
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ALBERTO STEFANELLI, ANTONIA BASILE

**Sviluppo embrionale del riccio di mare
(*Paracentrotus lividus*) in condizione di elevata
pressione idrostatica**

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 53 (1972), n.1-2, p. 198-202.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1972_8_53_1-2_198_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/>

Biologia. — *Sviluppo embrionale del riccio di mare* (*Paracentrotus lividus*) *in condizione di elevata pressione idrostatica*. Nota (*) di ALBERTO STEFANELLI e ANTONIA BASILE, presentata dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The effect of high hydrostatic pressure on sea urchin embryonic development was investigated in *Paracentrotus lividus* with the aim of analyzing cell division and morphogenetic movements. At all stages the morphogenesis of the embryos developing in pressurized chambers (at 250–300 atm.) appeared to be more or less hindered. The least affected morphogenetic process was gastrulation, which could be accomplished although the size of archenteric cavity appeared to be reduced; the most severe disturbances were apparent in cleaving eggs in which cleavage underwent complete block; accordingly the step from morula to blastula appeared highly abnormal because of the inhibited formation of the blastocoelic cavity.

In precedenti Note in corso di stampa su questi Rendiconti, sono stati illustrati alcuni risultati riguardanti la morfogenesi embrionale di alcuni Anfibi anuri, utilizzando come mezzo sperimentale la elevata pressione idrostatica (250–300 atm.). L'osservazione del materiale avveniva direttamente con il microscopio in celle di pressurizzazione opportunamente costruite (Stefanelli, 1972) e il materiale, fissato sotto pressione, è stato poi studiato istologicamente.

Questa tecnica sperimentale è stata applicata in base alla constatazione che la pressione idrostatica entro certi valori – variabili per le diverse specie e con la temperatura – blocca le divisioni cellulari (con effetto citostatico non tossico) mentre, entro determinati limiti di pressione, non influisce sui movimenti cellulari compresi quelli di translazione o migrazione. Rimando alla recente raccolta monografica di Zimmerman (1970) per una più completa bibliografia al riguardo.

Così l'azione della elevata pressione idrostatica è un mezzo per separare, nello studio della morfogenesi, quanto è dovuto alla moltiplicazione cellulare e quanto al movimento di migrazione. Negli Anfibi il problema ha particolare interesse perchè, come è noto dalla embriologia sperimentale classica (Ruffini, 1907; Holtfreter, 1943–44, ecc.), nella embriogenesi di questi animali alla moltiplicazione cellulare si aggiungono vistose migrazioni di cellule. I processi di epibolia e di embolia, così appariscenti negli Anfibi, meritavano una indagine in questo senso e la sperimentazione sin ora fatta ha chiaramente dimostrato come i processi di invaginazione del I solco falciforme e di sollevamento e di chiusura delle pieghe neurali si attuino anche in ambiente iperbarico (300 atm) e non siano quindi fondamentalmente legati alla moltiplicazione cellulare, mentre la segmentazione dell'uovo, la formazione del II

(*) Pervenuta all'Accademia il 19 luglio 1972.

solco, la chiusura del blastoporo e l'allungamento del bottone caudale, processi che si attuano con prevalenza della attività di moltiplicazione cellulare, siano fortemente inibiti.

In base a questi risultati ci è sembrato pertanto utile, per una più precisa valutazione dei fenomeni, esaminare l'effetto della elevata pressione idrostatica nello sviluppo embrionale di riccio di mare, dove, essendo le uova oligolecitiche, prevalgano di gran lunga i fenomeni moltiplicativi su quelli di migrazione. Soprattutto ci sembrava interessante il fenomeno della gastrulazione che negli Echinodermi appare più come una introflessione passiva dovuta ad aumento numerico delle cellule che ad un attivo movimento cellulare come nello sticotropismo degli Anfibi.

