
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

MARINELLA MARINELLI, DANIELA VAGNETTI

**Osservazioni ultrastrutturali sulla formazione del
guscio del bozzolo in *Dugesia lugubris* s.l.**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 63 (1977), n.5, p. 431–435.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1977_8_63_5_431_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/>

SEZIONE III

(Botanica, zoologia, fisiologia e patologia)

Zoologia. — *Osservazioni ultrastrutturali sulla formazione del guscio del bozzolo in Dugesia lugubris s.l.* (*). Nota di MARINELLA MARINELLI e DANIELA VAGNETTI, presentata (**) dal Socio M. BENAZZI.

SUMMARY. — The ultrastructural observations on the cocoon shell formation in *Dugesia lugubris* s.l. showed that, during the first developmental stages, it is formed by three different layers. Subsequently they become two and later only one, the inner, going to form the mature cocoon shell. We propose for the shell formation an activator coming from the genital antrum wall in addition to the substances produced by the yolk cells. This activator is supposed to be contained in the little vesicles located in the first and particularly in the second layer and opening themselves into the canaliculi of the third layer.

INTRODUZIONE

I meccanismi che sono alla base del processo di formazione degli involucri ovulari nei Platelminti sono da tempo noti ed in particolare sono conosciuti quelli che determinano la sclerotizzazione del guscio dovuta all'interazione fra proteine e chinoni, derivanti questi ultimi dall'ossidazione di fenoli ad opera di una polifenolossidasi [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10].

Pressochè sconosciuti sono invece gli aspetti morfologici relativi alla formazione del guscio. Possiamo ricordare in merito le indagini su un Triclade di Gremigni e Domenici [11], le quali mostrano come i granuli di fenoli, le proteine e la polifenolossidasi vengano sintetizzati nelle cellule vitelline già nei vitellogeni. L'attivazione della polifenolossidasi inizierebbe quando le cellule vitelline, raggiunto l'atrio genitale, completano la liberazione dei globuli del guscio.

Sulla formazione del guscio del bozzolo all'interno dell'atrio genitale ci risultano unicamente le osservazioni in *Dugesia lugubris* s.l. di una di noi [12] la quale, al M.O., descrive la migrazione periferica dei granuli secreti dalle cellule vitelline e la comparsa del guscio, il cui accrescimento in spessore avviene mediante deposito di tali sostanze.

Scopo del presente lavoro è quello di esaminare tali processi al M.E. onde ottenere più dettagliate ed approfondite osservazioni.

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia Comparata di Perugia.

(**) Nella seduta del 18 novembre 1977.

MATERIALI E METODI

Per le nostre ricerche abbiamo utilizzato esemplari di *Dugesia lugubris* s.l. ⁽¹⁾ da tempo allevati in laboratorio.

Non è agevole accertarsi nell'animale *in toto* dell'inizio della formazione del bozzolo ed individuarne i vari gradi di sviluppo. Alcune indicazioni si possono ottenere osservando l'animale per trasparenza al microscopio binoculare. Individuati così, in animali diversi, i successivi gradi di sviluppo del bozzolo, abbiamo da essi prelevato, mediante due tagli trasversali, la regione comprendente l'atrio genitale. Ugualmente abbiamo proceduto con esemplari nei quali non era individuabile alcun accenno del bozzolo e ciò allo scopo di esaminarne l'aspetto dell'atrio.

Il materiale è stato fissato in glutaraldeide al 4% in tampone fosfato 0,1 M (pH 7,4) e quindi postfissato per 3 h in OsO₄ all'1% in tampone fosfato 0,1 M (pH 7,4). Il materiale è stato poi rapidamente disidratato in soluzioni a concentrazione crescente di alcool etilico e quindi incluso in Epon-Araldite secondo Mollenhauer [13]. Le sezioni sottili, contrastate con acetato di uranile [14] e citrato di piombo [15], sono state osservate con un M.E. Philips 300 a 60 Kv e fotografate su lastra ⁽²⁾.

OSSERVAZIONI

L'atrio genitale di planarie che non contengono il bozzolo è quasi completamente occupato dalla papilla dell'organo copulatore; le cellule epiteliali dell'atrio sono provviste di ciglia ed hanno il nucleo al di sotto delle fibre muscolari, circolari e longitudinali, della parete (Tav. I, fig. 1).

