
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

FULVIO ZAFFAGNINI, BRUNO SABELLI, FIORENZA ROSSI

**Incorporazione di uridina- H^2 negli ovociti
partenogenetici e nelle cellule nutrici di *Daphnia*
*pulex***

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 64 (1978), n.3, p. 311-314.*
Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1978_8_64_3_311_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. — *Incorporazione di uridina- H^3 negli ovociti partenogenetici e nelle cellule nutrici di Daphnia pulex* (*). Nota di FULVIO ZAFFAGNINI, BRUNO SABELLI e FIORENZA ROSSI, presentata (**) dal Corrisp. E. VANNINI.

SUMMARY. — Parthenogenetic oocytes of *Daphnia pulex* autonomously synthesize RNA and do not receive RNA from the nurse cells during the growth period.

Nella genesi delle uova subitane di *Daphnia* si ha la formazione di gruppi di 4 ovociti, di cui uno (ovocita definitivo) subisce una normale ovogenesi divenendo un uovo maturo, mentre gli altri tre (cellule nutrici) si accrescono meno, sono incapaci di accumulare tuorlo ed infine presentano fenomeni degenerativi venendo riassorbiti dall'ovocita pieno di tuorlo. Precedenti indagini citochimiche avevano messo in evidenza che sia l'ovocita definitivo che le sue cellule nutrici hanno un nucleolo molto sviluppato con un elevato contenuto in RNA per tutto il periodo ovogenetico. Inoltre, sia il citoplasma dell'ovocita che quello delle cellule nutrici è all'inizio ugualmente ricco di RNA; poi, mentre la concentrazione in RNA del citoplasma ovocitario diminuisce con il progredire della vitellogenesi, quella del citoplasma delle cellule nutrici permane elevata per tutto il periodo ovogenetico [1-3].

Indagini con il microscopio elettronico hanno mostrato che i componenti di ogni gruppo ovocitario (1 ovocita e 3 cellule nutrici) sono uniti a catena mediante ponti intercellulari originatisi per incompleta divisione del citoplasma [4]. Attraverso questi ponti intercellulari non è stato però messo in evidenza nessun passaggio di materiale citoplasmatico. Pertanto le indagini ultrastrutturali e quelle citologiche e citochimiche hanno lasciato non chiariti due problemi: 1) se il nucleolo dell'ovocita e quello delle cellule nutrici conservano per tutto il periodo ovogenetico la capacità di sintetizzare RNA; 2) se vi è passaggio di RNA dalle cellule nutrici all'ovocita.

Per rispondere a queste domande abbiamo utilizzato un precursore dell'RNA. Diverse femmine di *Daphnia pulex* con ovociti subitanei in vari stadi di accrescimento sono state tenute a temperatura ambiente in 25 cc di acqua contenente 0,5 cc di uridina- H^3 , pari a 20 μ C per cc. I tempi di trattamento sono stati di 30', 1 ora e 2 ore. La fissazione è stata effettuata subito dopo il trattamento, oppure dopo avere tenuto gli animali in acqua pura per 3 ore, 6 ore, 12 ore e 24 ore dopo ciascun trattamento. Dopo fissazione in Carnoy ed inclusione in paraffina, le sezioni sagittali di 5 μ sono state ricoperte con l'emulsione liquida Kodak NTB2 diluita 1 : 1. Dopo 12 giorni di incubazione a 4 °C, le sezioni sono state sviluppate per 2' con il rivelatore Kodak D-19 e poi colorate con il verde di metile-pironina a pH 7.

(*) Dipartimento di Ecologia, Università della Calabria e Istituto di Zoologia, Università di Bologna.

(**) Nella seduta dell'11 marzo 1978.

Se si esaminano ovociti poco prima o all'inizio della vitellogenesi, nella fase in cui il nucleolo ed il citoplasma presentano la massima affinità per la pironina, già dopo 30' di trattamento con uridina- H^3 si ha una notevole incorporazione nel nucleolo (Tav. I, fig. 1). Questa rapida incorporazione non sorprende se si considera che alla temperatura di 18-20 °C l'ovogenesi si completa in 6-7 giorni. Se si toglie l'animale dopo 30' di trattamento e lo si pone in acqua pura per 3-6 ore, aumenta l'incorporazione del nucleolo e del nucleo ed anche il citoplasma diviene marcato (Tav. I, fig. 2). 12-24 ore dopo il trattamento, l'incorporazione aumenta nel citoplasma e diminuisce nel nucleolo (Tav. I, fig. 3). Ciò dimostra che l'RNA sintetizzato nel nucleolo passa al citoplasma. Le cellule nutrici presentano lo stesso comportamento dell'ovocita.

