

21. Leo RIVOSECCHI. — Osservazioni preliminari sull'inseminazione in *Musca domestica* (*).

Riassunto. — L'A. ha osservato che interrompendo al momento opportuno la copula in *M. domestica* si può trovare all'interno delle vescicole couplative (tasche laterali della vagina) abbondante sperma mobile; ritiene perciò che l'inseminazione in *M. domestica* non si effettui (come suppone GRAHAM SMITH) mediante la diretta introduzione dello sperma nelle spermateche.

Résumé. — L'auteur a observé que si l'on interrompt au moment juste la copulation chez la *Musca domestica*, on peut trouver à l'intérieur des vésicules copulatives (poches latérales du vagin) du sperme mobile abondant. L'auteur pense donc que l'insémination chez la *M. domestica* n'ait pas lieu (comme le suppose GRAHAM SMITH) par moyen d'une introduction directe du sperme dans les spermathèques.

Summary. — The author has observed that by interrupting copulation in *M. domestica* at a suitable moment it was possible to find numerous motile spermatozoa within the copulatory vesicles (lateral vaginal pouches); this leads him to suppose that insemination in *M. domestica* is not carried out (as GRAHAM SMITH believed) by the direct introduction of sperm within the spermathecae.

Zusammenfassung. — Der Autor hat beobachtet, dass wenn man im geeigneten Augenblick die Begattung unterbricht, man im Inneren Seitentasche der Scheide reichlichen beweglichen Samen finden kann; der Autor glaubt deshalb, dass die Insemination der *Musca domestica* nicht (wie GRAHAM SMITH vermutet) mittels der direkten Einführung der Samen in die Spermathecae.

INSEMINAZIONE IN *CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA*.

L'esistenza di tasche laterali nella porzione distale dell'ovidutto (sacco utero-vaginale) e il loro rigonfiamento durante la copula fu osser-

(*) La presente nota è stata letta in occasione del 28° Congresso dell'Unione Zoologica Italiana.

vato la prima volta da A. BERLESE ⁽¹⁾ nel ben noto lavoro sull'accoppiamento della mosca domestica. Ne fa brevemente cenno anche HEWITT ⁽²⁾ proponendo di chiamare tali tasche vescicole copulative accessorie. Le osservazioni di BERLESE sono state riprese in esame da GRAHAM-SMITH ⁽³⁾ in *C. erythrocephala* e nella stessa *M. domestica*. Secondo questo A. vi sarebbero durante la copula due distinte secrezioni non simultanee: una proveniente dalle glandole accessorie (in *C. erythrocephala*) o dall'epitelio glandolare del canale eiaculatore (in *M. domestica*) che andrebbe a rigonfiare le vescicole copulative dell'ovidutto e precederebbe di alcuni istanti una seconda secrezione proveniente dai testicoli; quest'ultima, costituita dagli spermatozoi, senza mescolarsi con la prima o mescolandosi solo in minima parte, raggiungerebbe direttamente le spermateche. Quest'ultima ipotesi dell'A. è basata principalmente su tre osservazioni:

1) Il secreto delle ghiandole accessorie passa nel bulbo eiaculatorio del maschio prima degli spermi.

2) Esaminando il contenuto delle vescicole copulative di una femmina in copula non vi trovano spermi ma un fluido jalino debolmente granulare di aspetto simile al secreto delle ghiandole accessorie, mentre esaminando le spermateche si trovano piene di spermi.

3) La sezione istologica di due mosche in copula fatta da BERLESE e le osservazioni dirette dell'A. in *C. erythrocephala* mostrano l'apertura del pene applicata all'orifizio del canalicolo spermatico, per cui lo sperma uscendo dal pene andrebbe direttamente alle spermateche. (Vedi fig. 1).

Se in *M. domestica* l'inseminazione si svolgesse come suggerisce l'A. per *C. erythrocephala* si avrebbe una introduzione diretta dello sperma nella spermateca (*) cioè una modalità di trasmissione dello sperma piuttosto diversa da quella osservata in altri Ditteri (**) in cui lo sperma viene prima versato nella vagina e solo successivamente assorbito nei ricettacoli seminali e nelle spermateche.

