
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

NUNZIA FARINELLA-FERRUZZA

Sullo sviluppo di uova «invecchiate» nelle Ascidie

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 39 (1965), n.5, p. 338–343.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1965_8_39_5_338_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/>

Embriologia sperimentale. — *Sullo sviluppo di uova « invecchiate » nelle Ascidie* (*). Nota di NUNZIA FARINELLA-FERRUZZA, presentata (**) dal Corrisp. P. PASQUINI.

INTRODUZIONE.

1. L'uovo dopo il suo distacco dall'ovario va incontro, se non viene fecondato, a una serie di cambiamenti che ne abbassano le capacità di sviluppo, fino al momento in cui esso non si sviluppa più. In termini generali questi cambiamenti sono indicati con la denominazione di « invecchiamento » dell'uovo, e come tali riportati ai fenomeni di invecchiamento di tutte le cellule. Questa generalizzazione non aiuta però a risolvere il problema fondamentale dello sviluppo embrionale, e cioè che cosa è richiesto perché un organismo si sviluppi in modo normale.

L'importanza di questa indagine è dimostrata, tra l'altro, dal fatto che ad essa fu già dedicata l'attenzione dei primi embriologi sperimentali: Loeb [1], Pfüger [2]. In seguito, e dopo che i fatti più fondamentali furono stabiliti, la ricerca fu piuttosto tralasciata; non sembra tuttavia che, con lo sviluppo delle tecniche chimiche e microchimiche, non ci sia ulteriore margine di indagine.

I fatti stabiliti fin da tempi ormai lontani sulle uova invecchiate possono compendiarsi come segue: *a)* la vitalità dell'uovo diminuisce col tempo: ciò è dimostrato dal fatto che più tempo passa dall'epoca della deposizione e più difficilmente l'uovo diventa fecondabile; *b)* dalle uova invecchiate hanno origine organismi anomali; le anomalie sono più gravi quanto più le uova sono invecchiate: esse non sono specifiche e sono a carico di tutti gli organi e sistemi; *c)* nel caso degli Anfibi vengono spostate le percentuali dei sessi, con produzione di maschi anche al 100%.

2. È naturale che si sia cercato di collegare questi fatti con delle modificazioni fisico-chimiche dei costituenti dell'uovo: ma nonostante le numerose ricerche al riguardo i risultati sono stati scarsi [3]. Queste modificazioni sono talvolta rilevanti ma è il loro esatto significato che sfugge: esse riguardano la permeabilità, l'indice di rifrazione, la viscosità: a loro volta esse sono connesse con una modificazione più generale dello stato colloidale. A questa modificazione colloidale si è voluto dare particolare significato. Ogni colloide spontaneamente « invecchia »: le particelle disperse tendono ad aggregarsi, a formare dei complessi meno dispersi; la fase liquida e la fase

(*) Lavoro eseguito presso l'Istituto di Zoologia dell'Università di Palermo, sotto la direzione del prof. Giuseppe Reverberi.

(**) Nella seduta del 13 novembre 1965.

solida tendono a separarsi; la deidratazione favorisce l'aggregazione. Tutto deve sicuramente verificarsi anche nell'uovo che invecchia; perché, però, ciò sia causa di anomalie in un organismo che da esso si sviluppi, non è chiaro.

3. Le ricerche sull'invecchiamento delle uova sono state compiute sulle uova degli Invertebrati marini, e soprattutto nel riccio di mare; però un notevole contributo è venuto anche dallo studio delle uova degli Anfibi.

Nell'uovo di riccio di mare [4-7] l'invecchiamento produce a seconda della gravità: polispermia, segmentazione anomala, arresto di sviluppo, anomalie generali; l'uovo perde il coat gelatinoso, diviene facilmente agglutinabile e talvolta le uova si fondono insieme; i blastomeri si separano a causa, evidentemente, della perdita del « cemento » che le collega, e infine segue la citolisi.

Nel caso dell'uovo di Anfibi, un invecchiamento prolungato (facendo soggiornare le uova per 5-6 giorni negli uteri) causa diminuzione delle uova fecondate e arresto di sviluppo; un invecchiamento meno forte porta alla formazione di embrioni più o meno anomali, con escrescenze, tumori ecc. [8-12, 13]. Anche nel caso dell'uovo di Anfibi la ricerca delle cause responsabili delle anomalie morfologiche non ha dato molti frutti. Le recenti ricerche di Witschi [11] che riferiscono queste anomalie a dissesti cromosomici sono molto convincenti.

