

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

BRUNO BERTOLINI, ENRICO URBANI

## Le cellule nutrici dell'oocite di *Dytiscus marginalis* L.: osservazioni al microscopio elettronico

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 36 (1964), n.2, p. 240–242.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1964\\_8\\_36\\_2\\_240\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_36_2_240_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.** — *Le cellule nutrici dell'ooite di Dytiscus marginalis L.: osservazioni al microscopio elettronico* (\*). Nota di BRUNO BERTOLINI ed ENRICO URBANI, presentata (\*\*) dal Corrisp. A. STEFANELLI.

L'ovaio di *Dytiscus marginalis* L. è del tipo meroistico politrofico, costituito da numerosi ovaroli lungo i quali si succedono, in vari stadi di progressivo accrescimento, degli aggruppamenti costituiti da un oocite e da quindici cellule nutrici. L'ooite è completamente avvolto da cellule follicolari che si insinuano anche, ma molto più rade, tra le cellule nutrici. Questi aggruppamenti possono essere considerati delle unità germinali in quanto l'ooite e le cellule nutrici hanno origine da un oogonio a seguito di quattro divisioni successive di carattere particolare.

Infatti durante queste mitosi la maggior parte dei materiali nucleari non si distribuisce egualmente, come i cromosomi, nelle cellule figlie, ma rimane segregata nella cellula che diverrà l'ooite (Giardina 1901 [1]; Debaisieux 1909 [2]; Günthert 1910 [3]).

Questa formazione, o *massa di Giardina* può dunque essere considerata un determinante germinale (Wilson 1925 [4]), per quanto di particolare significato, poiché non discrimina la linea somatica dalla linea germinale, ma soltanto l'ooite dalle cellule nutrici. Gli studi sulla natura e composizione della *massa di Giardina* hanno dimostrato la sua Feulgen positività (Vardè 1931 [5]; Bauer 1933 [6]). Il contenuto in DNA è infatti molto elevato quando si origina e durante le mitosi differenziali, diminuisce sensibilmente quando l'ooite inizia l'accrescimento; mentre questa formazione si vacuolizza e si disgrega è dimostrabile nei suoi frammenti un tenore crescente di RNA, come se vi fosse la trasformazione di un nucleoprotide nell'altro, e ciò si può vedere sia con la colorazione con verde di metile-pironina e con la fotografia a 265 m $\mu$  (Urbani 1950 [7, 8]), che con la microscopia di fluorescenza su preparati colorati con arancio di acridina (Urbani e Russo-Caia 1964 [9]). L'impiego di precursori marcati del DNA e del RNA ha dato interessanti risultati per lo studio del metabolismo degli acidi nucleici della massa di Giardina (Urbani e Russo-Caia 1964 [9]).

Per ciò che concerne le cellule nutrici, anche queste vanno incontro a fenomeni di grande accrescimento e mantengono, almeno per un certo periodo di sviluppo, connessioni con l'ooite attraverso ponti citoplasmatici; il nucleo delle cellule nutrici aumenta fortemente di volume per un continuo succedersi di endomitosi ed è sempre fortemente Feulgen positivo al contrario

(\*) Lavoro eseguito presso l'Istituto di Anatomia comparata « G. B. Grassi » e la Cattedra di Istologia ed Embriologia della Facoltà di Scienze, Università di Roma. Gruppo di ricerca per l'Embriologia del C.N.R.

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

della vescicola germinativa la quale è Feulgen negativa e mostra solo presenza di RNA. Con particolari accorgimenti nella esecuzione della reazione di Feulgen è possibile rivelare una debole Feulgen positività soltanto a livello dei cromosomi nella vescicola germinativa (Bauer 1933 [6]).

