
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ANNA STAGNI, FRANCA SABELLI, MARISA SINI

**Aspetti della embrioteca di *Chlorohydra viridissima*
e di *Hydra attenuata* osservata al microscopio
elettronico a scansione e a trasmissione**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 65 (1978), n.5, p. 201–205.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1978_8_65_5_201_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. — *Aspetti della embrioteca di Chlorohydra viridissima e di Hydra attenuata osservata al microscopio elettronico a scansione e a trasmissione* (*). Nota di ANNA STAGNI, FRANCA SABELLI e MARISA SINI, presentata (**) dal Corresp. E. VANNINI.

RÉSUMÉ. — Les Auteurs ont étudié au SEM l'enveloppe de l'oeuf fécondé (embryothèque) de *Chlorohydra viridissima*. Il s'agit d'une enveloppe chitinoïde qui offre des bonnes caractéristiques de classification chez les *Hydridae*. L'embryothèque de *Chlorohydra viridissima* présente à la surface des cellules polygonales à peu près de 26 µm dont les bords de séparation mesurent de 2,5 à 3 µm. Sur les bords il y a parfois des structures lamellaires en forme de bouquet. Au fond des cellules il y a des sphérules isolées ou groupées de 6 µm.

Quelques images infrastructurales au TEM montrent les couches de l'embryothèque de *Hydra attenuata*.

Nella famiglia *Hydridae*, Celenterati Idrozoi Atecati adattatisi alla vita limnica e rappresentati dalla sola forma polipoide, i caratteri sistematici distintivi delle varie specie sono riferiti alle dimensioni dei polipi, alla lunghezza relativa dei tentacoli rispetto al corpo ed al loro numero medio, alla colorazione dei tessuti costituenti la parete del corpo, alla disposizione di inserzione delle gemme ed al modo di abbozzarsi su di esse dei tentacoli, ma soprattutto alla struttura delle nematocisti, a quella degli organi sessuali estemporanei, quali testicoli ed ovari, alla foggia della embrioteca.

Ovviamente le caratteristiche elencate per ultime, nematocisti, testicoli, uova ci forniscono i dati più validi per la classificazione dato che assai meno soggettiva ne è la valutazione e non legata a fattori contingenti; la colorazione infatti, compresa quella determinata da simbiosi con zoochlorelle dell'idra verde è soggetta a modificazioni a seconda del cibo o della esposizione alla luce.

Le cellule urticanti con le nematocisti in esse contenute offrono buoni caratteri sistematici anche se tutte le specie della famiglia possiedono in genere gli stessi quattro tipi di nematocisti: desmonemi, stenoteli, olotriche isorize, atriche isorize e quindi la sistematica debba essere riferita a dettagli di struttura di uno stesso modello⁽¹⁾. Variano in esso le dimensioni, il modo di avvolgersi

(*) Istituto di Zoologia della Università di Bologna, diretto dal prof. E. Vannini e Cattedra di Biologia generale della Università di Bologna. Ricerche eseguite con il contributo del C.N.R.

(**) Nella seduta del 10 novembre 1978.

(1) A. BRAUER, *Die Benennung und Unterscheidung der Hydra Arten*, «Zool. Anz.», 33, 790-792 (1908).

L. H. HYMAN, *Taxonomic studies of the Hydras of North America. I - General remarks and description of Hydra americana new species*. «Trans. Amer. Micr. Soc. Menasha», 48, 242-251 (1929).

del filamento urticante ed anche la loro distribuzione e la loro quantità relativa ai vari livelli del corpo (quest'ultimo carattere può anche differire nei due sessi nelle specie gonocoriche) ⁽²⁾.

La foglia dei testicoli a mammellone smussato (come ad esempio in *Pelmatohydra oligactis*) o a rilievo più netto e con piccola sporgenza centro-distale (come ad esempio in *Chlorohydra viridissima*) è un buon carattere distintivo, ma certamente la struttura della teca embrionale è quella più variata e specifica anche se non del tutto indipendente dalle condizioni ambientali in cui si forma.

