Atti Accademia Nazionale dei Lincei

Classe Scienze Fisiche Matematiche Naturali

Rendiconti

Elvira Farina

Sullo sviluppo di frammenti dell'uovo di Mytilus

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. **47** (1969), n.5, p. 381–387.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1969_8_47_5_381_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/

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Accademia Nazionale dei Lincei, 1969.

Embriologia sperimentale. — *Sullo sviluppo di frammenti dell'uovo di Mytilus* (*). Nota di ELVIRA FARINA, presentata (**) dal Corrisp. P. PASQUINI.

SUMMARY. — The unfertilized egg of Mytilus breaks when submitted to strong centrifugation. Two kinds of fragments are obtained: one lighter hyaline fragment and one dark heavier fragment.

Both fragments when fertilized, develop. The cleavage pattern is normal.

A polar lobe is formed as usual. Larvae develop from both fragments and show a normal morphology with the typical apical tufts.

INTRODUZIONE.

1) Le capacità di sviluppo dei frammenti delle uova che formano il lobo polare sono state finora poco studiate: le ricerche finora eseguite concernono l'uovo di *Dentalium* [1], quello di *Chaetopterus* [2], [3] e quello di *Ilyanassa* [4, 5]. Sull'uovo di *Mytilus* sono state fatte ricerche appena preliminari [6].

L'importanza di queste uova è dovuta al fatto che esse formano lungo lo sviluppo il lobo polare che possiede un plasma di accertato significato morfogenetico [7]. Questo plasma viene segregato in alcuni particolari blastomeri (2 *d*, 4 *d*) ed è ritenuto responsabile del differenziamento di determinate strutture.

2) Sono largamente conosciuti i risultati ottenuti da Wilson [1] sull'uovo di Dentalium; le ricerche consistettero nel frammentare con aghi di vetro l'uovo vergine: i tagli furono condotti meridionalmente o orizzontalmente; solo i frammenti vegetativi e cioè provvisti del plasma polare furono capaci di segmentarsi in modo tipico e di dare origine a larve del tutto normali. I frammenti animali, invece, non si segmentano col pattern usuale e dettero, a termine di sviluppo, larve mancanti di diverse strutture e soprattutto di quelle derivanti dal mesoderma.

Non meno interessanti sono i risultati ottenuti con l'uovo di Chaetopterus: [8] l'uovo vergine fu anch'esso tagliato secondo il piano equatoriale o parallelamente ad esso. I frammenti sopraequatoriali non formano il lobo caratteristico; la loro segmentazione è, però, tipica: alla 1ª segmentazione si hanno due blastomeri di diversa grandezza.

(*) Il presente lavoro fu eseguito con una contribuzione del CNR presso l'Istituto di Zoologia della Università di Palermo.

(**) Nella seduta del 15 novembre 1969.

I frammenti subequatoriali, che portano il solo nucleo spermatico, formano il lobo polare (che è proporzionato alla grandezza del frammento) e anch'essi si dividono in due blastomeri ineguali; il lobo polare passa nel blastomero più grande.

Da questi risultati emerge la conclusione che il lobo polare non è « an essential part of the cleavage pattern but a byproduct of that pattern » (Whitaker e Morgan [8].

La frammentazione dell'uovo di Chaetopterus è stata realizzata, mediante la centrifugazione, anche da Lillie [9, 10], Wilson [2], e Harvey [3]. I loro risultati possono così riassumersi: le metà chiare (che posseggono il nucleo ovulare e formano dopo fecondazione i globuli polari) si segmentano in modo tipico (non sembrano formare il lobo polare) e si sviluppano in trocofore ciliate assai simili alle normali; le metà scure anch'esse si segmentano, però non procedono oltre lo stadio di 2–4 blastomeri.

Le uova di Ilyanassa sono state frammentate per centrifugazione prima da Morgan [11], poi da Clement [5].

Secondo Morgan [11] i frammenti che contengono la regione vegetativa eseguiscono, in completa assenza di nucleo, cambiamenti ritmici che richiamano alla mente la formazione del lobo polare; i frammenti centrifughi, invece, che non contengono il cortex vegetativo, non formano lobo polare, però si segmentano.

