
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

EMMA FACCHINI PAJETTA, GIULIO LANZAVECCHIA

Ultrastruttura degli oociti di *Carassius auratus* Linn. durante la vitellogenesi

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 41 (1966), n.5, p. 368–373.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1966_8_41_5_368_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/>

Zoologia. — *Ultrastruttura degli oociti di Carassius auratus Linn. durante la vitellogenesi* (*). Nota (**) di EMMA FACCHINI PAJETTA e GIULIO LANZAVECCHIA, presentata dal Corrisp. S. RANZI.

SUMMARY. — The electron microscopic observations of oocytes of *Carassius auratus* Linn. during vitellogenesis are here reported.

The yolk globules, which appear to be polymorphous and which contain substances having different electron opacity, seem to derive from different cytoplasmic organula.

The cytoplasm changes during vitellogenesis and the growth of the cortical envelopes are briefly described.

In una Nota precedente sono stati descritti gli aspetti ultrastrutturali degli oociti in fase previtellogenetica di *Carassius auratus* Linn. In questa Nota vengono descritte le modificazioni che si possono osservare negli oociti di tale pesce durante la formazione del vitello, sia a carico del citoplasma che degli involucri corticali.

MATERIALI E METODI.

Per le tecniche di microscopia elettronica, vedi Nota precedente (Facchini Pajetta e Lanzavecchia, 1966).

Gli oociti utilizzati in questa ricerca hanno diametro compreso tra 50 e 300 μ .

Le osservazioni al microscopio ottico sono state eseguite su materiale incluso in metacrilato, da cui sono state ottenute sezioni semifini di spessore variabile tra 0,2 e 1 μ , colorate secondo varie tecniche.

OSSERVAZIONI.

L'aspetto degli oociti in periodi successivi della vitellogenesi è illustrato nelle figg. 1, 2 e 3 (Tav. I).

All'inizio del processo vitellogenetico il citoplasma si colora intensamente con i coloranti basici ed all'osservazione ultrastrutturale mostra un grande numero di ribosomi sia liberi, sia disposti sulle pareti di ampie e numerose cisterne che costituiscono una sorta di ergastoplasma che si accresce parallelamente all'aumento dimensionale dell'oocita stesso (Tav. III, fig. 8). L'aumento dell'ergastoplasma dipende tuttavia in parte dal fatto che i globuli vitellini sempre più grandi tendono a comprimere le aree citoplasmatiche e quindi a concentrare le cisterne del reticolo.

I corpi di Golgi sono piuttosto numerosi, ed all'inizio della vitellogenesi si osservano prevalentemente alla periferia; in seguito si diffondono in tutto

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia dell'Università di Milano (Sezione di Microscopia elettronica « Fondazione C. Erba ») dal Gruppo di ricerca per l'Embriologia del C.N.R.

(**) Pervenuta all'Accademia il 14 ottobre 1966.

il citoplasma e mostrano relazioni topografiche molto strette con i globuli di vitello. Questi presentano un curioso aspetto polimorfo: sono delimitati da una membrana e nell'interno contengono un materiale disorganizzato costituito da sottili filamenti o granuli di dimensioni non precisabili disposti a formare delle zone di diversa densità e struttura (Tav. I, fig. 4). In linea di massima si osserva del materiale di alta densità elettronica in seno al quale si rinvenivano delle sferule di varie dimensioni formate da un intreccio molto lasso di filamenti osmiofili (Tav. II, fig. 5; Tav. IV, fig. 10). Il materiale più denso a sua volta può suddividersi in aree di differente opacità nettamente delimitate tra loro, sebbene non separate da membrane a struttura definita. Quest'ultimo aspetto è soprattutto caratteristico dei globuli vitellini di maggiori dimensioni nei quali inoltre le sferule di materiale più chiaro diventano sempre più grandi e numerose. Si ha l'impressione che ciascun globulo vitellino sia costituito da distinte sostanze non miscibili tra di loro in quanto occupano parti diverse nettamente delimitate, sebbene non separate da una membrana. Le osservazioni istochimiche al microscopio ottico permettono di trarre alcune conclusioni circa la probabile natura delle diverse sostanze all'interno dei globuli vitellini; gli unici risultati concreti tuttavia si sono ottenuti utilizzando sezioni semifini di oociti inclusi in metacrilato, il che non ha permesso di effettuare determinate colorazioni. Le osservazioni istochimiche condotte seguendo le tecniche correnti non hanno permesso per contro di distinguere tra le diverse parti dei globuli vitellini e quindi non sono utilizzabili in questa ricerca.

Le parti dense agli elettroni non presentano qualitativamente differenti reazioni con i coloranti impiegati, ma si possono distinguere per una diversa intensità nella colorazione stessa.

I risultati ottenuti con diverse colorazioni sono elencati nella Tabella I. Sembra di poter concludere che le sferule chiare al microscopio elettronico siano composte da mucopolisaccaridi acidi, mentre le diverse fasi della matrice densa agli elettroni dovrebbero essere costituite in prevalenza da glicoproteine. Una certa difficoltà nella interpretazione di questi risultati deriva tuttavia dal fatto che le reazioni cromatiche su materiale incluso in metacrilato non sembrano sempre corrispondere esattamente a quelle che si ottengono su materiali allestiti appositamente per ogni reazione specifica.

