
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

CATERINA MANSUETO BONACCORSO

**Incorporazione di precursori marcati in presenza di
actinomicina nello sviluppo delle uova di Ascidie.
Penetrazione dell'actinomicina D-H³ nei diversi stadi**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 50 (1971), n.6, p. 776–778.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1971_8_50_6_776_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. — *Incorporazione di precursori marcati in presenza di actinomicina nello sviluppo delle uova di Ascidie. Penetrazione dell'actinomicina D—H³ nei diversi stadi (*)*. Nota di CATERINA MANSUETO BONACCORSO (**), presentata (***) dal Corrisp. P. PASQUINI.

SUMMARY. — The incorporation of actinomycin D—H³ has been tested on the eggs of *Ciona intestinalis*, before and after fertilization. The antibiotic is incorporated after the gastrula stage. It has been demonstrated that the actinomycin (20 γ /ml) inhibits the incorporation of uridine—H³, but not that of proline—H³.

INTRODUZIONE

L'effetto dell'actinomicina D sullo sviluppo embrionale delle Ascidie è stato investigato da Librera [1] sulle uova di *Ascidia malaca*: l'uovo vergine e ai primi stadi di sviluppo non vengono influenzati dal trattamento con l'antibiotico alla concentrazione di 3 γ /ml. Il trattamento a stadi più tardivi e a 2 γ /ml porta alla formazione di larve che sono tuttavia più piccole e meno mobili dei controlli.

Smith [2] con uova di *Ascidia nigra* ha riscontrato (50 γ /ml) blocco a gastrula: indagando la sintesi dell'RNA e delle proteine ha constatato che la prima inizia allo stadio di 4 blastomeri ed è sensibile all'antibiotico; la seconda è molto intensa subito dopo la fecondazione e alla gastrulazione. Solo quest'ultima è inibita dall'actinomicina.

Nella presente Nota vengono riportati i risultati ottenuti con metodo autoradiografico trattando le uova di *Ciona intestinalis* con actinomicina D—H³: lo scopo era di vedere se l'antibiotico penetra e in quale momento dello sviluppo. Per determinare, poi, se in presenza di actinomicina vi è sintesi di RNA e rispettivamente di proteine furono impiegati uridina—H³ e prolina—H³.

In precedenza è stato dimostrato che in condizioni di sviluppo normali di uridina—H³ è incorporata a partire dallo stadio di gastrula [3]: per quanto riguarda la prolina—H³ [4] hanno riscontrato che anch'essa viene incorporata dallo stadio di gastrula in poi.

MATERIALE E METODO

Furono usate uova di *Ciona intestinalis vergini*, fecondate e a vari stadi di sviluppo: in alcuni esperimenti le uova furono private delle loro membrane.

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

(**) Ricercatore del CNR.

(***) Nella seduta del 18 giugno 1971.

Le soluzioni di actinomicina-D- H^3 (Schwarz Bioresearch, Inc.; 12 $\mu C/ml$; conc. 3,5 γ/ml), uridina- H^3 (20 $\mu C/ml$; conc. 0,018 mM), prolina- H^3 (20 $\mu C/ml$; conc. 0,03 mM), furono preparate in acqua di mare normale, pastorizzata. Le uova e gli embrioni dopo l'incubazione furono lavati in soluzioni contenenti il rispettivo composto non marcato.

Gli embrioni furono fissati con alcool acetico glaciale. Le sezioni furono ricoperte con film Kodak AR 10 ed esposte da 20 giorni a tre mesi. Le sezioni furono quindi colorate con verde di metil pironina.

RISULTATI

1. - *Trattamento con actinomicina-D- H^3 .*

a) Uova vergini incubate tre ore.

Le sezioni non presentano tracce di radioattività (anche le uova previamente private delle membrane).

b) Uova incubate a partire dalla fecondazione fino a 16 blastomeri. Anche in questo caso le sezioni non presentarono alcuna traccia.

c) Uova incubate dallo stadio di 16 blastomeri fino a gastrula iniziale.