(*) Un tipico esempio di introduzione diretta dello sperma nelle spermateche è quello descritto da CRAG F. ⁽⁴⁾ in *Cimex lectularius* in cui però l'estremità del pene non rimane applicata allo sbocco del canalicolo delle spermateche come in *M. domestica*, ma si introduce dentro lo stesso canalicolo giungendo sin dentro la spermateca vera e propria.

(**) Confronta NONINDEZ J. F. ⁽⁵⁾ e PATTERSON J. T. ⁽⁶⁾ in *Drosophila*.

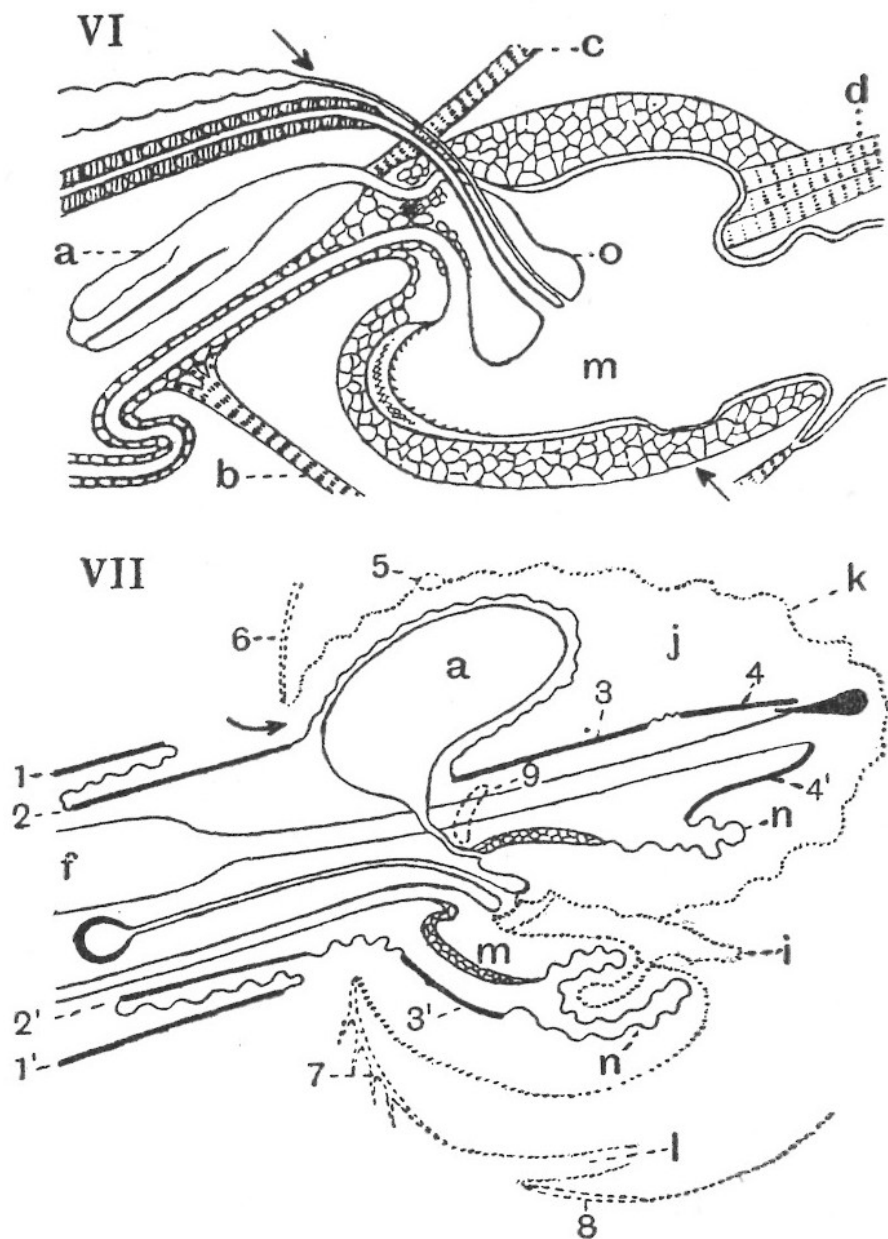


Fig. 1. - Inseminazione in *M. domestica* secondo GRAHAM SMITH

VI - Sezione di vagina: la cavità vaginale (m) è in comunicazione dorsalmente la tubercolo genitale (o), con la vescicola copulativa (a) mediante un canalicolo su cui si inserisce il muscolo c.