L'origine di tali globuli vitellini è di difficile interpretazione e certamente composita. In *Lebistes* Droller e Roth (1966) hanno dimostrato la presenza di numerose vescicole di pinocitosi sul cortex. Queste andrebbero a costituire dei tubuli che si affondano nel citoplasma e dalla cui confluenza si originerebbero le gocce di vitello proteico. Un fenomeno analogo è stato descritto da Favard-Sérénio (1964) in *Grillus* e da Roth e Porter (1964) in *Aedes aegypti*. Sempre in *Lebistes* tuttavia Droller e Roth osservarono grosse gocce di deutoplasma formate a livello dell'apparato di Golgi. In *Carassius* la pinocitosi sul cortex è senz'altro un fenomeno di modesta entità, inoltre le vescicole non contengono materiale riconoscibile al microscopio elettronico (Tav. II, fig. 6; Tav. VI, figg. 16 e 17). Tuttavia quest'ultimo fatto potrebbe essere

la conseguenza di una solubilità delle proteine contenute in esse, che vanno quindi perdute durante il processo di allestimento del preparato. Si avrebbe cioè una condizione simile a quella descritta per gli Anfibi (Lanzavecchia, 1966).

TABELLA I.

	Sferule	Materiale denso agli elettroni
Mucicarminio	++	—
Verde luce	---	+++
Safranina	?	+
Ematossilina	---	++
Fucsina basica	++	---
Violetto di genziana	---	+++
PAS	---	++
Tionina	metacromatiche	non metacromatiche
Solfato blu Nilo	---	++
Orange G	++	---
Blu di toluidina	metacromatiche	non metacromatiche
Blu di metilene	metacromatiche	+—
Alcian blu	++	+

All'inizio della vitellogenesi in *Carassius* si osservano taluni piccoli corpi multivescicolari che possono essere correlati ad una delle fasi della deposizione del vitello (Tav. II, figg. 6 e 7). Infatti alcuni piccoli globuli vitellini contenenti del materiale finemente granulare ed opaco agli elettroni presentano alla periferia una corona irregolare di piccole vescicole simili a quelle dei corpi multivescicolari (Tav. II, fig. 5). Tuttavia a livello dei corpi di Golgi si osservano sempre delle vescicole sferiche di diametro assai variabile nell'interno delle quali si accumula un materiale filamentoso piuttosto lasso (Tav. III, fig. 9) che precocemente si distingue in due fasi di diversa densità elettronica (Tav. IV, figg. 10, 11 e 12), analogamente a quanto si verifica nei tipici globuli vitellini. Esistono numerose immagini che inducono a ritenere che tali formazioni possono fondersi tra di loro formando così globuli vitellini sempre più grandi (Tav. II, fig. 7; Tav. IV, fig. 10).

Un problema che non può essere risolto in tale sede si riferisce al luogo di sintesi del deutoplasma. Se infatti in linea di massima sembra dimostrato che le proteine del vitello sono sintetizzate al di fuori dell'ovaia, il citoplasma degli oociti di *Carassius* con il suo reticolo ruvido altamente sviluppato sembra avvicinarsi morfologicamente a quello degli oociti di gamberi del

genere *Orconectes*, *Cambarus* e *Procambarus* (Beams e Kessel, 1963) che sono considerati capaci di sintetizzare le proprie proteine di riserva.

All'inizio della vitellogenesi compaiono nel citoplasma delle strutture che generalmente si affiancano ai globuli vitellini e che non sono state descritte in altri materiali. Si tratta di ciuffi di tubuli (in gruppi varianti da 20 a 60) orientati parallelamente tra di loro ed a sezione quadrata: ciascun lato misura circa 230Å (Tav. V, figg. 13, 14 e 15). Internamente vi è del materiale di moderata densità elettronica. Non è possibile per il momento attribuire a tali strutture una qualsiasi funzione; per le loro dimensioni possono essere avvicinate ai microtubuli che si rinvencono in moltissimi tipi cellulari e che sono stati associati con la motilità citoplasmatica, ma differiscono nettamente da questi per la loro morfologia.

Durante l'accrescimento dell'oocita in fase vitellogenetica anche la membrana vitellina aumenta in spessore, inglobando i villi del cortex e venendo ad assumere l'aspetto di una lamina cribrosa. Quando tale membrana, di cui si è già parlato nella Nota precedente, ha raggiunto un certo spessore, ha inizio a contatto del cortex la deposizione di un secondo strato di materiale opaco agli elettroni (Tav. VI, fig. 16), che presenta una struttura filamentosa analoga a quella dello strato precedente. La direzione di tali filamenti tuttavia è pressapoco perpendicolare rispetto a quella del primo strato (Tav. VI, fig. 17). Questo secondo rivestimento sembra essere veramente una membrana vitellina in quanto risulta separata dalle cellule follicolari per mezzo dello strato esterno e quindi la deposizione del nuovo materiale sembra dover avvenire a spese dell'oocita. Tale membrana continua ad accrescersi durante la vitellogenesi (Tav. VI, fig. 18) fino a superare nettamente le dimensioni del primo strato, da cui resta separato per la presenza di un sottile intervallo otticamente vuoto. Entrambi gli strati presentano la medesima affinità per i coloranti istologici impiegati, sebbene quello più esterno appaia sempre più intensamente colorato, probabilmente a causa di una maggiore densità dei materiali che lo costituiscono.