Se si esaminano ovociti in vitellogenesi avanzata, si osserva che il nucleolo dell'ovocita e quello delle cellule nutrici sintetizzano ancora attivamente RNA, seppure in misura un po' inferiore che allo stadio immediatamente precedente la vitellogenesi (Tav. II, fig. 4). Ciò è in accordo con la lieve minore affinità per la pironina presentata dal nucleolo in questa fase [12]. Se l'animale, dopo il trattamento con uridina- H^3 , viene posto per 3-6 ore in acqua pura, la marcatura del nucleolo e del nucleo aumenta e anche il citoplasma, sia dell'ovocita che delle cellule nutrici, presenta incorporazione. La marcatura però è più concentrata nel citoplasma delle cellule nutrici, perché queste hanno un volume molto più piccolo e mancano di tuorlo (Tav. II, fig. 5). Se la fissazione viene fatta dopo che l'animale è stato tenuto per 12-24 ore in acqua pura, si ha una più intensa marcatura citoplasmatica sia nell'ovocita che nelle cellule nutrici ed una diminuzione della marcatura del nucleolo (Tav. II, fig. 6). L'uniforme marcatura del citoplasma ovocitario, frammista ai globuli proteici e ai vacuoli lipidici e l'intensa marcatura del citoplasma delle cellule nutrici dimostrano che non vi è alcun evidente passaggio di RNA dalle cellule nutrici all'ovocita. Quindi la marcatura del citoplasma dell'ovocita sembra provenire tutta da RNA sintetizzato nel proprio nucleolo, poiché l'RNA delle cellule nutrici non sembra passare nel citoplasma ovocitario. Solo alla fine della vitellogenesi, in concomitanza con fenomeni degenerativi, le cellule nutrici cedono il loro contenuto all'ovocita fino al completo riassorbimento [2].

Le osservazioni autoradiografiche hanno pertanto confermato che il nucleolo dell'ovocita e quello delle cellule nutrici hanno uno stesso comportamento e conservano la loro attività sintetica per tutto il processo ovogenetico. Inoltre, viene dimostrato che l'ovocita ha una sintesi autonoma di RNA sia prima che durante la vitellogenesi e che non riceve RNA dalle cellule nutrici durante il suo accrescimento. Questi risultati sono in accordo con le osservazioni citologiche e citochimiche, ma non confermano le deduzioni tratte da indagini citometriche, in base alle quali si era creduto di mettere in evidenza una periodica cessione di materiale citoplasmatico dalle cellule nutrici all'ovocita [5]. Tuttavia queste indagini citometriche hanno mostrato che le cellule nutrici iniziano ad accrescersi meno dell'ovocita prima di qualsiasi differenziamento morfologico e che esse raggiungono ma non superano le dimensioni massime dell'ovocita previtellogenetico. Esse possono quindi essere considerate

degli ovociti abortivi, incapaci di superare la fase di sintesi di RNA. Sulle cause del differenziamento ovocitario e della incapacità delle cellule nutrici ad accumulare tuorlo è stato discusso in altra sede [6].

In conclusione, le cellule nutrici degli ovociti partenogenetici di *Daphnia* non sembrano esplicare una vera funzione trofica, in quanto l'ovocita è in grado di formare il proprio RNA. La cessione finale di materiale da parte delle cellule nutrici va puramente ad aggiungersi a quanto l'ovocita ha già costruito per proprio conto. Questa situazione è completamente diversa da quella presente negli ovaroli meroistici degli Insetti, nei quali l'ovocita riceve continuamente grandi quantità di RNA dalle cellule nutrici, avendo esso una scarsa attività sintetica autonoma [7]. In questi ovaroli meroistici il genoma dell'ovocita è inattivato prima e durante la vitellogenesi e la sua funzione viene assunta dal nucleo delle cellule nutrici nel quale la capacità di sintesi di RNA è moltiplicata da un alto grado di poliploidia e da addizionali replicazioni delle regioni nucleolo-organizzatrici [8, 9].

