

**Biologia.** — *Autofecondazione nelle colonie di Botryllus schlosseri (Pallas)* (\*). Nota di ARMANDO SABBADIN, presentata (\*\*) dal Corrisp. U. D'ANCONA.

Oka e Watanabe<sup>(1)</sup> hanno recentemente dimostrato che nelle colonie di *Botryllus primigenus* non si verifica l'autofecondazione e che incompatibilità sessuale esiste anche fra colonie genitrici e colonie figlie e, in rapporti definiti, fra colonie sorelle. Questi esperimenti sull'«affinità sessuale» ed analoghi esperimenti sull'«affinità vegetativa» delle colonie, cioè sulla loro capacità di fondersi quando giungono in contatto, sembrano aprire una via promettente all'indagine genetica, che ci siamo proposti di estendere a *Botryllus schlosseri*. L'autofecondazione, ammessa in via d'ipotesi, non era stata ancora dimostrata neanche per questa specie e, quanto all'«affinità vegetativa» fra le colonie, i pochi dati forniti da Bancroft<sup>(2)</sup> non discordano dai risultati ottenuti dagli Autori succitati in *B. primigenus*.

Poiché gli zooidi di una colonia derivano tutti, attraverso una serie ininterrotta di generazioni blastogenetiche, da un'unica larva metamorfosata nell'oozoide, fondatore della colonia, e rappresentano quindi una linea pura di individui ad identico patrimonio genetico, l'autofecondazione assume l'aspetto particolare di unione fra gameti prodotti nell'ambito della colonia, non necessariamente dallo stesso individuo.

Nei singoli zooidi di una data generazione blastogenetica ovario e testicolo maturano da ciascun lato del corpo in coincidenza con il passaggio della gemma alla maturità funzionale annunciato dall'apertura dei sifoni. I gameti maturi attraverso il deferente e l'ovidotto raggiungono la cavità atriale, dove le uova si annidano in tasche incubatrici, vengono fecondate e si sviluppano. Le larve sono espulse attraverso la cloaca verso il termine del ciclo vitale dei genitori, poco prima della loro regressione.

La possibilità o meno dell'autofecondazione può essere studiata agevolmente in laboratorio su colonie sessualmente mature prelevate in natura e mantenute strettamente isolate. Sarà sufficiente studiare il destino delle uova prodotte dalle generazioni blastogenetiche che si succedono a quella che era funzionalmente matura al momento del prelievo in natura. Come

(\*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Padova.

(\*\*) Nella seduta del 14 febbraio 1959.

(1) H. OKA e H. WATANABE, *Colony-specificity in compound Ascidians as tested by fusion experiments*, « Proc. Jap. Acad. », 33, 657-659 (1957).

(2) F. W. BANCROFT, *Variation and fusion of colonies in compound Ascidians*, « Proc. California Acad. Sci. », 3rd ser., 3, 137-186 (1903).

controlli servono altre generazioni blastogenetiche delle stesse colonie, unendo le colonie a coppie in uno stesso recipiente al momento della maturazione degli zooidi e mantenendole unite per 2-3 giorni, così da consentire la fecondazione incrociata, e poi isolandole di nuovo in modo da poter raccogliere separatamente le loro discendenze.

Risultati positivi ottenuti in simili esperimenti non dimostrerebbero tuttavia necessariamente l'autofecondazione, poiché le colonie prelevate in natura possono risultare dalla fusione completa di 2 o più colonie spesso non riconoscibile. Tale difficoltà è stata aggirata, usando il metodo descritto su colonie nate in laboratorio e portate alla maturità sessuale sotto costante controllo. La tecnica di allevamento è stata descritta altrove<sup>(3)</sup>. Essa dà risultati soddisfacenti se si provvede ad un ricambio frequente dell'acqua di allevamento e ad una alimentazione abbondante a base di Nitzschia e Chlamydomonas. Le colonie, allevate ad una temperatura costante di 18,5°C, si mantengono in fase di attiva riproduzione sessuale per molte generazioni blastogenetiche, che si avvicendano in media ogni 7 giorni, consentendo così lunghi periodi di sperimentazione.