L'uovo dell'idra d'acqua dolce si origina da un accumulo di cellule interstiziali (c.i.) elementi pluripotenti che al momento della sessualità, in sede determinata (cioè a metà della colonna gastrica, subito al di sopra della regione di gemmazione o blastogenetica) cominciano a moltiplicarsi attivamente. Le c.i. centro-basali dell'abbozzo ovogenetico, prossime al foglietto interno gastrodermico si accrescono più velocemente e, sia fagocitando le cellule contorni, sia fondendosi fra di loro danno luogo ad un elemento plurinucleato ameboide. Un solo nucleo, quello che diverrà il pronucleo femminile prosegue nello sviluppo, affrontando la meiosi; gli altri rimangono a colonizzare l'ooplasma in esso fittamente stipati. I vecchi Autori designavano questi elementi come « pseudocellule ». Progressivamente l'uovo si individualizza e si solleva sul corpo del polipo facendosi da ameboide rotondeggiante, ancora avvolto dallo strato epidermico. Infine quest'ultimo si rompe, accartocciandosi alla base dell'uovo e costituendo quella formazione che è stata denominata « cuscinetto ovarico ». È in questo momento che l'uovo maturo viene fecondato ⁽³⁾.

Avvenuta l'inseminazione l'uovo, sempre attaccato al corpo della madre, inizia la segmentazione oblastica radiale. Col proseguire della segmentazione,

R. WEILL, *Contribution à l'étude des Cnidaires et de leurs nématocystes. I. - Recherches sur les nématocystes, (morphologie, physiologie, développement)*. «Trav. Sta. Zool. Wimereux», 10, 1-347 (1934).

R. WEILL, *Idem. II - Valeur taxonomique du cnidome*. «Trav. Sta. Zool. Wimereux», 11, 351-701 (1934).

R. F. EWER, *A review of the Hydridae and two new species of Hydra from Natal*, «Proc. Zool. Soc. London», 118, 226-244 (1948).

P. SEMAL-VAN GANSEN, *Le cnidosome de l'hydre et la bouton urticante*. «Acad. Roy Belg. Bull. Classe Sci.», 37, 650-654 (1951).

H. FORREST, *Taxonomic studies on the hydras of North America. VII - Description of Chlorohydra hadlevi new species with a key to the North America species of Hydras*. «Am. Midl. Naturalist», 62, 440-448 (1959).

H. FORREST, *Idem. VIII - Description of two new species with new records and a key to the North America hydras*. «Trans. Am. Microscop. Soc.», 82, 1-17 (1963).

R. F. GRAYSON, *The freshwater hydras of Europe*. «Arch. Hydrobiol.», 68, 436-449 (1971).

(2) A. STAGNI, *Some aspects of sexuality in fresh-water hydras.*, «Boll. Zool.», 41, 349-358 (1974).

(3) A. STAGNI e M. L. LUCCHI, *Ulteriori osservazioni al microscopio elettronico sulla ovogenesi di Chlorohydra viridissima*, «Rend. Ist. Sci. Univ. Camerino», 5, 290-297 (1964).

intorno all'embrione in sviluppo si forma un involucro spesso, presumibilmente chitinoso: l'embrioteca. A completo sviluppo essa può essere munita di spine, come in *Hydra littoralis* e in *Hydra vulgaris* (EWER, *loc. cit.*)⁽¹⁾, apparentemente liscia⁽⁴⁾, o con spine brevi o tozzi rilievi⁽⁵⁾ come in *Pelmatohydra oligactis*, a forma di elmetto come in *Hydra utahensis*. Una ulteriore complicazione strutturale può consistere in biforcazioni (*Hydra vulgaris*) o appiattimenti terminali (*Hydra cauliculata*) delle spine. Condizioni anomale dell'ambiente (mancanza di ossigeno, inquinamento organico) possono provocare lievi modificazioni del modello di base.

Completata la formazione della teca l'embrione si stacca dal corpo della madre e cade al fondo e qui può soggiornare per diverso tempo (da 3 a 10 settimane) prima che, probabilmente per azione enzimatica, la teca si apra e lasci emergere una piccola idra.

Abbiamo intrapreso una prima serie di osservazioni per verificare la ultrastruttura della teca embrionale di tre specie di idre allevate nei laboratori dell'Istituto di Zoologia della Università di Bologna: *Chlorohydra viridissima*, *Hydra attenuata*, *Pelmatohydra oligactis*. Questa prima nota si riferisce all'embrioteca di *Chlorohydra viridissima* e di *Hydra attenuata* con osservazioni in parte effettuate al SEM in parte al TEM.

