto le disposizioni di una coppia operata, al momento della fissazione.

L'esame microscopico delle sezioni seriali degli occhi sviluppatisi nelle code dei girini interi ha mostrato, come era ovvio, tutto quello che è stato descritto nelle identiche operazioni del gruppo di trapianti in pezzi D (fig. 34, 36).

Per quel che riguarda gli occhi sviluppatisi nei pezzi E (fig. 35 e 37) l'indagine microscopica ha fatto notare un buon differenziamento degli

strati retinici con il solito scarseggiare degli elementi dello strato gangliolare. Manca in genere il nervo ottico, pure nella presenza, accanto

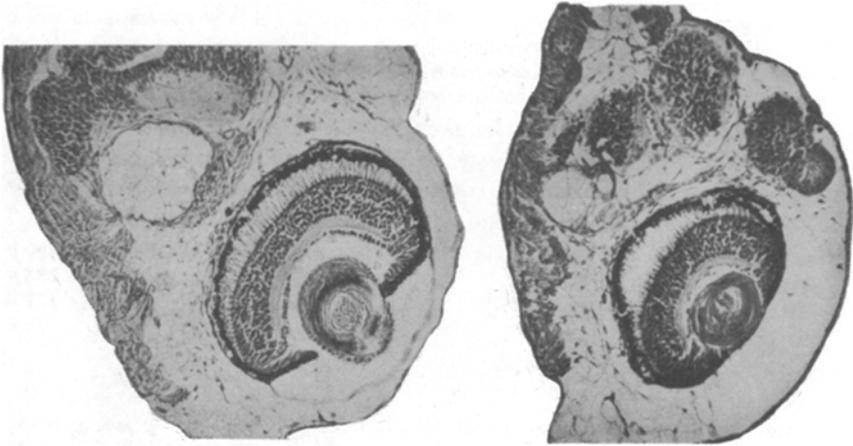


Fig. 36.

Fig. 37.

Fig. 36—37. Microfotografie di sezioni, eseguite allo stesso ingrandimento, di coda di girino intero (fig. 36) e di un pezzo *E* (fig. 37) di *Rana esculenta* mostranti gli occhi sviluppatisi dagli abbozzi oculari trapiantativi omoplasticamente. Obb. 6a Leitz.

all'occhio, di un frammento di encefalo coinvolto nel trapianto di esso. Il cristallino, occupante tutta la cavità del vitreo, è molto ben sviluppato, con capsula normale.

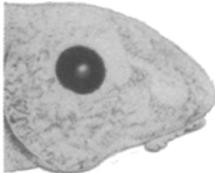


Fig. 38. Testa di *Rana esculenta* allo stesso stadio dei precedenti con occhio normale.

La differenza di grandezza tra gli occhi sviluppatisi nelle code di girini interi e nei pezzi *E* sono già ben apprezzabili nelle figure dei pezzi eseguite in *toto* e meglio ancora valutabili nelle fotografie delle sezioni eseguite sempre, come i disegni, allo stesso ingrandimento (fig. 36, 37).

Riporto per completezza le medie di diametri massimi degli occhi delle coppie operate.

Diametro massimo degli occhi sviluppati	nelle code di girini interi	. 360 $\mu$
„ „ „ „ „	nei pezzi <i>E</i> . . . . .	270 $\mu$
„ „ dei cristallini „	nelle code di girini interi	. 127 $\mu$
„ „ „ „ „	nei pezzi <i>E</i> . . . . .	94 $\mu$

#### *Considerazioni generali sulle esperienze di trapianto omoplastico di abbozzi oculari di Rana esculenta su pezzi C, F, D, E.*

Una prima conclusione che si può ricavare dall'insieme dei fatti esposti riguarda il potere di auto-differenziamento posseduto dagli abbozzi oculari (allo stadio di vescicola ottica primaria estroflessa) in funzione del vitello in essi contenuto. E infatti dall'esposizione prece-

dente risulta che la vescicola ottica primaria di *Rana esculenta*, trapiantata omoplasticamente, si sviluppa in un calice con la retina, differenziata in tutti i suoi strati (come avviene normalmente per gli impiantati su embrioni interi) anche se la sede di impianto è in forma di una più o meno piccola porzione isolata (pezzi *C*, *F*, *D*, *E*) di embrioni allo stadio di bottone codale. Nei riguardi del cristallino si può dire quanto è stato concluso per le retine.

