Giovanni Battista Amici

Sulla fecondazione delle orchidee

Ottava Riunione degli Scienziati Italiani Genova 1846

Riunione del giorno 17 Settembre

Sezione di Botanica e Fisiologia vegetale Presieduta dal Cav. Prof. Antonio Bertoloni

Atti della Ottava Riunione degli Scienziati Italiani tenuta in Genova dal XIV al XXIX Settembre MDCCCXLVI Tipografia Ferrando Genova MDCCCXLVII (pp. 542-549)

Il cav. prof. Giambattista Amici legge la seguente sua memoria sulla fecondazione delle orchidee.

La fecondazione nelle piante fanerogame si compie essa nel modo che pretende Schleiden, cioè colla punta del budello pollinico, la quale penetra negl'integumenti dell'ovulo e respingendo la membrana del sacco embrionale vi forma un incavo per dimorarvi e convertirsi in appresso nel vero embrione?

Delle speciali ricerche che io feci sopra la zucca (*cucurbita pepo*) mi convinsero che in questa pianta la fecondazione si esegue in un modo ben differente. Alla riunione degli scienziati in Padova dimostrai che il budello pollinico s'interna nel collo o apice della mandorla fino ad una certa profondità; ma non giunge mai a penetrare nella vescichetta embrionale preesistente e visibile nella mandorla anche prima della introduzione dei budelli negli ovuli. Probabilmente per un assorbimento insensibile della membrana, che forma la vescichetta embrionale, l'umore prolifico condotto, o depositato dal budello in prossimità o fino alla sua superficie passa nell'interno a mescolarsi col fluido in essa contenuto e termina così l'atto della fecondazione. In fatti soltanto dopo la discesa de' budelli ed il versamento del loro umore al disopra della vescichetta embrionale questa acquista la facoltà vegetativa, che le mancherebbe totalmente e morirebbe se l'aura fecondatrice non l'irrorasse.

Lo sviluppo della vescichetta embrionale comincia a palesarsi nella base, cioè dalla parte opposta a quella dell'azione del budello, il quale a poco a poco si distrugge. Ogni traccia di lui è già perduta nel tempo che la vescichetta embrionale ingrossata moltiplica le sue cellule, le quali si dilatano maggiormente verso la base della mandorla, e in fine la raggiungono occupando tutta la cavità della medesima mandorla che gradatamente si apre per cedere loro il posto. La forma che la vescichetta embrionale prende nel successivo suo sviluppo è di sacco strozzato (il sacco embrionale), nella sommità del quale dopo molti giorni dall'epoca della fecondazione apparisce internamente un corpicciuolo verdastro, che è il vero embrione della nuova pianta.

Da tali fatti sempre costanti risulta che il budello pollinico non si trasforma in vescichetta germinativa, poiché questa vescichetta esiste già nell'ovulo non fecondato; e molto meno esso budello si trasforma in embrione poiché l'embrione nasce assai tempo dopo, cioè nasce quando la

vescichetta immensamente ampliata si è convertita in sacco embrionale. Inoltre il vero embrione si rende sensibile alla nostra vista assai tempo prima di avere acquistato la dimensione del diametro di un budello, per cui questo non può diventare quello.

Nella zucca io poteva dunque asserire essere erronea l'opinione di Schleiden e col microscopio alla mano, io era in grado di darne un'evidente dimostrazione. Appoggiandomi all'analogia io doveva persuadermi ancora che nelle altre piante, ove occorre l'azione del polline per fecondare gli ovuli, l'idea del botanico tedesco non era ammissibile. Ed in questo sentimento con più ragione io dovea mantenermi attesoché non aveva mai veduto, nelle numerose antecedenti mie ricerche sopra altre diverse piante, la punta del budello prendere sede nel sacco embrionale ove questo esistesse avanti la fecondazione, né tampoco la estremità di esso budello produrre la vescichetta germinativa.