Per effettuare le osservazioni al SEM un breve tratto di colonna gastrica di idra con l'uovo attaccato veniva fissato in glutaraldeide al 2,5% in tampone fosfato 0,1 M a pH 7,2, poi posto nella serie ascendente degli acetoni, quindi essiccato (essiccatore mod. BOMAR) e ricoperto di vapori d'oro o d'alluminio (metallizzatore EDWARDS). L'osservazione è stata compiuta con SEM CUIKSCAN.

Per le osservazioni col TEM si procedeva pure alla fissazione in glutaraldeide al 2,5% in tampone fosfato, postfissazione in OsO₄ 1% in tampone veronal acetato, disidratazione in serie acetonica, inclusione in DURCUPAN FLUKA. Le osservazioni sono state effettuate col TEM JEOL T 8.

L'uovo di *Chlorohydra viridissima* misura, quando l'embrioteca è già formata dai 350 ai 500 µm di diametro. A piccolo ingrandimento (250×, fig. 1) l'embrioteca si presenta come una formazione reticolata a celle poligonali di circa 24 µm di diametro ciascuna, ma non rigorosamente uguali fra di loro. Le dimensioni di tali cellette infatti vanno da 18 a 27 µm circa. I bordi rilevati che separano fra di loro le celle sono di circa 2,5-3 µm di spessore e ad ingrandimento maggiore sempre al SEM si presentano abbastanza irregolari. Talvolta infatti il confine fra due celle può essere costituito da un doppio bordo di separazione (fig. 2).

Sul fondo depresso e scabro di certe celle si notano delle ulteriori strutture rotondeggianti emergenti in forma di piccole sfere singole, duplici o addirittura plurime (fig. 3, 4). Tali strutture sono spesso eccentriche, più o meno rile-

(4) L. H. HYMAN, *Taxonomic studies of the Hydras of North America. II - The characters of Pelmatohydra oligactis* (PALLAS), «Trans. Amer. Micr. Soc. Menasha», 49, 322-329 (1930).

(5) P. SCHULZE, *Zur Kenntnis und geographischen Verbreitung der Süßwasserpolyphen*, «Zool. Anz.», 74, 129-140 (1927).

vate e individualizzate rispetto alla membrana della teca (figg. 3, 4, 5). Le loro dimensioni si aggirano sui 6 μm . Quando tali formazioni sono plurime gli elementi che le compongono si collocano non in serie lineare ma angolata.

Oltre a queste formazioni isolate, meno frequentemente, sulle coste di separazione o ai punti di confluenza dei bordi rilevati si trovano delle strutture più complesse in forma di lamine irregolarmente accartocciate a *bouquet* (figg. 6, 7). Tali formazioni raggiungono gli 8-10 μm di diametro.

In totale l'uovo è coperto da circa due migliaia di tali cellette su tutta la sua superficie. Il contorno poligonale di queste non è rigorosamente uguale, infatti tali celle sono in prevalenza pentagonali, ma con lati variamente sviluppati (figg. 2, 3, 6).

Lo spessore dell'embrioteca completamente costituita (ciò che secondo ZIHLER avviene in *Hydra circumcincta* dopo 5 giorni dalla fecondazione)⁽⁶⁾, si aggira sui 50 μm a seconda dei punti di maggiore o minore avvallamento superficiale. Osservando uno spaccato di teca di *Chlorohydra viridissima* si nota che la maggior parte della teca stessa è costituita da lamine sovrapposte di circa 0,25 μm ciascuna e che in totale raggiungono una dozzina di strati (fig. 8) distanti fra di loro da 1,5 a 2,2 μm . Fra una lamina e l'altra esistono trabecole perpendicolari ad esse che riuniscono le lamine stesse, di spessore apparentemente variabile fra 2500 e 1500 Å. Nel complesso questo strato fatto di lamine sovrapposte e collegate ha un aspetto spugnoso. Verso l'interno le lamine sembrano accollarsi più strettamente così che a diretto contatto con la superficie dell'embrione si ha una struttura assai più compatta.

