
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ANTONIO MINGANTI

Sviluppo di ibridi androgenetici *Ascidia malaca* (♀) × *Ciona intestinalis* ♂ (Ascidie)

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 35 (1963), n.1-2, p. 126-129.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1963_8_35_1-2_126_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/>

Biologia. — *Sviluppo di ibridi androgenetici* *Ascidia malaca* (♀) × *Ciona intestinalis* ♂ (*Ascidie*) (*). Nota (**) di ANTONIO MINGANTI, presentata dal Corrisp. P. PASQUINI.

INTRODUZIONE.

Un materiale che bene si presta allo studio delle interazioni tra nucleo e citoplasma nello sviluppo embrionale è dato dagli ibridi androgenetici, dove il citoplasma di una specie è combinato al nucleo di un'altra.

Nelle *Ascidie* è stato finora studiato lo sviluppo e il comportamento cromosomico degli ibridi androgenetici *Ascidia malaca* (♀) × *Phallusia mamillata* ♂ [1] e *Ascidiella aspersa* (♀) × *Phallusia mamillata* ♂ [2]. Nella presente Nota viene descritto lo sviluppo di uova anucleate di *Ascidia malaca* fecondate con spermatozoi di *Ciona intestinalis*; lo studio citologico di questi ibridi verrà fatto in seguito.

MATERIALI E METODI

È stato adoperato il metodo già descritto in precedente lavoro [1]: uova di *Ascidia malaca*, prelevate per puntura degli ovidotti e liberate manualmente dagli involucri ovarici, sono state private della calotta animale contenente il pronucleo (indicato dalla «macchia polare») mediante taglio con ago di vetro. Alle uova così anucleate è stata aggiunta una sospensione densa di sperma di *Ciona intestinalis*, similmente prelevato per puntura degli spermidotti.

Oltre ai normali controlli delle due specie, sono stati ottenuti anche ibridi allopoloidi con i gameti degli stessi individui usati per gli androgenetici: cioè, uova di *A. malaca*, private degli involucri ma lasciate intatte, sono state fecondate con spermatozoi di *Ciona*.

Gli esperimenti e i risultati sono riportati nella Tabella I.

RISULTATI.

1° *Frammenti nucleati.* — I frammenti asportati dal polo animale delle uova di *A. malaca* e contenenti il pronucleo femminile, hanno avuto in ogni caso un diametro inferiore a 1/5 di quello dell'uovo: perciò la diminuzione di volume subita dall'uovo è stata trascurabile. Ricordiamo al proposito che qualsiasi frammento dell'uovo vergine di *A. malaca* appena maggiore della

(*) Lavoro eseguito presso l'Istituto di Istologia ed Embriologia della Università di Palermo.

(**) Pervenuta all'Accademia il 24 luglio 1963.

metà è capace, una volta fecondato, a svilupparsi in modo del tutto normale (Reverberi & Ortolani, 1962) [3]. La presenza della «macchia polare» nei frammenti asportati è stata presa come criterio dell'esattezza dell'operazione; il fatto che i frammenti contenessero il pronucleo dell'uovo è stato confermato dalla emissione dei globuli polari, dopo fecondazione con spermatozoi di *Ciona*. Alcuni frammenti si sono segmentati in modo anomalo in poche cellule di grandezza diversa, producendo piccole morule irregolari e indifferenziate. In altri frammenti si sono osservati soltanto tentativi di segmentazione.

TABELLA I.

Lotto	IBRIDI ANDROGENETICI				IBRIDI ALLOPLOIDI			
	Uova	Polisper.	Sviluppate		Uova	Polisper.	Sviluppate	
			a morula	a larva			a morula	a larva
1	30	4			30	4		
2	30				30	3	I	
3	24	4	I	I	24	2	I	I
4	30	I			30	3		
5	18	I	I		18			I
6	33				33			
7	28				35	I		I
Totali	193	10	2	I	200	13	2	3

2° *Ibridi androgenetici*. — Di 193 uova di *A. malaca* anucleate e fecondate con spermatozoi di *Ciona*, 13 hanno mostrato evidenza di attivazione o di fecondazione. Queste uova, dopo un tempo variabile da pochi minuti a molte ore dalla inseminazione, si sono modificate di forma, di solito in modo irregolare, ed hanno talvolta prodotto delle protuberanze allungate, che venivano rapidamente riassorbite. In nessun caso si è osservata la formazione dei globuli polari. Di queste 13 uova, 10 non si sono segmentate. Alcune di esse hanno avuto tentativi di segmentazione, formando solchi irregolari che sparivano prima di completarsi. Nelle pause tra queste divisioni abortive le uova, tornate più o meno sferiche, presentavano internamente delle macchie chiare in continua modificazione visibili nel citoplasma pigmentato dell'uovo: in almeno un caso si è avuta l'apparenza di un fuso tripolare. Questa attività, del tutto simile a quella causata da polispermia, si è prolungata per molte ore, terminando con la citolisi dell'uovo.

Le altre 3 uova, dopo deformazioni piuttosto irregolari, si sono segmentate in modo normale, con la tipica simmetria bilaterale. L'intervallo di tempo tra l'inizio delle deformazioni (causate normalmente dall'entrata dello spermio e dal conseguente riprendersi della meiosi: cfr. Reverberi, 1936) [4] e la prima segmentazione è stato lo stesso che nei controlli normali di *A. malaca*; così pure il ritmo delle successive segmentazioni è stato quello proprio di *A. malaca*, che è sensibilmente più veloce di quello di *Ciona* [5].

