
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

MARIA VALLISNERI, FRANCESCO ZACCANTI

**Diagnosi del genotipo sessuale in embrioni di pollo
(Gallus domesticus). I L Embrioni sessualmente
indifferenziati**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 77 (1984), n.6, p. 239–242.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1984_8_77_6_239_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. — *Diagnosi del genotipo sessuale in embrioni di pollo* (*Gallus domesticus*). II. *Embrioni sessualmente indifferenziati* (*). Nota di MARIA VALLISNERI e FRANCESCO ZACCANTI (**), presentata (***) dal Corrisp. E. VANNINI.

SUMMARY. — Sexual differences are found in interphase ectodermic nuclei of chick embryos beginning from 50 hours of incubation: 41% female nuclei show one heterochromatic body larger than others. Such heterochromatic bodies are not seen in interphase nuclei of embryos at 27-47 incubation hours. The cytological differences between sexes are in accord with the caryological ones, and may be utilized in precocious sex diagnosis of embryos in which anatomical or histological differences are not yet detectable.

La presenza di una cromatina sessuale nei nuclei interfascici di femmine di Uccelli è stata segnalata per la prima volta da Kosin e Ishizaki (1959) e attribuita alla eterocromatizzazione del cromosoma W da Frederic (1961). In una nota precedente (Vallisneri e Zaccanti, 1984) è stata controllata la possibilità di utilizzare le suddette differenze citologiche sessuali per la diagnosi precoce del sesso di embrioni di *Gallus domesticus*. In quella occasione sono stati osservati nuclei interfascici di cellule di pelle di embrioni di 12-14 giorni di incubazione, nei quali il fenotipo anatomico delle gonadi femminili è distinguibile da quello delle gonadi maschili. Si è potuto così riscontrare la presenza di un corpo eterocromatico nettamente maggiore degli altri in una elevata percentuale dei nuclei interfascici delle femmine; frequenza percentuale, numero medio ed area totale dei corpi eterocromatici per nucleo, sono risultati significativamente diversi nei maschi e nelle femmine.

Nella presente occasione vengono riferite ulteriori osservazioni condotte su embrioni di pollo sessualmente indifferenziati, nel tentativo di eseguire diagnosi del sesso sulla base delle differenze riscontrabili a carico dei nuclei inter-

(*) Lavoro eseguito con un finanziamento del Ministero della Pubblica Istruzione.

(**) Istituto di Zoologia dell'Università di Bologna, via S. Giacomo, 9 - 40126 Bologna.

(***) Nella seduta del 24 novembre 1984.

fasci. Per controllare la validità delle suddette diagnosi sono stati ricercati nelle piastre metafasiche gli eterocromosomi ZZ per il sesso maschile e ZW per il sesso femminile. Il cariotipo del pollo consta secondo Owen (1965) di 78 cromosomi distinguibili in macro e microcromosomi in base alla lunghezza. Gli eterocromosomi Z sono macrocromosomi metacentrici, al quinto posto in ordine di grandezza, non confondibili con autosomi di dimensioni simili che sono invece acrocentrici o subtelocentrici. Il cromosoma Z nella femmina fa coppia con il cromosoma W di dimensioni leggermente inferiori a quelle dei cromosomi del decimo paio, dai quali può essere distinto per la posizione più mediale del cromocentro.

Embrioni sono stati sacrificati dopo incubazioni variabili da 27 ore a nove giorni. I preparati citologici sono stati allestiti dopo shock ipotonico, fissazione in Carnoy, dissociazione in acido acetico, colorazione con liquido di Giemsa per l'osservazione dei nuclei interfasci e, previo trattamento con colchicina, per l'osservazione dei cromosomi.

I risultati ottenuti sono i seguenti:

1) la diagnosi del sesso su embrioni agli stadi di 4-16 somiti (27-47 ore di incubazione) può essere fatta esclusivamente per mezzo del riconoscimento nelle piastre metafasiche dei due cromosomi Z dei maschi, o dell'unico cromosoma Z delle femmine; i nuclei interfasci non presentano infatti differenze nei due sessi: la cromatina appare diffusa e i pochi corpi eterocromatici riscontrabili hanno contorni sfumati;

2) in embrioni uccisi allo stadio di 20 somiti (circa 50 ore di incubazione) i nuclei interfasci presentano più corpi eterocromatici in via di compattazione senza che tuttavia siano riconoscibili differenze tra maschi e femmine (Tav. I, fig. 1);

3) negli embrioni allo stadio di 23-27 somiti (50-55 ore di incubazione) i corpi eterocromatici dei nuclei interfasci appaiono netti e compatti. Da questi stadi critici in poi si instaurano differenze citologiche tra maschi e femmine. Sono quindi eseguibili diagnosi del sesso basate sulla presenza di un corpo eterocromatico maggiore in una percentuale attorno al 40% dei nuclei interfasci femminili (Tav. I, figg. 2, 3). Tali diagnosi trovano perfetta corrispondenza con quelle eseguite su base cromosomica (Tav. I, figg. 4, 5).

