
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

MARIO BENAZZI

L'azione dello spermio irradiato nella fecondazione normale e nella pseudogamia delle planarie

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 32 (1962), n.3, p. 286-289.

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1962_8_32_3_286_0

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Radiobiologia. — *L'azione dello spermio irradiato nella fecondazione normale e nella pseudogamia delle planarie*^(*). Nota^(**) del Corrisp. MARIO BENAZZI.

Nel 1911 O. Hertwig mise in luce un fatto di notevole rilevanza biologica: fecondando uova di rana con spermatozoi esposti all'azione del radio constatò che fino ad una certa dose l'aumento della irradiazione determina un incremento nella mortalità embrionale e nella produzione di anomalie, mentre con dosi più elevate lo sviluppo si compie regolarmente, dando larve apparentemente normali. Il grande embriologo tedesco spiegò questo risultato paradossale, ammettendo che gli spermatozoi meno danneggiati siano in grado di effettuare la singamia e determinare così la formazione di costituzioni letali o abnormi, mentre gli spermatozoi più gravemente danneggiati possono solo penetrare nell'uovo e stimolarne lo sviluppo ginogenetico. La irradiazione permette quindi di dissociare la funzione attivatrice dello spermio da quella legata all'apporto del materiale cromosomico paterno.

L'«effetto Hertwig» è stato confermato da successivi sperimentatori, ad esempio da Rugh (1939) in *Rana pipiens*; egli ha stabilito che irradiando gli spermatozoi con raggi X in dosi comprese tra 15 e 10.000 *r* si ha un graduale aumento della mortalità, fino a raggiungere il 98,4 %, mentre con dosi di 50.000 *r* il 90,5 % degli embrioni schiude; lo sviluppo di questi ultimi è evidentemente ginogenetico ed infatti il loro aspetto ricorda quello degli aploidi ottenuti per altre vie. Una conferma ancor più evidente della interpretazione di Hertwig è stata data poi dalle esperienze di irradiazione combinata con la fecondazione ibrida. G. Hertwig (1913) vide infatti che fecondando uova di *Bufo vulgaris* con spermatozoi normali di *Rana temporaria* lo sviluppo si arresta alla gastrulazione, mentre se gli spermatozoi sono prima intensamente irradiati si ottengono larve simili a quelle di *Bufo*, ovviamente originate per ginogenesi. Risultati simili sono stati conseguiti nell'incrocio tra *R. pipiens* e *R. caatesbiana* (Rugh e Exner 1940), come pure in Urodeli (Fischberg 1947) ed in altri animali.

In tutti i casi ora ricordati si tratta di ginogenesi sperimentale, realizzata cioè in organismi che, normalmente, si sviluppano solo per anfigonia. Mi è parso quindi interessante studiare gli effetti della irradiazione spermatica in organismi in cui la ginogenesi (pseudogamia) rappresenta la modalità normale di riproduzione, come accade in certe razze di planarie.

Ricerche mie e di miei collaboratori (G. Benazzi Lentati, Lepori) hanno dimostrato appunto che in alcuni Tricladidi d'acqua dolce (*Dugesia lugubris*, *D. benazzii* del gruppo *gonocephala*, *Polycelis nigra* e *P. tenuis*) esistono

(*) Ricerche eseguite nell'Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Pisa con un contributo del C.N.R.

(**) Presentata nella seduta del 10 marzo 1962.

biotipi anfimittici e biotipi pseudogamici, questi ultimi (almeno per quanto finora noto) tutti poliploidi. Nei biotipi anfimittici la testa spermatica evolve normalmente dando un pronucleo che si fonde con quello femminile; nei biotipi pseudogamici la testa spermatica presenta solo una iniziale evoluzione in pronucleo, poi degenera (in qualche caso può essere emessa con un polocita).