Esso mostra infatti in tutti i casi (trapianti su embrioni interi e su pezzi isolati) un normale differenziamento del nucleo e della capsula.

Molto importante si è dimostrato ai fini del presente lavoro — ed era quello che mi ero proposto di indagare con le ultime esperienze — il fattore isolamento delle zone d'impianto per quel che riguarda la capacità o meno da parte di esse a fornire materiali nutritivi agli abbozzi oculari trapiantativi omoplasticamente e conseguentemente, anche la grandezza cui questi ultimi possono giungere, con o senza il concorso di esse, durante il periodo embrionale.

Dall'esposizione antecedente risulta infatti che l'abbozzo oculare di *Rana* trapiantato se possiede in se, a prescindere da qualsiasi influenza dei territori limitrofi d'imp. antousati, il potere di autodifferenziarsi non ha in se altrettante sostanze che gli possano permettere di raggiungere autonomamente, durante il periodo embrionale, la grandezza propria normale.

Queste sostanze nutritive, derivanti dal metabolismo del vitello, che negli esemplari interi sono state a disposizione degli abbozzi oculari in qualsiasi regione trapiantati, permettendo ad essi di raggiungere un volume pressochè normale, sono state cedute pure in notevole quantità dal vitello del ventre, nelle esperienze di trapianto in pezzi *F* e in minore quantità nei casi nei quali l'abbozzo non era a diretto contatto con esso, ma aveva potuto riceverne, i prodotti, per una lenta diffusione (pezzi *E*).

Il vitello posseduto dalle cellule dei varii tessuti in via di differenziamento, non ha invece affatto contribuito, o per lo meno in maniera trascurabile, a fornire sostanze nutritive agli abbozzi trapiantati nei pezzi *C* e *D*, dove essi sono rimasti atrofici.

Dati quindi i risultati da me descritti, che segnano un così netto distacco tra le differenti serie di esperienze, si deve ritenere che il vitello endocellulare serva per lo sviluppo di quei tessuti in cui si trova inglobato.

Le misure riferentesi all'accrescimento riportate per ogni singolo gruppo sono, inoltre, una migliore prova dell'esattezza delle conclusioni alle quali si era giunti per i trapianti xenoplastici su parti embrionali isolate. Si era detto che la distruzione degli abbozzi oculari e olfattori di *Triton* posti su embrioni di *Rana esculenta* dipendeva appunto dalle sostanze del ricambio del vitello; sostanze che nelle esperienze omoplastiche si sono dimostrate necessarie per una crescita normale degli abbozzi.

E infatti dove esse sono state presenti per contatto diretto (pezzi *F*) o apportate dal torrente circolatorio (girini interi) si è avuto distruzione dell'abbozzo oculare di *Triton* e ingrandimento più o meno normale dello stesso abbozzo di *Rana*; dove sono state un po' minori per una lenta diffusione (pezzi *E*) si è avuto maggior resistenza alla distruzione dell'abbozzo di *Triton* e un po' di ingrandimento dell'occhio di *Rana*, e infine dove sono state assenti (pezzi *C* e *D*) si sono avuti i migliori differenzamenti dell'abbozzo di *Triton* e sviluppo atrofico di quello di *Rana*.