Alcuni Autori, affrontando il problema dei rapporti funzionali tra cellule nutrici ed oocite, hanno descritto un passaggio di materiali dalle une all'altro (Günthert 1910 [3]; Nusbaum-Hilarowicz 1918 [10]), ma questo fenomeno è tutt'altro che chiaro ed evidente, almeno a livello della microscopia ottica (Urbani 1950 [7,8]). Un fatto che invece è risultato da un accurato esame di questo materiale è il passaggio di granuli molto piccoli dal nucleo delle cellule nutrici nel citoplasma: questi granuli sono Feulgen positivi (figg. 1, 2 e 3), mostrano la presenza di DNA in microscopia di fluorescenza e si marciano con timidina H<sup>3</sup> (Urbani e Russo-Caia 1964 [9]).

Già Günthert (1910 [3]) e Nusbaum-Hilarowicz (1918 [10]) avevano visto dei granuli citoplasmatici che avevano interpretato di origine nucleare, (cromidi): le osservazioni qui ricordate mostrano la presenza di DNA nei granuli stessi e attività metaboliche tipiche dell'acido desossiribonucleico, come l'incorporazione di timidina.

Allo scopo di analizzare, ad un differente livello, questo fenomeno, che per le sue caratteristiche si accosta a fatti descritti in altri materiali e che dimostrano la presenza di DNA nel citoplasma (Schrader e Leuchtenberger 1951 [11], Lima de Faria 1962 [12]; Brachet e Quertier 1963 [13]), abbiamo intrapreso uno studio delle cellule nutrici di *Dytiscus marginalis*, al microscopio elettronico. In questa Nota riferiamo sui primi risultati ottenuti.

Gli ovaroli sono stati fissati in OsO<sub>4</sub> al 2 % in tampone fosfato 0,2 M (Millonig 1963 [14]), ed inclusi in metacrilato od in Vestopal W; le sezioni sono state eseguite con l'Ultratome LKB, colorate con idrossido di piombo (Karnovsky 1961 [15]) e fotografate con il microscopio elettronico Hitachi HU-11.

Il nucleo delle cellule nutrici appare ricco di zolle, alcune a struttura granulare assai compatta, altre con una struttura piuttosto filamentosa e più lassa. Un materiale opaco è addensato a livello della membrana nucleare, e sembra passare dal nucleo al citoplasma, dove si raccoglie in masse più compatte, del diametro di 0,3-0,6  $\mu$ . Intorno a queste masse si affollano i mitocondri (figg. 4 e 5).

Queste immagini, che suggeriscono un passaggio di sostanze dal nucleo al citoplasma, sono state osservate soltanto in alcune zone della superficie nucleare, ed i granuli citoplasmatici, intorno ai quali si raccolgono i mitocondri, sono presenti soltanto nella zona perinucleare.

Negli oociti manca ogni immagine paragonabile a quelle descritte per le cellule nutrici.

Il passaggio di materiale dal nucleo al citoplasma è stato descritto, al microscopio elettronico, nelle cellule nutrici dell'ovaio di un emettero (*Rhodnius*), da Anderson a Beams (1956 [16]), ma in questo caso si trattava di un materiale Feulgen negativo, e non sono stati osservati particolari rapporti

con i mitocondri. In *Blatta*, Gresson e Threadgold (1962 [17]) hanno osservato il passaggio dal nucleo al citoplasma, di materiale di origine nucleolare, contenente RNA, e l'associazione di questo materiale con i mitocondri.