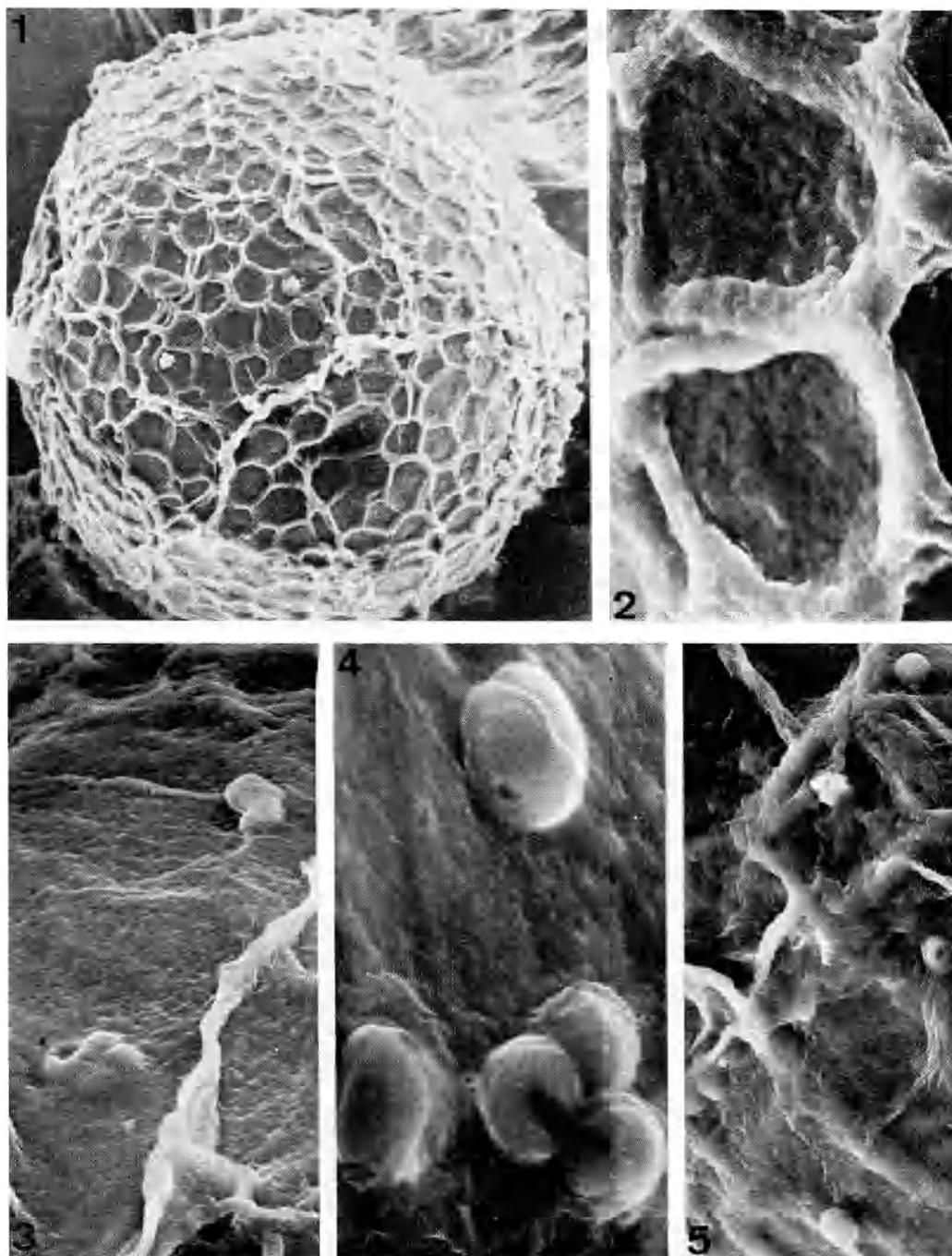
Secondo ZIHLER in *Hydra circumcincta* esistono nell'embrioteca 3 strati sovrapposti di cui questo a lamine lasse sarebbe il più esterno. Le trabecole fra una lamina e l'altra sono interpretate da questo Autore come tubuli attraverso cui possono passare all'inizio della costruzione della teca i microvilli partenti dalla superficie dei blastomeri e canalizzanti materiali golgiani. Ciò in base all'osservazione che i diametri dei suddetti tubuli e dei microvilli si corrispondono ed alla presenza di esocitosi di materiali del Golgi.