Le gastrule sono normali. In qualche sezione pare che ci sia un inizio di incorporazione a livello dei nuclei delle cellule muscolari.

d) Embrioni incubati dallo stadio di gastrula iniziale fino a gastrula finale.

Gli embrioni si sono sviluppati di poco ritardati rispetto ai controlli. In sezione, i nuclei delle cellule presentano tracce, in particolare i nuclei delle cellule neurali, mesenchimali, muscolari e cordali (Tav. I, figg. 1 e 2).

e) Embrioni incubati dallo stadio di gastrula media fino a bottone codale iniziale.

Tracce presenti in tutte le cellule, nei nuclei (Tav. I, fig. 3).

2. - *Trattamento con actinomicina D + uridina- H^3 .*

Le concentrazioni di actinomicina D furono 10 γ/ml in una serie di esperimenti e 20 γ in un'altra serie. La prima concentrazione si dimostrò inefficace. Il trattamento fu portato su embrioni a gastrula (iniziale a finale) a causa del fatto che la uridina non viene incorporata in condizione di sviluppo normale nei primi stadi di sviluppo. Al momento del fissaggio gli embrioni erano gastrule di poco ritardate rispetto ai controlli. Nelle sezioni non fu riscontrata radioattività.

3. - *Trattamento con actinomicina D + prolina- H^3 .*

Poiché l'actinomicina e la prolina non penetrano nei primi stadi di sviluppo, il trattamento fu portato su embrioni a stadi tardivi di sviluppo (concentrazione di actinomicina D 20 γ/ml).

a) Embrioni incubati da gastrula iniziale a gastrula finale. Gli embrioni si sono sviluppati di poco ritardati rispetto ai controlli. In sezione, tutte le cellule presentano tracce, in particolare le neurali, le mesenchimali, le muscolari e le cordali.

b) Embrioni incubati da bottone codale iniziale fino a larva arrotolata. Anche in questo caso le tracce sono presenti ovunque.

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti da questo studio possono essere sommarizzati come segue:

1) L'actinomicina D-H³ non è rinvenuta nelle uova ai primi stadi di sviluppo. È possibile che l'actinomicina non penetri. Ciò si verificò anche con uova prive di membrane. Invece l'actinomicina è rinvenuta nei nuclei delle gastrule e delle neurule.

2) L'actinomicina a 20 γ blocca allo stadio di gastrula la incorporazione della uridina-H³: non blocca alla concentrazione di 10 γ .

3) L'actinomicina a 20 γ /ml non impedisce la incorporazione della prolina-H³.

Da quanto sopra esposto possiamo concludere che alla gastrulazione si ha incorporazione di uridinina-H³ sensibile all'actinomicina (20 γ /ml).

La sintesi delle proteine non viene influenzata dall'antibiotico. Probabilmente quest'ultima si compie con informazioni rilasciate in epoche precedenti, come è stato suggerito da Cowden e Market [5].

Dedico questa Nota al prof. Reverberi, mio Maestro, per il volume in Suo onore che i suoi allievi e collaboratori vanno preparando.

BIBLIOGRAFIA

- [1] G. LIBRERA, «Acta Embryol. Morphol. Exper.», 7, 242 (1964).
- [2] K. D. SMITH, «J. Exp. Zool.», 164, 393 (1967).
- [3] T. D'ANNA, «Acta Embryol. Morphol. Exper.», 5, 1 (1962).
- [4] E. PATRICOLO e C. MANSUETO, «Rend. Acc. Naz. Lincei», 40, ser. 8, 98 (1970).
- [5] R. R. COWDEN e C. MARKET, «Acta Embryol. Morphol. Exper.», 4, 142 (1961).

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

Fig. 1. - Gastrula, sezione trasversale. (Trattamento con actinomicina-D-H³).

Fig. 2. - Gastrula, sezione trasversale. (Trattamento con actinomicina-D-H³).

Fig. 3. - Bottone codale, sezione parasagittale. (Trattamento con actinomicina-D-H³).

Abbreviazioni: *c* = cellule cordali; *e* = endoderma; *m* = cellule muscolari; *me* = cellule mesenchimali; *n* = cellule neurali.