### III. Conclusioni.

Nell'esposizione dei risultati delle esperienze ho fatto seguire volta a volta delle considerazioni su di essi: considerazioni che portavano logicamente per conseguenza l'impostazione di nuovi gruppi di esperienze, tutte fatte per risolvere un determinato problema. Una nuova estesa discussione su tutti i gruppi di operazioni sarebbe perciò superflua; essa la si trova insita nell'esposizione successiva dei reperti ottenuti. Coordino invece le varie discussioni dei singoli capitoli e i risultati sperimentali nelle seguenti conclusioni:

1. Parti embrionali anteriori di *Triton taeniatus*, tagliate sia anteriormente che posteriormente agli abbozzi branchiali, innestate su embrioni di *Rana esculenta* mancanti della regione anteriore agli abbozzi branchiali, hanno dato sempre per risultato la distruzione della parte dell'Urodelo innestata, analogamente a quanto era stato dimostrato per alcuni abbozzi di organi di *Triton* trapiantati su embrioni di *Rana esculenta* (COTRONEI e SPIRITO, PERRI).

Spesso, in questi nuovi risultati, la distruzione è stata preceduta da tentativi di differenziamento. Ciò si può mettere in rapporto con il tempo maggiore necessario a ottenere la distruzione dei pezzi più grossi innestati.

2. Si è notato in questi processi distruttivi una differente suscettibilità della parte anteriore di *Triton* innestata, nei riguardi della rapidità di distruzione: primi a essere distrutti sono gli organi olfattori; seguono l'encefalo, gli abbozzi oculari, le otocisti, il mesenchima, la cartilagine.

3. Tra i residui delle parti anteriori di *Triton* si è potuto notare spesso un gran numero di globuli rossi e di leucociti di *Rana*.

4. Se si sposta più caudalmente il livello del taglio degli embrioni di *Rana esculenta* fino a portar via tutta la parte anteriore, compresa la regione degli abbozzi branchiali, si ottiene — rimanendo uguali le condizioni di durata dell'esperimento e di temperatura dei casi precedenti — differenziamento sia istologico che morfologico delle parti anteriori di *Triton* innestate.

5. Allo scopo di precisare questa differenza di comportamento tra le esperienze delle conclusioni 1 e 4, si è trapiantato la vescicola ottica e l'abbozzo olfattivo di *Triton* nella regione ventrale (a contatto del vitello)

di embrioni di *Rana esculenta* ai quali era stata tolta la regione anteriore, compresi gli abbozzi branchiali. In questi casi gli organi trapiantati sono andati rapidamente distrutti.

6. Trapiantando gli abbozzi oculari e olfattori di *Triton* su bottoni codali di *Rana esculenta* isolati insieme ad una zona ventrale ricca di vitello, si è avuto, pur dopo un tempo maggiore, distruzione degli abbozzi trapiantati.

7. Trapiantando invece gli abbozzi oculari e olfattori di *Triton* su parti cefaliche anteriori e su bottoni codali isolati di *Rana esculenta*, ossia su parti contenenti poco vitello, si è avuto differenziamento come in condizioni normali.

8. Le conclusioni 5, 6, 7 si spiegano tenendo presenti i concetti di COTRONEI sull'antagonismo vitellino che si verifica per abbozzi di Urodeli trapiantati su embrioni di alcuni Anuri, nel senso che nelle esperienze delle conclusioni 5 e 6 vi è presenza di notevole quantità di vitello, mentre invece nelle esperienze della conclusione 7 vi è scarsità e poca diffusibilità di esso.

9. Similmente si spiegano i risultati delle conclusioni 1 e 4, poichè quando il pezzo posteriore di *Rana* possedeva il cuore, per condizioni opportune circolatorie, aveva modo di spingere nei pezzi anteriori di *Triton* innestati quelle sostanze provenienti dal metabolismo del proprio vitello. Ciò invece non si poteva verificare in quelle esperienze di innesti nelle quali, al pezzo posteriore di *Rana esculenta*, mancava il cuore.

