
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIORGIO MANCINO, MARIA POGGI

Prime osservazioni sulla meiosi femminile in alcuni Anfibi Urodeli

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 35 (1963), n.6, p. 591–597.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1963_8_35_6_591_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/>

Citologia. — *Prime osservazioni sulla meiosi femminile in alcuni Anfibi Urodela* (*). Nota di GIORGIO MANCINO e MARIA POGGI presentata (**) dal Corrisp. M. BENAZZI.

Le nostre cognizioni sui processi meiotici degli Anfibi Urodela riguardano soprattutto il sesso maschile, in cui lo studio cariologico è favorito da una tecnica estremamente facile, basata su schiacciamenti di frammenti testicolari in fase spermatogenetica e colorazione con i consueti metodi nucleari. Molto più scarse sono invece le osservazioni riguardanti la meiosi femminile, a causa della maggior difficoltà nell'isolamento del nucleo ovulare. Tuttavia, si stanno attualmente approfondendo gli studi sui fenomeni citologici che avvengono negli ovociti, prima e dopo il distacco dall'ovario. Negli ovociti ovarici particolarmente analizzati sono i *lampbrush chromosomes*, cioè i caratteristici bivalenti diplotenici « a spazzola », i quali, prestandosi alla compilazione di precise mappe cromosomiche nelle diverse specie e razze (Callan e Lloyd 1960), fanno intravedere nuove possibilità nel campo della citogenetica degli Urodela.

Lo studio degli ovociti prelevati dopo il distacco dall'ovario offre invece la possibilità di indagare gli aspetti cariologici alla metafase I (morfologia dei bivalenti, frequenza e localizzazione dei chiasmi), i meccanismi dell'emissione dei globuli polari ed il blocco meiotico negli ovociti non fecondati.

Poiché siamo interessati allo studio dei *lampbrush chromosomes* degli Urodela italiani, lo scopo della presente ricerca è stato innanzi tutto di procurarci dati sulla morfologia dei bivalenti metafasici che possano essere confrontati con quelli dei bivalenti diplotenici; contemporaneamente abbiamo raccolto informazioni riguardanti altri aspetti cariologici della ovogenesi, specialmente al fine di chiarire l'origine della poliploidia spontanea (notata per la prima volta da Fankhauser 1939), o provocata da agenti fisici o chimici, oppure insorta in ibridi interspecifici di *Triturus* (Mancino e Scali in corso di stampa).

Il nostro studio è stato compiuto su ovociti (celomatici, ostiali, oviducali o deposti) di femmine non fecondate di *Triturus vulgaris meridionalis* di Pisa e di *T. alpestris apuanus* (la ben nota sottospecie di *alpestris* che vive in Liguria, nell'Appennino Tosco-Emiliano e nelle Alpi Apuane).

Varie tecniche sono state saggiate nel corso delle ultime tre stagioni riproduttive. All'inizio si sono tentate sezioni microtomiche a 10–12 μ dell'uovo intero e successivamente del polo pigmentato liberato meccanicamente.

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Pisa.

(**) Nella seduta del 14 dicembre 1963.

mente di buona parte del deutoplasma. Ma la tecnica che ha dato i migliori risultati consiste nel prelievo della piccola calotta dell'ovocita contenente il nucleo e successivo schiacciamento in aceto-carminio o aceto-orceina. L'involucro gelatinoso veniva rimosso meccanicamente, oppure ricorrendo ad una soluzione 0,2% di acido tioglicolico più alcune gocce di fenoltaleina 0,5% in alcool 95°, che veniva portata al rosa con l'aggiunta di NaOH 40%.

I dati relativi al numero ed al tipo di ovociti studiati, alla morfologia dei bivalenti, alla frequenza e localizzazione dei chiasmi, al numero delle diadi in ovociti II e ad altre particolarità cariologiche sono raccolti nelle Tabelle I e II per *Triturus vulgaris meridionalis* e nelle Tabelle III e IV per *Triturus alpestris apuanus*.

TABELLA I.