Le mie osservazioni non comprendevano invero alcuna pianta delle famiglie dell'orchidee e delle asclepiadee. Ma io conosceva fino dal tempo della loro pubblicazione le memorie che intorno il modo di fecondazione di queste famiglie avevano scritto quasi contemporaneamente Adolfo Brongniart e Roberto Brown (1). Ciò bastava a farmi congetturare che niuna diversità notevole doveva qui esistere nell'atto della fecondazione, e che con una uniforme maniera l'importante funzione, come si eseguisce nelle altre piante fanerogame, si sarebbe eseguita in quelle da me non esaminate, in cui gli organi sessuali per la loro struttura particolare sembravano presentare una anomalia.

A rendere la mia congettura verità di fatto occorrevano ulteriori indagini microscopiche, e soprattutto bisognava escludere positivamente una difficoltà derivante da un'osservazione di Brown, sussistendo la quale il mio concetto avrebbe sofferto per lo meno un'eccezione.

L'illustre botanico di Londra nella citata memoria ammette che le sei corde di tubi esilissimi, che a una certa epoca appariscono nell'ovario delle orchidee, sono composte interamente di tubi pollinici provenienti dal canale dello stimma; e pensa non potersi dubitare che l'esistenza di questi tubi nella cavità dell'ovario non sia essenziale alla fecondazione, rimanendo solo indeterminata la loro maniera di operare, o se essi si mettano in contatto con gli ovuli. Quindi soggiunge: "Io so che il prof. Amici, il quale scoprì in diverse piante il notevole fatto della penetrazione de' tubi pollinici nella cavità dell'ovario e che riguarda questa economia come assai generale, crede parimente che in tutti i casi un tubo pollinico arriva al contatto di un ovulo. Ma in questo importante punto non mi considero tanto avanzato quanto quell'osservatore".

Sette mesi dopo l'autore medesimo lesse alla società linneana una nota supplementaria riguardante il modo di fecondazione delle sole orchidee, nella quale annunciò d'aver veduto nell'*orchis morio* l'introduzione di uno e qualche volta più di uno di quei tubi nel foro dell'ovulo corrispondente al posto della radichetta del futuro embrione, ma cambiando opinione sulla origine de' tubi stessi, gli parve di potere stabilire che essi tubi non vengono dirittamente mandati fuori dai grani del polline, ma apparentemente sono generati da questi.

Ora, se un tale fatto fosse stato incontrovertibile, è manifesto che la teoria della trasformazione della punta del tubo pollinico in embrione sarebbe caduta dai fondamenti; ed io pure avrei avuto torto di ritenere per legge generale l'allungamento del budello fino a penetrare negli integumenti dell'ovulo.

Questo punto meritava dunque di esser messo in chiaro ed io, sebbene invogliato di occuparmene, non ebbi mai il comodo né l'opportunità di farlo. Ma, poiché il prof. Gasparini al Congresso scientifico di Napoli ha messo in campo un caso simile nel *cytinus hypocistis* (2), ciò ha risvegliato in me l'antico desiderio d'istruirmi su tale singolarità, e nella primavera del presente anno ho cominciato un minuto esame degli organi della fruttificazione delle orchidee. Per questo studio io mi confermai nella prima opinione di Brown, cioè che le corde de' tubi discese nell'ovario sono composte di fasci di tubi o budelli pollinici. In oltre ho potuto determinare il preciso stato dell'ovulo prima dell'arrivo del budello: poi come questo penetra negli integumenti e si comporta rispetto alla

⁽¹⁾ Annales des sciences naturelles. Paris 1831. – Trans. Of the linnean society vol. XVI. London 1831. 1832.

⁽²⁾ Giornale botanico italiano, Anno 2°, parte prima, p. 8, Firenze 1846.

vescichetta embrionale; in fine ho conosciuto gli immediati cangiamenti dell'ovulo che conseguono all'introduzione del budello stesso. Le quali cose, venendo in appoggio alle antecedenti mie osservazioni ed escludendo l'idea della germinazione dell'estremità de' budelli pollinici, ho creduto che sieno abbastanza interessanti per formare il soggetto della presente mia comunicazione. Ma avanti di entrare in questa materia dirò le ragioni per cui mi sono attenuto all'opinione che le sei corde di tubi discendenti nell'ovario sono formate di tubi pollinici prolungati.