BIBLIOGRAFIA.

- H. W. BEAMS e R. G. KESSEL, *Electron microscope studies on developing crayfish oocytes with special reference to the origin of yolk*, « J. Cell Biol. », 18, 621 (1963).
- M. J. DROLLER e T. F. ROTH, *An electron microscope study of yolk formation during oogenesis in *Lebistes reticulatus* Guppyi*, « J. Cell Biol. », 28, 209 (1966).
- E. FACCHINI PAJETTA e G. LANZAVECCHIA, *Morfologia ultrastrutturale degli oociti in fase previtellogenetica di *Carassius auratus* Linn.*, « Atti Acc. Naz. Lincei (Rend. Sci. fis. mat. nat.) », in corso di stampa.
- C. FAVARD-SÉRÉNO, *Phénomène de pinocytose au cours de la vitellogenèse protéique chez le grillon (*Orthoptera*)*, « J. Microscopie », 3, 323 (1964).
- G. LANZAVECCHIA, *Osservazioni sulla formazione e sulla demolizione del vitello negli Anfibi*, « Atti Acc. Naz. Lincei (Memorie Sci. fis. mat. nat.) », [8] 8, III, 3 (1966).
- T. F. ROTH e K. R. PORTER, *Yolk protein uptake in the oocyte of the mosquito *Aedes aegypti* L.*, « J. Cell Biol. », 20, 313 (1964).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-VI

TAVOLA I.

- Figg. 1, 2, 3. - Sezioni semifine di oociti a diversi stadi di sviluppo e vitellogenesi al microscopio ottico. È ben visibile la progressiva comparsa dei globuli vitellini in prossimità del cortex e la struttura composita che vanno assumendo. (Colorazione safranina) $\times 155$.
- Fig. 4. - Immagine a piccolo ingrandimento di globuli vitellini in un oocita in avanzata vitellogenesi. Sono riconoscibili le sferule (S) di materiale a bassa densità elettronica e la matrice polimorfa densa agli elettroni. $\times 5.500$.

TAVOLA II.

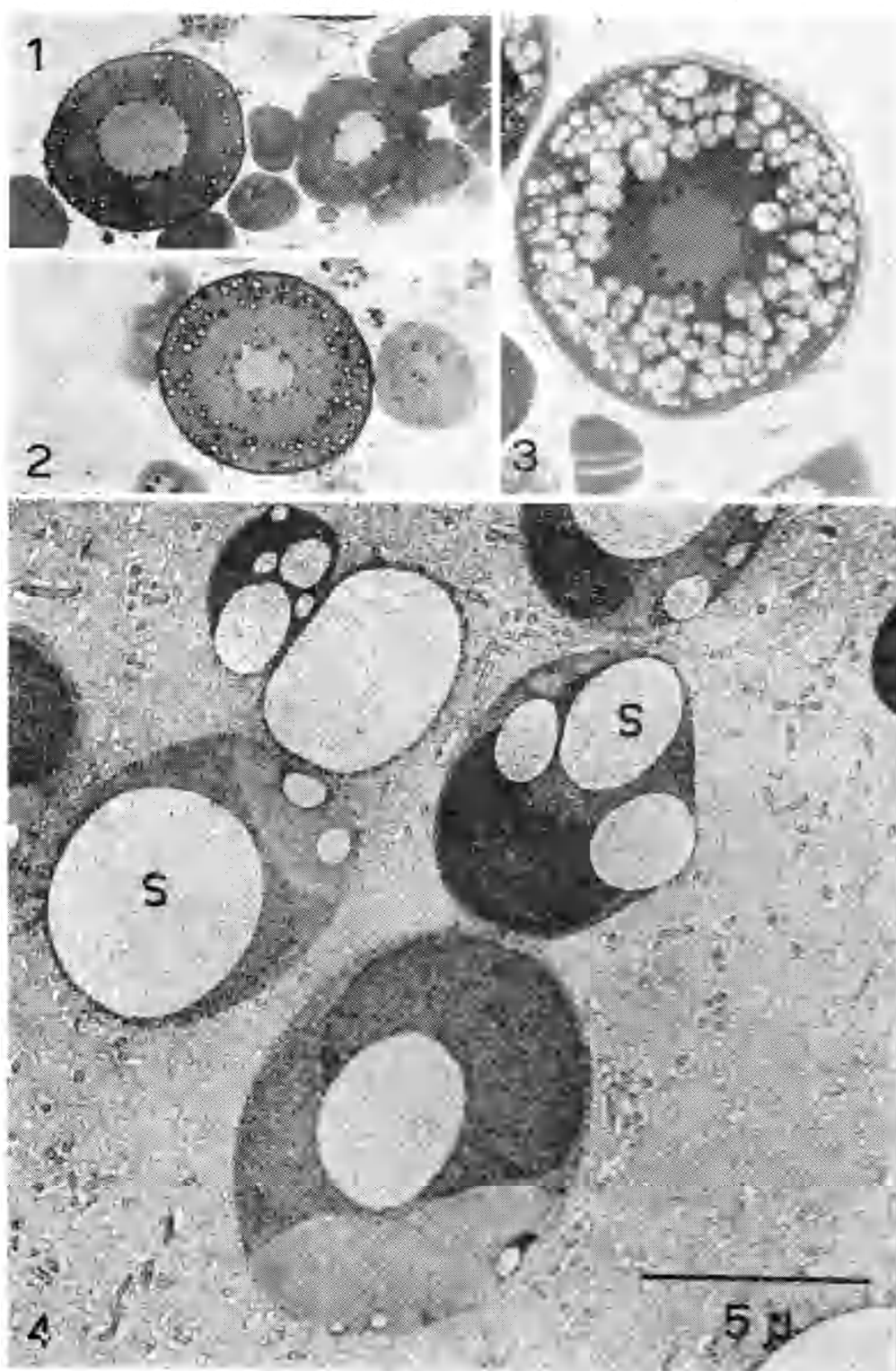
- Fig. 5. - Immagine di formazione di un globulo vitellino a partire da un presumibile corpo multivescicolare ($\nearrow$). Sulla sinistra è visibile una parte di un globulo vitellino perfettamente formato. S = sferule. $\times 11.500$.
Nell'inserto in alto a destra è visibile un particolare di un globulo vitellino in formazione con vescicole periferiche. $\times 46.000$.
- Fig. 6. - Oocita all'inizio della vitellogenesi. Corpi multivescicolari ($\nearrow$) nella zona corticale. Intorno ad essi ed in prossimità della membrana cellulare sono visibili vescicole di pinocitosi. M = membrana vitellina. $\times 42.000$.
- Fig. 7. - Globulo vitellino in via di formazione con sferule (S) chiare. Attorno ad esso vi sono vescicole di varie dimensioni con materiale di diversa densità elettronica ed un corpo multivescicolare. ($\nearrow$) $\times 18.500$.