VII - Sezione degli organi riproduttivi dei due sessi in copula. (la linea tratteggiata indica gli organi maschili). Si osserva che l'apertura del pene (i) è posta di fronte a quella del dotto della spermateca, mentre la vescicola copulativa (a) è gonfia di secreto.

In VI e VII: a = vescicola copulativa, b-c-d = muscoli estrinseci dell'ovidutto, f = retto, i = pene, m = cavità vaginale, n = membrana intersegmentale, o = tubercolo genitale, j = atrio genitale, k = membrana dell'atrio; 1-2-3-4 = tergiti, 1'-2'-3'-4' = sterniti dell'ovopositore, 6-7-8 = scleriti dell'ipopigio maschile, 9 = punto di pressione dei forcipi.

INSEMINAZIONE IN DROSOPHILA.

Oltre le osservazioni di GRAHAM-SMITH in *C. erythrocephala* e in *M. domestica* desidero qui ricordare gli studi di PATTERSON ⁽⁶⁾, NONINDEZ ⁽⁵⁾, WHEELER ⁽⁷⁾ e YING-LEE ⁽³⁾ nel genere *Drosophila*.

Esaminando la vagina di una *Drosophila* di cui si sia interrotta la copula con un maschio della stessa specie, la si trova il più delle volte molto rigonfia (2 o 3 volte le dimensioni normali) piena di un gran numero di granuli di secreto rifrangenti i quali conflueno tra loro formano una massa compatta vischiosa che blocca gli spermatozoi nella vagina. WHEELER ⁽⁷⁾ ha studiato tale processo in 78 specie di *Drosophilidae* distinguendole in tre gruppi: con forte reazione di inseminazione (reazione di massa), con reazione moderata, senza reazione, con varie forme intermedie. Alcune delle specie di quest'ultimo gruppo (*D. repleta*, *guarani*, *cardini*) sono particolarmente interessanti per la notevole somiglianza con quanto si osserva nelle vescicole copulative della mosca, infatti presentano un rigonfiamento della vagina (*) non accompagnato da reazione di massa e all'interno della vagina rigonfia si trova semplicemente un liquido ialino debolmente granulare e spermatozoi mobili che non rimangono bloccati nella vagina ma affluiscono rapidamente alle spermateche e ai ricettacoli seminali. Lo stesso A. ha osservato che esiste uno stretto rapporto tra intensità della reazione di inseminazione e fertilità delle uova; se lo sperma rimane lungamente bloccato nella vagina da una reazione di massa piuttosto forte le uova deposte sono tutte fertili, se lo sperma passa rapidamente alle spermateche si ha una elevata percentuale di uova sterili. La prolungata mescolanza dello sperma con le secrezioni delle ghiandole accessorie e dell'epitelio vaginale, giova quindi in qualche modo al meccanismo fecondativo.

Circa le cause che in *Drosophila* determinano il rigonfiamento della vagina, contrariamente all'opinione di NONINDEZ ⁽⁵⁾ il quale lo riteneva dovuto alla semplice pressione meccanica del secreto delle ghiandole accessorie PATTERSON ⁽⁶⁾ ha supposto che il secreto provenisse dallo stesso epitelio vaginale nel quale si verifica una specie di reazione anafilattica di fronte a qualche sostanza proteica contenuta nell'eiaculato. Lo stesso PATTERSON ⁽⁶⁾ ha inoltre dimostrato che tale sostanza non è legata allo sperma poichè la stessa reazione si ottiene anche con maschi sterili privi di spermatozoi.