In due delle uova segmentate lo sviluppo si è arrestato prima dell'inizio della gastrulazione: i due embrioni sono rimasti a morule irregolari e indifferenziate, le cui cellule non hanno presentato ulteriori divisioni. Una di queste morule è andata rapidamente in degenerazione; l'altra è rimasta in condizioni apparentemente buone per almeno 24 ore.

Un solo embrione ha continuato a svilupparsi. Esso ha superato la gastrulazione, che tuttavia non si è compiuta in modo del tutto normale, poiché ne è risultata una gastrula piuttosto asimmetrica. La chiusura delle pieghe neurali è stata incompleta. Ne è risultata una larva di forma anomala, ma con organi distinti e almeno in parte differenziati: essa presentava un *cephalenteron* tondeggiante, con intestino provvisto di cavità, con due organi pigmentati esterni, e privo di palpi; e una coda breve e ripiegata dorsalmente, con una fila di grosse cellule cordali ben visibili. Questa larva, che non presentava movimento, è andata in degenerazione dopo 24 ore.

3° *Ibridi alloploidi*. - In questi ibridi, derivanti da uova normali di *A. malaca* fecondate con spermatozoi di *Ciona*, la coesistenza dei due assetti cromosomici parentali è stata rilevata in precedenza [5]. Su 200 uova così ibridate usando i gameti degli stessi individui degli androgenetici (cfr. Tabella I), 17 si sono modificate di forma a tempi vari dalla inseminazione, e quasi tutte hanno emesso i globuli polari. Solo 5 di esse si sono segmentate in modo tipico e con lo stesso ritmo dei controlli di *A. malaca*; le altre 12, a parte l'emissione dei globuli polari, si sono comportate come le « polispermiche » descritte nel paragrafo precedente, e non si sono divise.

Delle 5 uova segmentate, 2 sono rimaste morule indifferenziate. Tre invece hanno superato la gastrulazione ed hanno proceduto nello sviluppo. In uno di questi embrioni le pieghe neurali si sono chiuse solo in parte, e si è avuta una larva poco allungata, con *cephalenteron* privo di palpi e di macchie sensoriali, e con una coda corta e tozza. Gli altri due embrioni hanno neurulato normalmente ed hanno dato larve ben differenziate, con cervello interno provvisto dei due organi sensoriali pigmentati, e con un unico grosso palpo; la coda, più corta del normale, era dritta e attivamente mobile.

DISCUSSIONE.

1° I risultati indicano che uova anucleate di *A. malaca* sono capaci di svilupparsi in ibridi androgenetici vitali con spermatozoi di *Ciona*. Questa capacità di sviluppo non è dissimile da quella dei corrispondenti ibridi alloploidi, otte-

nuti con i gameti degli stessi parenti: i dati della Tabella I dicono che non vi sono differenze significative, tra i due gruppi, nel numero di uova attivate ($P < 0,05$; statistica t) né in quello degli embrioni sviluppatisi ($P < 0,02$). Dato lo scarso numero di casi, non possiamo essere sicuri che gli ibridi androgenetici abbiano una morfogenesi meno completa di quelli allopoloidi, come forse è il caso: la questione richiede ulteriori dati sperimentali. Alcune delle anomalie osservate potrebbero anche essere dovute a traumatismo operatorio.

La forte variabilità che esiste tra i gameti dei diversi individui e tra i singoli gameti dello stesso individuo ha, con ogni probabilità, base genetica. Ma purtroppo siamo del tutto all'oscuro della costituzione genetica del materiale adoperato, a parte il numero di cromosomi [6].

2° Per spiegare la capacità di sviluppo degli ibridi ottenuti in questa ricerca, si potrebbe supporre che si stabiliscano normali interazioni tra citoplasma di *A. malaca* e nucleo di *Ciona*. Un'altra spiegazione, che ci sembra più attendibile, è che il citoplasma di *A. malaca* elabori, nel corso dell'oogenesi, i meccanismi necessari per compiere lo sviluppo in una relativa indipendenza dal nucleo. Questa ipotesi tiene conto anche del fatto che le uova di *A. malaca* sono capaci di svilupparsi in larve allopoloidi vitali anche con spermi di *Phallusia mamillata* e di *Ascidia mentula* [5] e in larve androgenetiche vitali con spermi di *Phallusia* [1], e trova conferma nei caratteri esclusivamente matroclini (quali il ritmo di segmentazione) riscontrati in tutti questi ibridi.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] A. MINGANTI, « Acta Embryol. Morphol. Exper. », 2, 244 (1959).
- [2] A. MINGANTI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (8), 28, 11 (1960).
- [3] G. REVERBERI & G. ORTOLANI, « Develop. Biol. », 5, 84 (1962).
- [4] G. REVERBERI, « Pubbl. staz. zool. Napoli », 15, 198 (1936).
- [5] A. MINGANTI, « Acta Embryol. Morphol. Exper. », 2, 269 (1959).
- [6] A. MINGANTI, « Boll. Zool. (Torino) », 23, 299 (1956).