Io mi sono quindi proposto di stabilire quale azione espliciti la irradiazione dello spermio, a seconda che esso sia destinato a compiere la normale anfigamisi, oppure agisca solo come attivatore dell'uovo. A tale scopo ho compiuto una serie di esperienze consistenti nella irradiazione *in toto* di un individuo adulto, che veniva poi immediatamente accoppiato con un individuo adulto normale di biotipo anfimittico oppure pseudogamico. È opportuno ricordare al riguardo che lo spermio proveniente da individuo di biotipo pseudogamico è atto ad evolvere in pronucleo ed a dare normale singamia se penetra in uovo anfimittico, mentre lo spermio proveniente da individuo di biotipo anfimittico non dà singamia se penetra in uovo pseudogamico. Ciò significa che l'evoluzione dello spermio è condizionata dall'uovo e pertanto nelle mie esperienze non ha importanza se lo spermio proviene da biotipo anfimittico o pseudogamico, ma solo la modalità di sviluppo dell'uovo.

La specie scelta è stata *Dugesia lugubris*, particolarmente idonea a tali studi, per la notevole fecondità in laboratorio (almeno di certe popolazioni), per la varietà dei fenotipi cromatici (che permette di scegliere per l'accoppiamento individui facilmente distinguibili) e per la costante assenza di casi di autofecondazione (i quali ovviamente altererebbero i risultati). Ho usato popolazioni del biotipo diploide anfimittico e dei due biotipi pseudogamici: triplo-esaploide e triploide asinaptico nella linea femminile (cfr. Benazzi 1957).

Animali sottoposti a dosi anche notevoli di raggi X ⁽¹⁾ sono all'inizio del tutto normali e possono compiere la copula. Gli esemplari non irradiati venivano quindi separati, dopo qualche giorno, dal *partner* irradiato ed i primi bozzoli da loro depositi esaminati per controllare se la fecondazione fosse avvenuta; in caso positivo i bozzoli successivi erano conservati fino all'epoca della schiusa, oppure aperti dopo un vario numero di giorni per studiarne il contenuto. Come ho ricordato in una Nota precedente (Benazzi 1962), l'esame del bozzolo al binoculare permette di accertare se lo sviluppo procede regolarmente o se si arresta.

I risultati finora conseguiti dimostrano chiaramente che l'effetto della irradiazione è diverso a seconda che lo spermio penetri in uovo anfimittico oppure pseudogamico. Nel primo caso, spermatozoi di individui che hanno ricevuto da 2000 a 3000 r possono compiere una normale anfigamisi; lo zigote si segmenta e talora giunge a dare piccoli embrioni sferici, ma poi lo sviluppo si arresta. L'esame microscopico dimostra infatti la presenza di blastomeri morti, col nucleo degenerato, mentre ben conservato è il nucleo delle cel-

(1) Nelle prime esperienze mi sono valso di un apparecchio Siemens dell'Istituto Radiologico dell'Università di Pisa a 200 KV e 15 mA; dallo scorso anno usufruisco invece di un apparecchio « Gilardoni Dermoplesio MD », 100 KV e 10 mA, fornitomi dal C.N.R.

lule vitelline. Ovviamente lo spermio irradiato origina una costituzione genetica letale, la quale determina il precoce arresto dello sviluppo.

Finora un solo uovo anfigonico, fecondato da spermio che aveva avuto un irraggiamento di 3000 *r*, ha proceduto nello sviluppo dando un nato normale. Ulteriori ricerche potranno meglio chiarire la natura ed i limiti dell'effetto letale della irradiazione spermatica, anche in rapporto alle dosi; fin d'ora però è interessante rilevare che tale effetto si manifesta con modalità simili a quelle della irradiazione diretta dell'uovo appena fecondato od all'inizio dello sviluppo, che io ho illustrato in una Nota precedente (1962).

Ben diverso è invece il comportamento dell'uovo pseudogamico, che può svilupparsi normalmente e dare nati vitali anche se ha ricevuto uno spermio irradiato con dosi da 3000 a 5000 *r*. Ovviamente la funzione attivatrice dello spermio non viene alterata dall'irraggiamento, e questo si accorda con quanto era noto dalle sopracitate ricerche degli Hertwig e di altri studiosi: ad esempio, sec. Rugh e Exner (loc. cit.) gli spermii di *R. catesbiana* conservano l'azione attivante anche dopo trattamento con 120.000 *r* di raggi X ⁽²⁾. Nel caso delle planarie i limiti di tale resistenza non sono stati ancora precisati. Si deve poi tener presente che nelle uova pseudogamiche, come in quelle anfigoniche, l'azione attivatrice dello spermio non si manifesta solo nel provocare la segmentazione, ma determina anzitutto la regolazione delle attività centromerico-fusali e, conseguentemente, lo svolgimento della maturazione, che nell'uovo vergine resta bloccata alla prometafase I (cfr. Benazzi Lentati 1960, Puccinelli 1961). Sarà quindi interessante indagare se la irradiazione possa avere una azione inibitrice differenziale su tali attività dello spermio.

