

Prof. Felice Supino

OSSERVAZIONI SUGLI AXOLOTL
DELL'ACQUARIO DI MILANO

La letteratura sull'Axolotl e le sue metamorfosi è assai abbondante, con tutto ciò credo utile fare qualche cenno su quanto ho osservato intorno a questi animali nell'Acquario di Milano.

L'Axolotl (*Siredon pisciformis* Shaw.) che come è noto è una forma neoténica dell'*Amblystoma tigrinum* Green, ha sempre figurato, da una ventina d'anni, in una delle vasche dell'Acquario. Oltre agli esemplari di color bruno più comuni, se ne sono avuti di quelli albinici, cioè di colore bianco crema con le branchie e gli occhi di un colore rosso sangue. Gli Axolotl si facevano una volta venire dalla Ditta Reichelt di Berlino, poi durante la guerra, ce ne fece dono di due coppie, il prof. Monticelli della R. Università di Napoli. Tali animali si tengono e vivono con tutta facilità. Nell'Acquario di Milano, essi se ne stanno in una vasca lunga un metro, larga 60 cm., con acqua profonda 20-30 cm. La vasca ha il fondo ricoperto di sabbia, è provvista di piante acquatiche, specialmente Elodea e contiene qua e là pezzi di tufo (fig. 1). Quivi gli animali vivono benissimo e lungamente; si danno loro da mangiare lombrichi e piccoli pezzi di carne cruda o cotta. Non si debbono tenere insieme individui di proporzioni molto diverse, perchè i grossi mangiano i piccoli.

Secondo quanto riportano vari autori, l'Axolotl si riproduce nel Messico due volte all'anno, mentre in Europa non ha epoca speciale per la sua riproduzione la quale non è in rapporto con la stagione, e la stessa femmina può emettere uova anche sei volte in un anno, deponendone circa 150-800

fino a 1000 per anno (Boulenger). Duméril (1) nel suo studio sugli Axolotl, ha osservato nel 1866 che nella stessa femmina la deposizione delle uova si è verificata quattro volte in un anno e precisamente il 4 gennaio, il 19 febbraio, il 16 aprile e il 16 giugno. Giacomini (2) ha ottenuto nel 1923 due deposizioni, l'una il 24 aprile, l'altra il 18 giugno; nel 1924 una sola deposizione, il 22 aprile.

All'Acquario di Milano, in causa forse delle condizioni speciali nelle quali gli Axolotl vivono, la deposizione delle uova

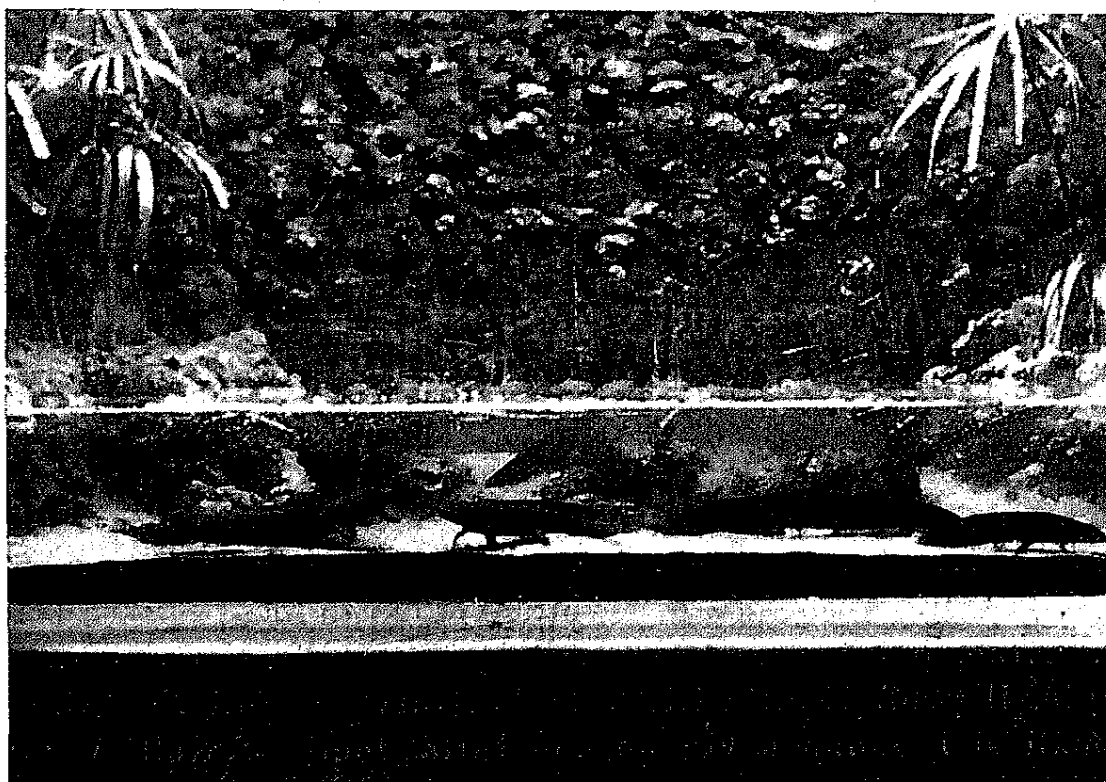


Fig. 1. — Vasca di Axolotl nell'Acquario di Milano.

si è sempre effettuata solo una volta l'anno, nel mese di febbraio, ed il numero delle uova è sempre assai scarso.