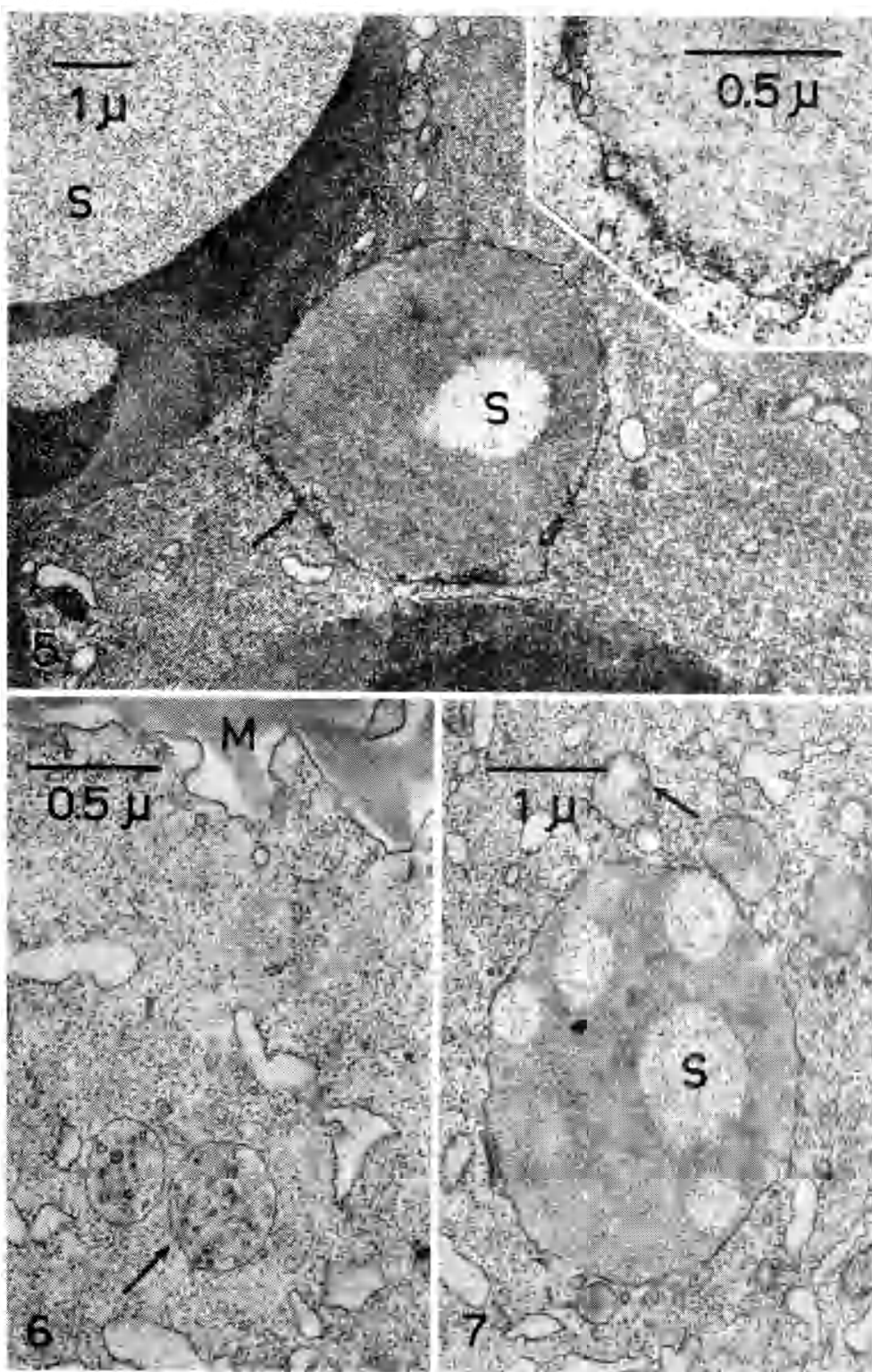
TAVOLA III.

