
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ILEANA PUCCINELLI

Cinetica dei cromosomi nella maturazione degli ovociti asinaptici della planaria *Dugesia lugubris*

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 36 (1964), n.2, p. 224–229.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_36_2_224_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. — *Cinetica dei cromosomi nella maturazione degli ovociti asinaptici della planaria Dugesia lugubris* ^(*). Nota di ILEANA PUCCINELLI, presentata ^(**) dal Corrisp. M. BENAZZI.

INTRODUZIONE.

La maturazione dell'uovo nel biotipo triploide, asinaptico e pseudogamico di *Dugesia lugubris* (biotipo C, $3n = 12$) avviene mediante un'unica divisione di tipo equazionale dei cromosomi univalenti e con la formazione di un solo polocita (Benazzi 1957).

Questa particolare divisione rappresenta pur sempre un processo maturativo e, anche se realizza lo stesso risultato di una mitosi, ne differisce nell'andamento e nella durata: si svolge infatti con modalità assai caratteristiche, concernenti il movimento degli univalenti prima della loro divisione. L'intero processo risulta lungo e complesso, e corrisponde, come durata, alle due divisioni maturative dell'uovo nelle razze sinaptiche della stessa specie: come in queste, infatti, inizia al momento della penetrazione dello spermio e si completa (a seconda della temperatura) dopo 3-4 ore.

Nella presente Nota descriverò brevemente le varie tappe di questa divisione, mettendole in relazione con altri reperti sui movimenti dei cromosomi in meiosi ed in mitosi, poiché la peculiarità della maturazione delle uova asinaptiche di *D. lugubris* consiste appunto nella cinetica dei cromosomi.

MATERIALE E TECNICA.

Gli esemplari del biotipo C, che hanno servito per questa ricerca, provengono da varie località dell'Italia centrale (dintorni di Roma, Firenze e Perugia).

Le fasi della maturazione sono state seguite negli ovociti attivati dallo spermio ⁽¹⁾, sia in bozzoli estratti dall'atrio genitale in momenti successivi, sia in bozzoli deposti. Ho anche esaminato ovociti non attivati, in cui la divisione resta bloccata in uno stadio che è particolarmente indicativo per il raffronto con quelli che hanno ricevuto lo spermio.

(*) Ricerche eseguite nell'Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Pisa.

(**) Nella seduta dell'8 febbraio 1964.

(1) Essendo lo sviluppo pseudogamico, lo spermio ha il solo compito di attivare la divisione maturativa.

Lo studio degli ovociti nei momenti successivi del processo permette di ricostruirne le tappe e di ovviare all'inconveniente di non potere studiare tale svolgimento *in vivo* ⁽²⁾.

La tecnica citologica usata è quella consueta al carminio acetico, come risulta da precedenti lavori del nostro Istituto; gli ovociti sono stati esaminati dopo lieve compressione fra i due vetrini o in goccia pendente.

RISULTATI.

L'osservazione degli stadi più precoci dimostra che nell'ovocita I, appena uscito dal germigeno, è già avvenuta la dissoluzione della membrana nucleare: siamo dunque all'inizio della prometafase (o metacinesi).

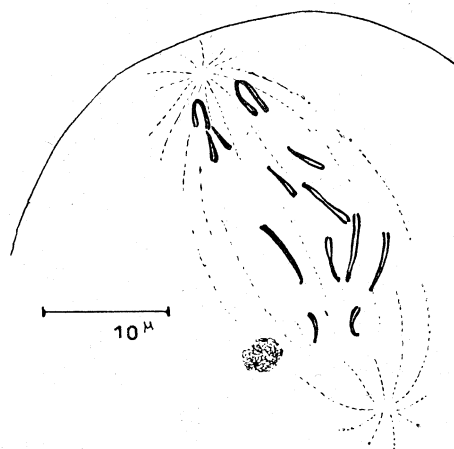


Fig. 1. — Ovocita asinaptico attivato dallo spermio: i 12 univalenti, in cui inizia la divisione longitudinale, migrano ai 2 poli.