Il problema è stato poi risolto da YING-LEE ⁽⁸⁾ il quale ha inoculato

(*) Pur non volendo stabilire alcuna omologia è interessante notare che tale rigonfiamento si effettua solo nella porzione anteriore della vagina di *Drosophila* in una zona che corrisponde a quella in cui sono situate le vescicole copulative.

estratti di testicolo in una femmina vergine di *D. gibberosa* riproducendo lo stesso effetto (reazione di massa) che nella copula normale, cosa che non avviene invece con estratti di ghiandole accessorie. L'A. ne deduce che la reazione è determinata da una sostanza proteica proveniente dai testicoli ma non legata agli spermatozoi; egli ammette che al rigonfiamento della vagina contribuiscono tre fattori: 1) pressione meccanica dell'eiaculato; 2) pressione osmotica; 3) secrezione dell'epitelio vaginale, costituita da una mescolanza di spermatozoi e secreto delle ghiandole accessorie maschili.

INSEMINAZIONE IN *M. DOMESTICA*.

Se si esaminano i genitali interni maschili (vedi fig. 2) si nota anzitutto l'assenza delle ghiandole accessorie e la notevole lunghezza del tubo eiaculatore. P. E. KEUCHENIUS ⁽⁹⁾ in uno studio comparativo sui genitali interni maschili dei Ditteri ha messo in evidenza che ogni qual volta mancano le ghiandole accessorie il canale eiaculatore si allunga e l'epitelio si trasforma in epitelio glandolare, il che fa supporre che il secreto di tale epitelio sia analogo a quello prodotto dalle ghiandole accessorie dei Ditteri che ne sono provvisti. Ma lo stesso A. fa notare che in *Musca* non si riesce a mettere in evidenza alcun secreto nel canale eiaculatore. In *C. erythrocephala* e in *Drosophila* si mettono invece facilmente in evidenza dei granuli di secreto sia nel lume delle ghiandole accessorie maschili sia nella vagina di femmine in copula. Anche GRAHAM-SMITH ha osservato che il lume del canale eiaculatore di *M. domestica* è sempre vuoto e suppone quindi che la secrezione avvenga solo nel momento della copula.

Ho condotto molte sezioni del canale eiaculatore di *M. domestica* interrompendo la copula al suo inizio, ma anche in questo caso il lume del canale eiaculatore appare vuoto, è quindi probabile che pur esistendo una secrezione questa non sia colorabile con ematossilina come invece avviene in altri Ditteri per il secreto delle ghiandole accessorie, ciò risulta anche dall'esame della sezione del canale rappresentata alla fig. 2 (A, B, C) ove si osservano numerose goccioline di secreto non colorabile nella zona di confine tra porzione scura e porzione chiara del protoplasma cellulare. La larga zona chiara della sezione che può sembrare vuota è invece determinata dal confluire delle goccioline di secreto. Si osserva inoltre tra l'intima e le cellule un piccolo spazio occupato dalla secrezione.

Se si interrompe la copula in *M. domestica* e si osserva l'ovopositore lo si trova gonfio dorsalmente all'altezza della membrana interseg-