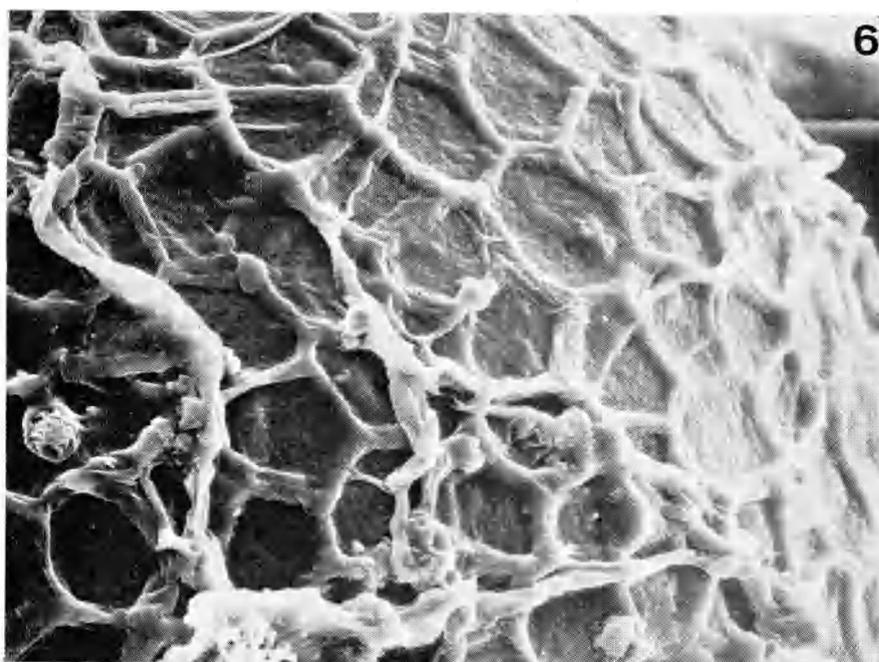
Da nostre osservazioni al TEM sempre su *Chlorohydra* emerge che i microvilli sono visibili alla superficie dell'uovo assai precocemente, cioè già prima della fecondazione (fig. 9) e che nel cortex dell'uovo già a questo stadio esiste un accumulo di vescicole elettrondense.

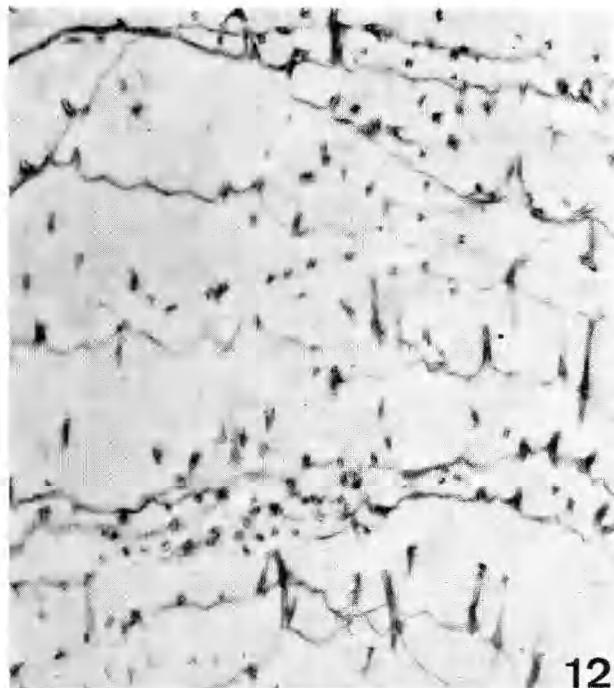
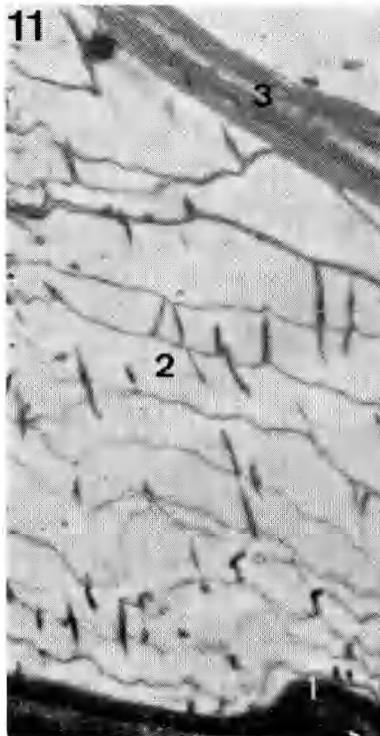
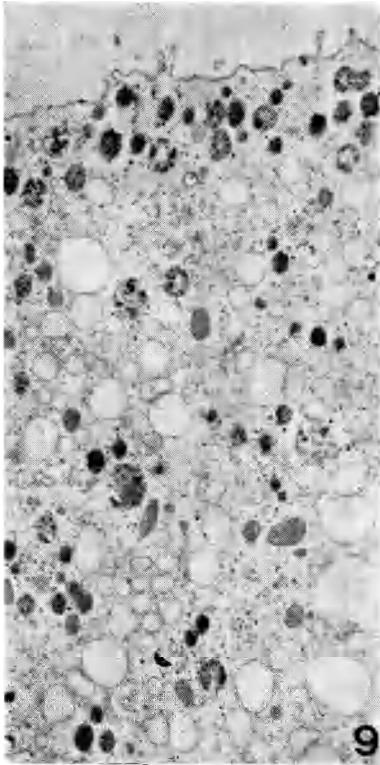
Comunque riteniamo che siano necessarie osservazioni condotte ai diversi stadi di sviluppo della teca per poterne individuare con sicurezza il modo di formazione.