Il dott. Brown dichiara infatti che le sue osservazioni sull'origine di queste corde da lui chiamate *mucose* non sono intieramente soddisfacenti, e che la loro formazione rimane sempre nell'oscurità. Egli nota in quanto all'origine 1.° che quei tubi si fanno visibili *poco dopo (soon but not immediately)* l'uscita de' tubi pollinici dai grani della massa applicata allo stimma. 2.° che la loro prima apparizione ha luogo nel tessuto dello stimma in vicinanza immediata de' tubi pollinici, dai quali non distinguonsi se non che per certi coaguli della materia che interrompe la loro cavità interna; coaguli che non esistono nei tubi attualmente aderenti ai loro grani. Quindi, in quanto al progresso dei tubi mucosi, soggiunge che subito dopo il primo periodo di loro produzione nello stimma ove più o meno sono mescolati col tessuto proprio di lui (il tessuto conduttore) passano nello stilo, da principio in piccolo numero, ma gradatamente crescendo formano una corda mucosa di considerabile grandezza, la quale qualche volta impiegando diversi giorni si presenta nell'ovario suddividendosi, ed estendendosi per tutta la lunghezza delle placente.

Chiunque impertanto si faccia a considerare attentamente l'accennata descrizione non potrà disconvenire che l'apparizione de' tubi nello stimma, la successiva riunione de' medesimi in un fascio lungo lo stilo, e la loro diramazione nell'ovario, non sia il regolare ed analogo procedere dei tubi pollinici nelle altre famiglie di fanerogame.

Nelle orchidee non si trattava dunque che di riconoscere l'identità de' tubi pollinici, attaccati ai loro grani ed entrati nella superficie dello stimma, con quegli altri tubi supposti d'origine diversa formati subito dopo nella immediata vicinanza dei tubi pollinici medesimi: identità che ho verificata più volte schiacciando fra due vetri lo stimma, ed osservando che gli uni non sono che il prolungamento degli altri. Mi sono anche reso conto della piccola differenza dei coaguli, sul quale minuto carattere si congetturava una diversità di specie nei tubi: e parmi d'averne rinvenuta la cagione nel graduato e lento appassirsi degli strati dello stimma e dello stilo dopo l'azione del polline, per cui restando via via interrotta la comunicazione colle parti superiori succedono nei tubi i coaguli a guisa di diaframma: e rimangono privi nel loro interno della materia granulosa ossia, dell'umore prolifico, perché esso si trasporta sempre verso l'estremità inferiore de' medesimi (figura 1.ª).

Brown deduceva ancora da un'altra sua osservazione l'opinione che le corde mucose non erano corde di tubi pollinici. Egli aveva veduto che una piccolissima parte della massa pollinica applicata allo stimma era sufficiente alla produzione nell'ovario delle corde mucose di ordinaria grandezza: e nella *bonatea speciosa* era riuscito con una sola massa a fecondare molti fiori della spica.

A questo delicato esperimento, che io non ho ripetuto, contrappongo il fatto dell'enorme numero di grani di polline contenuto nelle masse delle orchidee per cui una apparente minima porzione di esso può dare nascimento ad una grande quantità di budelli. Nell'orchis morio le due principali masse polliniche somiglianti a una clava contengono per ciascuna non meno di duecento masse secondarie della forma di un seme di girasole. Ogni massa secondaria (che stritolata si separa in grani uniti a quattro a quattro) ha più di trecento aperture capaci di mandar fuori un budello: per conseguenza il numero totale dei budelli che le masse possono produrre non è al disotto di centoventi mila. Non mi meraviglio dunque se una piccola porzione dell'organo maschile basta alla formazione delle corde mucose e a fecondare parecchi fiori. Il polline dell'orchis abortiva non è meno abbondante. All'epoca della maturità si separa tutto in grani semplici sferici, di numero prodigioso. Quella piccola quantità che può restare attaccata alla punta bagnata di uno spillo contiene parecchie migliaia di grani che hanno un doppio inviluppo; l'esterno reticolato, l'interno liscio ed è la membrana del budello, la quale si fa strada all'uscita gonfiandosi e respingendo la membrana esterna sempre in quell'areola ove il reticolato apparisce meno pronunziato. La facoltà

espansiva della membrana anche colla azione dell'acqua pura l'ho trovata qui assai permanente, imperocché due mesi dopo la raccolta del polline ho potuto produrre i budelli; e colla compressione separare la membrana esterna reticolata dall'interna liscia uscita senza lacerazione colla sua appendice tubolosa. In questa specie di orchidee con maggiore facilità si tiene dietro al corso de' budelli lungo il tessuto conduttore dell'organo femmineo, e si resta persuasi che le corde mucose altro non sono che il prolungamento de' tubi pollinici.