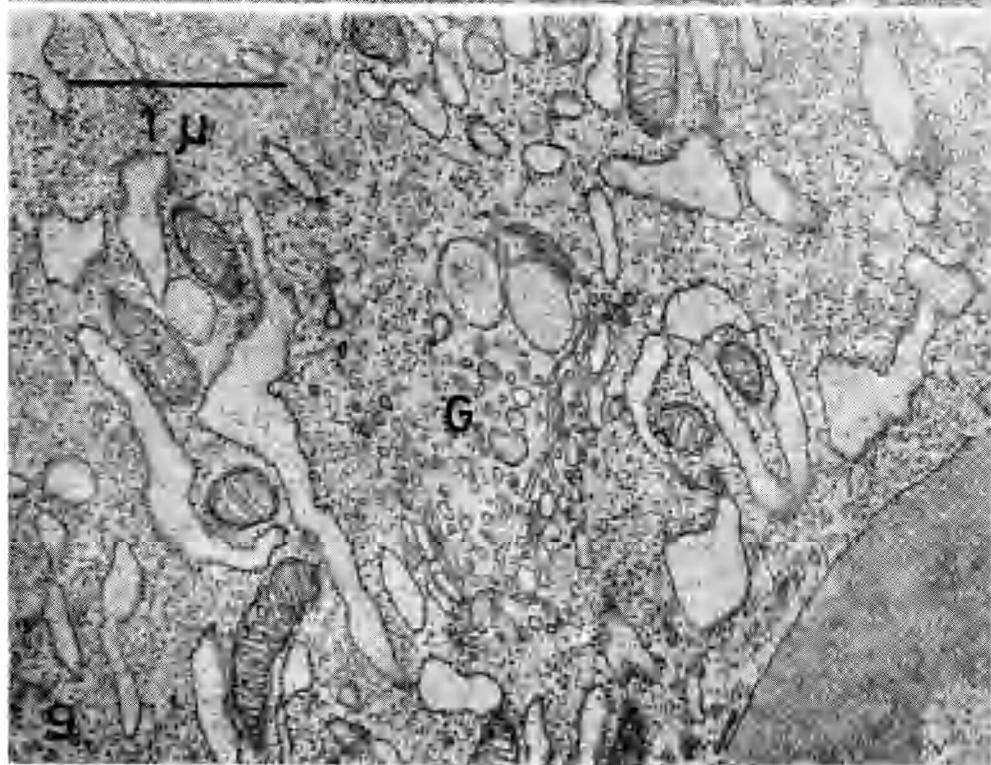
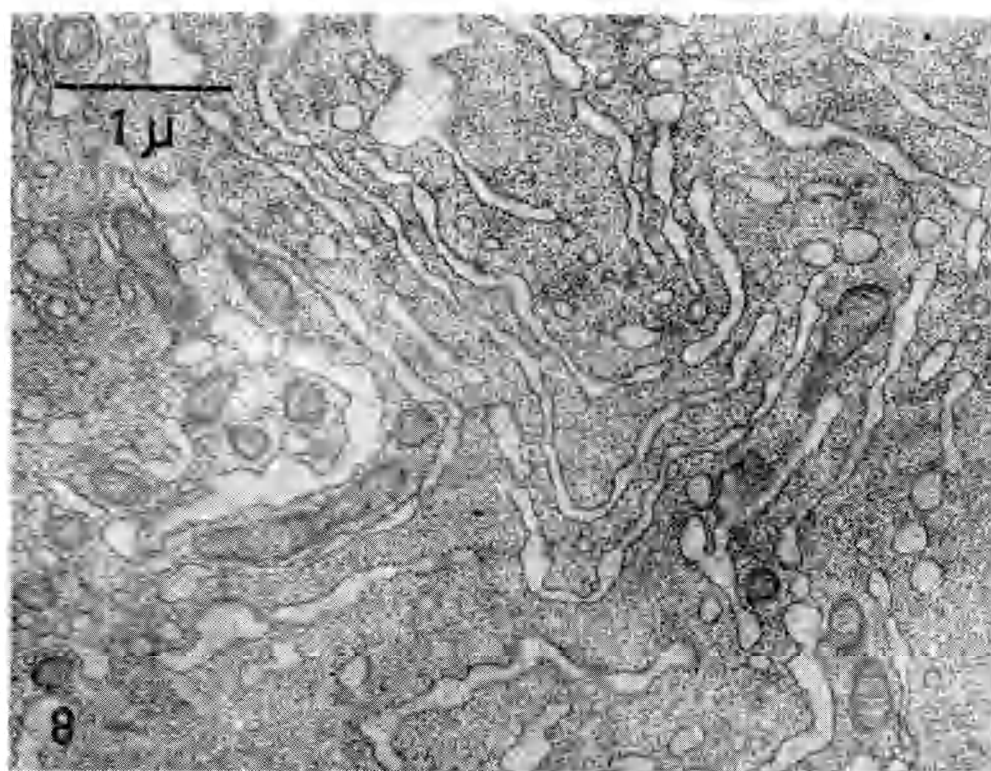
- Fig. 8. - Oocita in fase di vitellogenesi iniziale. Aspetto del citoplasma con reticolo ruvido ben sviluppato e numerosi ribosomi e mitocondri. $\times 23.000$.
- Fig. 9. - Corpo di Golgi (G). In rapporto ad esso si cominciano a formare delle vescicole che si possono mettere in rapporto alla formazione dei globuli vitellini. $\times 28.000$.