Circa lo sviluppo di tali animali, considerato da un punto di vista molto generale e sommario, riporterò i dati delle osservazioni fatte durante il 1926.

(1) DUMÉRIL. — *Observations sur la reproduction dans la ménagerie des reptiles du Muséum d'Histoire Naturelle des Axolotls*. Nouv. Arch. du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, T. II, 1866.

(2) GIACOMINI. — *Precoci metamorfosi degli Axolotl per effetto della somministrazione di glandola tiroidea*. R. Acc. Scienze Istituto Bologna, 1925.

Ai primi di febbraio, mentre durante il giorno gli animali se ne stanno quieti come il solito, si osserva che a sera inoltrata i maschi cominciano ad agitarsi; le uova fecondate vengono emesse durante la notte. La deposizione cominciò il 12 febbraio e si protrasse fino al 16, essendo la temperatura dell'acqua di circa 10-12 gradi centigradi. Le uova assomigliano grandemente a quelle di rana; sono disposte a gruppi di 5 a 12 o poco più, attaccate qualche volta alle rocce, di solito alle piante acquatiche (fig. 2). Il loro diametro, compreso

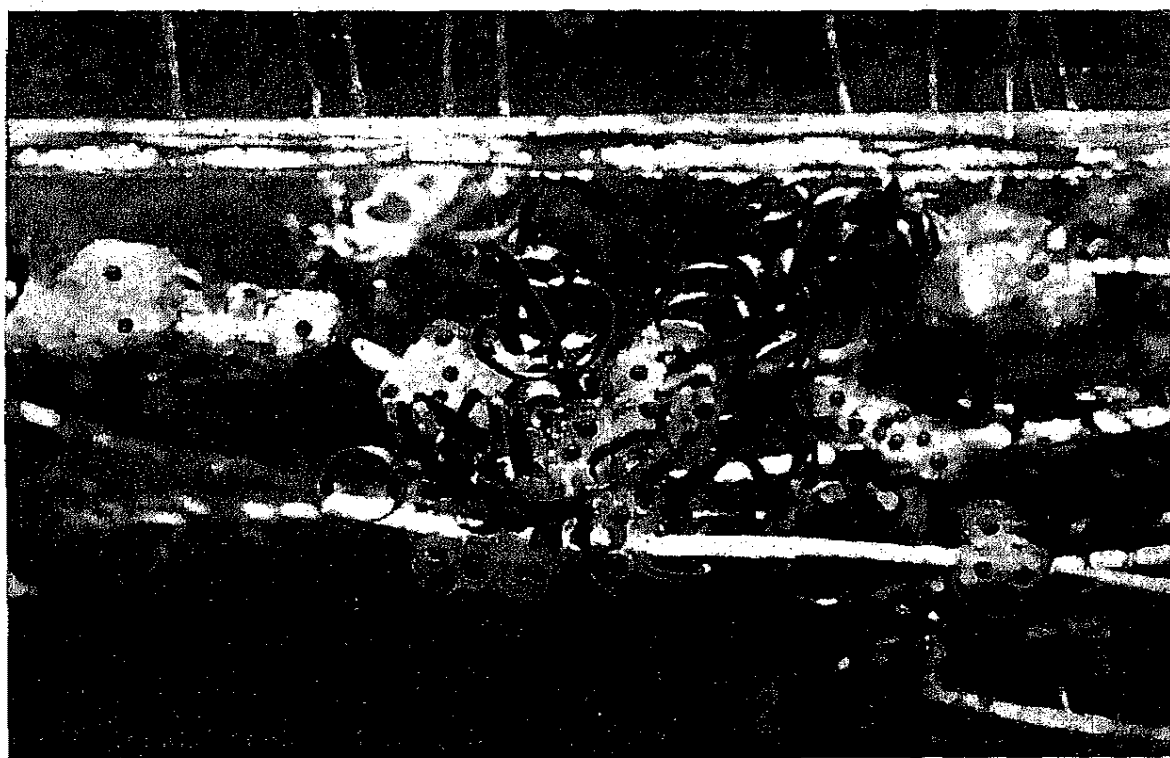


Fig. 2. — Uova di Axolotl. Fotografia eseguita con obiet. rettol. F. 320 mm.

l'involucro gelatinoso, è di circa 7 mm. Convienne togliere subito dalla vasca le uova con la parte della pianta cui aderiscono e portarle in altro luogo, poichè altrimenti gli Axolotl le divorerebbero.

Alcune uova furono messe in un cristallizzatore e portate in laboratorio per poter fare più agevolmente le osservazioni. Durante tutto il periodo dell'incubazione, la temperatura dell'acqua del cristallizzatore ha variato da 16 a 18 gradi centigradi.