OVOCITI	Meta- fase I (12 biv.)	Metafase II			Meta- anafase II	TOTALE
		12 diadi	24 diadi	12 diadi scisse		
Celomatici	5	1	—	2	1	9
Ostiali	8	2	—	—	—	10
Oviducali	4	14	—	1	—	19
Deposti	—	1	2	2	—	5
TOTALE	17	18	2	5	1	43

TABELLA II.

NUCLEI	Bivalenti ad anello		Bivalenti a chiasma unico	Chiasmi			TOTALE CHIAsMI
	a due chiasmi	a tre chiasmi		pro- centrici	mediani o subterminali	terminali	
1	11	1		18	4	3	25
2	12			15	4	5	24
3	11		1	12	6	5	23
4	11		1	9	10	4	23
5	11	1		11	10	4	25
6	12			13	6	5	24
7	12			12	6	6	24
8	10	2		13	11	2	26
TOTALE	90	4	2	103	57	34	194

TABELLA III.

OVOCITI	Metafase I (12 biv.)	Metafase II		TOTALE
		12 diadi	24 diadi	
Celomatici	2	4	—	6
Ostiali	10	6	1	17
Oviducali	3	17	1	21
Deposti	—	7	—	7
TOTALE	15	34	2	51

TABELLA IV.

NUCLEI	Bivalenti ad anello		Bivalenti a chiasma unico	Chiasmi		TOTALE CHIASMI
	a due chiasmi	a tre chiasmi		procentrici	mediani o subterminali	
1	9	3		20	7	27
2	10	2		16	10	26
3	12			18	6	24
4	10	1	1	12	12	24
5	12			11	13	24
6	12			15	9	24
7	12			13	11	24
8	9	1	2	17	6	23
TOTALE	86	7	3	122	74	196

In sintesi possiamo così riassumere i risultati.

Nelle femmine di *Triturus vulgaris meridionalis* i bivalenti mostrano una separazione dei cromatidi così netta da poterli spesso seguire chiaramente a livello dei chiasmi (fig. 1; Tav. I A, B e C). La frequenza media dei chiasmi per cellula è risultata 24,25; anche quando ve n'è uno solo per bivalente, i chiasmi sono situati frequentemente vicino al centromero, pur non mancandone di subterminali e terminali. Quindi, per quanto la formazione dei chiasmi avvenga di preferenza nelle regioni procentriche, non sem-

bra potersi concludere per una stretta localizzazione dei chiasmi: su un totale di 194 chiasmi, ne abbiamo trovato 103 (53,09%) procentrici, 57 (29,38%) mediani o subterminali, 34 (17,52%) terminali.

Nei maschi della stessa specie la frequenza media dei chiasmi per cellula, da noi calcolata su dodici spermatociti I di un esemplare di Pisa, è 22,41 (Spurway e Callan 1960 danno frequenze medie di 22,2 e 24,4 per due distinti maschi di questa stessa specie). La quasi totalità dei chiasmi è terminale o subterminale e soltanto 7 su 269 (2,60%) sono risultati relativamente vicini al centromero; nei bivalenti con un solo chiasma, questo non è mai procentrico (Tav. 2 E).

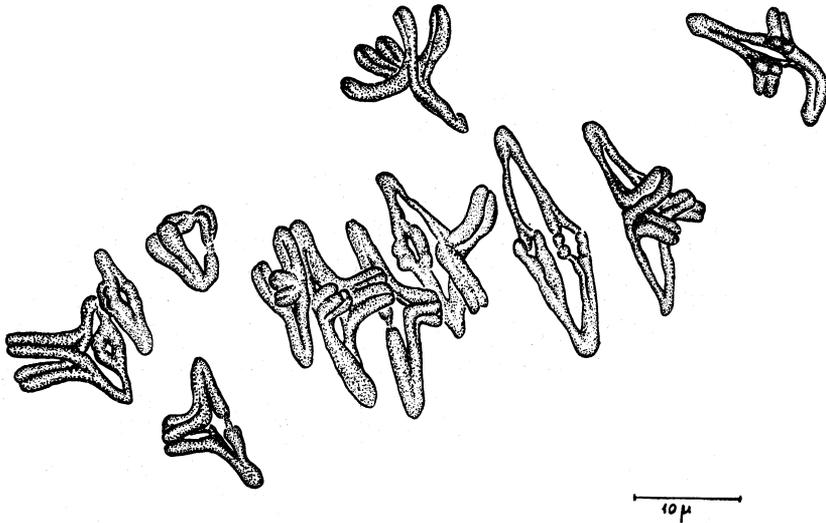


Fig. 1. - *Triturus vulgaris meridionalis*: 12 bivalenti metafasici di un ovocita I celomatico.