Secondo Clement [5] i frammenti dell'emisfero animale non formano lobo polare si dividono in 2–4 blastomeri uguali, formano micromeri alla 3ª segmentazione e danno larve parziali che mancano di tutte le strutture solite a ottenersi dal lobo polare. I frammenti dell'emisfero vegetativo (privati del tuorlo per centrifugazione invertita e contenenti i pronuclei) formano il lobo polare, si segmentano in modo del tutto normale e danno origine a veliger muniti di tutte le strutture dipendenti dal lobo (occhi, opercolo, guscio esterno. statocisti). Questi ultimi risultati mostrano che il tuorlo non è responsabile della formazione delle strutture lobo–dipendenti.

Tecnica.

L'uovo vergine di Mytilus, se sottoposto a moderata forza centrifuga [12] stratifica i suoi materiali nel seguente modo. al polo centripeto i lipidi abbondanti; nella regione media il plasma jalino e il nucleo; nella regione centrifuga i granuli di tuorlo e di pigmento. I mitocondri si ripartiscono nella zona di confine tra la regione jalina e la regione pigmentata.

Ciò risulta chiaro trattando i frammenti con lo Janus green. Da queste uova si hanno larve normali. Se l'uovo, come nei miei esperimenti, lo si centrifuga a più alta forza gravitazionale (19.000 × g) in soluzione di saccarosio Harvey [13], si frammenta in parti.

Nel tubo della centrifuga, si recuperano almeno due sorta di frammenti distribuiti in due strati separati. Una buona frammentazione si ha solo nelle

uova previamente private della membrana vitellina, il che può farsi facilmente con l'impiego delle lisine secondo il metodo di Berg [14].

Nella soluzione di saccarosio, le uova probabilmente si orientano, durante la centrifugazione, con il polo animale verso l'asse della centrifuga i materiali più leggeri si portano di conseguenza centripetalmente, i più pesanti centrifugalmente; l'uovo si allunga secondo l'asse animale–vegetativo e si spezza in due o più frammenti, rispettivamente jalini o scuri.

I frammenti jalini sono i più grandi (ca. 2/3 dell'uovo). Ambedue i tipi di frammenti posseggono mitocondri.

SVILUPPO NORMALE.

Lo sviluppo dell'uovo di Mytilus è stato descritto in passato da Wilson [1], Field [15] e recentemente da Abd–el–Wahab [16] e da Rattembury e Berg [7].

Si richiamano qui solo i dati che si ritengono utili al fine del presente lavoro.

L'uovo appena deposto ha una forma irregolare: centralmente vi è la grossa vescicola germinale. Questa dopo pochi minuti dalla deposizione si rompe, e l'uovo assume una forma perfettamente sferica. Una membrana dello spessore di ca. 1 μ lo circonda.

L'emissione dei globuli polari avviene circa 20′ dopo la fecondazione; dopo circa 90′ si ha la prima segmentazione, che è ineguale ed è preceduta dalla formazione del lobo polare; a questo stadio, l'uovo sembra costituito da tre cellule: questo è lo stadio di trifoglio. Prima della seconda divisione, si ha formazione di un secondo lobo polare, il quale, poi, passa nella cellula D.

La III divisione è uguale in A, B, C, ed è ineguale in D.

Dopo 24 ore dalla fecondazione si ha una larva ciliata, la quale possiede un ciuffo apicale costituito da cilia più lunghe e un flagello. Dopo 48 ore si ha un veliger e un velum.

SVILUPPO DEI FRAMMENTI JALINI.

Questi frammenti, derivanti dalla porzione intermedia dell'uovo centrifugato, contengono plasma chiaro; talvolta con il plasma chiaro vi sono, in piccola parte, anche pigmenti e granuli di tuorlo: ciò è dovuto al livello in cui si frammenta l'uovo nel corso della centrifugazione.

I frammenti, subito dopo la centrifugazione, hanno una forma a pera, ma dopo pochi minuti diventano sferici perfettamente: sono più grandi dei frammenti scuri (2/3 dell'uovo intero) (fig. 1).

Il nucleo è contenuto in essi: fecondati, emettono i globuli polari.