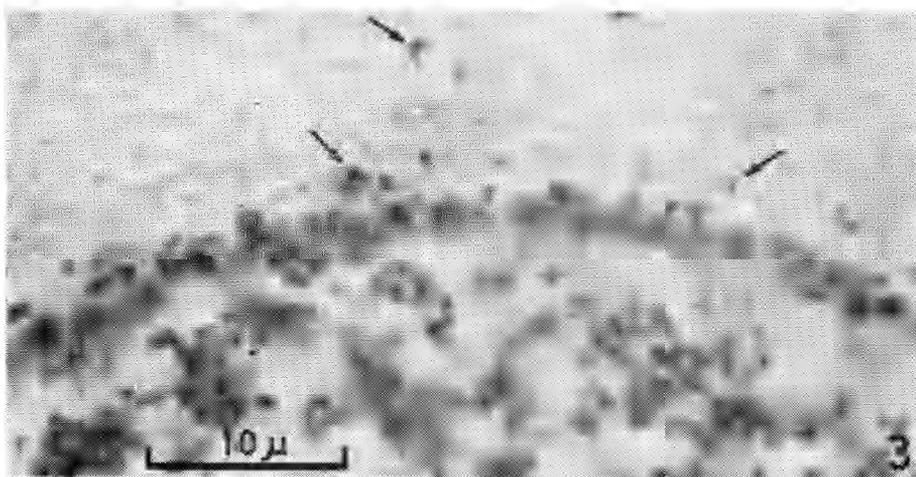
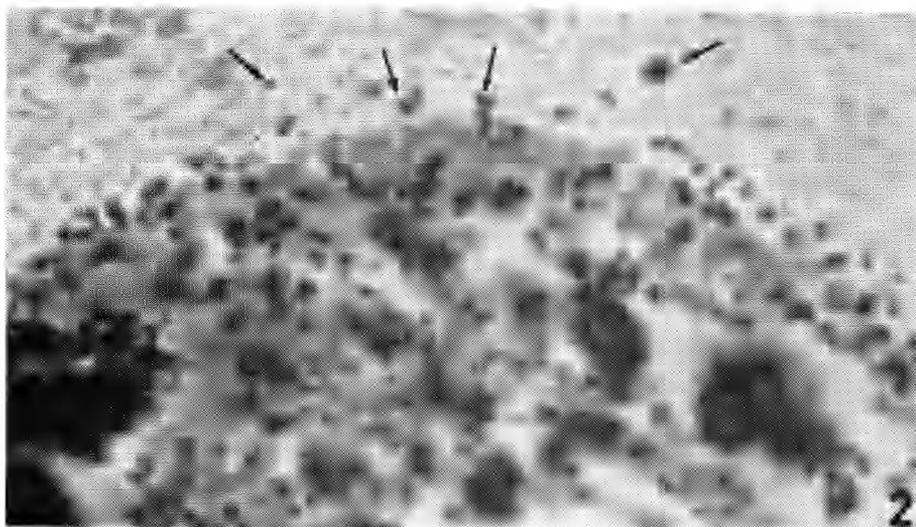
Nei giovani oociti degli Anfibi, l'estrusione di materiale attraverso i pori della membrana nucleare ed il raccogliersi di questo materiale in masse circondate dai mitocondri è un fenomeno assai cospicuo (Ornstein 1956 [18]; Lanzavecchia 1962 [19]; Balinsky e Devis 1963 [20]) e molto simile a quello, descritto in questa Nota, delle cellule nutrici dell'ovaio del Ditisco.

Anche negli Anfibi però, questo materiale sembra Feulgen negativo (Ornstein 1956 [18]).

Questa manifestazione morfologica delle relazioni tra nucleo e mitocondri è stata messa in relazione con il grande aumento numerico degli elementi del condrioma, durante la maturazione degli oociti (Lanzavecchia 1962 [19]; Balinsky e Devis 1963 [20]).