Nelle femmine di *Triturus alpestris apuanus* i bivalenti non mostrano ovunque una netta separazione dei cromatidi, spesso limitata alle porzioni terminali. I bivalenti sono lunghi e quasi sempre contorti, tanto che occorre molta attenzione per non confondere semplici avvolgimenti con chiasmi (fig. 2; Tav. 2 D). La frequenza media dei chiasmi per cellula è 24,5; essi si formano preferibilmente in regioni vicine al centromero: in otto ovociti studiati accuratamente, non ne sono mai stati individuati di terminali. Occorre, tuttavia, far notare che in una cellula, di cui non è stato possibile studiare in dettaglio ognuno dei bivalenti e che perciò non è stata compresa nella Tabella IV, era presente un bivalente con un sol chiasma terminale.

Nei maschi di *apuanus* la frequenza media dei chiasmi per cellula, calcolata su dodici spermatociti I di un individuo, è risultata 24,83. Dei 298 chiasmi, 38 (12,75%) erano procentrici, 156 (52,34%) mediani o subterminali, i rimanenti 104 (34,89%) terminali (Tav. 2 F).

Riassumendo, vi sono differenze tra i due sessi nella frequenza e nella localizzazione dei chiasmi. A parte alcune particolarità già segnalate, la situazione in *vulgaris* ed in *alpestris* appare simile a quella descritta da Watson e Callan (1963) rispettivamente per *helveticus* e per *cristatus*: una netta localizzazione dei chiasmi sembra cioè limitata al solo sesso maschile in *vulgaris* ed a quello femminile in *alpestris*.

In base ai risultati esposti, appare particolarmente interessante estendere lo studio della ovogenesi anche alle altre specie di Urodeli, specialmente a quelle legate da affinità sistematiche più o meno strette. Citiamo, ad esempio,

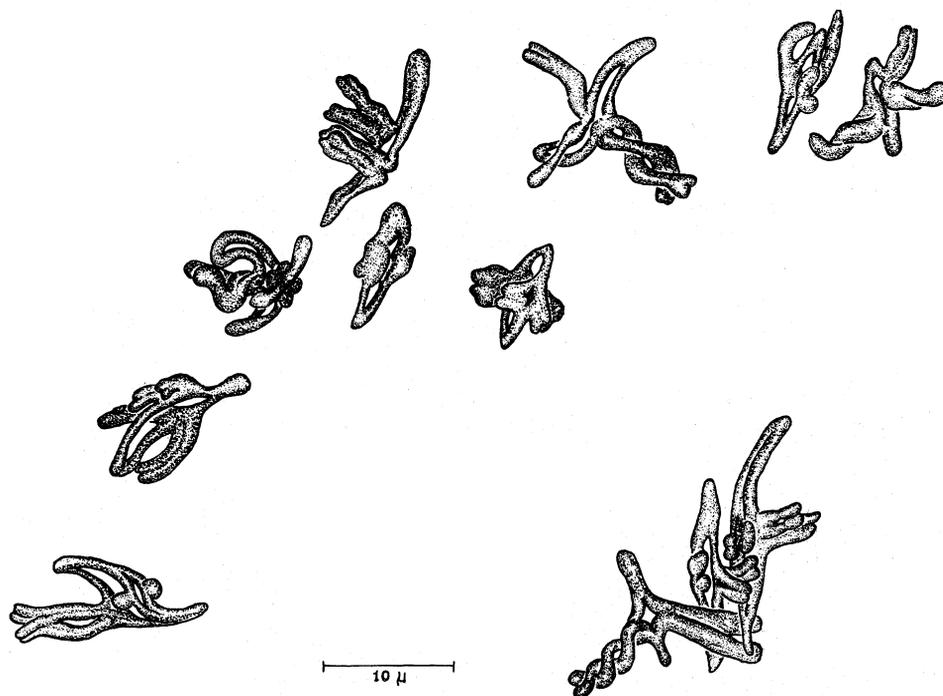


Fig. 2. - *Triturus alpestris apuanus*: 12 bivalenti metafasici di un ovocita I prelevato dall'ovidutto.