In esemplari in cui il bozzolo risultava essere ai primi stadi di formazione, abbiamo rinvenuto cellule vitelline nella parte terminale dell'ovidutto. Esse contengono ancora alcuni globuli del guscio che appaiono frammentati ed in procinto di fuoriuscire. Nel lume dell'ovidutto si rinvencono granuli di varie dimensioni, molto opachi agli elettroni; trattasi con ogni probabilità del suddetto materiale già fuoriuscito (Tav. I, fig. 2).

Le cellule vitelline presenti nell'atrio genitale non contengono più i globuli del guscio, descritti da Gremigni e Domenici [11], il cui materiale si rinviene in forma di granuli di diametro variabile e di elevata densità negli spazi intercellulari (Tav. I, fig. 3). È pertanto da ritenere che la fuoriuscita dei globuli del guscio, iniziata nell'ovidutto, si completi non appena le cellule vitelline raggiungono l'atrio. I granuli presenti negli spazi intercellulari tendono ad aggregarsi per formare grossi ammassi sferoidali (Tav. I, fig. 4). A questo

(1) Seguendo i criteri di Benazzi e Coll. indichiamo la *Dugesia lugubris* come super-specie linneana (*s.l.*).

(2) Ricerche eseguite con l'assistenza tecnica del Laboratorio di Microscopia Elettronica dell'Università di Perugia.

momento il guscio non è ancora costituito e ciò avverrà per migrazione periferica di tali ammassi. Non disponiamo purtroppo della documentazione relativa a questa fase iniziale della formazione del guscio. Le prime immagini che possediamo ce lo mostrano infatti già costituito da tre strati ben differenziati (Tav. II, fig. 5). Il più esterno, aderente alla parete dell'atrio, è quello di maggior spessore (circa 5μ). Esso è costituito da una sostanza fondamentale di scarsa densità e non omogenea in cui sono disseminate, per tutto lo spessore e molto uniformemente, numerose vescicole con diametro di circa $0,1 \mu$, delimitate da doppia membrana. All'interno di esse si rinvencono con frequenza minuti granuli elettrondensi. Il successivo strato, di minor spessore (circa $0,8 \mu$), si caratterizza per l'ammassamento delle vescicole anzidette tra cui si trova una sostanza fondamentale di minor densità (Tav. II, fig. 6). Il terzo strato, il più interno del guscio, presenta a questo momento uno spessore di circa $2,5 \mu$ ed è costituito da una sostanza fondamentale di densità molto elevata attraversata da numerosi canalicoli uniformemente distanziati tra loro ed aventi un decorso perpendicolare alla superficie del guscio. Il loro diametro medio, di circa $0,1 \mu$, non è uniforme in quanto gradualmente esso si riduce verso la parte periferica. I canalicoli si aprono alla superficie esterna dello strato mentre terminano a fondo cieco a circa $0,3 \mu$ dal limite interno dello strato. Riteniamo da sottolineare il fatto che in corrispondenza dell'apertura di ciascun canale si rinviene una delle vescicole descritte nel secondo strato ed è frequente il caso in cui essa penetra nel lume (Tav. II, fig. 7).

Nelle successive fasi, mentre le caratteristiche strutturali degli strati restano inalterate, varia il loro spessore. Il primo strato si riduce a circa 2μ , il secondo resta inalterato ed il terzo si accresce verso la superficie sulla quale si aprono i canalicoli.

Progredendo lo sviluppo il guscio si mostra costituito solo dal secondo e terzo strato, in quanto il più esterno è completamente scomparso. Il secondo strato conserva le sue caratteristiche, il più interno ha uno spessore ulteriormente accresciuto, raggiungendo circa 7μ (Tav. III, fig. 8).

Le ultime immagini che possediamo mostrano il guscio costituito unicamente da quello che abbiamo indicato come terzo strato. I canalicoli non si aprono più alla superficie esterna che appare lievemente ondulata e delimitata da una sottile pellicola continua; il decorso dei canalicoli si presenta flessuoso ed il loro lume sembra contenere materiale di densità non uniforme (Tav. III, fig. 9).

Per quanto concerne la parete dell'atrio, essa, nel corso della formazione del guscio, non subisce modificazioni di rilievo ad eccezione del fatto che diviene completamente distesa e la porzione apicale delle cellule epiteliali si riduce progressivamente ad un sottilissimo strato. Di rilievo è invece la comparsa, nello spessore della parete, di propagini citoplasmatici di notevole grandezza, ripiene di vescicole per aspetto e dimensioni del tutto simili a quelle che abbiamo descritto quali componenti del primo e del secondo strato del guscio (Tav. III, figg. 10 e 11).

