
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

NUNZIA FARINELLA-FERRUZZA, CATERINA
MANSUETO-BONACCORSO

**Determinazione del quantitativo di DNA e RNA
nelle uova invecchiate di Ascidie**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 42 (1967), n.5, p. 720–723.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1967_8_42_5_720_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 chimica. — *Determinazione del quantitativo di DNA e RNA nelle uova invecchiate di Ascidie*^(*). Nota di NUNZIA FARINELLA-FERRUZZA e CATERINA MANSUETO-BONACCORSO, presentata ^(**) dal Corrisp. P. PASQUINI.

SUMMARY. — Quantitative determinations on the nucleic acids and qualitative analysis on the free amino acids of unfertilized Ascidian eggs, examined freshly and after aging of 48 hours, were carried out. Variations were not observed.

INTRODUZIONE.

1. I fenomeni che si accompagnano, o fanno seguito, all'invecchiamento dell'uovo sono stati studiati e descritti da molto tempo.

Le anomalie morfologiche che si verificano negli embrioni che si sviluppano dalle uova invecchiate possono essere più o meno gravi: ovviamente in rapporto al tempo di invecchiamento. Esse non sono specifiche, ma si estendono a tutti i sistemi organici.

Le modificazioni che si riscontrano nelle uova invecchiate sono di diverso genere: poiché queste frequentemente divengono polispermiche [1] evidentemente si deve avere una modificazione fisico-chimica del cortex. Ciò è anche dimostrato dal fatto che esse si agglutinano facilmente e che perdono la capacità di essere fecondate.

2. Le ricerche sull'invecchiamento delle uova sono state eseguite in gran parte sugli Echinodermi da Goldfarb [2-5]; Paspaleff [6]; Loeb [7-9]; Just [10]; Carter [11].

Per quanto concerne gli altri Invertebrati vanno richiamate le ricerche sui Molluschi [12-14], sugli Anellidi [15], sulle Ascidie [16].

Per quanto concerne i Vertebrati vanno citate quelle sugli Anfibi [17-18]: il forzato soggiorno delle uova negli uteri provoca la formazione di embrioni anomali con escrescenze, tumori ecc.

Negli Uccelli le uova per molte ore non fecondate danno origine ad embrioni mostruosi, con anomalie che interessano gli annessi embrionali, il sistema circolatorio, il sistema nervoso, gli organi di senso (ciclopia) [19].

Nei Mammiferi la fecondabilità declina dopo 4 ore. Sono stati descritti cambiamenti del citoplasma ovulare [20,21] e polispermia [22].

3. Le cause di queste situazioni non sono state ben precisate; ne sono state invocate diverse: così i cambiamenti di permeabilità della membrana [23]

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Zoologia e presso il Centro di Citofisiologia del CNR presso l'Università di Parma, sotto la direzione del prof. G. Reverberi.

(**) Nella seduta del 13 maggio 1967.

per un accumulo di ioni calcio sul cortex [24, 25, 14, 15]; l'aumento della viscosità citoplasmatica [4]; le anomalie cromosomiche [18, 26, 27].

4. Le ricerche concernenti il metabolismo proteico delle uova invecchiate sono piuttosto scarse. Kavanau [28] nelle uova di riccio di mare ha riscontrato una diminuzione nel quantitativo degli amino acidi liberi.

Per quanto riguarda il metabolismo respiratorio i risultati sono piuttosto contrastanti. In *Psammechinus*, Borei [29,30] ha trovato che il consumo di O_2 declina con l'invecchiamento; in *Arbacia punctulata* Tyler et al. [31] hanno, invece, trovato che esso resta costante. Lo stesso risultato è stato riscontrato da Cleland [32] nelle uova di *Ostrica* e da Lentini in quelle di *Ciona* [33].

5. Allo scopo di portare un contributo a questo problema dell'invecchiamento è stato esaminato nelle uova di Ascidie il metabolismo degli acidi nucleici e delle proteine. I dati si riferiscono al quantitativo degli acidi nucleici e al pool in amino acidi liberi.

MATERIALE E METODO.

Furono usate uova di *Ascidia malaca* fatte soggiornare in acqua di mare per 48 ore. Previamente le uova furono liberate dagli involucri.

Gli acidi nucleici furono determinati con il micrometodo di Scott, Fraccastoro e Taft [34], di Chen et al. [35]. Per ogni dosaggio furono usate 300 uova. Tutte le misure dell'assorbimento all'UV furono eseguite su uno spettrofotometro Beckmann (mod. DU). Come standards furono usati acido ribonucleico (t. XI Sigma e acido deossiribonucleico (t. VI Sigma): entrambe le soluzioni furono preparate in PCA al 10 %, a 90° per 30 min.

La determinazione degli amino acidi liberi è stata eseguita usando il metodo di ripartizione cromatografica su carta, secondo Chen e Baltzer [36]. L'identificazione dei singoli amino acidi è stata condotta adottando i seguenti criteri: l'arginina con la reazione di Sakaguchi con l'impiego di α -naftolo; l'istidina con la reazione di Pauly, usando acido sulfonico; per gli altri amino acidi, ad eccezione della glutammina e della asparagina, di cui si è fatta l'idrolisi acida, con aggiunta di miscela standard all'estratto di uova.

RISULTATI.

A) RNA.

Per quanto riguarda il contenuto in RNA sono state condotte complessivamente 12 determinazioni. I dati ottenuti sono riportati nella Tabella I e possono così riassumersi:

a) l'uovo vergine, appena prelevato dai dotti, possiede un quantitativo di RNA $\gamma 3,5 \times 10^{-3}$;

b) l'uovo invecchiato di 48 ore ne contiene $\gamma 4 \times 10^{-3}$. La diversità è di scarso significato.