Loro caratteristica, una volta fecondati, è una notevole attività ameboidica (fig. 2). In alcuni casi formarono il lobo polare e si segmentarono: allo

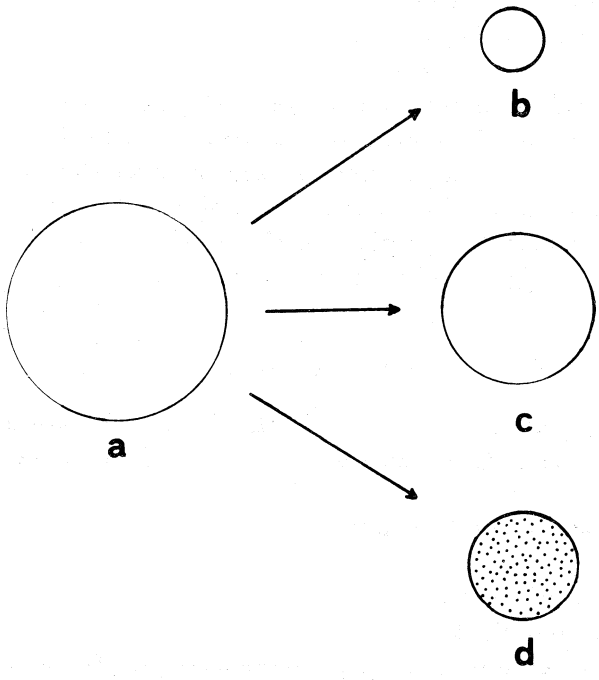

Fig. 1. – Uovo vergine di Mytilus sottoposto a centrifugazione.

a) uovo intero; *b*) frammento centripeto lipidico; *c*) frammento intermedio jalino; *d*) frammento centrifugo con granuli di pigmento e di tuorlo.

stadio 4 fu riscontrato un blastomero più grande. Alcuni proseguirono lo sviluppo fino a larva.

Le larve presentarono ciliature destribuite uniformemente per tutto il corpo: alcune presentarono un ciuffo apicale. Le larve non procedettero mai oltre questo stadio anche se rimasero vive per più di 90 ore (fig. 5 A).

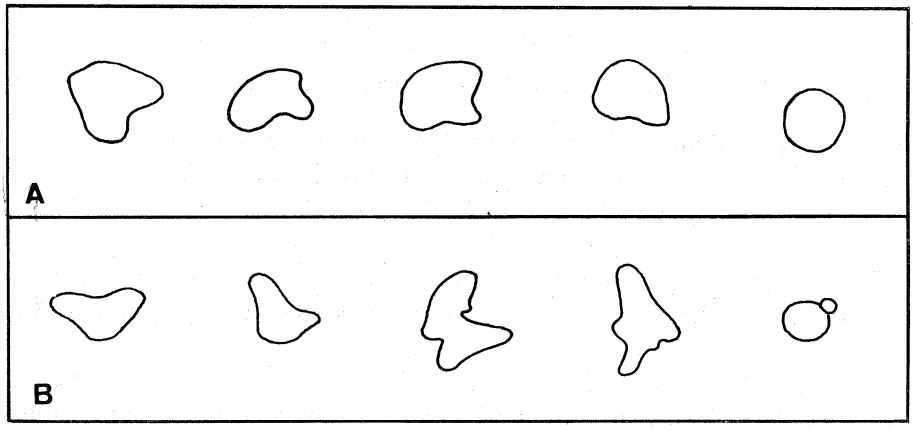

Fig. 2. – Attività ameboidica di frammenti jalini, dopo fecondazione.

SVILUPPO DEI FRAMMENTI SCURI.

I frammenti scuri, costituiti soprattutto da granuli di pigmento e tuorlo derivano dalla porzione centrifuga dell'uovo: hanno dimensioni più piccole dei frammenti jalini.