Desidero infine rilevare che nelle esperienze fino ad ora realizzate sulle planarie non ho potuto ottenere l'« effetto Hertwig », provocare cioè lo sviluppo ginogenetico di uova anfigoniche mediante l'azione di spermii sufficientemente irradiati; anche su tale questione sono in corso ulteriori indagini, faccio tuttavia presente, che da ricerche di altro tipo compiute nel nostro Istituto è risultata la incapacità di uova aploidi a svilupparsi.

BIBLIOGRAFIA.

- BENAZZI M., *Cariologia di Dugesia lugubris* (O. Schmidt) (*Tricladida Paludicola*), « Caryologia », 10, 276-303 (1957).
BENAZZI M., *L'azione delle radiazioni ionizzanti sullo sviluppo delle planarie*, « Rend. Acc. Naz. Lincei », 32, 26-29 (1962).

(2) Diverso è invece il risultato ottenuto da Woodroffe (1958) nel Coleottero *Ptinus clavipes*; in tale specie si hanno due forme: una diploide bisessuata con normale anfigonia, l'altra (*f. mobilis*) triploide e rappresentata da sole femmine; queste ultime depongono uova che si sviluppano ginogeneticamente se attivate da spermii del maschio *clavipes*. L'A. sopracitato ha esposto maschi all'azione dei raggi Y (da 500-15.000 *r*) e li ha poi accoppiati con femmine sia *clavipes* che *mobilis*, ma in nessun caso ha ottenuto embrioni vitali. L'irradiazione distruggerebbe quindi anche la capacità attivante dello spermio.

- BENAZZI LENTATI G., *Processi maturativi ed evoluzione dello spermio in ovociti sinaptici ed asinaptici di planarie*, « Atti Soc. Tosc. Sc. Nat. », Serie B, 66, 60-82 (1959).
- FISCHBERG M., *Experimentelle Auslösung von haploider und diploider Parthenogenese bei den Urodelen Triton palmatus und Triton alpestris*, « Arch. Klaus-Stift. Vererb. Forsch. », 22, 331-336 (1947).
- HERTWIG G., *Parthenogenesis bei Wirbeltieren, hervorgerufen durch artfremden radiumbestrahlten Samen*, « Arch. Mikr. Anat. », 81, 87-127 (1913).
- HERTWIG O., *Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen. Ein Beitrag zur experimentellen Zeugungs- und Vererbungslehre*, « Arch. Mikr. Anat. », 77, 97-164 (1911).
- PUCCINELLI I., *Meiosi anomala in ovociti sinaptici a fuso multipolare di poliploidi sperimentali della planaria Dugesia lugubris*, « Atti Soc. Tosc. Sc. Nat. », Serie B, 68, 233-248 (1961).
- RUGH R., *Developmental effects resulting from exposure to X-rays. - I. Effect on the embryo of irradiation of frog sperm*, « Proc. Amer. Phil. Soc. », 81, 447-471 (1939).
- RUGH R., *The effect of ionizing radiations of amphibian development. Symposium on effects of radiation*, in « Journal of Cell. and Comp. Physiol. », 43 Suppl. 1, 39-75 (1954).
- RUGH R. and EXNER F., *Developmental effects resulting from exposure to X-rays. - II. Development of leopard frog eggs activated by bull-frog sperm*, « Proc. Amer. Phil. Soc. », 83, 607-619 (1940).
- WOODROFFE, G. E., *The Mode of Reproduction of Ptinus clavipes form mobilis Moore (P. latro auct.)*, (Coleoptera: Ptinidae), « Proc. Roy. Ent. Soc. Lond. », A, 33, 25-30 (1958).