Dopo otto giorni dalla deposizione, si osserva nell' uovo l'embrione già bene sviluppato (fig. 3). Rotto l'involucro di alcune uova e liberato l'embrione, si osserva quanto segue. Esso misura circa 8 mm. di lunghezza, il corpo è di colore bruno con numerose piccole macchie nere, la cresta dorsale è più chiara, il ventre è chiaro quasi biancastro. Le branchie che dapprima appaiono come 3 tubercoli per lato, ingrandiscono poi, e a questo stadio hanno la forma di tre piccoli rametti allungati e rivolti all' indietro.

Dopo due giorni dallo stadio sopra descritto, gli embrioni hanno raggiunto circa 10 mm. di lunghezza; ciascun ramo

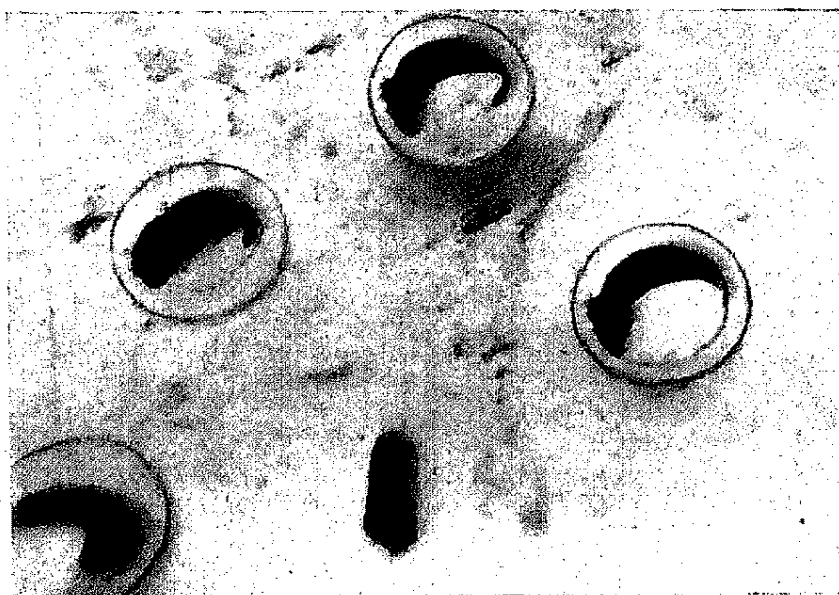


Fig. 3. — Uova di Axolotl, 8 giorni dopo la loro deposizione.
Fotografia ottenuta con lente aplanatica Koristka $\times 6$.

branchiale ha emesso una piccola appendice disposta ad angolo quasi retto ed impiantata circa a metà del ramo branchiale stesso. Gli embrioni liberati dall' uovo dei quali è stato sopra detto, vivono benissimo e si sviluppano; essi da principio se ne stanno più spesso coricati sul fianco e si muovono solo se toccati, ora invece il corpo si è fatto più snello e i movimenti più vivaci ed oltre che coricati sul fianco, stanno anche in posizione normale, cioè col ventre in basso.

Il giorno seguente le appendici di ciascun ramo branchiale sono due e in qualche caso tre e si osservano come dei bot-

toni disposti ai margini del ramo, i quali sono l'accento di nuove appendici (fig. 4). Queste si sviluppano poi rapidamente sia per numero che per grandezza fino a costituire i ciuffi branchiali quali si osservano nell'Axolotl di grandi dimensioni. Le cose si presentano in modo molto simile a quanto è stato descritto e figurato da Gasco nel suo studio sullo sviluppo del Tritone alpestre (1). Nelle larve di Axolotl non si osservano però i bilanceri. Orr (2) paragona le appendici dell'arco mandibolare ai bilanceri e ritiene questi omologhi ad una branchia esterna.

Al quattordicesimo giorno dalla deposizione delle uova, comincia la schiusa; l'animale è lungo circa 12 mm., le branchie presentano numerose ramificazioni, i movimenti dell'animale sono vivaci.

Altre uova messe in un piccolo bacino all'aperto, impiegarono a schiudersi 48 giorni, essendo la temperatura del-



Fig. 4. — Embrione di Axolotl al 12° giorno dalla deposizione dell'uovo, liberato dall'involucro. Fotografia ottenuta con lente aplanatica Koristka $\times 6$.

l'acqua variabile da un minimo di 6 ad un massimo di 13 gradi centigradi. La temperatura perciò, come è naturale, ha influenza sulla durata dello sviluppo delle uova; queste infatti hanno, come si è visto, impiegato a schiudersi 14 giorni con una temperatura di 16-18°, ne hanno impiegati 48 con una temperatura di 6-13°.

Le larve allevate in laboratorio raggiungono dopo 30 giorni dalla deposizione delle uova, cioè al sedicesimo giorno di vita libera, circa 16 mm. di lunghezza; si vedono bene i monconi che daranno luogo agli arti anteriori, sotto forma di due semplici pezzi di forma conica. Le larve seguitano a vivere benissimo alimentate con plancton, specialmente dafnie.

(1) GASCO. — *Intorno alla storia dello sviluppo del Tritone alpestre*. Ann. Museo Civico di St. Nat. Genova. Vol. XVI, 1880-81.

(2) ORR. — *Development of Amphibians*. Q. Journ. Micr. Sc. Vol. 29, 1888.