I cromosomi univalenti, assai contratti ⁽³⁾, sono sparsi lungo e attorno al fuso, senza un orientamento ben definito, ma con una certa tendenza verso l'uno o l'altro polo; successivamente essi si orientano e convergono ai due poli, senza mai formare una piastra equatoriale. Durante questa fase di movimento verso i poli, i cromosomi passano più o meno gradualmente, dalla condizione di univalenti indivisi (fig. 1) a quella di coppie di cromatidi saldamente uniti al centromero, venendo così a somigliare alle diadi anafasiche degli ovociti sinaptici, e con tale aspetto si presentano ancora a polarizzazione ultimata. La distribuzione di tali elementi ai poli è ineguale e varia da ovocita ad ovocita: in genere il numero degli univalenti è maggiore al

(2) Malgrado reiterati tentativi non siamo ancora riusciti a trovare un *medium* adatto per ottenere *in vitro* il normale svolgimento della maturazione.

(3) La contrazione degli univalenti non raggiunge mai il grado di quella dei bivalenti dei biotipi sinaptici della stessa specie.

polo esterno del fuso (fig. 2). Questo stadio polarizzato è molto lungo (da 1 a 2 ore a seconda della temperatura).

La polarizzazione cromosomica si verifica anche negli ovociti vergini, il che dimostra che è un atto indipendente dalla attivazione, mentre la precoce separazione dei bracci cromatidici è legata a questo evento; essa si compie pure negli ovociti non attivati, ma solo molto più tardi, per cui appare un processo autonomo dei cromosomi, che l'attivazione spermatica accelera nel suo svolgimento. Fatto consimile è stato visto in *Dugesia benazzii* da Benazzi Lentati (1959).

Dopo la polarizzazione, negli ovociti fecondati si verificano i fatti più peculiari della maturazione. Sebbene gli univalenti siano ai due poli, quello esterno non dà mai un polocita e neppure si ha l'abbozzo di una gemma

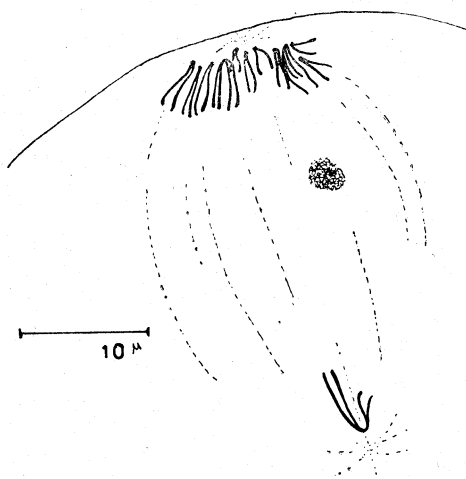


Fig. 2. - Le coppie cromatidiche hanno raggiunto i poli: si noti la loro irregolare distribuzione.

citoplasmatica; le coppie cromatidiche ruotano invece, indipendentemente l'una dall'altra ed in modo asincrono, di circa 180° , per cui ad un certo momento si vengono a trovare con i centromeri rivolti verso il piano equatoriale, al quale convergono molto rapidamente (fig. 3). Questo stadio è il più difficile da sorprendere, appunto per la sua rapidità. Quando le coppie cromatidiche sono prossime all'equatore, i cromatidi possono assumere la loro individualità per separazione centromerica; ne consegue che in piano equatoriale avremo sia coppie ancora unite al centromero, sia cromatidi liberi, in genere vicini e paralleli.

In rapporto a questo movimento verso l'equatore si nota pure una contrazione delle fibre fusali, le quali, stirate nella fase di polarizzazione, si accorciano al momento del riorientamento: il fuso infatti viene ad assumere alla metafase una forma ellissoidale con poli ravvicinati.

Ho già detto che la fase di polarizzazione è molto lunga; in media corrisponde alla durata della 1ª divisione meiotica degli ovociti dei biotipi sinap-

tici; essa potrebbe pertanto essere interpretata come uno stadio *semi-eterotipico*, nel significato attribuito a tale termine dai botanici; non è neppure da escludere che, almeno in senso lato, il riorientamento rappresenti una peculiare modalità di *restituzione*.