In *Simulium vittatum*, però, la sintesi di RNA nel nucleo ovocitario è attiva e correlativamente sembra che l'RNA sintetizzato dalle cellule nutrici non passi nell'ovocita [10]. Questa eccezione è molto simile a quanto è stato riscontrato in *Daphnia*.

BIBLIOGRAFIA

- [1] F. ZAFFAGNINI (1962) - « Rend. Ist. Sci. Camerino », 3, 47.
- [2] F. ZAFFAGNINI (1962) - « Rend. Ist. Sci. Camerino », 3, 138.
- [3] F. ZAFFAGNINI (1964) - « Boll. Zool. », 31, 697.
- [4] F. ZAFFAGNINI e M. L. LUCCHI (1965) - « Arch. Zool. Ital. », 50, 49.
- [5] F. ZAFFAGNINI (1960) - « Arch. Zool. Ital. », 45, 125.
- [6] F. ZAFFAGNINI (1969) - « Boll. Zool. », 36, 263.
- [7] W. ENGELS (1969) - « Zool. Anz., Suppl. », 33, 30.
- [8] K. BIER, W. KUNZ e D. RIBBERT (1967) - « Chromosoma », 23, 214.
- [9] D. RIBBERT e K. BIER (1969) - « Chromosoma », 27, 178.
- [10] M. ZALOKAR (1965) - « Rev. Suisse Zool. », 72, 241.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-II

TAVOLA I

Fig. 1. - Gruppo ovocitario all'inizio della vitellogenesi; trattamento con uridina-H³ per 30'. Si noti l'intensa marcatura a livello del nucleolo dell'ovocita (in basso) e di una cellula nutrice (in alto). *No*, nucleolo dell'ovocita; *Ncn*, nucleolo della cellula nutrice; *Vl*, vacuolo lipidico. 350×.

Fig. 2. - Gruppo ovocitario previtellogenetico; trattamento con uridina-H³ per 30' e poi soggiorno in acqua pura per 3 ore. Mentre il nucleolo è ancora intensamente marcato, la marcatura è aumentata nel nucleo e si è estesa al citoplasma sia dell'ovocita che delle sue cellule nutrici. *No*, nucleolo dell'ovocita; *Ncn*, nucleolo di una cellula nutrice. 350×.

Fig. 3. - Gruppo ovcitario previtelogenetico; trattamento con uridina- H^3 per 2 ore e poi soggiorno in acqua pura per 24 ore. Si noti la cospicua diminuzione di marcatura a livello del nucleolo dell'ovocita (a sinistra) e di una cellula nutrice (al centro) e l'aumento di incorporazione nel citoplasma di entrambi i tipi di cellule. *No*, nucleolo dell'ovocita; *Ncn*, nucleolo di una cellula nutrice; *VZ*, vacuolo lipidico. 350 \times .

TAVOLA II

Fig. 4. - Gruppo ovcitario in vitellogenesi avanzata; trattamento con uridina- H^3 per 1 ora. Solo il nucleolo dell'ovocita e quello delle cellule nutrici (di cui se ne vede una in alto) sono marcati, seppure meno intensamente che nello stadio previtelogenetico (cfr. Tav. I, fig. 1). *No*, nucleolo dell'ovocita; *Ncn*, nucleolo di una cellula nutrice; *VZ*, vacuolo lipidico. 350 \times .

Fig. 5. - Gruppo ovcitario in vitellogenesi avanzata; trattamento con uridina- H^3 per 1 ora e poi soggiorno in acqua pura per 6 ore. L'incorporazione si riscontra oltre che nel nucleolo anche nel nucleolo e nel citoplasma (più intensa nel citoplasma delle cellule nutrici). *No*, nucleolo dell'ovocita; *Ncn*, nucleolo di una cellula nutrice; *VZ*, vacuolo lipidico. 350 \times .

Fig. 6. - Gruppo ovcitario in vitellogenesi avanzata; trattamento con uridina- H^3 per 1 ora e poi soggiorno in acqua pura per 24 ore. Il nucleolo, sia dell'ovocita che delle cellule nutrici, presenta una evidente diminuzione di incorporazione, mentre il citoplasma dei due tipi di cellule mostra un aumento dell'incorporazione. Si noti la forte marcatura del citoplasma delle cellule nutrici e l'assenza di flusso di granuli da queste all'ovocita. *No*, nucleolo dell'ovocita; *Ncn*, nucleolo di una cellula nutrice; *VZ*, vacuolo lipidico. 350 \times .