Dopo 36 giorni di vita libera, le larve allevate in laboratorio, mostrano la estremità dell'arto anteriore bifida, l'accento cioè delle due prime dita. Si ha una configurazione dell'arto assai simile a quella data dal Gasco nel lavoro sul Tritone già citato, solo che nel Tritone la condizione suddetta dell'arto si riscontra nel girino al primo giorno di vita libera.

Dopo altri 10 giorni, mentre le due dita sono assai bene sviluppate, si osserva l'accento ad un terzo dito, e dopo altri 21 giorni le tre dita sono assai bene sviluppate e si osserva l'accento al quarto dito.

Convieni qui osservare che tanto negli individui che schiusero e vissero in laboratorio quanto in quelli che schiusero e vissero all'aperto, se ne riscontrano di dimensioni e sviluppo molto diversi, pur essendo tutti della stessa età. Per cui vi sono individui più grossi e più piccoli, vi sono di quelli che hanno nell'arto anteriore già due dita e magari l'accento al terzo dito e nello stesso tempo ve ne sono di quelli che hanno l'arto anteriore sotto forma di moncone indiviso o appena diviso.

Ma per quanto riguarda lo sviluppo delle dita, le varie osservazioni suddette furono fatte sempre sullo stesso individuo.

All'alimentazione costituita di plancton si aggiunge ora un po' di alimento artificiale dato da carne cruda sminuzzata che le larve mangiano volentieri.

Il 6 maggio le larve allevate in laboratorio hanno raggiunto, le più grandi, la lunghezza di mm. 24; quelle allevate all'aperto hanno raggiunto, le più grandi, 30 mm. di lunghezza. È curioso che le larve allevate in laboratorio e quelle allevate all'aperto, pur derivando da uova deposte nello stesso giorno o quasi e pur avendo le seconde una grandezza maggiore delle prime, mostrino differenze nello sviluppo degli arti anteriori. Così quelle allevate all'aperto dopo 60 giorni dallo stadio di uovo deposto, presentano l'arto anteriore sotto forma di un moncone indiviso, mentre quelle allevate in laboratorio presentano alla stessa epoca due dita assai bene sviluppate e l'accento ad un terzo dito, e mentre dopo altri 21 giorni gli arti delle larve allevate all'aperto presentano tre dita non ancora bene sviluppate, quelle allevate in laboratorio ne presentano tre bene sviluppate e già l'accento del quarto. Si può pensare che la maggior grandezza delle larve sia dovuta all'ambiente

più grande e alla quantità maggiore di alimento e che d'altra parte lo sviluppo maggiore degli arti nelle larve allevate in laboratorio, sia dovuto al fatto che queste sono schiuse dall'uovo molto più presto. La differenza nella schiusa è stata infatti, come si è visto di ben 34 giorni.

Il 17 maggio, il più grosso individuo tra quelli allevati in laboratorio misurava mm. 29 e presentava le dita dell'arto anteriore bene sviluppate. Il più grosso tra quelli che si tro-

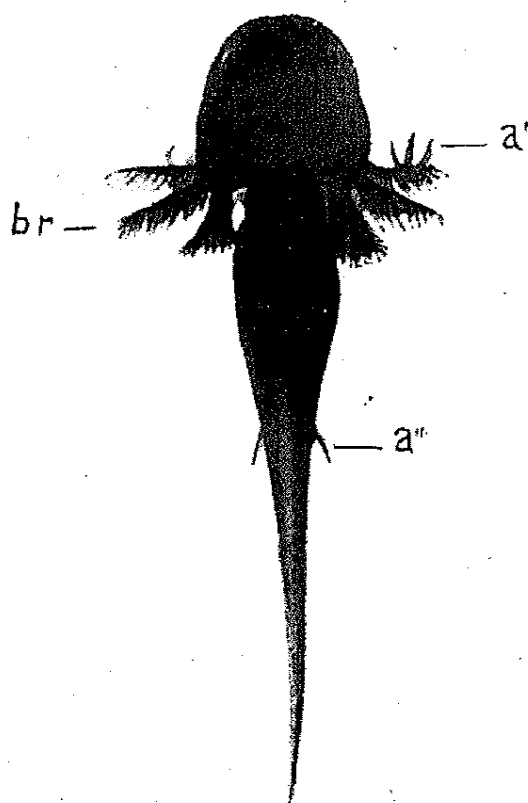


Fig. 5. — Axolotti della lunghezza di mm. 51. *a'* = arti anteriori; *a''* = arti posteriori; *br.* = branchie.

vavano all'aperto, misurava mm. 35 e presentava all'arto anteriore tre dita bene sviluppate e l'accento del quarto.

Ma, come vedremo, d'ora in poi lo sviluppo delle larve sarà maggiore in quelle allevate all'aperto che in quelle allevate in laboratorio. La temperatura si è elevata anche all'esterno, l'alimento è divenuto qui molto più abbondante e d'altra parte l'ambiente è nel suo insieme più adatto.

Il giorno 26 maggio, il più grosso individuo allevato in laboratorio, misurava 36 mm. di lunghezza; si vede già l'ac-

cenno degli arti posteriori rappresentato da un semplice moncone. Nello stesso giorno il più grosso individuo allevato all'aperto misurava 42 mm. di lunghezza e gli arti posteriori mostravano già la divisione in due dita.