Pervenuti i cromosomi in piano equatoriale, si ha rapidamente la divisione omeotipica; alla migrazione anafasica dei cromatidi segue la formazione

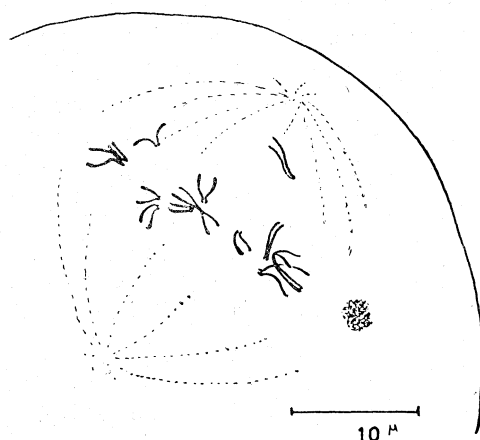


Fig. 3. - Le 12 coppie cromatidiche ritornano in piano equatoriale: notare il raccorciamento del fuso e la separazione centromerica in alcune coppie.

dell'unico polocita, che è quindi corrispondente al 2° polocita; non ho ancora potuto stabilire se a questo stadio anafasico i cromatidi abbiano già duplice struttura ⁽⁴⁾.

DISCUSSIONE.

I movimenti di polarizzazione degli univalenti, che iniziano alla prometafase, e il successivo riorientamento verso il piano equatoriale, qui descritti per la prima volta nelle planarie ad ovociti asinaptici ⁽⁵⁾, possono essere ricondotti a particolari movimenti già segnalati in divisioni mitotiche e meiotiche di cellule animali e vegetali. Non riferisco le varie teorie affacciate per interpretarne i meccanismi, poiché ampiamente riportate e discusse in recenti trattati (Mazia 1961; Lewis e John 1963); d'altra parte io non potrei portare nuovi elementi obbiettivi. Posso solo ricordare che dai miei reperti risulterebbe un contributo di interazioni centromerico-fusali, tanto per lo spostamento ai poli degli univalenti, quanto per il loro riorientamento verso il piano equatoriale, poiché anche le osservazioni in goccia pendente hanno dimostrato connessione fra centromeri e fibre fusali, con contrazione del fuso nel periodo prossimo alla metafase.

(4) Nelle divisioni somatiche di *D. lugubris* i cromatidi anafasici sono a duplice struttura, come pure negli univalenti di ovociti invecchiati di *Dugesia benazzii* (PIEGAJA 1951, BENAZZI LENTATI 1960).

(5) Non si riscontra infatti negli ovociti asinaptici di *D. benazzii*.

L'attrazione verso i poli (che, com'è noto, si può avere anche prima della dissoluzione della membrana nucleare) è stata ben studiata durante la metacinesi. Tipico per i bivalenti è il cosiddetto « prometaphase-stretch », illustrato inizialmente da Hughes-Schrader (1943-47) in Mantidi e Fasmidi; esso consiste in uno stiramento verso i due opposti poli ed è ritenuto dipendente da un precoce orientamento dei centromeri, associato quasi sempre a precoce formazione del fuso. Il fenomeno poi è stato visto in altri organismi da vari Autori. Anche in trivalenti, e multivalenti in genere, si conoscono movimenti metacinetici con spostamenti verso un polo.

Polarizzazione e successivo riorientamento si possono avere negli univalenti del sesso: fra i dati più recenti ricordo quelli di Nicklas (1961), che in spermatociti di *Melanoplus differentialis* coltivati *in vitro* ha potuto seguire lo spostamento dell'X da un polo all'altro (« pole-to-pole prometaphase movement »).

Altri fatti di polarizzazione e riorientamento, che offrono un raffronto assai suggestivo con i miei, sono quelli descritti da Schrader (1947) nelle cellule follicolari del testicolo di *Homarus*. Recenti ricerche *in vivo* di Bajér e Molé-Bajér (1954-56) su endosperma di varie specie vegetali dimostrano la capacità dei cromosomi di spostarsi verso il polo e poi ritornare all'equatore prima della metafase.