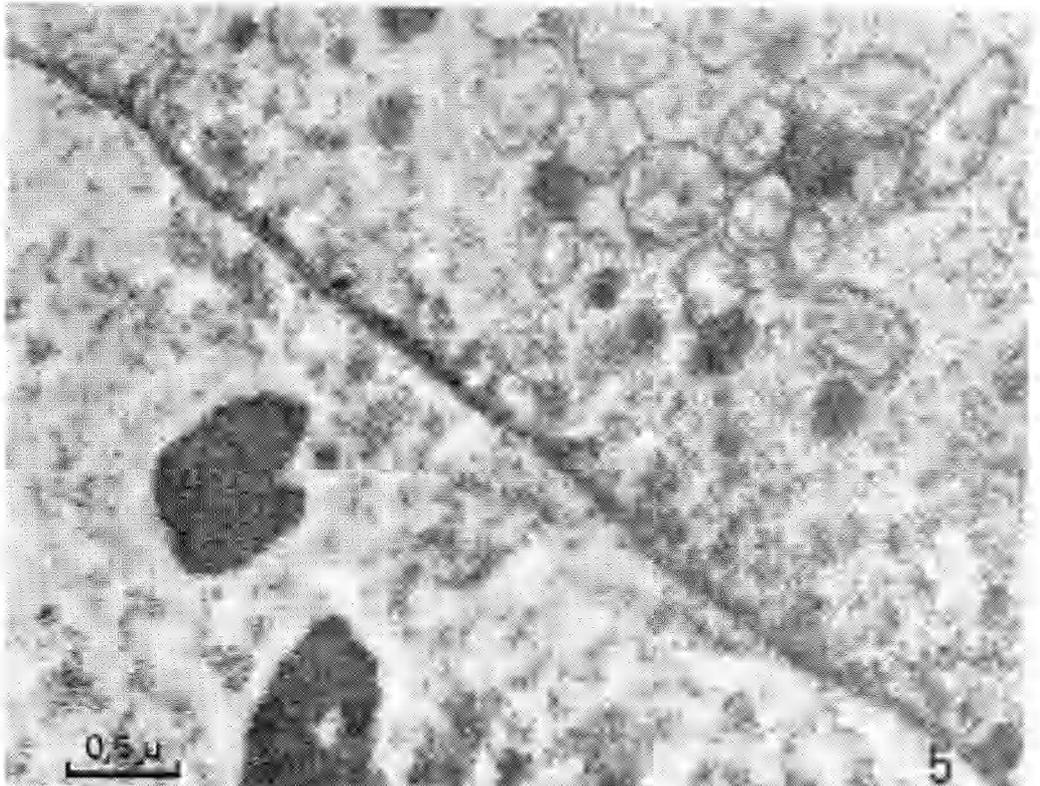
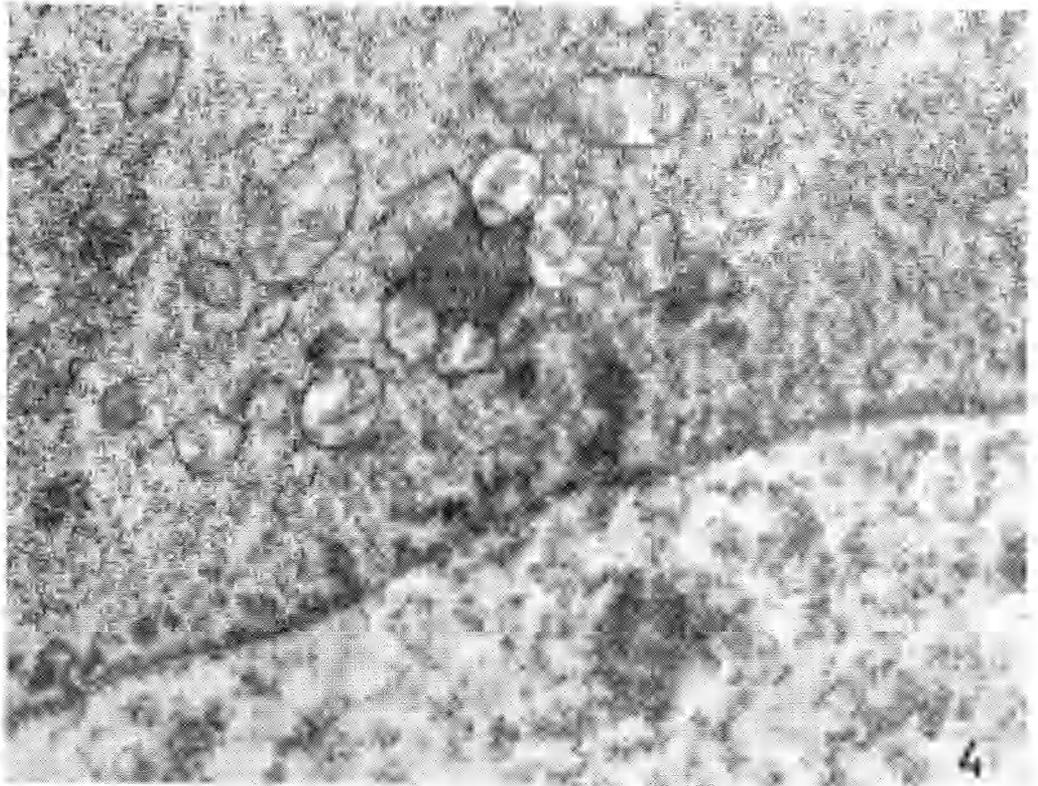
#### BIBLIOGRAFIA.