Intanto, lasciando questo argomento intorno a cui penso d'aver detto abbastanza, passo a parlare dell'ovulo. Io non mi fermerò a indicare se esso abbia origine da una papilla o da una cellula unica, né come a poco a poco si piega per presentare al momento della fecondazione il micropilo verso quella parte ove la comunicazione collo stimma si presume resa più facile. Avanzati come ora siamo nella cognizione della via che l'aura fecondatrice costantemente percorre per giungere all'ovario, il sapere ove siano rivolte le aperture degli integumenti non ha più quell'interesse come anni sono lo aveva, imperocché adesso conosciamo che vi sono dei casi nei quali gli apici degli ovuli sono diretti verso il mezzo della cavità dell'ovario e stanno diametralmente opposti ai loro funicoli ombilicali, nondimeno ricevono la fecondazione da dei filamenti natanti nella cavità del medesimo ovario. Brongniart ne ha dato un esempio nell'*helianthemum niloticum* ed *aegyptiacum*, senza accorgersi per altro che quei filamenti natanti o aerei sono tubi pollinici. Ed io ho veduto un caso simile di budelli fluttuanti nell'ovario senza tessuto conduttore nella cresta gialla (*amaranthus cristatus*).

Le mie prime ricerche sulle orchidee le ho fatte nell'orchis morio. All'epoca dell'apertura del fiore l'ovulo è già sviluppato in maniera da riconoscervi il testa, il tegmen, e la mandorla, ossia la primina, la secondina ed il nucleo (figura 2) il quale consta di un grande utricolo centrale coperto da uno strato di piccole cellule. La sua figura somiglia a quella di una ghianda, e gli integumenti a quella della cupula.

Susseguentemente a questo stato, lo strato, o vogliamo dire la membrana cellulare che lo vestiva si apre a guisa di tulipano (*figura* 3) ed il nucleo costituito da un semplice utricolo rimane del tutto scoperto lasciando apparire nel suo interno alla sommità un fluido granuloso ivi raccolto. Sembrerebbe ora che la nudità del nucleo annunziasse il momento più favorevole per compiersi la fecondazione, ma ne siamo anche lontani.

Il fiore ha già cominciato a declinare che un'ulteriore trasformazione è sopraggiunta nell'ovulo, il testa ed il tegmen si sono ampliati (*figura* 4). Il tegmen esce ancora fuori del testa, ma il nucleo è ricoperto da ambidue senza che la dimensione di lui sensibilmente si sia aumentata. Soltanto quell'umore granuloso, che precedentemente era raccolto nella sua sommità, si è ora convertito in una cellula che è la vescichetta embrionale riempita essa pure di un simile umore.