10. Tutti questi risultati si spiegano ancor meglio riferendosi alle idee e all'analisi dei fattori e delle modalità che intervengono nei processi di incompatibilità di abbozzi di Urodeli posti su alcuni Anuri, fatta dal COTRONEI. Si può ritenere che in quelle mie esperienze che hanno permesso il differenziamento degli abbozzi di *Triton*, siano scarsi gli anticorpi onde ne consegua una debole sensibilizzazione dell'antigene (vescicola ottica e abbozzo olfattorio di *Triton*) in maniera tale che il complemento (vitello) non ha modo di esplicare la sua azione litica per questa scarsa e insufficiente sensibilizzazione dell'anticorpo sull'antigene. Questo ha permesso i processi differenziativi che mai si erano ottenuti per la vescicola ottica primaria e per l'abbozzo olfattorio di *Triton* trapiantati su embrioni di *Rana esculenta*. Nei casi, invece, nei quali si è avuta rapida distruzione dei pezzi innestati, ci si è trovati proprio nelle condizioni realizzate nelle esperienze di COTRONEI e SPIRITO e di PERRI.

11. Per valutare le esperienze di differenziamento e accrescimento di abbozzi embrionali trapiantati nei pezzi isolati, riferiti nelle conclusioni precedenti, furono fatte esperienze di trapianto omoplastico della vescicola ottica primaria su parti isolate di embrioni di *Rana esculenta*. La vescicola ottica primaria di *Rana* si è notevolmente accresciuta nella regione ventrale a contatto del vitello; un pò di meno nel bottone codale isolato insieme ad una zona ventrale ricca di vitello; e assai poco, pur differenziandosi, nelle regioni cefaliche anteriori e nei bottoni codali isolati.

Con questo metodo da me usato si è potuto indagare quindi il grado di accrescimento cui possono giungere, in un determinato stadio embrionale, gli abbozzi trapiantati, solo in funzione della quantità di vitello in essi contenuto, e cioè indipendentemente dalle sostanze che possono essere ad essi fornite dai territori circostanti.

### Zusammenfassung.

1. Teile des kranialen Endes von Triton taeniatus-Embryonen, und zwar sowohl vor als auch hinter der Kiemenanlage entnommen, gehen stets zugrunde, wenn sie auf Rana esculenta-Embryonen verpflanzt werden, welchen der vor der Kiemenregion liegende Teil entfernt worden ist; dies stimmt mit ähnlichen Versuchen, bei welchen Organanlagen von Triton auf Rana esculenta-Larven überpflanzt wurden (COTRONEI und SPIRITO, PERRI) überein.

Bei diesen neuen Versuchen gingen der Zerstörung häufig Andeutungen einer Differenzierung voran. Dies kann bedingt sein durch die längere Zeitdauer, welche zum Absterben größerer implantierter Stücke notwendig ist.

2. Bei dem Zugrundegehen des implantierten Tritonvorderendes wurde eine verschiedene Empfindlichkeit einzelner Teile beobachtet, die in der Geschwindigkeit der Zerstörung zum Ausdruck kam: zuerst gehen die Geruchsorgane zugrunde; es folgen das Gehirn, die Augenanlagen, die Otocysten, das Mesenchym, der Knorpel.

3. Zwischen den Residuen der Tritongewebe ließen sich häufig eine große Zahl roter und weißer Blutkörperchen von Rana feststellen.

4. Wird die Schnittebene bei den Rana esculenta-Larven weiter kaudal geführt, so daß der ganze Kopfteil mit Einschluß der Kiemenregion entfernt wird, so erhält man — gleiche Bedingungen in bezug auf Dauer und Temperatur wie bei den früheren Versuchen vorausgesetzt — eine histologische, sowie morphologische Differenzierung der eingepflanzten Vorderenden von Triton.

5. Um den Unterschied im Befund der unter 1 und 4 angeführten Versuche genauer bestimmen zu können, wurden Augenblasen und Geruchsanlagen von Triton in die Bauchregion (in Berührung mit dem Dotter) von Rana-Larven implantiert, welchen das kraniale Ende mit Einschluß der Kiemenanlage entfernt worden war. In diesen Fällen gingen die überpflanzten Organe rasch zugrunde.

6. Wurden Augen- und Geruchsanlagen von Triton auf Schwanzknospen von Rana esculenta implantiert, die im Zusammenhang mit einer dotterreichen Ventralzone isoliert worden waren, so ergab sich auch nach längerer Zeit Zerstörung der implantierten Anlagen.