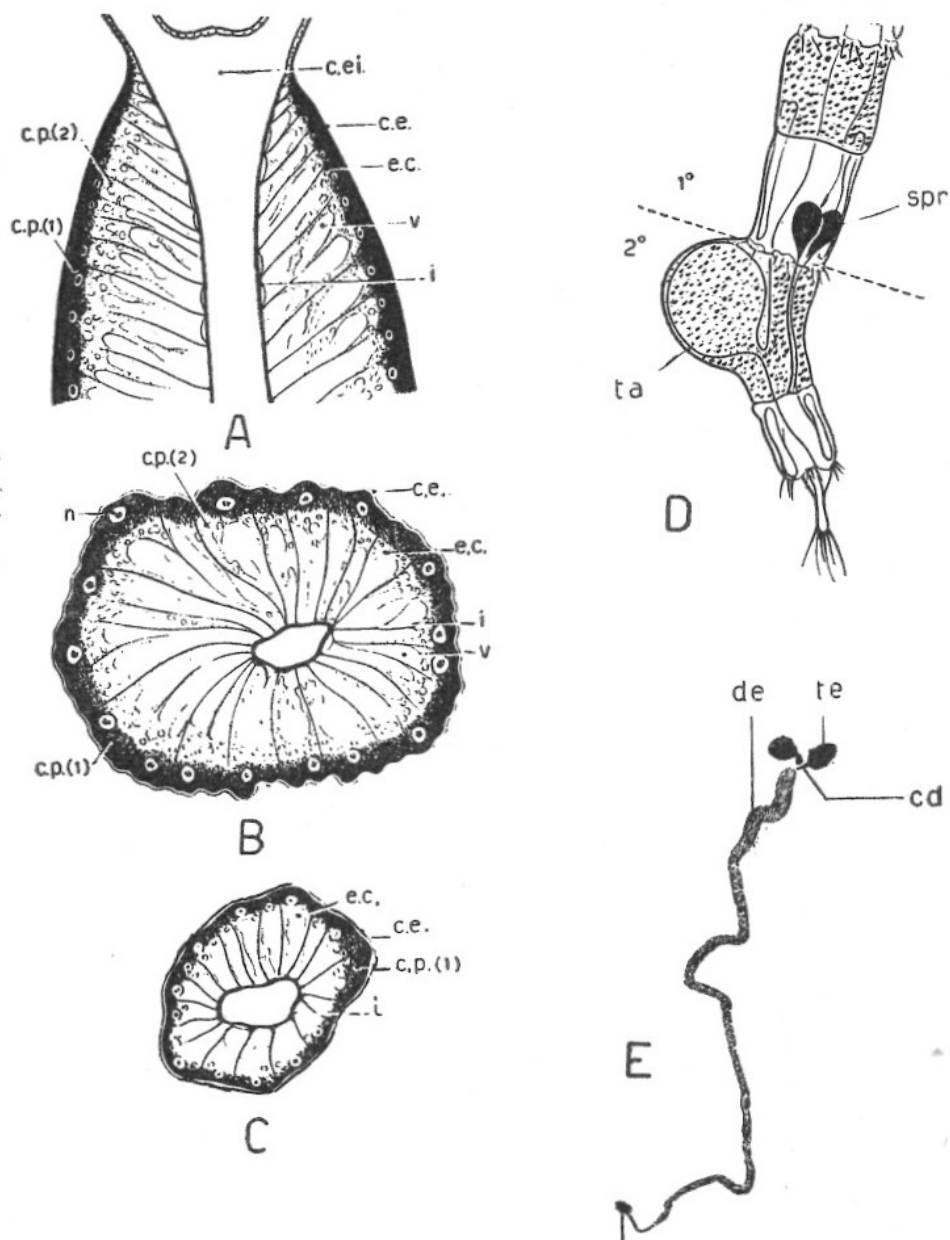


Fig. 2. - Rigonfiamento delle vescicole copulative ad opera di un secreto proveniente dal canale eiaculatore maschile

A - Sezione longitudinale del canale eiaculatore nel punto in cui vi si immettono i due deferenti

B - Sezione trasversale del canale all'inizio del percorso

C - Sezione trasversale del canale verso la metà del percorso.

In A, B, C, si osserva il citoplasma dell'epitelio colonnare (ec) diviso in due porzioni, una fortemente colorabile con ematosilina (cp₁) e una meno colorabile (cp₂) nella quale si formano goccioline di secreto che confluiscono nei vacuoli (v).

D - Ovipositore di una femmina di cui si è interrotta la copula (Le vescicole copulative (ta) sono gonfie di secreto)

E - Genitali interni maschili di *M. domestica* (colorazione in toto con carminio).