Nelle Ascidie una ricerca sull'invecchiamento non sembra essere stata compiuta: è sembrato perciò utile ampliare le conclusioni dedotte da altri studi con una ricerca condotta sopra di esse.

MATERIALE E TECNICA.

Per questa ricerca furono usate uova di *Ascidia malaca*, *Phallusia mammillata* e *Ciona intestinalis*. Le uova, prelevate dagli ovidutti, furono lasciate soggiornare in acqua di mare per 24, 48, 72, 96 ore. Dopo il soggiorno esse furono fecondate con sperma fresco e ne fu seguito lo sviluppo.

Furono annotate le modificazioni dell'aspetto delle uova, la loro fecondabilità, le percentuali di sviluppo normale per ogni singola categoria, le anomalie morfologiche.

Le uova venivano fatte soggiornare a temperatura ambiente (18-20°C). L'acqua veniva ad esse cambiata ogni giorno e ciò allo scopo di evitare infezione batterica. In ogni caso veniva usata acqua filtrata su candela e pastorizzata.

RISULTATI.

A) *Modificazioni dell'aspetto esterno delle uova.*

Con l'aumentare del tempo di soggiorno nell'acqua le uova vanno soggette a numerose modificazioni. Una di queste è data dal distacco in *Ciona* e *Phallusia* delle cellule follicolari: a seguito di ciò l'uovo rimane avvolto esclusivamente dal *chorion* e dalle cellule testali.

Un'altra modificazione è data dal cambiamento di trasparenza; ciò è più evidente nelle uova di *Phallusia* e di *A. malaca* che sono trasparenti, dato che con la citolisi il plasma ovulare diviene bruno ed opaco. Ciò è forse dovuto a disidratazione perché col soggiorno in acqua l'uovo si va riducendo sempre più in volume e si distacca sempre più dal *chorion*. Questa disidratazione apporta una modificazione della struttura citoplasmatica (molto evidente nell'uovo di *Ascidia malaca* e di *Phallusia*) la quale diviene, infatti, grossolana e reticolata. È probabile che con l'acqua anche altre sostanze vadano perdute dall'uovo. Una modificazione importante di notevole valore è quella del *cortex* come è dimostrato dal fatto che l'uovo se fu in precedenza liberato dei suoi involucri si dimostra adesivo: dopo un soggiorno di 48-72 ore, le uova nude, se vengono a contatto si uniscono insieme e talora riescono a fondersi dando uova giganti. L'adesività si nota però anche nelle uova provviste di membrane.

B) Fecondabilità delle uova.

Questa diminuisce col tempo (fig. 1): le uova di *Ciona* la perdono completamente dopo 48 ore; le uova di *A. malaca* dopo 72 e quelle di *Phallusia* dopo 96 ore. Questa resistenza maggiore probabilmente è da riportare agli

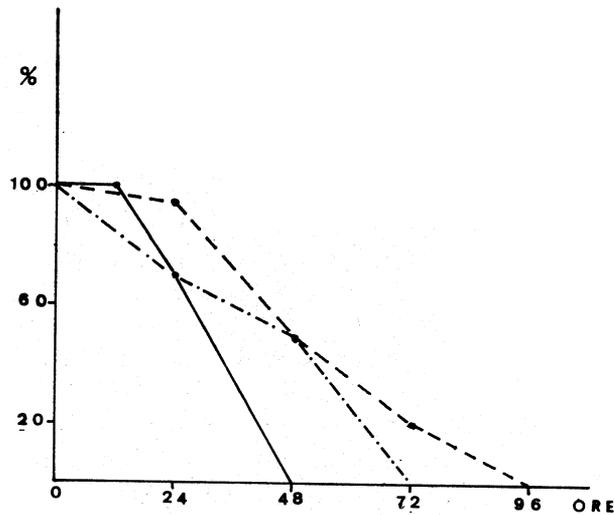


Fig. 1. - Rappresentazione grafica dell'andamento nel tempo della percentuale di fecondabilità per ogni specie.

— *Ciona intestinalis*;
 *Ascidia malaca*;
 - - - - *Phallusia mamillata*.

involucri, la cui costituzione in *Ciona* e nelle altre due specie di Ascidiè è diversa. In *Ciona* sono meno compatti e sono disciolti facilmente con la tripsina, quelli invece di *A. malaca* e di *Phallusia* non sono attaccabili alla tripsina.