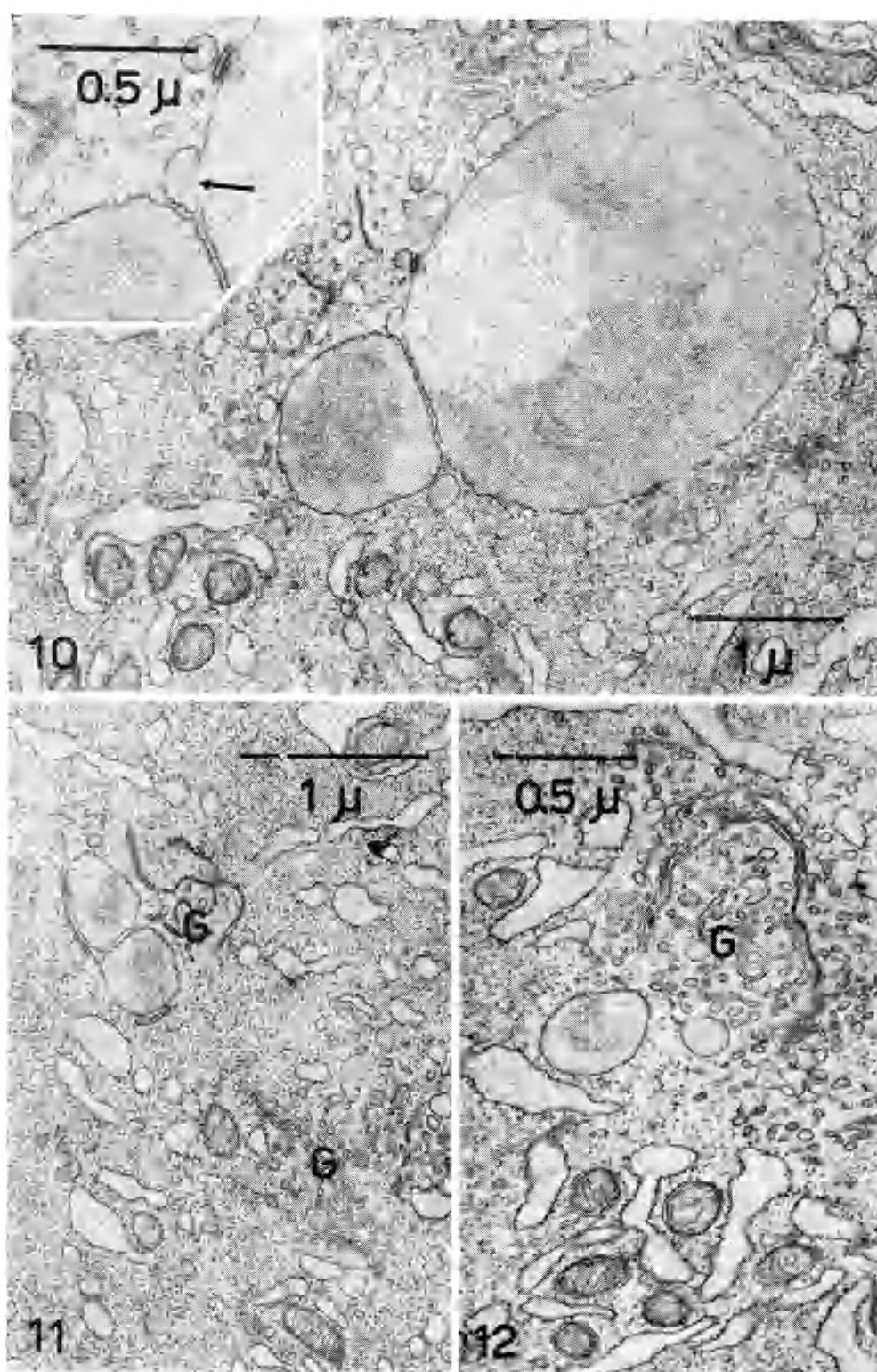
TAVOLA IV.