Segue un altro periodo all'appassimento del fiore. Lo stimma (o gli stimmi essendo tripli) resosi fradicio mostra d'aver terminata la sua esistenza. La massa del polline ha già su di esso operato. I budelli pollinici, attraversato il tessuto di lui e quello dello stilo, si sono prolungati nell'ovario notabilmente ingrandito. L'ovulo pure ha subito un'altra trasformazione. Il tegmen non esce più dal testa, esso è compreso nel mezzo di questo. Il nucleo è rimasto al suo posto rispetto al tegmen che lo racchiudeva, e la vescichetta embrionale sempre aderente al vertice del nucleo mostra alla sua base raccolto quell'umore granuloso che precedentemente era sparso in tutta la sua cavità (figura 5 e 6). Questa è la vera fase dell'ovulo preparato a ricevere l'influenza del polline. Il budello entra per l'apertura del testa ed il suo corso nell'interno del primo integumento è altrettanto visibile come se non fosse coperto da alcun tessuto. Il suo tragitto per il canale del tegmen non è sempre del pari manifesto, imperocché sia per un restringimento reale del condotto, o per una ottica apparenza prodotta dalla forma quasi cilindrica delle cellule del tegmen che lo circoscrivono il diametro del budello sembra assai diminuito. Non si può per altro mettere in dubbio il suo prolungamento quando nel modo più chiaro la sua punta si presenta in vista uscita dallo stretto canale del tegmen ed entrata nella cavità del nucleo. Respinge essa la vescichetta embrionale preesistente per entrare nella sua cavità? No, assolutamente no. La punta del budello si limita a toccare esternamente e lateralmente la parte superiore della vescichetta embrionale, alla quale resta aderente finché essa punta si distrugge e sparisce. Usando un buon microscopio amplificante non meno di quattrocento volte il diametro, con largo cono di luce, non si può prendere equivoco. La punta del budello riempiuto di un umore granuloso verdognolo fa un contrasto sensibile con la vescichetta embrionale; la quale nella parte superiore ove il budello la tocca è piena di un fluido limpido, e nella parte inferiore, a cui il budello mai non giunge, contiene un fluido granuloso bianco.

Questo fatto è talmente costante e pronunziato che a colpo d'occhio posso giudicare se l'ovulo è stato o no fecondato. Ogni qualvolta la vescichetta si presenta con la descritta appendice pollinica sono certo di trovare il budello entrato negli integumenti, mentre al contrario non lo trovo se manca l'appendice indicata. E siccome in uno stesso ovario esistono moltissimi ovuli più o meno avanzati nella fase idonea alla fecondazione, un solo sguardo dato al contorno della loro vescichetta embrionale offre il criterio onde conoscere se il momento dell'azione del polline debba ancora arrivare, o se è arrivato di recente. Per sapere poi se l'azione è passata da qualche tempo occorre che io descriva i cambiamenti che succedono ai menzionati.

Ho già avvertito che la vescichetta embrionale contiene nella sua base, ove non giunge mai la punta del budello, un fluido granuloso bianco. Questo fluido dopo la fecondazione si addensa ed apparisce ad evidenza compreso in una nuova cellula, la quale poco dopo si suddivide in altre riempiute di grani, e poscia in un maggiore numero si moltiplica formando in tal modo l'embrione che va ad occupare col tempo tutta la cavità del nucleo. In questo mentre l'altra porzione della vescichetta embrionale cioè la sua parte superiore che fu toccata dal budello si prolunga all'insù suddividendosi anche essa in cellule, ma limpide poste, l'una a capo dell'altra e costituenti un grosso filamento conferviforme, il quale percorrendo in senso inverso la strada seguita dal budello allarga e trapassa le aperture del tegmen e del testa prolungandosi fino anche nell'interno della placenta come l'ho veduto nell'orchis mascula (figura 9).

Intanto cosa accade al budello durante il presente periodo? Ordinariamente perisce, ma qualche volta si vede colla sua punta rimasta in posto anche dopo che l'embrione ha moltiplicato le sue cellule. Nell'*orchis abortiva* non è raro vederlo nel detto stato (*figura* 10) ed in un caso l'ho pure osservato sussistere ancora fino a quando il corpo riproduttore aveva riempiuta tutta la cavità del nucleo (*figura* 11).

L'orchis abortiva si presta più favorevolmente dell'orchis morio ad alcune osservazioni e particolarmente a quella della introduzione del budello nell'apertura del tegmen. Imperocché in questa specie la fase dell'ovulo nel momento della fecondazione è tale che il testa non copre che la metà inferiore del tegmen e del nucleo (figura 12).

L'orchis maculata mi è sembrata meno idonea alle osservazioni di quello che lo sia l'orchis morio, quantunque io abbia prove che i fenomeni succedono nella stessa guisa in ambidue (figura 13).

Io suppongo che l'*orchis pyramidalis* debba offerire un facile campo alle indagini microscopiche delle quali si tratta, imperocché l'ovulo mi è sembrato di una straordinaria trasparenza, ma io non ho potuto seguire l'intero suo sviluppo non avendo raccolto che tardi un solo individuo fiorito.