Non abbiamo ancora localizzato i corpi cellulari di tali propaggini; essi potrebbero forse trovarsi a notevole distanza in analogia a quanto osservato per le ghiandole del cemento [16].

CONCLUSIONI

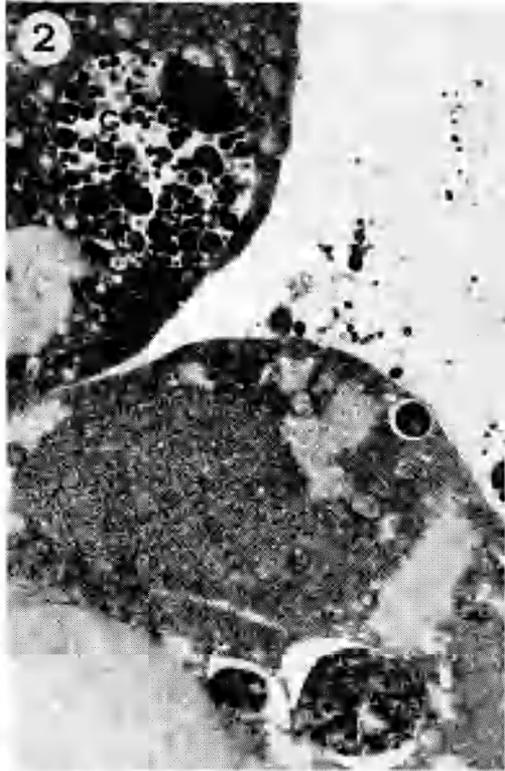
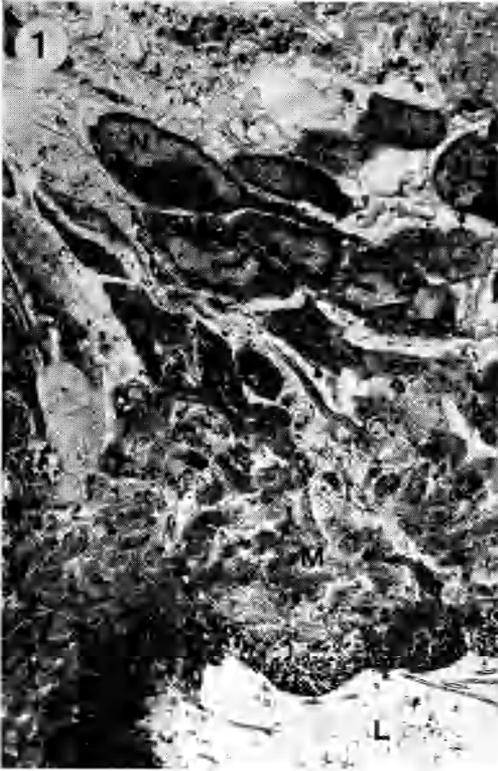
Le nostre osservazioni consentono una descrizione dei fenomeni connessi con la formazione del guscio che riguarda sia l'aspetto morfologico che alcuni aspetti funzionali. Abbiamo infatti rilevato che in una fase iniziale il guscio appare costituito da tre strati ben distinguibili tra loro. Nelle fasi successive il primo ed il secondo strato gradualmente si riducono di spessore fino alla totale scomparsa, mentre si nota un contemporaneo aumento dello spessore del terzo strato che diviene l'unico costituente del guscio. Esso è da ritenersi formato dal materiale proveniente dai globuli del guscio contenuti inizialmente nelle cellule vitelline [12] e che risultano essere costituiti da polifenoli, proteine e polifenolossidasi [11].