il caso di *Triturus italicus*, specie compresa nell'«Artenkreis» *vulgaris* (Lantz 1947), di cui abbiamo analizzato qualche spermatozita I di un esemplare di Ascoli Piceno: i chiasmi sono più spesso terminali, ma possono anche essere vicinissimi al centromero, oppure occupare qualunque posizione intermedia.

Nelle Tabelle I e III sono elencati alcuni casi di ovociti II con $2n$ diadi, cioè numero doppio di quello atteso, similmente a quanto fu segnalato da Humphries (1956) in *T. viridescens* (fig. 3; Tav. 2 G). Per avere un indice esatto della frequenza di tali ovociti a corredo non ridotto è necessaria una ricerca molto più ampia di quella che abbiamo potuto compiere; tuttavia nelle due specie da noi studiate essa è finora risultata maggiore che non in

T. viridescens, in cui gli ovociti II con $2n$ diadi erano 6 su 367 (1,6%); in *T. v. meridionalis*, invece, la frequenza è 4,6% e in *T. a. apuanus* 3,9%. Non è stato possibile, data la particolare tecnica da noi seguita, conoscere le cause del fatto né confermare, al riguardo, l'ipotesi di Humphries (1956) circa la ritenzione del polocita I (in alcuni casi il fuso della prima divisione era infatti o tangenziale, o troppo sommerso rispetto alla superficie dell'uovo) e successiva sua fusione col nucleo aploide dell'ovocita. Ricordiamo comunque che nei maschi di entrambe le specie studiate, accanto a parecchi spermatoцитi II con $2n$ diadi, abbiamo anche osservato diversi spermatoцитi I