Se mi si domanda adesso in che consista l'azione del budello per fecondare l'ovulo, rispondo senza esitare che io non lo so. È probabile, ma non dimostrabile, che l'umore sottile di esso si trasfonda attraverso le membrane nell'interno della vescichetta embrionale, e che la miscela de' due fluidi degli organi maschile e femminino costituisca il materiale capace di organizzarsi. È possibile ancora che la facoltà generativa risieda nella membrana della vescichetta embrionale e che per metterla in azione occorra il succhiamento dell'umore proveniente dal polline. Si potrebbero concepire altre interpretazioni del fenomeno, ma non è mio scopo l'entrare in tali speculazioni vagando in un campo di supposizioni. Aggiungerò solo il fatto che nelle numerosissime mie investigazioni non mi è accaduto mai di trovare più di una punta del tubo pollinico entrata nel nucleo, bensì più volte ho vedute due vescichette embrionali, e quindi due embrioni fecondati da un solo budello (figura 14 e figura 15).

Nel porre termine a questo mio scritto mi sia concesso di riferire le seguenti parole dell'opera di Brown.

"Io avventuro di aggiungere, egli dice, che nell'investigare l'oscuro soggetto della generazione, probabilmente si otterrà una maggior luce da un ulteriore minuto e paziente esame della struttura ed azione degli organi sessuali delle asclepiadee e delle orchidee, di quella che possa ricavarsi da qualunque altro dipartimento del regno vegetabile o animale" e poscia conclude:

"I principali punti che rimangono da esaminarsi sono il preciso stato dell'ovulo al momento del suo contatto con il tubo, e l'immediato cangiamento conseguente a quel contatto".

Giudicherete, o signori, se per confermare la conghiettura del sommo botanico inglese io abbia somministrato un sufficiente contributo. In ogni modo, avendo completate le osservazioni su quei punti che egli lasciava ancora intatti, credo di avere risoluto il problema che mi era proposto, cioè di dimostrare che anche nelle orchidee la punta del budello non si converte in embrione.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE CON NOTE

I contorni sono stati eseguiti colla camera lucida applicata al microscopio trascurando di segnare tutte quelle particolarità del tessuto che non hanno rapporto col soggetto della memoria.

(Le figure 9, 11 e 13 sono ingrandite 155 volte in diametro: tutte le altre sono ingrandite 260 volte).

ORCHIS MORIO

- Fig.^a 1.^a A. Estremità inferiore dei budelli che dallo stilo passano all'ovario. B. Tessuto conduttore.
- Fig. ^a 2. ^a Ovulo molto prima della fecondazione. *A*. Testa. *B*. Tegmen. *C*. Nucleo coperto da uno strato di cellule.
- Fig.^a 3.^a Ovulo più avanzato del precedente. *A*. Testa. *B*. Tegmen. *C*. Strato celluloso che copriva il nucleo apertosi come un tulipano ordinariamente in quattro parti. *D*. Nucleo rimasto scoperto, composto di un solo utricolo con umore granuloso raccolto nella sommità.
- Fig. ^a 4. ^a Ovulo più avanzato del precedente ma sempre avanti la fecondazione. *A*. Testa col funicolo ombilicale, mai vascoloso, che nelle figure precedenti è stato omesso, e che si ometterà parimenti nelle figure seguenti. *B*. Tegmen ancora fuori del testa. *C*. Nucleo rinchiuso dal tegmen e dal testa. *E*. Vescichetta embrionale piena di umore granuloso.
- Fig.^a 5.^a Ovulo al momento della fecondazione. *A*. Cavità del testa per lo più piena d'aria. *B*. Tegmen tutto rinchiuso dal testa. *C*. Nucleo. *E*. Vescichetta embrionale con umore granuloso raccolto da basso. *F*. Punta del budello pollinico entrato nel nucleo e posto a contatto esterno con la vescichetta embrionale. *G*. Budello pollinico.
- Fig. a 6. a Ovulo simile al precedente, ma alcun poco più avanzato. L'umore E più adulto comincia a mostrare la divisione in due parti della vescichetta embrionale: delle quali parti l'inferiore (cui non arriva la punta del budello F) è quella che forma l'embrione.
- Fig. ^a 7. ^a Ovulo più avanzato del precedente. *A*. Testa le cui cellule hanno cambiato le pareti liscie in pareti ondulate. *B*. Tegmen. *C*. Embrione che ha moltiplicate le sue cellule. *D*. Parte superiore della vescichetta embrionale che si trasforma in un filamento, o funicolo, finora tutto compreso nel nucleo.
- Fig. ^a 8. ^a Ovulo più avanzato del precedente. *A*. Testa del quale si indica soltanto il contorno. La membrana delle sue cellule comparisce striata obliquamente e nell'aspetto somiglia a falsa trachea. *B*. Tegmen. *C*. Embrione che occupa tutta la cavità del nucleo. *D*. Filamento conferviforme trasparente uscito dal canale del tegmen e prolungatosi nel canale del testa.