Lo spermio nel caso che entri nell'uovo produce, come può osservarsi sulle uova previamente demembrate, le modificazioni corticali tipiche della fecondazione: vengono emessi i globuli polari, le uova si segmentano. La segmentazione spesso è ritardata: talvolta alla seconda divisione si hanno di colpo 3 blastomeri anziché 4: ciò è dovuto probabilmente a dispermia, la quale non sembra rara.

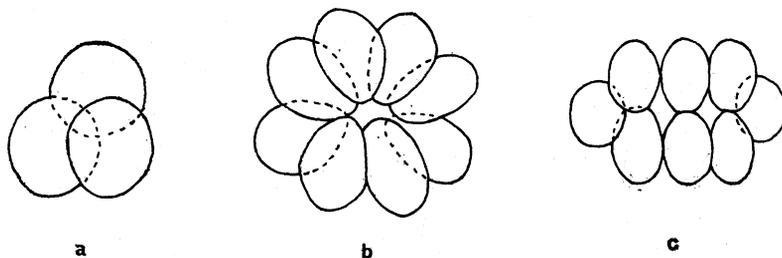


Fig. 2. - Alcuni stadi di segmentazione anomala: a) prima divisione; b) e c) terza divisione.

Il pattern di segmentazione non è modificato: la segmentazione è spesso anomala, come può vedersi in fig. 2, ma non si è riscontrata una modificazione sistematica.

Nelle uova che hanno soggiornato 48, 72 ore, lo sviluppo si arresta precocemente e non si ottiene mai una larva normale.

C) *Le anomalie delle larve.*

Il numero delle larve normali che si hanno dalle diverse categorie di uova invecchiate già dopo 24 ore di soggiorno in acqua è ridotto al 70 e anche al 50%. La percentuale va diminuendo sempre più col tempo.

Molte larve sono anomale. In fig. 3 sono riportate larve con anomalie leggere: come si vede esse posseggono tutti i sistemi organici, solo che questi sono abnormi; spesso si nota fusione di palpi e di organi di senso e storture più o meno gravi della coda. Non si sono potute riscontrare anomalie organo-specifiche. Queste anomalie sono probabilmente da attribuire a spostamenti di blastomeri alla gastrulazione. Le larve con anomalie più gravi sono riportate in fig. 4. Come si vede esse mancano di coda e sono ridotte ad ammassi più o meno informi, provvisti, in qualche caso, di macchie pigmentate in superficie.

D) *Fusione di uova.*

Come fu sopra indicato le uova nude (di *A. malaca* dopo un soggiorno di 48 ore) si dimostrano adesive e se sono a contatto possono fondersi dando uova giganti. Questa situazione è stata colpita in atto più di una volta.

La fecondazione di alcune uova doppie ha avuto esito positivo: si sono osservate le modificazioni morfologiche tipiche; e si è constatata la emissione su regioni corticali diverse dei globuli polari. Al riguardo va ricordato che l'uovo di *Ascidie* pronto ad essere fecondato possiede il nucleo in stato

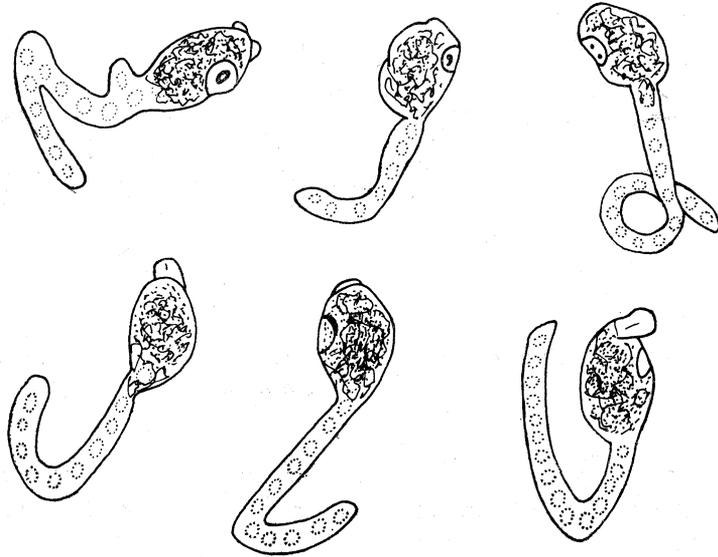


Fig. 3. - Larve leggermente anomale.

metafasico in preparazione alla emissione del primo globulo polare: le uova doppie devono dunque possedere due fusi metafasici e devono emettere 4 globuli polari: ciò di fatto fu osservato.