La tecnica usata è stata quella di porre un centinaio di uova in cellette di pressurizzazione e di farle sviluppare sotto pressione. La capienza di cm³ 1,5 delle celle non ci ha però consentito di osservare in una sola volta tutto il ciclo di sviluppo embrionale poichè le uova non superano, senza manifestare segni di sofferenza, anche in cellette di controllo a pressione atmosferica di eguale capacità, le 12 ore in condizioni ottimali di temperatura (18°–20° C). La pressione a cui sono stati sottoposti gli embrioni è stata di 250–300 atm e si è operato a 21°–22° C. Si è pertanto suddiviso il periodo di sviluppo embrionale in sette periodi: I, dalla fecondazione ai primi solchi di segmentazione; II, da morula a giovane gastrula; III, da giovane blastula a gastrula; V, da gastrula a prisma; VI, da prisma a pluteo a braccia corte; VII, da pluteo a braccia corte a pluteo a braccia lunghe. Di alcuni stadi si sono allestiti preparati istologici fissandoli, sia sotto pressione (con una speciale celletta), sia dopo decompressione.

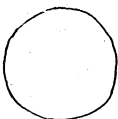
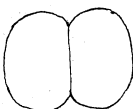
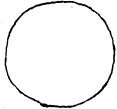
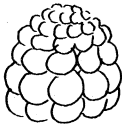
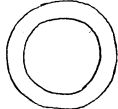
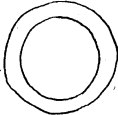
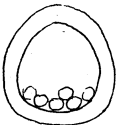
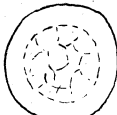
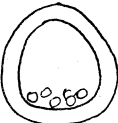
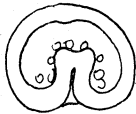
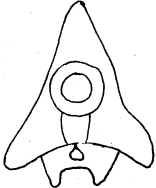
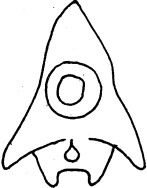
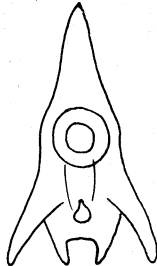
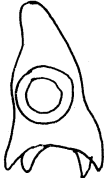
In succinto si sono ottenuti i risultati che seguono, illustrati nella Tabella I.

I periodo: si ha la totale inibizione delle segmentazioni. Questo è conforme a quanto hanno osservato Marsland in *Arbacia* (1938, 1939) Pease e Marsland (1939) e Marsland (1970) in molte altre specie di Echinodermi compresa la specie da noi studiata.

II periodo: si ottiene una elevata percentuale di blastule «piene» in quanto non si forma la cavità blastocelica che risulta occupata da cellule in attività cariocinetica bloccata; il blastoderma è invece ben delimitato.

III periodo: anche in questo caso si ha la tendenza della invasione della cavità blastocelica che non appare però completamente riempita. È interessante questo periodo perché è possibile constatare, soprattutto in base alla posizione del mesenchima primario (Czihak 1962), il grado di animalizzazione che appare più elevato negli embrioni compressi. Questo fenomeno coincide bene con quanto è noto dalla teoria dei gradienti (di Rünstrom, Horstadius e di Lindhal): infatti la bassa temperatura (11°, 15° C) animalizza, mentre la temperatura più elevata (21°, 26° C) tende alla vegetativizzazione. Secondo i principi termodinamici l'aumento di pressione dovrebbe avere appunto, come in effetti è risultato, un effetto animalizzante.

TABELLA I.

	Stadio inizio delle esperienze	Temp. C°	Press. atm	ore	Stadio finale esperienze	
					in cella a pr. atmosferica	in cella iperbarica
I		22	350	1.30		
II		22	350	2		
III		22	300	2.30		
IV		22	300	6		
V		21	300	1.40		
VI		21	300	12		
VII		21	300	10		

IV periodo: nella maggioranza degli embrioni la invaginazione gastrale si ottiene anche negli embrioni pressurizzati, anche se risulta meno profonda e con la cavità archenterica più ridotta. La cavità blastocelica rimane ampia.

V periodo. È quello meno studiato a causa della improvvisa ondata di caldo stagionale che non ci ha permesso di avere del materiale in buone condizioni anche se portato in camera termostatica a 21° C. Il passaggio da gastrula avanzata a prisma appare tuttavia rallentato.