7. Wurden dagegen die Augen- und Geruchsanlagen von Triton auf dotterarme isolierte Schwanzknospen oder auf vordere Kopfabschnitte von Rana esculenta-Larven implantiert, oder auch auf andere Teile,

welche wenig Dotter enthalten, so trat eine Differenzierung des Implantates wie unter normalen Bedingungen ein.

8. Die unter 5, 6, 7 angeführten Ergebnisse lassen sich erklären durch die Annahme von COTRONEI über einen Antagonismus zwischen dem Dotter der implantierten Urodelenanlagen und demjenigen der Anuren, in dem Sinne, daß bei den unter 5 und 6 angeführten Versuchen eine bemerkenswerte Quantität von Dotter vorhanden war, während bei den unter 7 angeführten Versuchen die Dottermenge gering und ihre Diffusibilität kaum der Rede wert war.

9. In gleicher Weise lassen sich die unter 1 und 4 angeführten Ergebnisse erklären: wenn der als Wirtstier dienende hintere Abschnitt von *Rana* das Herz enthielt und somit die Bedingungen für die Zirkulation günstig waren, so war es möglich, daß in die implantierten Vorderenden von Triton aus dem Stoffwechsel von *Rana* stammende Produkte eingeführt wurden. Dies war ausgeschlossen bei denjenigen Implantationsversuchen, bei welchen den kaudalen Abschnitten der *Rana esculenta*-Larven das Herz fehlte.

10. All diese Ergebnisse lassen sich noch besser erklären unter Heranziehung der Erörterungen von COTRONEI über die Faktoren und Bedingungen, welche dafür in Betracht kommen, daß Implantate von Urodelenanlagen, auf Teile von Anuren überpflanzt, sich mit letzteren nicht vertragen. Es sei darauf hingewiesen, daß bei denjenigen meiner Versuche, in welchen es zu einer Differenzierung der Tritonanlagen kam, die Antikörper in zu geringer Menge vorhanden waren um eine Sensibilisierung des Antigens (Augenblase und Geruchsanlage von Triton) hervorzurufen, so daß das Komplement (Dotter) seine lösende Wirkung wegen der schwachen und ungenügenden Aktivierung des Antigens durch den Antikörper nicht zu entfalten vermochte. Deshalb kam es in meinen Versuchen zu Differenzierungsvorgängen, die bei der Implantation der Augenblase und Geruchsanlage von Triton auf *Rana esculenta*-Embryonen bisher noch nicht gelungen waren. In den Fällen jedoch, in welchen eine rasche Zerstörung der implantierten Stücke stattfand, ist diese auf die gleichen Bedingungen zurückzuführen, die auch in den Versuchen von COTRONEI und SPIRITO und von PERRI gegeben waren.

11. Um die vorher angeführten Versuche der Differenzierung und des Wachstums von auf isolierte Stückchen überpflanzten Embryonalanlagen auswerten zu können, wurden weitere Versuche unternommen mit homoplastischer Implantation der primären Augenblase auf isolierte Stückchen von *Rana esculenta*-Larven. Die primären Augenblasen von *Rana* zeigten beträchtliches Wachstum in der ventralen mit dem Dotter in Berührung stehenden Region, ein weniger gutes Wachstum in der isolierten Schwanzknospe verbunden mit einer dotterreichen Ventralzone, fast kein Wachstum, jedoch Differenzierung in vorderen Kopfregionen oder in isolierten Schwanzknospen.

Mit dieser von mir angewandten Methode gelang es den Wachstumsgrad zu bestimmen, welchen in einem bestimmten Embryonalstadium implantierte Anlagen zu erreichen vermögen, allein in Abhängigkeit von der in ihnen enthaltenen Dottermenge, unabhängig von den Substanzen, welche ihnen aus benachbarten Gebieten geliefert werden können.

(Übersetzt von A. HARTMANN.)