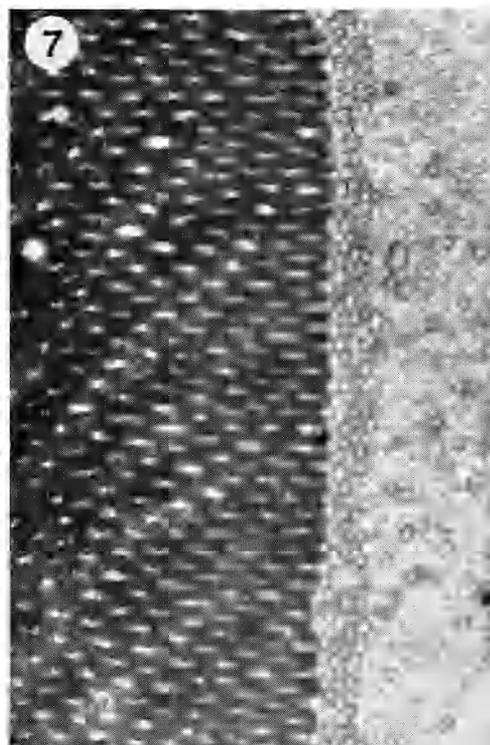
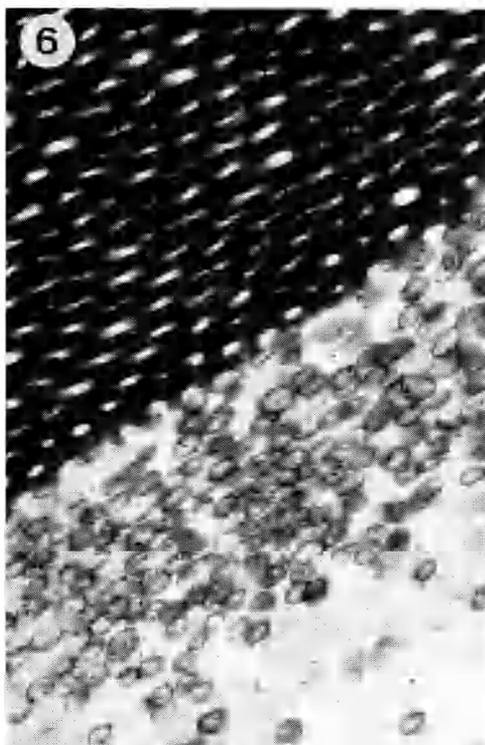
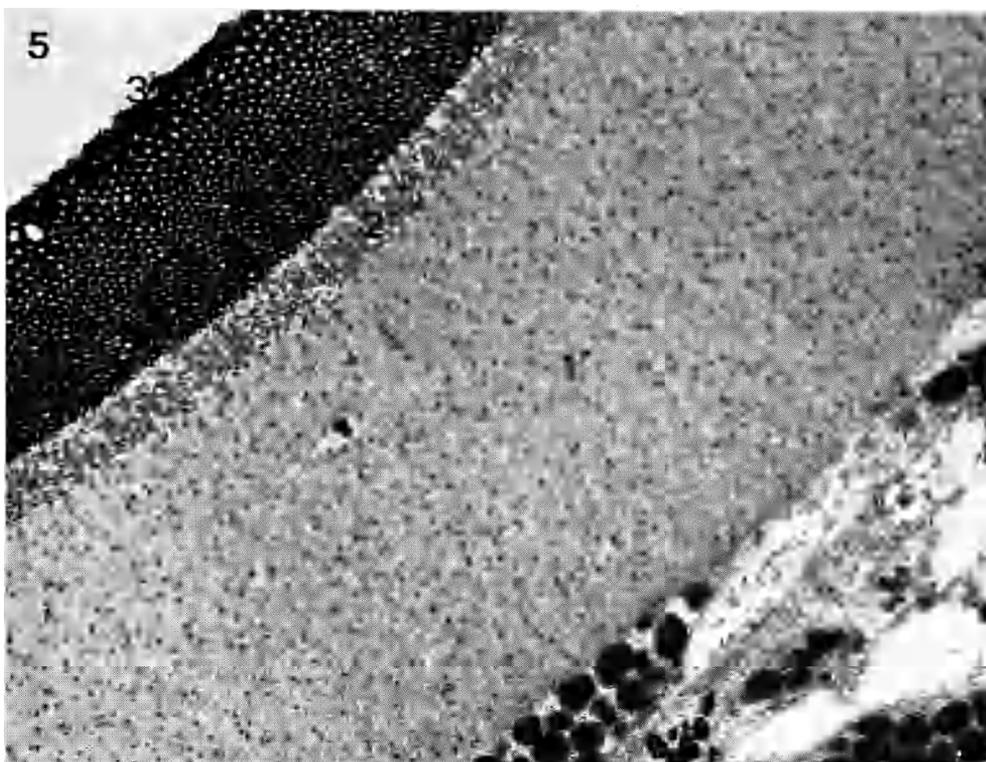
Il sistema polifenolossidatico viene attivato all'interno dell'atrio genitale [10, 11]; noi riteniamo che l'attivatore potrebbe identificarsi con il contenuto delle piccole vescicole che abbiamo visto presenti nel primo e nel secondo strato del guscio in formazione e che le nostre osservazioni indicherebbero provenire dalla parete dell'atrio. Che tali vescicole debbano avere un importante ruolo nella formazione del guscio lo fa supporre sia il loro elevato numero, sia il loro ammassarsi verso la superficie dello strato più interno e sia, infine, la loro penetrazione nel lume dei canalicoli, nel quale riteniamo si aprano e versino il contenuto.