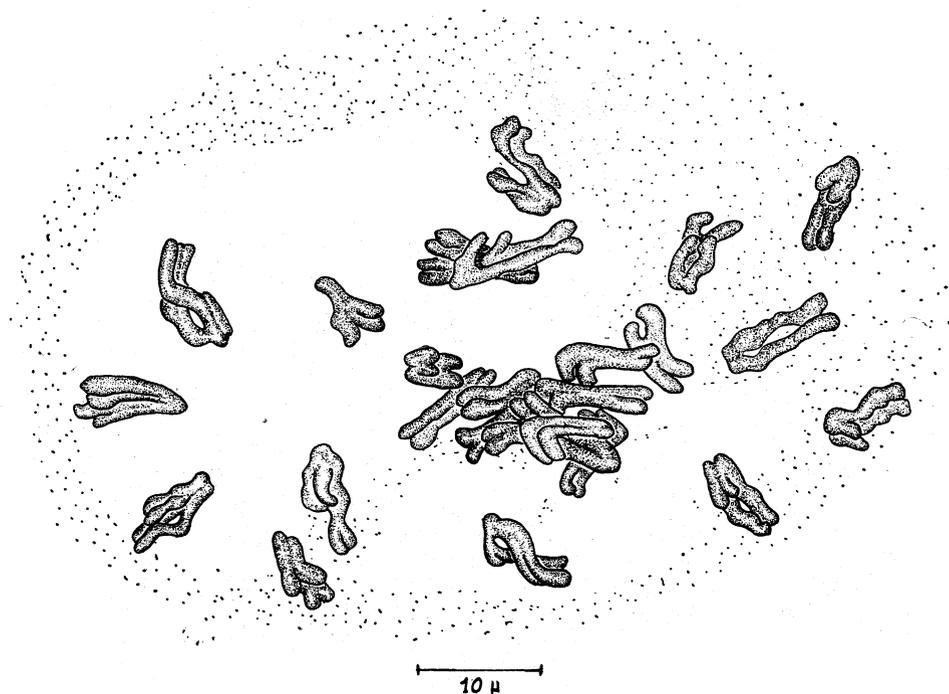
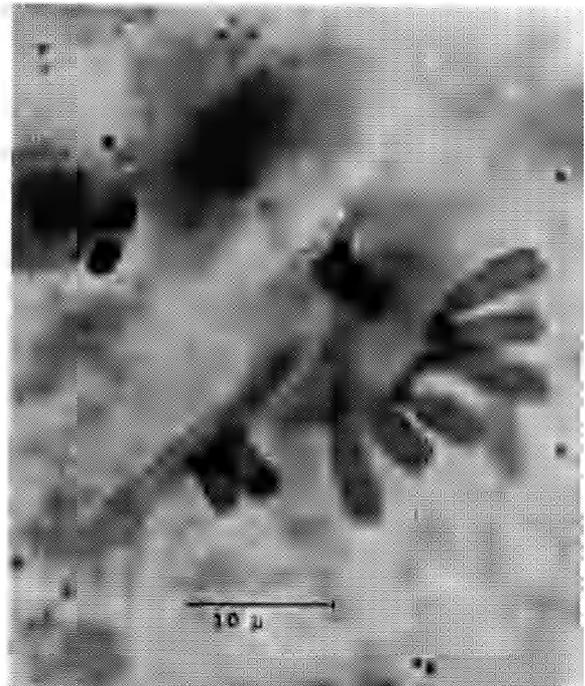
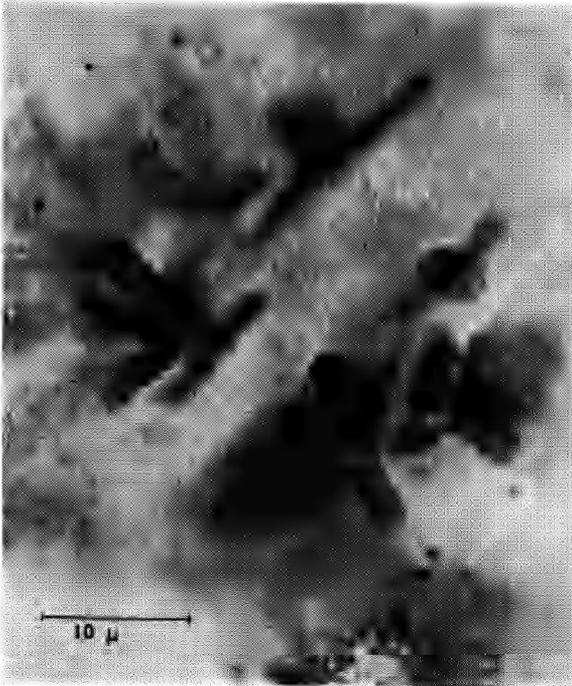
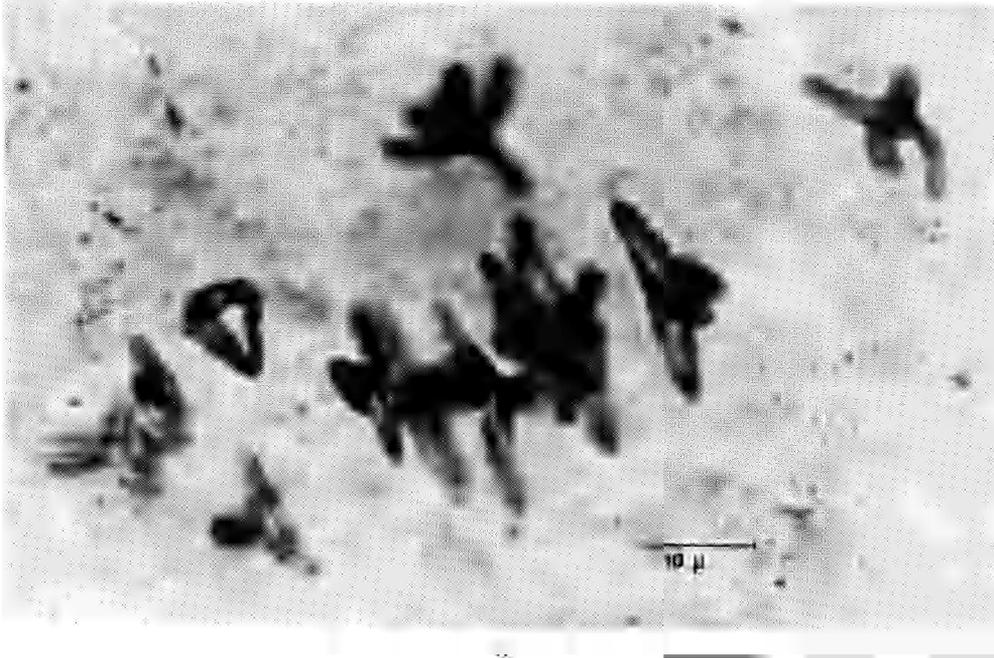