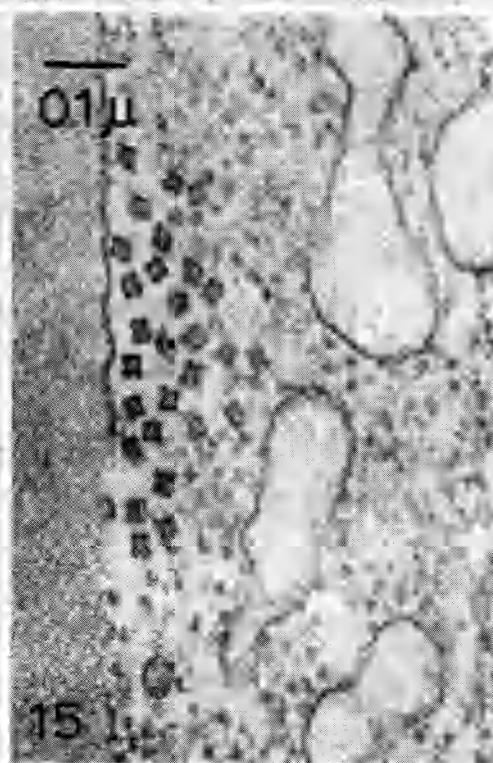
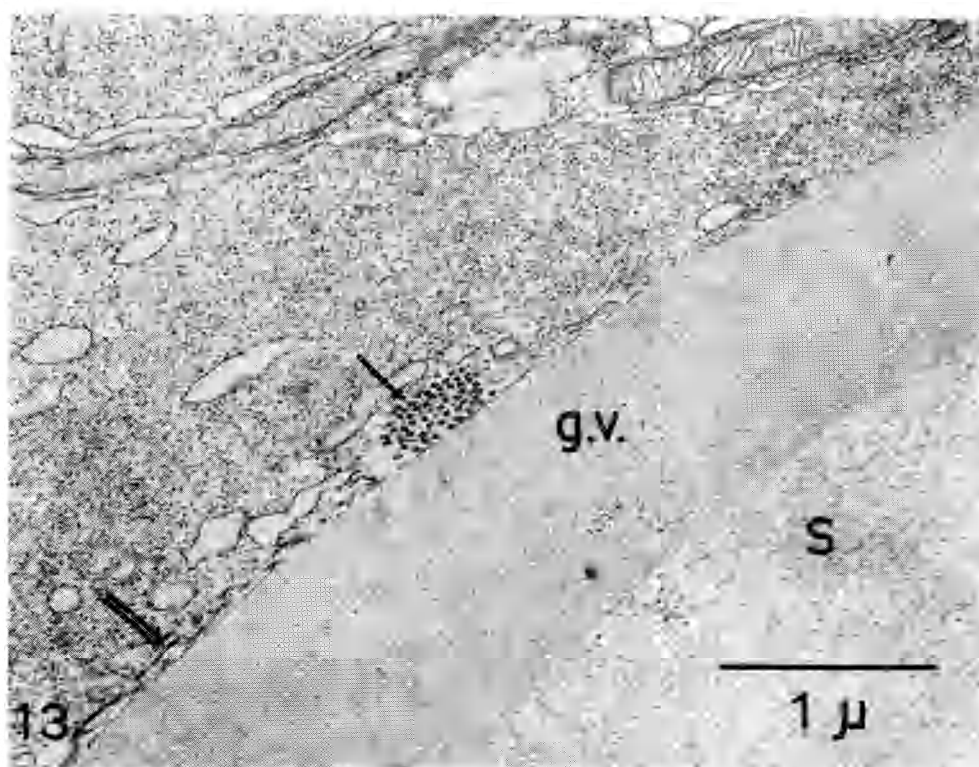
- Fig. 10. - Due piccoli globuli vitellini avvicinati tra di loro all'interno di una zona di Golgi. Il materiale che vi è in essi è già ripartito a costituire le tipiche sferule chiare e le diverse fasi della matrice densa. $\times 23.000$.
Nell'inserto in alto a sinistra è visibile la fusione di una vescicola formata verosimilmente dall'apparato di Golgi con il globulo vitellino ($\nearrow$). $\times 46.000$.
- Figg. 11 e 12. - Corpi di Golgi (G) con grosse vescicole all'interno delle quali è già visibile un inizio di suddivisione del materiale in sferule e matrice opaca. Fig. 11 = $\times 28.000$.
Fig. 12 = $\times 40.000$.