VI periodo: si ha un rallentamento sensibile nello sviluppo e la forma a prisma è conservata pur con una modesta emanazione delle braccia.

VII periodo: anche in questo caso i plutei risentono la condizione iperbarica accrescendo assai modestamente le braccia. In alcune esperienze si è avuta la tendenza ad una regressione delle braccia stesse.

In conclusione, lo sviluppo embrionale del riccio di mare si è dimostrato in generale molto più compromesso dalla alta pressione idrostatica di quello degli Anfibi anuri. Negli Anuri infatti le fasi morfogenetiche che avvengono con prevalente attività di movimento, come la formazione del I solco falci-forme, il sollevamento dei cercini neurali e la chiusura del tubo neurale, sono poco compromesse dalla pressione (Stefanelli e Zacchei, 1972), mentre si ha il completo arresto dei processi in cui prevale la moltiplicazione cellulare, come la segmentazione, l'epibolia, la chiusura del blastoporo, e lo sviluppo del bottone codale. Nel riccio di mare i fenomeni morfogenetici sono tutti accompagnati dalla divisione cellulare e sono quindi inibiti dalla alta pressione idrostatica; la fase meno colpita è quella della gastrulazione, che, pur in modo più limitato, si manifesta anche in condizione iperbarica; ciò dimostra che la invaginazione entodermica, anche se associata alla moltiplicazione cellulare, è, anche negli Echinodermi, un processo prevalentemente di movimento.

BIBLIOGRAFIA

- CATTEL MC. K. (1936) - *The biological effects of pressure*, « Biol. Rev. », **11**, 441-476.
- CZIHAK G. (1962) - *Entwicklungs physiologische Untersuchungen an Echiniden*, « Roux Arch. », **154**.
- BROWN D. (1934) - *The pressure coefficient of viscosity in the egg of Arbacia punctulata*, « J. Cell. Comp. Physiol. », **5**, 335-346.
- FARINA E. (1971) - *Effetti della pressione idrostatica sullo sviluppo dell'uovo di Discoglossus pictus*, « Rend. Acc. Naz. Lincei », **51**, 555-558.
- HOLTFRETER J. (1943; 1944) - *A study of the mechanism of gastrulation*, « J. Exp. Zool. », **94**, 261-318; **95**, 171-212.
- MARSLAND D. A. (1938) - *The effect of hydrostatic pressure upon cell division in Arbacia eggs*, « J. Cell. Comp. Physiol. », **13**, 15-22.
- MARSLAND D. A. e BROWN D. E. S. (1936) - *Amoeboid movement at high hydrostatic pressure*, « J. Cell. Comp. Physiol. », **8**, 167-178.
- PEASE D. C. (1946) - *Hydrostatic pressure effect upon the spindle figure and chromosome movement*, « Biol. Bull. », **91**,

- RUGH R. e MARSLAND D. A. (1943) – *The effect of hydrostatic pressure upon the early development of frog's egg* (*Rana pipiens*), « Pr. Am. Phil. Soc. », 86, 459–466.
- STEFANELLI A. (1972) – *L'effetto biologico delle elevate pressioni idrostatiche. Realizzazione di alcuni apparecchi per l'osservazione diretta del materiale*, « Rend. Acc. Naz. Lincei ».
- STEFANELLI A. e ZACCHEI A. (1972) – *Prime osservazioni sui processi morfogenetici di embrioni di Anuri sottoposti ad elevate pressioni idrostatiche*, « Rend. Acc. Naz. Lincei ».
- WOLPERT L., MARSLAND D. e HIRSCHFIELD M. (1971) – *The effect of high hydrostatic pressure on the mechanical properties of the surface of the sea-urchin egg*, « J. Cell. Sci. », 8, 87–92.
- ZIMMERMAN A. (1970) – *High pressure effects on cellular processes*, Acad. Press. New York–London.
- ZIMMERMAN A. M., LANDAU J. W. e MARSLAND D. (1957) – *Cell division: a pressure-temperature analysis of the effects of sulphhydryl reagents on the cortical plasmagel structure and furrowing strength of dividing eggs* (*Arbacia and Chaetopterus*), « J. Cell. Comp. Physiol. », 49, 395–435.