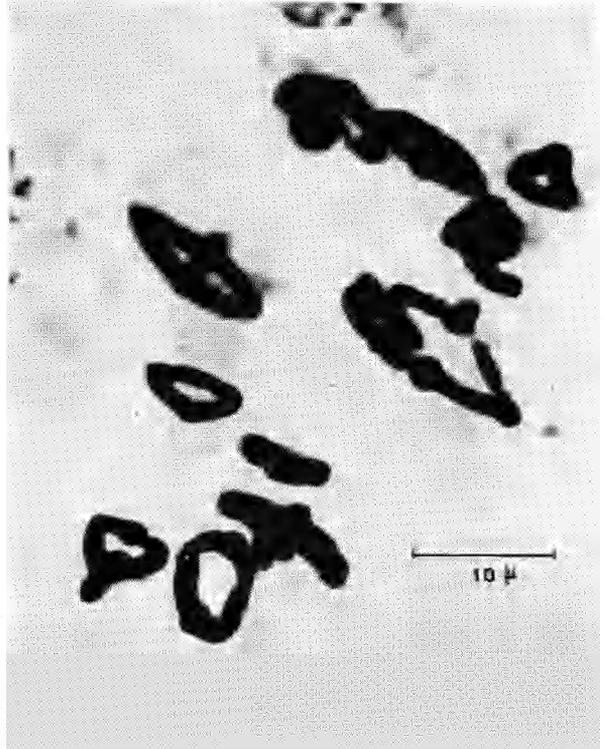
Fig. 3. - *T. a. apuanus*: numero doppio di diadi (24) in un ovocita II prelevato dall'ostio.

con $2n$ bivalenti; situazione simile è stata già segnalata in *T. helveticus* da Mancino e Scali (1961). Non abbiamo invece mai osservato ovociti I con $2n$ bivalenti e, di conseguenza, non è giustificato pensare che gli ovociti II con corredo doppio siano derivati da ovogoni poliploidi. Alcuni dati scaturiti nel corso del nostro studio dei *lampbrush chromosomes* non escluderebbero tuttavia la possibilità che qualche ovocita ovarico sia fornito di due distinti nuclei, similmente a quanto trovato in *Rana*, ad esempio da Parmenter, Derezin e Parmenter (1960). Se le ricerche in corso confermeranno una tale evenienza, si potrà anche ammettere che una parte almeno degli ovociti II con un numero doppio di cromosomi derivi da tali ovociti binucleati.