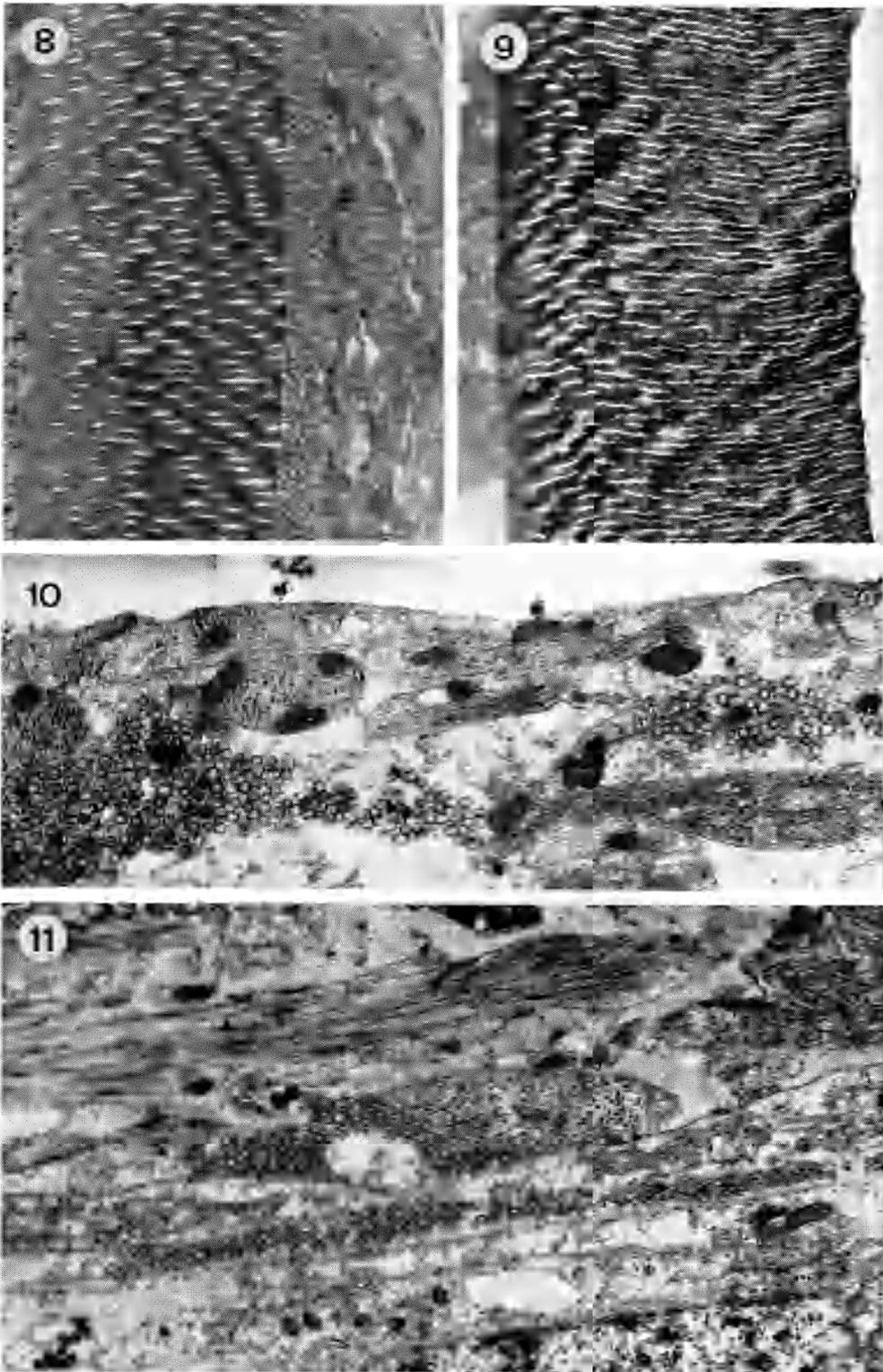
Il processo di sclerotizzazione e di accrescimento dello strato più interno del guscio, che sarà poi quello definitivo, abbiamo visto che procede dall'interno all'esterno e ciò avverrebbe proprio per l'apporto dell'attivatore contenuto nelle vescicole, il quale reagirebbe con le sostanze prodotte dalle cellule vitelline. La formazione del guscio non avverrebbe quindi unicamente ad opera delle sostanze prodotte dalle cellule vitelline, ma l'attivatore del sistema polifenolossidatico giungerebbe dalla parete dell'atrio o per suo tramite. Per avvalorare la nostra ipotesi ci ripromettiamo ulteriori indagini sia morfologiche che istochimiche.