In A, B, C, D, E: c.d. = canali deferenti, c.e. = capsula esterna, c.ei = lume del dotto eiaculatore, cp₁, cp₂ = porzioni diversamente colorabili dell'epitelio glandolare, de = dotto deferente, ec = epitelio glandolare, i = intima, spr = spermateche, ta = vescicole copulative, te = testicoli.

mentale compresa tra 7° e 8° urite (vedi fig. 2). Rompendo delicatamente tale membrana intersegmentale e tagliando i muscoli estrinseci dell'ovidutto si può estrarre l'ovidutto stesso con le vescicole rigonfie senza che si versi il liquido in esse contenuto (*) (vedi fig. 3-A). Esaminando poi il contenuto delle vescicole si possono osservare due diverse condizioni: 1) *assenza di sperma* (è questa l'unica condizione osservata da GRAHAM-SMITH sia in *Calliphora* che in *Musca*). In tal caso all'interno delle vescicole si trova soltanto un liquido jalino contenente granuli rifrangenti di varia grandezza e di color giallo (gocce di grasso); 2) *presenza di sperma*. In questo secondo caso insieme al fluido granulare si trovano spermatozoi generalmente mobili che possono essere o molto scarsi (2 o 3 spermi al massimo in tutta la vescicola) o in ciuffi di spermi sparsi qua e là come nella fotografia della fig. 3-B oppure tutti aggrovigliati in un unico ammasso al centro della vescicola.

Per avere un'idea della distribuzione dello sperma nelle vie femminili dall'inizio alla fine della copula, ho esaminato il contenuto delle vescicole copulative e delle spermateche in 100 coppie di *M. domestica* interrompendo la copula in tempi diversi. Ritengo utile riferire il risultato di tali esami, benchè insufficienti per avere una chiara idea del comportamento dello sperma.

Interrompendo la copula appena effettuata si trova una condizione particolare, infatti le vescicole sono gonfie di un liquido jalino privo di sperma e le spermateche sono anch'esse vuote (7 casi su 10 coppie osservate) poi successivamente (primi 5') si può trovare sperma solamente nelle vescicole e le spermateche vuote (15%) oppure lo sperma è abbondante nelle vescicole e scarso nelle spermateche (6%). In questi casi lo sperma si trova tutto riunito al centro della vescicola ove è sempre molto mobile. Queste due condizioni sono però limitate ai primi minuti della copula, assai più frequenti, specie verso la fine del coito, appaiono i casi inversi cioè sperma assente (42%) o scarso (41%) nelle vescicole e abbondante invece nelle spermateche. Quanto al caso intermedio, sperma molto abbondante sia nelle spermateche che nelle vescicole (ciuffi di spermi sparsi nelle vescicole come nella foto della fig. 4) costituisce il 18% dei casi osservati e sembra limitato ai primi 30' della copula.

Complessivamente la condizione assenza di sperma nelle vescicole copulative è stata osservata in 53 casi su 100 ed inoltre tale condizione è praticamente l'unica possibile verso la fine della copula (1h e 1/2-2h),

(*) Non sempre si può evitare la fuoriuscita del liquido, nel qual caso le vescicole appaiono sgonfie come in femmina che non sia in copula; talora si riesce nella dissezione a conservare il liquido in una sola delle due vescicole, l'altra si rompe e il contenuto fuoriesce immediatamente.

mentre la condizione presenza di sperma nelle vescicole è stata osservata nelle rimanenti 47 coppie quasi sempre verso l'inizio della copula. Esattamente l'inverso si osserva nelle spermateche ove si trova sperma (67%) sempre verso la fine della copula, mentre l'assenza di sperma (23%) si ha all'inizio della copula.

Oltre che nella tipica *domestica* ho osservato il rigonfiamento vescicolare in *M. domestica Cuthbertsoni* e in *M. domestica curviforceps* ma non ho trovato alcuna differenza degna di nota nè nella durata del rigonfiamento nè nella distribuzione dello sperma nelle vescicole e nelle spermateche.

Anche incrociando tali forme una con l'altra non si osserva nulla di particolare nelle vescicole copulative: le vescicole sono sempre ben rigonfie, vi si trovano spermi mobili e gli incroci avvengono senza difficoltà con formazione di ibridi, come aveva già osservato G. SACCÀ (¹⁰).