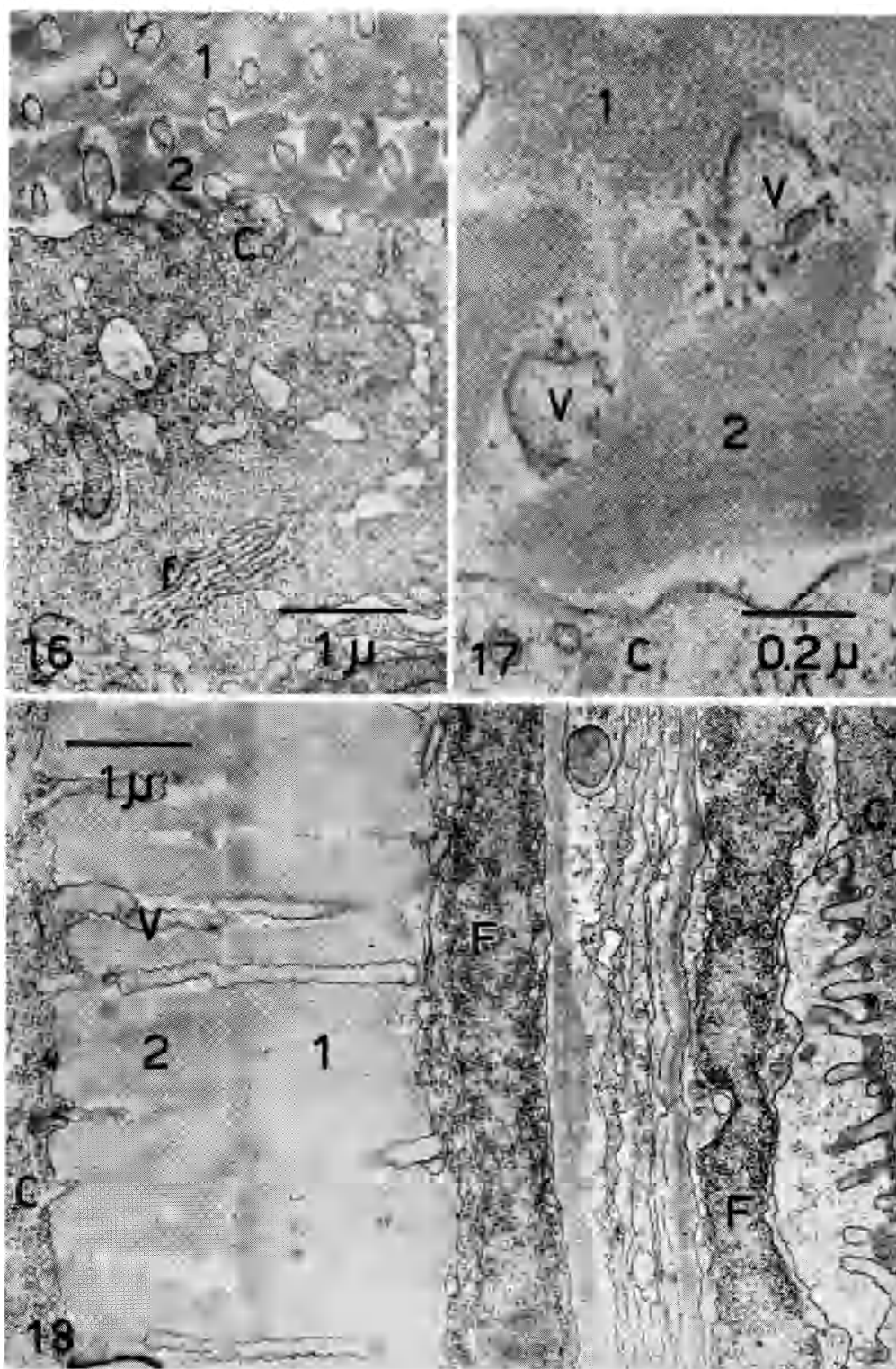


TAVOLA V.

- Fig. 13. - Aspetto dei microfilamenti a ridosso di un globulo vitellino (g.v.) all'interno del quale si riconosce una grossa sferula (S). I filamenti sono tagliati sia trasversalmente ($\nearrow$) che longitudinalmente ($\uparrow$). $\times 28.000$.
- Fig. 14. - Particolare di microtubuli tagliati trasversalmente: è ben visibile la loro sezione pressapoco quadrata. $\times 105.000$.

TAVOLA VI.

- Fig. 16. - Cortex (C) di un oocita in fase vitellogenetica. Sono visibili nel citoplasma numerose vescicole di pinocitosi ed un ciuffo di filamenti (f). I microvilli corticali sono tagliati pressoché trasversalmente e risultano circondati dalla membrana vitellina divisa nettamente in due strati (1 e 2). $\times 18.500$.
- Fig. 17. - Particolare della figura precedente. Nello strato più esterno della membrana vitellina (1) i filamenti appaiono sezionati trasversalmente. Nello strato più profondo (2) sono sezionati pressapoco longitudinalmente. V = villi; C = cortex. $\times 75.000$.
- Fig. 18. - Sulla sinistra è visibile la membrana vitellina di un oocita in fase di vitellogenesi avanzata, separata nettamente in due strati (1 e 2) e perforata da lunghi microvilli (V). Sulla destra si nota lo spazio perivitellino di un piccolo oocita entro cui si proiettano i microvilli.
C = cortex; F = cellule follicolari. $\times 18.000$.