Oramai, dato che in laboratorio le larve vengono a trovarsi in ambiente troppo ristretto ed assolutamente inadeguato, i vari individui vengono portati tutti quanti all'aperto. E d'ora innanzi, data anche la temperatura che si è molto elevata, l'accrescimento è assai rapido; dopo soli cinque giorni dallo stadio sopra descritto il più grosso individuo misura 51 mm. di lunghezza, l'arto posteriore presenta due dita e l'abbozzo del terzo (fig. 5). Al 1° luglio il più grande individuo misurava 78 mm. di lunghezza, al 30 settembre 128 mm.

* * *

E veniamo ora a qualche osservazione sulla metamorfosi di questi animali.

L'Axolotl, almeno in Europa, si metamorfosa con grande difficoltà. Le cause che favoriscono o meno la metamorfosi non sono ben note; sembra influiscano la temperatura, le condizioni dell'acqua, l'alimentazione, la muta, ecc.

Molti autori sono riusciti a provocare la metamorfosi con artifici vari, ma non è il caso che io riporti qui quanto è stato fatto a questo proposito. Del resto, per quanto riguarda specialmente l'influenza delle ghiandole a secrezione interna, molto si potrà trovare nel lavoro di Remy: *Les secretions internes et les métamorphoses*, il quale è accompagnato da una ricca bibliografia sull'argomento (1).

Facendo ingerire a larve di Axolotl di varia età tiroide di mammifero, si è, come è noto, ottenuta la metamorfosi degli individui così alimentati in un tempo assai breve.

Anch'io, a complemento delle osservazioni sugli Axolotl e allo scopo anche di vedere se sarebbe stato possibile avere per le vasche dell'Acquario di Milano degli esemplari di *Amblystoma*, ho fatto qualche prova di cui riporto qui brevemente i risultati.

(1) Ann. Sc. Nat. — Zoologie. T. VII, 1924.

Vedi anche: GIACOMINI. — Loc. cit.

Alcuni Axolotl di un anno di età furono collocati in una vasca il cui fondo di sabbia era disposto secondo un piano inclinato, in modo che la parte bassa fosse completamente sommersa nell'acqua, l'altra si elevasse a poco a poco in modo da averne una gran parte completamente emersa. La parte emersa era tappezzata di musco, vi si trovava qualche sasso, era insomma fatta in modo da formare un ambiente adatto, per quanto possibile, alla vita degli animali. Poichè ho visto che questi non andavano mai spontaneamente sulla parte emersa, allora ve li portai io direttamente lasciandoli in mezzo al musco umido. Ma dopo poche ore, qualche volta dopo una giornata intera, essi tornavano nell'acqua. Ripetei questa prova tutti i giorni e per molto tempo ed anzi feci in modo che la parte sommersa divenisse sempre più ristretta in modo da costringere gli Axolotl a starsene più che possibile sulla parte emersa, ma non ottenni alcun risultato e poichè qualche individuo morì, abbandonai del tutto l'esperimento.

In una vasca disposta nelle condizioni precise suddette, posi due Axolotl; uno era nato in Acquario ai primi di aprile 1925, aveva perciò circa 13 mesi, era lungo 155 mm. L'altro era venuto dall'Istituto Zoologico della R. Università di Napoli, già sessualmente maturo, si trovava in Acquario da tre anni e si era già riprodotto. Questo era lungo 240 mm.

A cominciare dal 14 maggio, questi individui furono alimentati con tiroide di cavallo fresca tagliata a fettoline lunghe e sottili dall'aspetto di vermi. Queste fettoline venivano tenute ad un'estremità con una pinzetta ed agitate davanti alla bocca degli animali che le divoravano rapidamente. Ma se i primi giorni gli Axolotl mangiavano volentieri, a poco per volta si mostrarono più svogliati; qualche volta rigettavano la tiroide dopo averla abboccata, qualche volta non l'abboccavano affatto. Nè era il caso di lasciarla a loro disposizione nell'acqua, poichè in tal caso non lo mangiavano affatto.

Secondo Swingle (1) gli Axolotl si metamorfosano rapidamente quando vengano alimentati con grande quantità di tiroide. Ma in ogni modo per ottenere la metamorfosi basta una quantità relativamente assai piccola di tiroide; infatti in tutta la

(1) SWINGLE. — *Experiments on the metamorphosis of neotenus Amphibians.* Journ. experim. Zoology. Vol. 36, 1922.

epoca nella quale si è compiuta la metamorfosi, gli Axolotl hanno mangiato per 10 giorni, i primi giorni mangiavano di più poi sempre meno. Complessivamente l'individuo più grosso ha ingerito gr. 6,550 di tiroide, mentre quello piccolo ne ha ingeriti gr. 4,300 (1).

Dopo circa dieci giorni si mostrano abbastanza evidenti i fenomeni della metamorfosi, i quali sono già molto accentuati al sedicesimo giorno e precisamente il 29 maggio. Nei due Axolotl, le branchie erano molto raccorciate e non presentavano affatto lamelle; la cresta sul dorso era quasi del tutto scomparsa e ne rimaneva una traccia a guisa di cordone. Specie sugli arti anteriori si notavano piccole macchie gialle. Si notava il distacco di lembi dello strato corneo dell'epidermide.