Per quanto in *M. domestica* manchi evidentemente una reazione di inseminazione, il rigonfiamento delle vescicole è assai vistoso ed ha una durata notevole (2 h. circa), l'epitelio vescicolare si ispessisce durante la copula ed appare ben distaccato dall'intima (vedi fig. 3). Inoltre tale epitelio (osservato a fresco) mostra delle cellule poligonali con un nucleo sferico centrale e il protoplasma ripieno di numerose gocce di secreto. Tutto ciò fa supporre che anche nelle vescicole di *M. domestica* esista una secrezione epiteliale sia pur modesta che si versa all'interno delle vescicole e ne aumenta il turgore. Ho ritenuto quindi opportuno ripetere in femmine vergini di *M. domestica* l'esperienza di YING-LEE (⁸) in *Drosophila gibberosa*. Iniettando un liquido qualsiasi si ottiene facilmente il rigonfiamento delle vescicole per semplice pressione meccanica e l'ampiezza di tale rigonfiamento è identica a quella naturale, mentre l'epitelio che circonda le vescicole non si ispessisce e non si distacca dall'intima. Le vescicole si sgonfiano poi rapidamente per fuoriuscita del liquido. Se però l'ovidutto con le vescicole gonfie si immerge in soluzione fisiologica si mantengono gonfie per circa un'ora, forse a causa della pressione osmotica che si stabilisce tra due liquidi di densità diversa separati dalle membrane della vescicola (un processo del genere può darsi che si verifichi anche naturalmente tra il liquido circolante e l'eiaculato). Se si inocula nelle vescicole un estratto di testicolo in soluzione fisiologica, oltre il rigonfiamento vescicolare si osserva anche quello dell'epitelio che appare ispessito ben distaccato dall'intima e all'interno delle cellule epiteliali si osserva un certo numero di goccioline di secreto; poichè però lo stesso fatto si verifica anche con estratti di tubo eiaculatore e inoltre la durata e il volume del rigonfiamento e l'aspetto del-

l'epitelio non sono mai come nelle condizioni naturali, non mi è stato possibile trarre un risultato conclusivo.

Si possono così brevemente riassumere alcuni dei problemi relativi all'inseminazione in *M. domestica*.

1) Nel maschio mancano le ghiandole accessorie, in loro vece si sviluppa un'epitelio glandolare nei primi due terzi del canale eiaculatore. Nell'epitelio glandolare del canale eiaculatore si osservano numerose gocce di secreto che confluendo formano una larga area chiara intorno all'intima chitinoso ma nel lume del canale non si riesce a mettere in evidenza alcun secreto con il metodo di colorazione dell'ematossilina-eosina con il quale invece si colorano molto bene granuli di secreto nelle ghiandole accessorie di *Calliphora* e *Drosophila*.

Se si interrompe la copula appena effettuata (primi 30'' circa) si trovano le vescicole copulative gonfie a causa di un liquido jalino, mentre in tutte le successive dissezioni si trova sempre dello sperma o solo nelle spermateche o solo nelle vescicole o in entrambi. Ciò fa pensare che la non simultaneità delle secrezioni glandolare e spermatica supposta da GRAHAM-SMITH in *C. erythrocephala* si verifichi anche in *M. domestica* che cioè ci sia una secrezione presumibilmente proveniente dal canale eiaculatore che riempie le vescicole copulative prima dell'emissione dello sperma.

2) Non si può ammettere che tutto lo sperma appena emesso venga introdotto nelle spermateche direttamente, come ha osservato GRAHAM-SMITH in *Calliphora*, infatti in *M. domestica* si trova spesso lo sperma sia nelle spermateche che nelle vescicole; solo verso la fine della copula lo sperma si trova esclusivamente nelle spermateche. La figura di BERLESE ricostruita da GRAHAM-SMITH (fig. 1 VII) mostra l'estremità del pene in prossimità dell'apertura del canalicolo della spermateca, ma in vicinanza si apre anche l'orifizio del canalicolo delle vescicole, sicchè tale figura non implica necessariamente che tutto lo sperma appena uscito debba andare esclusivamente alle spermateche ma può andare sia nelle spermateche che nelle vescicole, come risulta dalla foto della fig. 3-B.