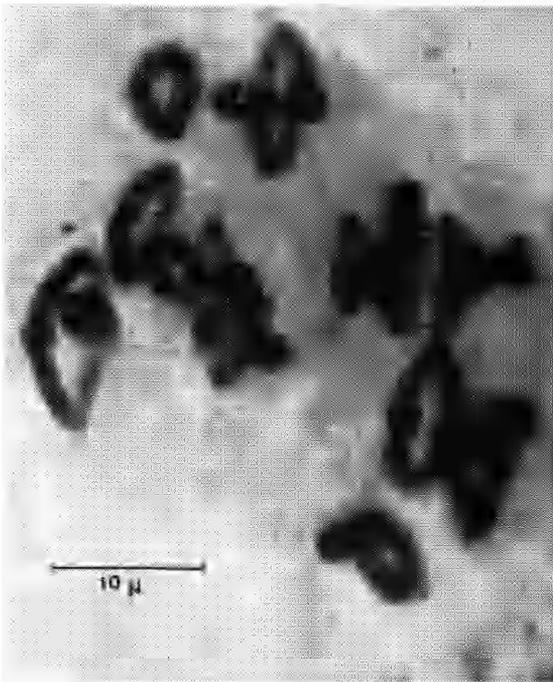




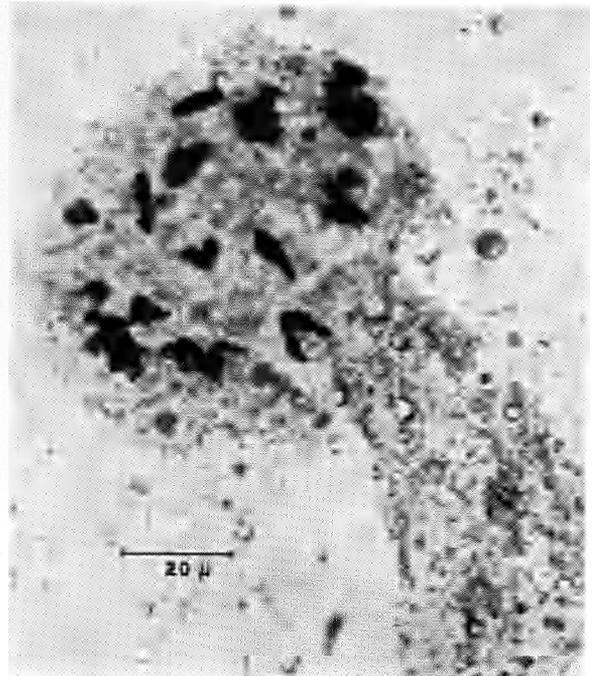
D



E



F



G

BIBLIOGRAFIA.

- CALLAN H. G. and LLOYD L., *Lampbrush chromosomes of crested newts Triturus cristatus (Laurenti)*, « Phil. Trans. Royal Soc. London », B, 243, 135-219 (1960).
- FANKHAUSER G., *Polyploidy in the salamander, Eurycea bislineata*, « J. Hered. », 30, 379-388 (1939).
- HUMPHRIES A. A., Jr., *A study of meiosis in coelomic and oviducal oocytes of Triturus viridescens, with particular emphasis on the origin of spontaneous polyploidy and the effects of heat shock on the first meiotic division*, « J. Morph. », 99, 97-135 (1956).
- LANTZ L. A., *Hybrids between Triturus cristatus Laur. and Triturus marmoratus Latr.*, « Proc. Zool. Soc. », 117, 247-258 (1947).
- MANCINO G. e SCALI V., *Anomalie spermatogenetiche in un esemplare di Triturus helveticus*, « Arch. Zool. It. », 46, 149-166 (1961).
- MANCINO G. e SCALI G., « Caryologia », (1963) in corso di stampa.
- PARMENTER C. L., DEREZIN M. and PARMENTER H. S., *Binucleate and trinucleate oocytes in post-ovulation ovaries of Rana pipiens*, « Biol. Bull. », 119, 224-230 (1960).
- SPURWAY H. and CALLAN H. G., *The vigour and male sterility of hybrids between the species Triturus vulgaris and T. helveticus*, « J. Genet. », 57, 84-117 (1960).
- WATSON I. D. and CALLAN H. G., *The form of bivalent chromosomes in newt oocytes at first metaphase of meiosis*, « Quat. J. Micr. Sc. », 104, 281-295 (1963).

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I E II

TAVOLA I.

- A: *Triturus vulgaris meridionalis*: 12 bivalenti metafasici di un ovocita I celomatico (Vedere anche il disegno alla camera lucida, fig. 1).
- B e C: *T. v. meridionalis*: bivalenti metafasici di un ovocita I prelevato dall'ostio. In C notare un bivalente a chiasma unico, procentrico.

TAVOLA II.

- D: *T. a. apuanus*: piastra metafasica di un ovocita I celomatico.
- E: *T. v. meridionalis*: bivalenti metafasici di uno spermatozita I.
- F: *T. a. apuanus*: bivalenti metafasici di uno spermatozita I.
- G: *T. a. apuanus*: numero doppio di diadi in un ovocita II oviducale; nella foto si possono contare almeno 18 diadi.