Esperimenti di autofecondazione sono stati eseguiti su 8 colonie e replicati su differenti generazioni blastogenetiche delle stesse, per un complesso di 48 prove. In ciascuna di queste sono state ottenute larve, o uova segmentate o uova fecondate, riconoscibili come tali dalla presenza dei polociti.

È da escludere che in questi esperimenti vi sia stato apporto di spermatozoi dall'esterno con l'acqua di allevamento, poiché questa veniva conservata per più giorni in laboratorio prima dell'uso. Del resto, per eliminare ogni dubbio, è stata usata alcune volte, con pieno successo, acqua pasteurizzata per 30 minuti a 70°C, e successivamente aerea e riportata alla salinità costante del 33,50‰ con aggiunta di acqua distillata.

In *Botryllus schlosseri* l'autofecondazione è dunque perfettamente possibile, al contrario di quanto si verifica in *B. primigenus*.

Nella Tabella annessa, per ciascuna delle colonie usate, indicate con il loro numero di protocollo, nell'intervallo di generazioni sperimentate, è riportato il numero complessivo di larve, di uova in sviluppo e di uova non segmentate che venivano raccolte al termine del ciclo vitale delle varie generazioni. Fra le «larve» sono inclusi talora individui a sviluppo non completo e forse anormale. La categoria delle «uova in sviluppo» è rappresentata da uova in fase di segmentazione, in genere chiaramente irregolare, con blastomeri di dimensioni fortemente diseguali. Buon numero delle «uova non segmentate» sono uova fecondate, con evidenti globuli polari.

(3) A. SABBADIN, *Osservazioni sullo sviluppo, l'accrescimento e la riproduzione di Botryllus schlosseri (Pallas), in condizioni di laboratorio*, «Boll. Zool.», 22, 243-263 (1955); *Analisi sperimentale dello sviluppo delle colonie di Botryllus schlosseri (Pallas)*, «Arch. It. Anat. Embriol.», 63, 178-221, (1958).

TABELLA I.

Per autofecondazione				Per fecondazione incrociata					
Colonia	Generaz. impiegate	Discendenza			Colonia	Generaz. impiegate	Discendenza		
		larve	Uova in sviluppo	Uova non segment.			Totale	Larve	Uova in sviluppo
65	9	26	91	9	65	3	63	0	63
67	3	49	3	9	67	3	51	2	56
68	7	25	22	10	68	1	20	0	20
69	4	20	1	4	69	2	30	0	30
77	4	60	2	1	77	2	10	0	10
78	10	294	11	9	78	2	43	0	43
97	4	31	0	0	—	—	—	—	—
100	7	80	12	28	100	3	172	0	173
—	—	—	—	—	35	1	9	0	9
Totale . . . .	48	585	142	70	Totale . . . .	17	398	2	404

Il numero totale di uova e larve raccolte non corrisponde al numero effettivo di uova prodotte, sia perché alcune possono essere andate perdute nella raccolta, e soprattutto perché un numero notevole di uova nelle condizioni di laboratorio possono non raggiungere le dimensioni massime proprie dello stato di maturità e vengono successivamente riassorbite. Non è stato possibile per ora stabilire se anche una parte delle uova a sviluppo alterato o non sviluppate seguono lo stesso destino.

Dalla Tabella I si rileva che caratteristica dell'autofecondazione è la frequente presenza di tutta una serie di alterazioni che bloccano lo sviluppo a differenti stadi. Esse colpiscono in misura diversa le varie colonie e le varie generazioni di una stessa colonia, talora limitando assai sensibilmente il numero di discendenti vitali.

Questo fenomeno va ulteriormente studiato.

Istruttivo risulta il confronto dei dati dell'autofecondazione con quelli della fecondazione incrociata, pure riportati nella Tabella.

Anche negli incroci è da attendersi che una parte della discendenza di ciascuna delle due colonie incrociate derivi da autofecondazione. I risultati indicano una diminuzione della percentuale di uova non sviluppate o a sviluppo alterato. Talora essa è così forte da far supporre che la fecondazione incrociata sia nettamente favorita rispetto all'autofecondazione.

Sono in corso osservazioni per determinare, sulla scorta di caratteri genetici della pigmentazione, quale sia la reale incidenza dell'autofecondazione sulla discendenza di colonie incrociate.