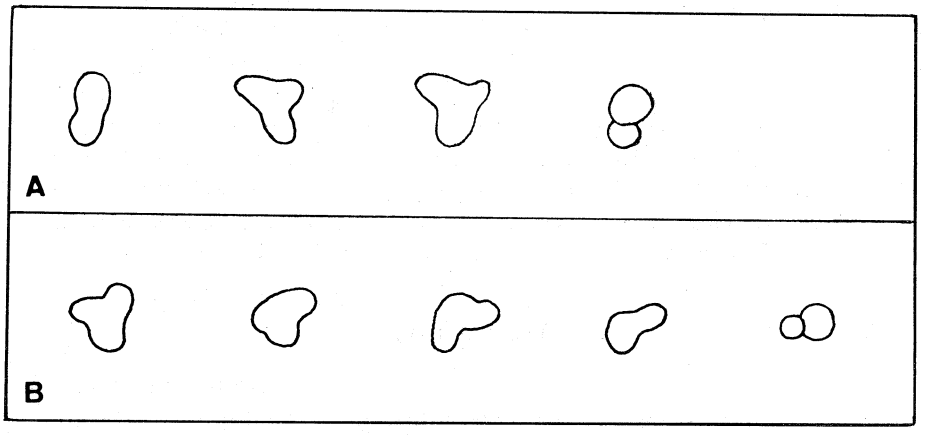

Fig. 3. – Segmentazioni di frammenti jalini. La 1ª segmentazione è normale; si ha formazione di lobo polare il quale viene riassorbito nel blastomero CD.

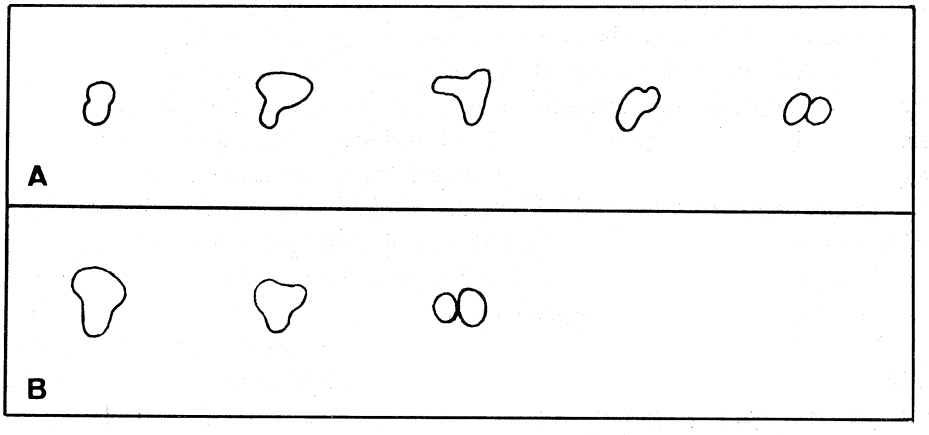

Fig. 4. – Segmentazione di frammenti scuri centrifughi. La segmentazione è normale: si ha formazione di lobo polare e successivo passaggio a 2 blastomeri.

Fecondati si segmentarono con pattern tipico, formando sicuramente il lobo polare (figg. 3, 4). Si svilupparono in larve non diverse da quelle ottenute da frammenti jalini; in alcuni casi si ebbero dei veliger (fig. 5).

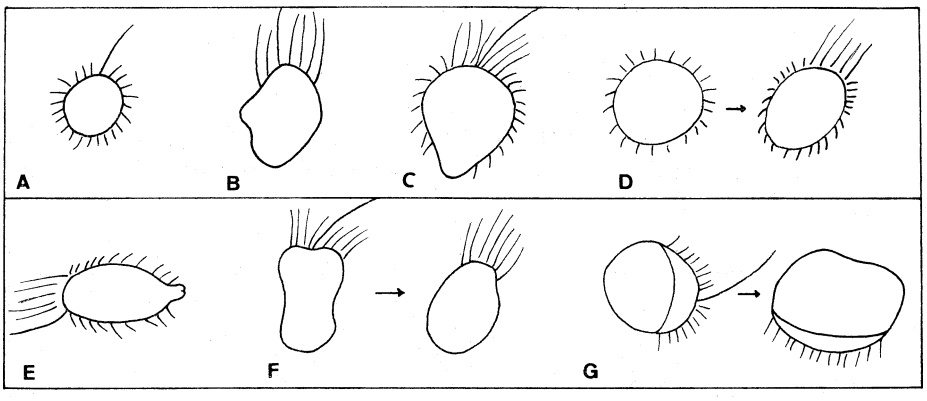

Fig. 5. – A–D) Larve sviluppate da frammenti jalini: A) larva a 24 h di sviluppo; B) larva a 40 h; C) larva a 90 h; D) larva a 40 h e successivamente a 100 h. E–G) Larve sviluppate da frammenti scuri centrifughi: E) larva a 88 h di sviluppo; F) larva a 88 e 95 hrs; G) larva 88 e 95 hrs di sviluppo.