Nostre immagini al TEM condotte sull'embrioteca di *Hydra attenuata*, mostrano poi che, almeno in questa specie, lo strato lamellare lasso è sormontato, a sua volta, da un'altra coltre (talvolta neppure omogenea), sottile di 0,5 μm (fig. 10) e che quindi detto strato lamellare verrebbe ad essere inter-

(6) J. ZIHLER, *Zur Gametogenese und Befruchtungsbioologie von Hydra*. « Wilhelm Roux' Arch. », 169, 239-267 (1972).







medio e non il più esterno nella stratificazione della teca. Nelle figg. 11 e 12 sono mostrati i tre strati dell'embrioteca di *Hydra attenuata*, le lamelle di quello intermedio dello spessore ciascuna di circa $0,86 \mu\text{m}$ e distanti fra loro da 3 a $0,5 \mu\text{m}$, nonché le « spinosità » cavitate del diametro di $0,17-0,25 \mu\text{m}$ poste fra uno strato e l'altro.

Ci sembra in definitiva che i quadri ultrastrutturali fino ad ora ottenuti, riguardanti le embrioteche di *Chlorohydra viridissima* e di *Hydra attenuata* ne mettano in evidenza da un lato l'uniformità del piano strutturale, dall'altro la peculiarità del dettaglio, riconfermando dunque il fatto che questa struttura fornisce uno dei più validi caratteri tassonomici (similmente a quello rappresentato dalle nematocisti) per la classificazione di questa piccola specializzata famiglia di Idroidi d'acqua dolce.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-III

TAVOLA I.

- Fig. 1. - Uovo fecondato di *Chlorohydra viridissima* in toto, con embrioteca già formata a placche poligonali. Ingr. $250\times$. SEM.
- Fig. 2. - Particolare delle celle che formano l'embrioteca di *Chlorohydra viridissima*. Da notare la scabrosità del fondo. Ingr. $2.000\times$. SEM.
- Figg. 3-4-5. - Particolari delle strutture rotondeggianti emergenti dal fondo delle celle dell'embrioteca a vari ingrandimenti. Ingr. $1.500\times$ - $3.500\times$. - $1.000\times$. SEM.

TAVOLA II.

- Figg. 6-7. - Dettagli delle formazioni laminari e a *bouquet* presenti sulle coste separanti le celle dell'embrioteca di *Chlorohydra viridissima*. Ingr. $700\times$ - $4.000\times$ SEM.
- Fig. 8. - Spaccato dell'embrioteca di *Chlorohydra viridissima* mostrante lo strato intermedio, a lamine sovrapposte e con trabecole di connessione. Ingr. $4.000\times$ SEM.

TAVOLA III.

- Fig. 9. - Superficie dell'uovo non fecondato di *Chlorohydra viridissima*. Numerosi microvilli e granuli corticalizzati. Ingr. $4.000\times$ TEM.
- Fig. 10. - Involucro denso esterno, a livello di una spina, di *Hydra vulgaris attenuata*. Ingr. $21.650\times$. TEM.
- Fig. 11. - Stratificazione dell'embrioteca di *Hydra vulgaris attenuata* in cui si rilevano i tre strati (1, 2, 3) che la compongono. Ingr. $3.550\times$ TEM.
- Fig. 12. - Particolare delle lamelle dello strato intermedio e delle formazioni che connettono uno strato all'altro. Ingr. $4.000\times$. TEM.