Nella polarizzazione si deve tener presente il comportamento dei centromeri. Di particolare interesse mi sembra l'accostamento che Östergreen (1961) fa tra cromosomi indivisi (cromatidi singoli) di cellule viventi dell'endosperma di *Haemanthus* e gli univalenti alla 1^a divisione di maturazione. I componenti cinetici del centromero, pur appartenendo in questo ultimo caso a due cromatidi, sono strettamente uniti, con orientamento unidirezionale e perciò si comportano come entità singole. Essi sono instabili ed è questa la causa della loro irregolare motilità « to and fro on the spindle » (pag. 87). Bauer, Dietz e Röbbelen (1961) indicano come *sintelico* l'orientamento unidirezionale degli univalenti; a questo deve far seguito un orientamento *anfotelico* in piano equatoriale affinché avvenga la normale anafase.

Si noti che nella maggioranza dei casi suddetti vi sono forti variazioni nell'ampiezza e nel tipo di spostamento dei cromosomi, pur in cellule dello stesso individuo.

Dopo questi cenni bibliografici di carattere generale, desidero discutere i miei reperti tenendo presente il fatto che in *D. lugubris* i movimenti degli univalenti si verificano durante la maturazione di ovociti asinaptici.

Nella gametogenesi degli animali come nella micro- e macrosporogenesi delle piante gli univalenti, se presenti insieme a bivalenti, di rado partecipano alla prima congressione metafaseica onde subire una divisione equazionale; ancor più raramente si dividono due volte. In genere restano sparsi lungo il fuso durante la metafase dei bivalenti; così vengono distribuiti variamente fra i nuclei figli. Alla anafase II invece si dividono equazionalmente. Nella linea femminile asinaptica di forme partenogenetiche o pseudogamiche (apomittiche per le piante) gli univalenti presentano, in molti casi, una sola

divisione, che per il peculiare carattere corrisponde alla 2^a divisione maturativa. In certi casi si hanno, con modalità varie, nuclei di restituzione. Tutti questi processi gametogenetici sono regolari nel loro andamento e controllati geneticamente.

Tenendo presente questi ultimi fatti credo di poter concludere che polarizzazione e riorientamento siano, per *lugubris*, solo meccanismi connessi alla particolare divisione maturativa anomala, caratterizzata dalla cospicua durata dello stadio di polarizzazione e dal ritorno verso l'equatore di coppie cromatidiche o di cromatidi singoli per precoce divisione centromerica. Di conseguenza quei fenomeni, che sono considerati propri ad uno stadio metacinetico, nel caso da me illustrato vanno ben oltre al periodo della vera metacinesi, in quanto possono equivalere ad uno stadio « semieterotipico » prolungato. Il riorientamento verso il piano equatoriale è unico e definitivo e darà la metafase della divisione omeotipica; ivi troviamo coppie cromatidiche e cromatidi singoli a testimoniare che il periodo precedente corrisponde proprio a quello in cui, nelle diadi meiotiche, si prepara la divisione centromerica.

BIBLIOGRAFIA.

- A. BAJÈR e J. MOLÈ-BAJÈR (citati da MAZIA, *The Cell*, vol. III (1961).
 A. BAJÈR e J. MOLÈ-BAJÈR, « *Chromosoma* », 7, 558 (1956).
 H. BAUER, R. DIETZ e CHR. RÖBBELEN, « *Chromosoma* », 12, 116 (1961).
 M. BENAZZI, « *Caryologia* », 10, 276 (1957).
 G. BENAZZI LENTATI, « *Atti Soc. Tosc. Sc. Nat.* », serie B, 66, 61 (1959).
 G. BENAZZI LENTATI, « *Caryologia* », 12, 482 (1960).
 S. HUGHES SCHRADER, « *Biol. Bull.* », 85, 265 (1943).
 S. HUGHES SCHRADER, « *Chromosoma* », 3, 1 (1947).
 K. R. LEWIS e B. JOHN, *Chromosome Marker*, J. e A. Churchill, Ltd. (1963).
 D. MAZIA, *The cell*, vol. III, Academic Press, London and New York (1961).
 R. B. NICKLAS, « *Chromosoma* », 12, 97 (1961).
 O. ÖSTERGREEN, « *Chromosoma* », 12, 80 (1961).
 M. J. PIEGAJA, « *Atti Soc. Tosc. Sc. Nat.* », serie B, 58, 71 (1951).
 F. SCHRADER, « *Chromosoma* », 3, 22 (1947).