Nell'ovulo maturo l'embrione o grano riproduttore rimane attaccato al suo filamento superiore disseccato. Se si bagna con dello spirito di vino esso grano, di opaco che era, diventa trasparente e mostra la sua composizione cellulare piena di grani bianchi. Tutte le cellule del testa ridotto a membrana sottile si coloriscono in bruno giallo collo spirito di vino.

Al momento della fecondazione il fiore è già appassito, come pure lo stimma e lo stilo, e non possono più servire di criterio per giudicare della fase dell'ovulo nelle epoche seguenti. Io trovo che la durezza dell'ovario che sempre si aumenta è un mezzo facile per conoscere lo stato

interno dell'ovulo. Stringendo fra le dita un ovario senza staccarlo, dalla sua elasticità sono quasi sicuro di predire la vera fase dell'ovulo, e posso lasciar passare de' giorni fino a tanto che acquisti quel grado di maturità che mi occorre di esaminare.

- Fig. ^a 9. ^a Ovulo di *Orchis mascula*? A. Testa. B. Tegmen. C. Embrione. E. Filamento conferviforme che esce dai canali del tegmen, e del testa, e s'insinua entro la placenta.
- Fig. ^a 10. ^a Ovulo di *Orchis abortiva*. *A*. Tegmen estratto dal testa. *B*. Nucleo. *C*. Embrione che ha duplicata la sua cellula. *D*. Punta del budello entrata nel nucleo e postasi in contatto con la cellula superiore della vescichetta embrionale.
- Fig.^a 11.^a Ovulo di *Orchis abortiva* più avanzato del precedente. *A*. Testa. *B*. Tegmen. *C*. Cavità del nucleo. *D*. Embrione, quasi maturo. *E*. Budello entrato nella cavità del nucleo e rimasto in posto colla sua punta.

A questa epoca di maturità avanzata la potassa caustica colora in giallo chiaro distinto l'embrione ed il tegmen, il testa resta bianco.

- Fig. 12. Ovulo di *Orchis abortiva* al momento della fecondazione. *A*. Testa. *B*. Tegmen. *C*. Nucleo. *D*. Vescichetta embrionale nella parte che diventa embrione. *E*. Parte superiore trasparente della detta vescichetta. *F*. Punta del budello che la tocca.
- Fig. ^a 13. ^a Ovulo dell'*Orchis maculata* nell'epoca della fecondazione. *A*. Testa. *B*. Tegmen. *C*. Nucleo. *D*. Vescichetta embrionale. *E*. Punta del budello entrata nel nucleo. *F*. Budello disceso nel canale del testa. Le cellule del testa, quando l'ovulo è avanzato, sono striate orizzontalmente con linee molto distanti fra loro.
- Fig. ^a 14. ^a Ovulo dell'*Orchis morio*. *B*. Tegmen, non essendosi per semplicità disegnato il testa. *C*. Due vescichette embrionali nelle quali le parti inferiori mostrano l'embrione cominciato a svolgersi. *D*. Punta del budello che tocca le due cellule superiori della vescichetta embrionale.
- Fig. ^a 15. ^a Ovulo dell'*Orchis morio* contenente due embrioni più sviluppati dei precedenti. Anche qui non si è indicato che il solo tegmen privo del suo testa.