L'ultimo giorno che i due Axolotl hanno mangiato un po' di tiroide, è stato il 30 maggio, dopo di che hanno rifiutato qualunque cibo.

Il 31 maggio l'Axolotl più piccolo presentava le branchie piccolissime (circa 2 mm.), le macchie gialle sono sparse un po' da per tutto ma specialmente in rapporto alle zampe e alla coda. La testa ha assunto nell'insieme una forma più allungata, la cresta è ridottissima anche in rapporto alla coda. L'esemplare grande ha le branchie meno corte (circa 5 mm.), le macchie sono piccole e limitate specialmente agli arti anteriori; la forma della testa non presenta cambiamenti molto notevoli; la cresta è ridotta anche in rapporto alla coda ma meno che nell'esemplare piccolo. Ambedue gli individui se ne stanno ancora nell'acqua, nè cercano di andare verso la parte emersa.

Il giorno dopo (1 giugno) l'individuo piccolo lascia l'acqua per recarsi sulla parte emersa, ma dopo alcune ore torna nell'acqua. L'animale mostra ancora una traccia, estremamente

(1) Io ho ottenuto la metamorfosi regolare in 22 giorni, somministrando ad un Axolotl di circa 8 mesi di età e della lunghezza di 120 mm. solo gr. 0,250 di tiroide. Ad un altro Axolotl di circa la stessa età e grandezza ho dato solo gr. 0,100 di tiroide; in questo caso la metamorfosi si è iniziata regolarmente, ma procede con estrema lentezza, tanto che dopo 30 giorni dall'inizio dell'esperimento si nota solo un notevole abbassamento della pinna dorsale ed una certa riduzione delle branchie. L'animale non ha mai cessato di mangiare la carne che gli veniva somministrata giornalmente. Ma su questo ed altri esperimenti che ho in corso, avrò occasione di tornare un'altra volta.

piccola, delle branchie; la cresta è scomparsa quasi del tutto in rapporto alla coda. Il colore del corpo è di un nero intenso lucido al dorso, più chiaro al ventre; le macchie gialle sono più evidenti.

Ambidue gli individui furono portati sulla parte emersa e mentre quello piccolo è ormai restato sempre fuori dall'acqua, l'altro vi è tornato. Ripetuta per quest'ultimo più volte l'operazione, ho riscontrato che esso tornava sempre nell'acqua.

La mattina del 4 giugno l'individuo piccolo presenta la chiusura delle fessure opercolari; le macchie sono ben visibili ma non molto accentuate; gli occhi sono sporgenti. La coda, per quanto abbia ormai perduta la cresta, rimane compressa ai lati in tutta la sua lunghezza, anzichè acquistare la forma

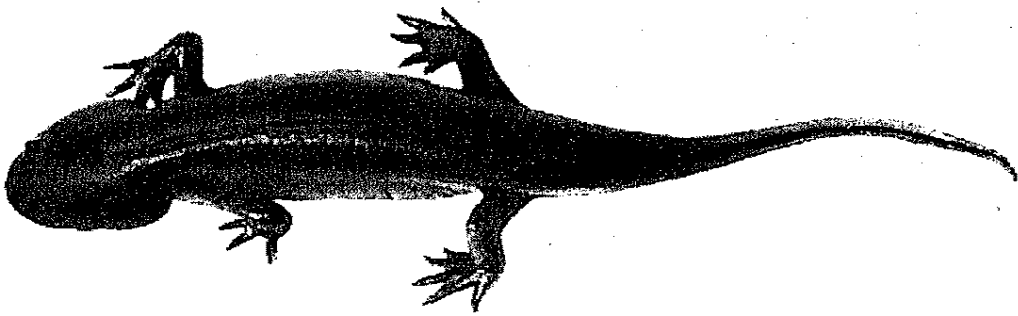


Fig. 6. — *Amblystoma tigrinum* (appena compiuta la metamorfosi).

quasi cilindrica caratteristica. Ad ogni modo la metamorfosi è così compiuta; l'animale ha impiegato a metamorfosarsi 21 giorni (fig. 6).

L'esemplare grande presenta ancora traccia, per quanto piccolissima, delle branchie; le fessure opercolari non sono ancora completamente chiuse. È stato trasportato fuori dall'acqua nella parte emersa della vasca e ormai vi è sempre rimasto.

La sera del 7 giugno anche l'esemplare grande presenta la chiusura delle fessure opercolari; esso perciò ha impiegato a metamorfosarsi 25 giorni. Anche questo presenta la coda compressa ai lati; il colore del corpo è nero lucente al dorso più chiaro al ventre; le macchie gialle sono sparse per tutto il corpo ma sono piccolissime e poco visibili; gli occhi sono sporgenti (fig. 7).