B) *DNA*.

I dati sono riportati in Tabella I: da essi risulta che il quantitativo del DNA nell'uovo invecchiato di 48 ore è di $\gamma 2,7 \times 10^{-3}$; mentre nell'uovo appena prelevato è di $\gamma 2,6 \times 10^{-3}$.

TABELLA I.

Contenuto di RNA e DNA nell'uovo appena deposto e in quello invecchiato.

	Età (hr)	n **	M $\pm$ E.S. ***
RNA / egg (m μ g)*	0	12	$3,5 \times 10^{-3} - 0,2$
	48	12	$4,0 \times 10^{-3} - 0,3$
DNA / egg (m μ g)	0	12	$2,6 \times 10^{-3} - 0,26$
	48	12	$2,7 \times 10^{-3} - 0,3$

SIMBOLI: * = m μ g = μ g $\times 10^{-3}$.

** = numero delle determinazioni.

*** = media (M) e errore standard (E.S.).

C) *Contenuto in amino acidi liberi*.

Per quel che concerne il pool di amino acidi liberi risulta che esso non subisce variazioni qualitative. Sono presenti i seguenti amino acidi: ac. glutammico, ac. aspartico, glicina, serina, treonina, alanina, istidina, valina, leucina, triptofano, metionina, tirosina, taurina. In concentrazione notevole risulta la glicina e, in ordine decrescente, l'istidina e la leucina; i rimanenti amino acidi sembrano, dalle intensità delle macchie, in concentrazioni più deboli. Altri composti sono presenti, probabilmente peptidi, ma essi non sono stati identificati.

In conclusione, dai dati riportati risulta che il contenuto in acidi nucleici e il pool in amino acidi liberi non subiscono variazioni, con l'invecchiamento. È naturale, quindi, riferire le anomalie di sviluppo riscontrate [37] ad altri fattori.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] RUNNSTRÖM J., «Advances in Enzymol.», 9, 241 (1949).
- [2] A. GOLDFARB, «Biol. Bull.», 34, 372 (1918).
- [3] A. FOLDFARB, «Biol. Bull.», 57, 350 (1939).
- [4] A. FOLDFARB, «Biol. Bull.», 68, 180 (1935).
- [5] A. GOLDFARB, «Physiol. Zool.», 10, 59 (1937).
- [6] G. PASPALEFF, «Pubbl. Staz. Zool. Napoli», 8, 1 (1927).
- [7] J. LOEB e W. H. LEWIS, «Am. J. Physiol.», 6, 305 (1901).

- [8] J. LOEB, « J. Exp. Zool. », 15, 201 (1913).
- [9] J. LOEB e J. H. NORTHRUP, « Proc. Nat. Acad. Sci. », 3, 382 (1917).
- [10] E. E. JUST, « Collecting Net, Woods Hole », 3, n° 1, 2 (1928).
- [11] G. S. CARTER, « J. Exp. Biol. », 8, 191 (1931).
- [12] V. SCHECHTER, « Biol. Bull. », 71, 410 (1936).
- [13] V. SCHECHTER, « Biol. Bull. », 72, 366 (1937).
- [14] V. SCHECHTER, « J. Exp. Zool. », 86, 461 (1941).
- [15] L. V. HEILBRUNN, « Fed. Proc. », 15, 948 (1956).
- [16] N. FARINELLA-FERRUZZA, « Rend. Acc. Naz. Lincei », 39, 338 (1965).
- [17] E. WITSCHI, « Verhand. Natur. Gesell. », 34, 33 (1922).
- [18] E. WITSCHI, « Devel. Biol. », 7, 605 (1963).
- [19] M. C. DARESTE, *Recherches sur la production artificielle des monstruosités*. Reinwald & Cie. Paris (1891).
- [20] M. C. CHANG, « Fed. Proc. Baltimore », 11, 24 (1952).
- [21] M. RUNNER e J. PALM, « Anat. Rec. », 112, 383 (1952).
- [22] C. R. AUSTIN e A. W. H. BRADEN, « Austr. J. Biol. Sci. », 6, 674 (1953).
- [23] A. GOLDFARB, « Biol. Bull. », 68, 191 (1935 B).
- [24] H. Molisch, « Botanical Garden », Eng. Trans. E. H. Fulling ed., New York (1938).
- [25] A. GOLDFARB e V. SCHECHTER, « Proc. Soc. Exp. Biol. Med. », 29, 1271 (1932).
- [26] H. J. CURTIS, « Science », 141, 686 (1963).
- [27] C. NICHOLS, « Amer. J. Bot. », 29, 755 (1942).
- [28] L. KAWANAU, « J. Exp. Zool. », 122, 285 (1953).
- [29] H. BOREI, « Biol. Bull. », 95, 124 (1948).
- [30] H. BOREI, « Biol. Bull. », 96, 117 (1949).
- [31] A. TYLER, N. RICCI, e W. H. HOROWITZ, « J. Exp. Zool. », 79, 129 (1938).
- [32] K. W. CLELAND, « Proc. Linn. Soc. N.S.W. », 75, 282 (1950).
- [33] R. LENTINI, « Acta Embryol. Morphol. Exper. », 4, 209 (1961).
- [34] S. F. SCOTT, A. P. FRACCASTORO e E. B. J. TAFT, « Histochem. Cytochem. », 4, 1 (1956).
- [35] S. CHEN, N. FARINELLA-FERRUZZA e M. OELHAFEN-GANDOLLA, « Exptl. Cell Res. », 31, 538 (1963).
- [36] P. S. CHEN e F. BALTZER, « Nature (London) », 181, 98 (1958).
- [37] N. FARINELLA-FERRUZZA, « Acta Medica Romana », 4, 54-57 (1966).