- [1] A. GIARDINA, « Intern. Monat. für Anat. und Physiol. », 18, 417 (1901).
- [2] P. DEBAISIEUX, « La Cellule », 25, 207 (1909).
- [3] T. GÜNTHER, « Zool. Jahrb. Anat. », 30, 301 (1910).
- [4] E. B. WILSON, *The Cell in Development and Heredity*, New York, Mac Millan (1925).
- [5] V. P. VARDÉ, « Année Biologique », 6, 640 (1931).
- [6] H. BAUER, « Zeitschr. für Zellf. », 18, 264 (1933).
- [7] E. URBANI, « Rend. Acc. Naz. Lincei », 8, 504 (1950).
- [8] E. URBANI, « Riv. di Biol. », 42, 413 (1950).
- [9] E. URBANI e S. RUSSO-CAIA, *in stampa* su « Rend. Ist. Sci. Camerino ».
- [10] J. NUSBAUM-HILAROWICZ, « Zeitschr. wiss. Zool. », 117, 554 (1918).
- [11] F. SCHRADER e C. LEUCHTENBERGER, « Exp. Cell Res. », 3, 136 (1952).
- [12] A. LIMA DE FARIA, *Progress in Biophysics*, vol. 12, p. 281, Pergamon Press (1962).
- [13] J. BRACHET e J. QUERTIER, « Exp. Cell Res. », 32, 410 (1963).
- [14] G. MILLONIG, *Riassunti delle comunicazioni, Simposio di Microscopia Elettronica, Università di Modena* (1963).
- [15] M. J. KARNOVSKY, « Biophys. Biochem. Cytol. », 11, 729 (1961).
- [16] E. ANDERSON e H. W. BEAMS, « J. Biophys. Biochem. Cytol. », 2 Suppl., 439 (1956).
- [17] R. A. R. GRESSON e L. T. THREADGOLD, « Quart. J. Micr. Sci. », 103, 141 (1962).
- [18] L. ORNSTEIN, « J. Biophys. Biochem. Cytol. », 2 Suppl., 351 (1956).
- [19] G. LANZAVECCHIA, *5th. Int. Congress for Electron Microscopy*, Philadelphia, S. S. Breese Ed., WW 13, Academic Press, New York, London (1962).
- [20] B. I. BALINSKY e R. J. DEVIS, « Acta Embryol. Morphol. Exp. », 6, 55 (1963).



Figg. 1, 2 e 3. - Nuclei di cellule nutritici.

Fissazione alcool acetico 3:1, sezioni di 7 $\mu$ , reazione di Feulgen, verde luce. Sono visibili granuli Feulgen positivi ( $\uparrow$  nel citoplasma perinucleare.



Figg. 4 e 5. - Nuclei di cellule nutrici.

A livello della membrana nucleare è addensata una sostanza opaca, che sembra passare nel citoplasma e raccogliersi in granuli densi, intorno ai quali si affollano i mitocondri ( $\times 29.000$ ).