Nell'esemplare piccolo le macchie vanno a poco a poco sviluppandosi sempre più e divenendo più chiare, per cui dopo una ventina di giorni dalla metamorfosi compiuta, esse sono molto bene evidenti ed in seguito rischiarano sempre più fino ad assumere il colore caratteristico bianco giallastro. Esse sono specialmente abbondanti sugli arti, sui fianchi e sulla coda dell'animale (fig. 8). Nell'esemplare grande le macchie



Fig. 7. — *Amblystoma tigrinum*.

sono limitate specialmente agli arti ed anche in questo caso si osserva che esse divengono più grandi e più chiare.

Giacomini ha osservato ⁽¹⁾ che le macchie bianco giallognole compaiono quando le larve si sono già trasformate e che solo una volta ha veduto iniziarsi la comparsa delle macchie alquanto prima della completa trasformazione, mentre secondo varî autori che osservarono metamorfosi spontanee di larve

(1) GIACOMINI. — Loc. cit.

adulte, la comparsa delle macchie bianco giallognole si avrebbe al primo tempo della trasformazione, della quale anzi, secondo Gadow, tale comparsa indicherebbe l'inizio.

Negli individui sui quali io ho sperimentato e di cui ho sopra parlato, si osserva che le macchie compaiono nei primi tempi della metamorfosi, ma sono di colore giallo più scuro e vanno poi sempre più sviluppandosi e acquistano parecchio tempo dopo la compiuta metamorfosi il colore bianco giallastro caratteristico, come più sopra è stato detto. Però in altre prove fatte sopra individui dell'età di circa sei mesi, ho invece visto che le macchie sono comparse a metamorfosi compiuta.

Gli animali dopo metamorfosati non mangiano spontaneamente e per tema che morissero di fame ho dovuto per i primi tempi alimentarli forzatamente, ma in seguito si sono abituati ed hanno preso ad alimentarsi spontaneamente.



Fig. 8. -- *Amblystoma tigrinum* (4 mesi dopo compiuta la metamorfosi).

Dato che dopo metamorfosati gli animali presentavano, come ho detto, la coda compressa ai lati in tutta la sua lunghezza e quindi non perfettamente conformata come nell'adulto, ho voluto vedere se dando ancora da mangiare tiroide, si poteva ottenere il completamento di questo carattere. Mentre l'esemplare più piccolo ha servito di controllo e fu alimentato con lombrichi e carne fresca, quello più grande fu alimentato con tiroide fresca di cavallo. Non ottenni però alcun risultato, poichè la coda ha mantenuto la sua forma compressa ai lati allo stesso modo che si osserva nell'esemplare più piccolo.

Gli animali mostrano di trovarsi bene nella vasca quale è stata sopra descritta; ogni tanto vanno nell'acqua dove si immergono più o meno, tenendo però sempre la testa fuori, poi tornano sul musco umido sotto il quale nascondono qualche volta la testa.

L'esemplare grande è morto tre mesi dopo la metamorfosi compiuta, l'altro è in ottime condizioni.

Ho fatto prove anche con l'embrionina preparata dall'Istituto Sieroterapico Milanese. Essa è costituita di feti bovini

dell'età di 3-4 mesi che vengono ridotti in poltiglia, essiccati nel vuoto a bassa temperatura e ridotti poi in compresse di cui ciascuna corrisponde ad un grammo di sostanza fresca (1).

Ho preso due esemplari di Axolotl, non consentendomi la scarsità del materiale disponibile di prenderne di più, l'uno dell'età di circa 14 mesi e della lunghezza di 145 mm., l'altro di circa 3 mesi di età e della lunghezza di 53 mm. I due individui furono tenuti in recipienti separati.

L'embrionina non sembra un alimento molto gradito agli Axolotl. Cominciai col dare all'esemplare più grande la compressa di embrionina ridotta in piccoli pezzi, ma non fu possibile fargliela inghiottire. Polverizzai la compressa e ne impastai quantità determinata con piccoli pezzi di carne fresca spappolata, ma non solo non potei ottenere che venisse spontaneamente mangiata, ma messa a forza in bocca veniva senza altro rigettata. Ho allora provato a fare aderire un po' d'embrionina polverizzata a piccoli pezzi di carne fresca che introducevo nella bocca dell'animale ed ho così ottenuto risultati migliori, ma è da notare che spesso tali bocconi venivano rigettati e in ogni modo poichè questi animali mangiano in genere assai poco, così troppo scarsa veniva ad essere l'embrionina assunta. È perciò che oltre a questo ho ricorso anche ad un altro sistema, quello cioè di stemperare la compressa in poca acqua in modo da avere un liquido che teneva in sospensione piccole particelle di embrionina e, tolto l'animale dall'acqua, fargli ingoiare questo liquido a mezzo di un piccolo cucchiaino. Con molta pazienza si riesce ad ottenere che l'animale ne trattenga una certa parte. Non posso dire con precisione quale quantità di embrionina l'animale inghiottisse ogni giorno, poichè un po' se ne disperdeva un po' veniva rigettata. Ad ogni buon conto lasciavo cadere nel recipiente una compressa che spoppolandosi a poco per volta, poteva venire mangiata dall'animale, e per quanto non abbia mai potuto sorprendere l'Axolotl in atto di mangiarne, tuttavia è probabile ne abbia mangiato per quanto in misura assai piccola, certo in modo da non potermene accorgere da quello che rimaneva.