#### IV. Bibliografia.

**Born, G.:** Die künstliche Vereinigung lebender Teilstücke von Amphibienlarven. Jber. schles. Ges. Breslau 1894, 79—91. — Über die Ergebnisse der mit Amphibienlarven angestellten Verwachsungsversuche. Verh. anat. Ges. 9, 153—159 (1895). Über Verwachsungsversuche mit Amphibienlarven. Roux' Arch. 4, 349—465 (1896a); 4, 517—623 (1896b). — **Cotronei, Giulio:** Nuove ricerche sullo sviluppo e sulla metamorfosi degli Anfibi anuri in riferimento a esperienze di innesti. Arch. zool. ital. 10, 85—126 (1922). — Lineamenti storici e impostazioni concrete in esperienze di trapianti tra Anuri e Urodeli. Monit. zool. ital. 1, 8—15 (1930). Costituzione zoologica e trapianti. Ricerche tra Anuri e Urodeli. Considerazioni. Nota IX. Rend. R. Accad. dei Lincei 15, 236—240 (1932). — **Cotronei, G. e Spirito, A.:** Costituzione zoologica e trapianti. Esperienze tra Anuri e Urodeli. Nota I. Rend. R. Accad. dei Lincei 10, 212—214 (1929a). — Processi di sviluppo e di regolazione nei trapianti di abbozzi embrionali di Anuri in embrioni di Urodeli. Monit. zool. ital. 40, 425—429 (1929b). — Costituzione zoologica e trapianti. Esperienze tra Anuri e Urodeli. Nota II. Rend. R. Accad. dei Lincei 11, 425—429 (1930a). — Costituzione zoologica e trapianti. Nuove esperienze tra Anuri e Urodeli. Nota III. Rend. R. Accad. dei Lincei 11, 854—856 (1930b). — Nota IV. Rend. R. Accad. dei Lincei 12, 69—73 (1930c). — Nota VII. Rend. R. Accad. dei Lincei 14, 149—153 (1931). — **Cotronei, G. e Guareschi, C.:** Costituzione zoologica e trapianti. Esperienze tra Anuri e Urodeli (trapianti di abbozzi embrionali in organismi differenziati o adulti). Nota V. Rend. R. Accad. dei Lincei 12, 180—182 (1930). — Nota VI. Rend. R. Accad. dei Lincei 14, 44—48 (1931a). — Nota VIII. Rend. R. Accad. dei Lincei 14, 368—373 (1931b). — **Guareschi, C.:** Fusione di otocisti nei trapianti xenoplastici tra Anuri e Urodeli. Rend. R. Accad. dei Lincei 14, 1—2 (1931). — **Harrison, R. G.:** Experimentelle Untersuchungen über die Entwicklung der Sinnesorgane der Seitenlinie bei den Amphibien. Arch. mikrosk. Anat. u. Entw.mechan. 63, 35—149 (1904). — The development of the balancer in *Amblystoma*, studied by the method of transplantation and in relation to the connective — tissue problem. J. of exper. Zool. 41, 349—428 (1925). — **Marcucci, O.:** Ricerche complementari sui trapianti di abbozzi embrionali su organismi già differenziati (esperienze sugli Anfibi). Rend. R. Accad. di Lincei 14, 365—367 (1931). — **Perri, T.:** Sul comportamento dell'abbozzo oculare di *Triton* trapiantato in embrioni di *Rana esculenta*. (Processi di distruzione e potenza di ricupero.) Nota I. Rend. R. Accad. dei Lincei 12, 66—68 (1930). — Nota II. Rend. R. Accad. di Lincei 14, 1—4 (1931). — **Spirito, A.:** Di alcune esperienze d'innesti di più estese parti embrionali tra Anuri e Urodeli. Rend. R. Accad. dei Lincei 12, 183—186 (1930). — Ricerche su trapianti di abbozzi oculari di *Triton* su parti isolate di embrioni di *Rana esculenta*. Rend. R. Accad. dei Lincei 14, 154—159 (1931a). — Ricerche su trapianti omoplastici di abbozzi oculari su parti isolate di embrioni di *Rana esculenta*. Rend. R. Accad. dei Lincei 14, 361—365 (1931b). — Sulla fusione degli abbozzi olfattori tra Anuri e Urodeli. Boll. Soc. Ital. Biol. sper. 6, 1—5 (1931c).