Nella Tabella 1 vengono esemplificate le diagnosi del sesso di embrioni di pollo eseguite sulla base delle percentuali di presenza di un corpo eterocromatico maggiore (c.e.m. %) nei nuclei interfasci; gli animali in cui la frequenza dei nuclei con c.e.m. supera il 30%, sono stati diagnosticati di sesso femminile; quelli in cui la frequenza dei nuclei con c.e.m. non supera il 10%, sono stati diagnosticati di sesso maschile. Tali diagnosi sono risultate corrispondenti con quelle eseguite sulle piastre metafasiche, mediante riconoscimento dei cromosomi sessuali.

Gli intenti metodologici perseguiti in questa e nella precedente occasione (Vallisneri e Zaccanti, 1984) appaiono raggiunti mediante la definizione e il controllo della possibilità di diagnosticare il sesso di embrioni di pollo in stadi

TABELLA I

Percentuali di nuclei interfascici con un corpo eterocromatico più grosso degli altri (CEM) in embrioni di pollo sessualmente indifferenziati.

Esemplare	Incubazione (giorni)	Stadio	C.E.M. %	Diagnosi del sesso	Cromosomi Z
<i>a</i>	3	16	36	♀	1
<i>b</i>	3	16	6	♂	2
<i>c</i>	3	17	34	♀	1
<i>d</i>	3	19	53	♀	1
<i>e</i>	3	19	7	♂	2
<i>f</i>	3	19	41	♀	1
<i>g</i>	3	19	40	♀	1
<i>h</i>	3	19	4	♂	2
<i>i</i>	3	19	8	♂	2
<i>j</i>	3	20	36	♀	1
<i>k</i>	3	21	42	♀	1
<i>l</i>	3	21	6	♂	2
<i>m</i>	6	28	45	♀	1
<i>n</i>	6	29	37	♀	1
<i>o</i>	6	29	10	♂	2
<i>p</i>	6	29	36	♀	1
<i>q</i>	6	30	41	♀	1

iniziali di sviluppo, sulla base delle differenze esistenti tra i nuclei interfascici dei maschi e delle femmine.

La diagnosi del sesso può essere in ogni caso eseguita attraverso l'osservazione dei cromosomi in piastra metafascica. Negli embrioni al di sotto delle 50-55 ore di incubazione tale modalità di diagnosi, che è l'unica tentabile, è facilitata dalla elevata frequenza di piastre equatoriali mitotiche che si riscontrano in questi precoci stadi di sviluppo.

La diagnosi basata sulla presenza di un corpo eterocromatico maggiore in una elevata percentuale dei nuclei interfascici femminili può essere tentata in embrioni che, completata la neurulazione, abbiano raggiunto lo stadio di « bottone codale » (23-27 somiti, 50-55 ore di incubazione).

Lo stadio di bottone codale assume quindi il valore di « stadio critico », a partire dal quale è riconoscibile una cromatina sessuale femminile. Tale dato sottolinea le notevoli differenze esistenti sotto questo punto di vista tra Uccelli e Mammiferi: nei primi infatti la presenza di una cromatina sessuale interessa il sesso eterogametico e si instaura in fasi di sviluppo relativamente tardive; nei Mammiferi invece la cromatina sessuale è propria del sesso omogametico e compare assai più precocemente.

L'impiego di una metodica citologica nella diagnosi sessuale appare particolarmente utile per la rapidità di esecuzione, soprattutto in quegli stadi di sviluppo in cui, diminuendo i ritmi di moltiplicazione cellulare, parimenti diminuisce l'incidenza delle piastre equatoriali nei preparati cariologici.

BIBLIOGRAFIA

- FREDERIC J. (1961) - *Contribution à l'étude du caryotype chez le poulet*. « Arch. Biol. », 72, 185-209.
- KOSIN I.L. e ISHIZAKI H. (1959) - *Incidence of sex chromatin in Gallus domesticus*. « Science », 130, 43-44.
- OWEN J.J.T. (1965) - *Karyotype studies on Gallus domesticus*. « Chromosoma (Berl.) », 16, 601-608.
- VALLISNERI M. e ZACCANTI F. (1984) - *Diagnosi del genotipo sessuale in embrioni di pollo (Gallus domesticus)*. I. *Embrioni sessualmente differenziati*. « Rend. Accad. Naz. Lincei », in stampa.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

- Fig. 1. - Embrione di pollo di sesso femminile allo stadio di 7 somiti (circa 30 ore di incubazione); cellule ectodermiche; nucleo interfascio: la cromatina diffusa non è organizzata in corpi eterocromatici. A questo stadio di sviluppo la situazione è identica nei due sessi (2000×).
- Fig. 2. - Embrione di pollo di sesso femminile allo stadio di 27 somiti (circa 53 ore di incubazione); cellule ectodermiche; nucleo interfascio: un corpo eterocromatico ha dimensioni nettamente maggiori degli altri (2000×).
- Fig. 3. - Embrione di pollo di sesso femminile allo stadio di 24 somiti (circa 53 ore di incubazione); cellule ectodermiche; nucleo interfascio: evidenti piccoli corpi eterocromatici (2000×).
- Fig. 4. - Cromosomi in metafase di un embrione di pollo di sesso femminile: il macrocromosoma Z, spaiato nel sesso eterogametico, è indicato con una freccia (2500×).
- Fig. 5. - Cromosomi in metafase di un embrione di pollo di sesso maschile: i due macrocromosomi Z, sono indicati da frecce (2500×).