Per l'esemplare piccolo, il sistema di imboccarlo è naturalmente meno agevole; in questo caso ho ricorso qualche volta

(1) Vedi: PUGLIESE — *Il potere ossidante ed ematogeno dell'estratto totale di jeto bovino (embrionina)*. Rendic. R. Ist. Lomb. Sc. e Lett. 1926.

ai piccoli pezzi di carne cui facevo aderire embrionina polverizzata, ma più spesso ho dovuto contentarmi di collocare nel recipiente una compressa nella speranza che l'animale ne mangiasse un po'. E del resto ho potuto osservare qualche volta che l'animale infatti se ne cibava, ma certamente in misura assai scarsa. Anche in questo caso non posso perciò conoscere con esattezza la quantità di embrionina assunta dall'Axolotl. Ogni giorno cambiavo l'acqua nei due recipienti, perchè il molto residuo di embrionina non la corrompesse e mettevo una nuova compressa.

Ed ecco quanto ho osservato.

Nell'esemplare grande, osservando con molta attenzione, si vede già 5 o 6 giorni dopo che l'animale ha cominciato a mangiare l'embrionina, un lieve abbassamento della cresta sul dorso e un lievissimo raccorciamento delle lamelle branchiali. Dopo altri 5 giorni, tali fenomeni sono abbastanza evidenti. Già dopo 8 giorni da che l'animale ha cominciato a mangiare l'embrionina, si osserva il distacco di numerosi e piuttosto grandi lembi dello strato corneo dell'epidermide. Dopo 14 giorni da che l'animale ha cominciato a mangiare l'embrionina, si osservano le lamelle branchiali assai ridotte, la cresta abbastanza ridotta; compaiono qua e là piccole macchie giallastre. Nell'esemplare piccolo si osserva a questa stessa epoca solo una riduzione delle branchie ed una certa riduzione della cresta sul dorso, mentre sulla coda la riduzione della cresta è assai piccola; non si osserva il distacco di lembi dello strato corneo dell'epidermide.

Ma i fenomeni che in un primo tempo sembrava procedessero regolarmente hanno subito poi un rallentamento e dopo il quattordicesimo giorno dall'inizio dell'esperimento, la metamorfosi pare arrestarsi, tanto che anche dopo 20 giorni dallo stadio sopra descritto, non si osservano altri cambiamenti almeno rilevabili. Si è notato solo nell'esemplare più grande un distacco abbondante e quasi giornaliero di lembi piuttosto estesi dello strato corneo dell'epidermide, fenomeno che si è protratto per parecchi giorni.

Per cui anche a questa epoca, si osserva che l'asse delle branchie è di poco ridotto, e le lamelle sono ancora presenti per quanto piccole; la cresta è ridotta; macchie giallastre si trovano sparse qua e là. Questo è quanto si nota nell'esemplare più grande. In quello più piccolo si osserva una ridu-

zione nelle branchie, e nella cresta solo in rapporto al dorso e non in rapporto alla coda, come è stato più sopra detto.

In conclusione, si sono osservati per i primi 14 giorni dall'inizio dell'esperimento i fenomeni caratteristici della metamorfosi, poi si è notato un arresto più o meno completo per cui si può dire che per altri 20 giorni non si sono avuti segni, almeno manifesti di ulteriori metamorfosi.

A questo punto ho creduto bene sospendere la nutrizione con embrionina, principalmente perchè gli animali dimagrivano, forse per la troppo scarsa quantità di alimento che assumevano, e temevo morissero. Io non so se, potendo proseguire ancora con una tale alimentazione avrei potuto ottenere, sia pure dopo molto tempo, la metamorfosi completa degli animali, quello che è certo si è che, come ho detto, dopo i primi accenni non ho veduto più oltre progredire i fenomeni della metamorfosi, ciò che invece è stato evidente e rapido nell'esperimento fatto con tiroide.

Da che cosa possa dipendere questo arresto nella metamorfosi, non è facile a dirsi. L'ipotesi più semplice è che sia dovuto alla troppo scarsa quantità di embrionina che gli Axolotl hanno, per le ragioni suesposte, mangiata, ed a questo fa pensare anche il fatto che nell'esemplare più piccolo che, come è stato detto, ha certamente mangiata minore quantità di embrionina, i fenomeni della metamorfosi sono stati in complesso meno appariscenti che nell'esemplare più grande. Ma si potrebbe pure pensare a sostanze che agiscono in modo antagonistico ed influenti magari a vario tempo sulla metamorfosi, che l'embrionina contiene. E molte altre ipotesi si potrebbero fare; non credo però sia qui il caso di insistere e se mai l'argomento verrà trattato quando, avendo a disposizione maggior quantità di materiale, avrò occasione di riprendere gli esperimenti su più vasta scala.

L'esemplare più grande morì dopo circa 45 giorni.

All'esemplare più piccolo, dopo due mesi da che si trovava nelle condizioni stazionarie suddette, fu data nuovamente tiroide fresca di cavallo e l'animale ha ripreso allora a metamorfosarsi impiegando a compiere la metamorfosi 22 giorni, lo stesso tempo cioè di altri esemplari della medesima età alimentati con sola tiroide e che servivano di controllo.