3) Lo sperma quando va nelle vescicole copulative di *M. domestica* non vi rimane a lungo, il più delle volte lascia le vescicole rapidamente per affluire alle spermateche (*). Quindi l'inseminazione in *M. dome-*

(*) L'afflusso dello sperma dalle vescicole alle spermateche si può spiegare ammettendo che esso sia attratto da qualche secrezione, oppure aspirato meccanicamente dalle contrazioni del robusto anello muscolare che circonda l'imboccatura delle spermateche.

stica non si effettua mediante una introduzione diretta dello sperma nelle spermateche e conseguente netta separazione tra secrezione glandolare e spermi come l'ha descritta GRAHAM-SMITH in *C. erythrocephala*, ma neppure con una imponente secrezione da parte dell'epitelio vaginale e conseguente blocco degli spermi per alcune ore, seguito da espulsione degli spermi in incroci eterogamici, come ha descritto PATTERSON ⁽⁶⁾ in *Drosophila*. Ciò che si osserva nelle vescicole copulative in *M. domestica* può forse essere paragonato (**) a quanto WHEELER ⁽⁷⁾ ha descritto in alcune specie (*D. repleta*, *cardinii*...) prive di una vera reazione di inseminazione, in cui però si osserva la vagina rigonfia con un liquido jalino debolmente granulare e spermi mobili che rapidamente affluiscono alle spermateche e ai ricettacoli seminali.

4) Circa le cause di rigonfiamento delle vescicole in *M. domestica* la ripetizione dell'esperienze fatte da YING-LEE ⁽⁸⁾ in *D. gibberosa* non ha permesso di dare delle risposte conclusive. Tuttavia è stato possibile accertare che il rigonfiamento delle vescicole almeno inizialmente è determinato quasi esclusivamente dalla pressione meccanica dell'eiaculato poichè un rigonfiamento vescicolare dello stesso volume di quello naturale si ottiene sia pure per breve tempo inoculando un liquido qualsiasi, ma per spiegare come le vescicole possano rimanere perfettamente gonfie per più di 2 ore bisogna ammettere che oltre alla contrazione del muscolo che si inserisce sul canalicolo delle vescicole (vedi fig. 4 VI C e la fig. 3-A) limitando la fuoriuscita dell'eiaculato dalle vescicole stesse, intervengono altri fattori come la pressione osmotica e una secrezione sia pure modesta da parte dell'epitelio che avvolge le vescicole. Tale secrezione fa affluire una nuova quantità di liquido che supplisce quello fuoriuscito insieme con gli spermi nei primi momenti della copula.

5) Circa le funzioni del rigonfiamento vescicolare in *M. domestica* non è possibile mettere in evidenza alcun'altra oltre quella meccanica già nota a BERLESE, di trattenere l'ovopositore nell'atrio genitale maschile. Il processo infatti non può avere alcuna importanza come meccanismo di isolamento sessuale e neppure sembra che abbia importanza per il processo di fertilizzazione delle uova. In *M. domestica* infatti, almeno per quanto ho potuto osservare, nonostante l'assenza di una reazione di inseminazione solo raramente si hanno ovature sterili in elevata percentuale.

Roma — Istituto Superiore di Sanità. - Laboratorio di Parassitologia.

(**) Naturalmente non si intende con ciò stabilire alcuna analogia.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) BERLESE A. - Riv. Pat. veg., 9: 345 (1902).
 - (²) HEWITT C. G. - The house fly., Cambridge Univ. Press (1914).
 - (³) GRAHAM SMITH C. S. - Parasitology, 30: 441 (1938).
 - (⁴) CRAG F. W. - Ind. J. Med. Res., 8: 32, 11: 449 (1920-1923).
 - (⁵) NONINDEZ J. F. - Biol. Bull., 39: 207 (1920).
 - (⁶) PATTERSON J. T. - Univ. Tex. Publ., 4720: 78 (1947).
 - (⁷) WHEELER M. R. - Univ. Tex. Publ., 4720: 78 (1947).
 - (⁸) YING LEE H. T. - Biol. Bull., 39: 25 (1950).
 - (⁹) KEUCHENIUS P. E. - Zeit. Wiss. Zool., 105: 1 (1913).
 - (¹⁰) SACCÀ G. - Rend. Ist. Sup. Sanità., 48: 386 (1955).
-