BIBLIOGRAFIA

- [1] M. VIALLI (1933) - « Boll. Zool. », 4, 135.
- [2] M. VIALLI (1934) - « Boll. Zool. », 5, 21.
- [3] W. STEPHENSON (1947) - « Parasitol. », 38, 128.
- [4] F. R. NURSE (1950) - « Nature », 165, 570.
- [5] J. D. SMYTH (1951) - « Nature », 168, 322.
- [6] M. VALCURONE (1953) - « Arch. Zool. Ital. », 38, 245.
- [7] J. D. SMYTH (1954) - « Quart. J. Micr. Sci. », 95, 139.
- [8] J. D. SMYTH e J. A. CLEGG (1959) - « Exp. Parasit. », 8, 286.
- [9] P. R. BURTON (1963) - « J. Exp. Zool. », 154, 247.







- [10] G. GERZELI e G. GERZELI PEDRAZZI (1965) - «Arch. Zool. Ital.», 50, 1.
[11] V. GREMIGNI e L. DOMENICI (1974) - «Cell. Tiss. Res.», 150, 261.
[12] M. MARINELLI (1972) - «Boll. Zool.», 39, 337.
[13] H. H. MOLLENHAUER (1964) - «J. Stain Technol.», 39, 111.
[14] H. L. WATSON (1958) - «J. Biophys. Biochem. Cytol.», 4, 475.
[15] E. S. REYNOLDS (1963) - «J. Cell. Biol.», 17, 208.
[16] M. MARINELLI e R. M. FARNESI (1974) - «Riv. Biol.», 57, 301.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-III

TAVOLA I

- Fig. 1. - Parete dell'atrio genitale di *Dugesia lugubris* s.l. in cui non è contenuto il bozzolo. L = lume dell'atrio genitale. M = strati muscolari. N = nuclei delle cellule epiletiali. $\times 2.200$.
- Fig. 2. - Cellule vitelline nella parte terminale dell'ovidutto. G = globuli del guscio frammentati in procinto di fuoriuscire. Nel lume evidenti granuli elettrondensi. $\times 10.500$.
- Fig. 3. - Cellule vitelline nell'atrio genitale. Numerosi granuli elettrondensi negli spazi intercellulari. $\times 6.200$.
- Fig. 4. - Cellule vitelline nell'atrio genitale. Grossi ammassi sferoidali negli spazi intercellulari. $\times 4.500$.

TAVOLA II

- Fig. 5. - Fase precoce della formazione del guscio. Si distinguono chiaramente il 1°, il 2° ed il 3° strato. I canalicoli appaiono in sezione trasversale. $\times 6.100$.
- Fig. 6. - Particolare della fig. 5. Secondo e terzo strato del guscio. $\times 32.600$.
- Fig. 7. - Guscio in formazione. Evidente il rapporto tra vescicole del secondo strato e canalicoli del terzo strato. $\times 21.900$.

TAVOLA III

- Fig. 8. - Guscio costituito solo dal secondo e terzo strato. Al di sotto del terzo strato si osserva materiale proveniente dalle cellule vitelline. $\times 13.000$.
- Fig. 9. - Guscio di un bozzolo al termine dello sviluppo. I canalicoli non si aprono esternamente. $\times 11.300$.
- Fig. 10 e 11. - Parete dell'atrio genitale durante la formazione del guscio. Evidenti propaggini citoplasmatiche ripiene di vescicole del tutto simili a quelle osservate nel primo e secondo strato del guscio. $\times 22.600$. $\times 14.600$.