È possibile che le uova doppie siano fecondate da due spermii; ma forse l'entrata di un solo spermio è la regola. Nel primo caso le uova dovrebbero essere tetraploidi, nel secondo triploidi.

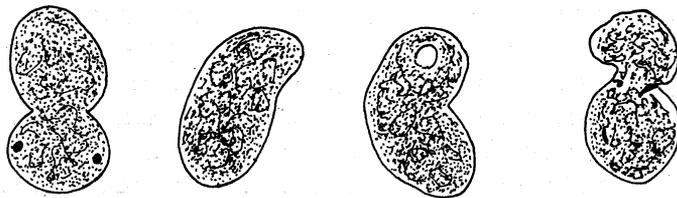


Fig. 4. - Larve fortemente anomale.

Il fatto più importante è che queste uova doppie sono capaci di svilupparsi; fu riscontrata in esse una segmentazione a pattern normale, come di uova uniche più grandi delle altre: formarono micromeri allo stadio 16, riuscirono a gastrulare.

Trattandosi di uova invecchiate di 48, 72 ore il loro sviluppo si arrestò dopo la gastrulazione.

Non è escluso, però, che possano ottenersi, nei casi migliori, delle larve: in questo caso, dato che le uova vergini di *Ascidie* sono dei sistemi equipotenziali, è da aspettarsi la formazione di larve normali giganti.

DISCUSSIONE.

Le manifestazioni che accompagnano l'invecchiamento delle uova di *Ascidie* non sono diverse da quelle che sono state descritte su altro materiale. Dal punto di vista embriologico il fatto veramente saliente di questa situazione di invecchiamento è rappresentato dalla comparsa di anomalie morfologiche tanto più gravi quanto più prolungato fu l'invecchiamento.

A che cosa esse sono dovute ?

Per quanto concerne i primi stadi di sviluppo, a parte le uova che non sono fecondate, sembra che essi non siano molto colpiti: l'uovo, riesce a dividersi e né il ritmo mitotico né il pattern vengono modificati; l'uovo « invecchiato » non si sviluppa neppure più lentamente dell'uovo normale, come forse avrebbe potuto supporre. Nei casi più gravi lo sviluppo si arresta, però anche qui uno studio critico non è stato individuato: lo sviluppo può arrestarsi a tutti gli stadi. Può darsi che le cause delle anomalie debbano riportarsi alle modificazioni fisico-chimiche che si riscontrano sempre nell'uovo invecchiato e morente; ma forse la causa vera ed unica di tutte le anomalie, dalle più gravi alle più leggere, è dovuta a delle anomalie cromosomiche, come negli Anfibi, recentemente, Witschi [14] ha mostrato.

Witschi, nelle uova invecchiate degli Anfibi ha descritto cromosomi di varia forma.

È probabile che le condizioni di disidratazione, di aumentata viscosità, di abbassamento del metabolismo generale dell'uovo, influiscono sulla struttura dei cromosomi e ne causino delle anomalie; queste a loro volta sarebbero responsabili delle anomalie morfologiche. Purtroppo le *Ascidie* non costituiscono il materiale più indicato per una ricerca a livello cromosomico.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] J. LOEB, « J. Exp. Zool. », 15, 201 (1913).
- [2] E. PFÜGER, « Arch. ges. Phys. », 26, 76 (1882).
- [3] J. RÜNNSTROM, « Advances in Enzymology », 9, 246 (1949).
- [4] A. GOLDFARB, « Biol. Bull. », 34, 372 (1918).
- [5] A. GOLDFARB, « Biol. Bull. », 57, 350 (1929).
- [6] A. GOLDFARB, « Biol. Bull. », 68, 180 (1935).
- [7] A. GOLDFARB, « Physiol. Zool. », 10, 59 (1937).
- [8] E. WITSCHI, « Arch. Mikr. Anat. », 85, 9 (1914).
- [9] E. WITSCHI, « Arch. Entwicklunsmech. Organ. », 49, 316 (1921).
- [10] E. WITSCHI, « Proc. Soc. Exp. Biol. Med. », 31, 49 (1934).
- [11] E. WITSCHI, « Devel. Biol. », 7, 605 (1963).
- [12] E. WITSCHI, « Cancer Res. », 12, 763 (1952).
- [13] K. MIKANO, « Sc. D. Thesis Hokkorido » (1961).