Discussione.

a) Da quanto è stato esposto risulta che tanto i frammenti chiari che i frammenti scuri sono capaci, dopo fecondazione, di svilupparsi. I frammenti scuri si sviluppano meglio di quelli chiari, formano il lobo polare, si segmentano come un uovo normale e danno larve ciliate d'aspetto normale.

I frammenti jalini emettono i globuli polari, formano anch'essi, talvolta, il lobo polare e si sviluppano in larve ciliate provviste di ciuffo apicale. Questi dati concordano con quelli ottenuti da Fiasconaro [6].

Comparendo questi risultati con quelli ottenuti dagli Autori precedenti, su altro materiale, si notano delle differenze. In Ilyanassa Clement [4] i frammenti animali non formano il lobo polare e le larve che si ottengono mancano di tutti gli organi derivanti ordinariamente da tale lobo; i frammenti vegetativi formano il lobo polare e danno larve normali.

In Chaetopterus Harvey [3] il frammento jalino non sembra formare il lobo polare; si segmenta come un uovo intero e si sviluppa in una larva normale.

Il frammento scuro invece non forma il lobo polare e fatta eccezione per alcuni casi neppure si segmenta.

Da ciò si può constatare come la situazione in Mytilus sia differente infatti i frammenti sia chiari che scuri formano il lobo polare, si segmentano con pattern tipico e danno larve ciliate, natanti.

La formazione di un lobo polare da parte dei frammenti chiari non è facile a spiegare: probabilmente non tutte le uova si orientano nella centrifuga secondo la loro polarità: può quindi accadere che quando l'uovo si spezza, le sostanze localizzate al polo vegetativo vengano incluse nel frammento chiaro. Di che genere di sostanza s'abbia a trattare è da indagare. Le ricerche citochimiche [12] e quelle al microscopio elettronico [17], [18], non hanno apportato al riguardo alcune delucidazioni.

BIBLIOGRAFIA.

[1] E. B. WILSON, « Ann. Rep. fish. Board Scot. », *6*, 247–256 (1886).
[2] E. B. WILSON, « Arch. Entwicklungsmech. Organ. », *1*, 117, 179 (1929).
[3] E. B. HARVEY, « Biol. Bull. », *76*, 384 (1939).
[4] A. C. CLEMENT, » J. Exp. Zool. », *121*, 593 (1952).
[5] A. C. CLEMENT, « J. Exp. Zool. », *132*, 427 (1968).
[6] A. M. FIASCONARO, « Rend. Acc. Naz. Lincei », *41*, 104 (1966).
[7] J. C. RATTEMBURY e W. E. BERG, « J. Morphol. », *95*, 393 (1954).
[8] D. WHITAKER e T. H. MORGAN, « Biol. Bull. », *58*, 145 (1930).
[9] F. R. LILLIE, « Biol. Bull. », *16*, 54 (1909).
[10] F. R. LILLIE, « J. Exp. Zool. », *3*, 153 (1906).
[11] T. H. MORGAN, « Biol. Bull. », *68*, 280 (1935).
[12] I. PUCCI, « Acta Embryol. Morphol. Exper. », *4*, 96 (1961).
[13] E. B. HARVEY, « Biol. Bull. », *64*, 125 (1933).
[14] W. E. BERG, « Biol. Bull. », *98*, 128 (1950).
[15] I. A. FIELD, « Bull. Bureau Fish. U.S. », *38*, 127 (1921).
[16] E. M. ABD-EL-WAHAB e E. H. PANTELOURIS, « Exp. Cell Res. », *13*, 78 (1957).
[17] W. J. HUMPHREYS, « J. Ultrastr. Res. », *10*, 244 (1964).
[18] G. REVERBERI e V. MANCUSO, « Acta Embryol. Morphol. Exper. », *4*, 96 (1961).