

# INDAGINE ULTRASTRUTTURALE SUGLI OVOCITI MATURI DI *CHONDRILLA NUCULA* SCHMIDT (PORIFERA, DEMOSPONGIAE)

par

Elda Gaino

Istituto di Zoologia dell'Università di Genova

## Résumé

Etude ultrastructurale des ovocytes mûrs de *Chondrilla nucula* Schmidt (Porifera, Demospongiae).

La morphologie de l'ovocyte mûr de *C. nucula* est décrite au moyen d'observations en microscopie électronique.

Il n'existe ni cellules nourricières ni enveloppe folliculaire autour de l'ovocyte mûr qui est logé entre les fibrilles du collagène.

La morphologie de l'ovocyte se rapproche de celle des autres Démosponges avec, cependant, quelques particularités : inclusions vitellines et plaques lipidiques à l'intérieur des pseudopodes; disposition radiaire, en général, autour de l'ovocyte des pseudopodes, qui montrent une morphologie et une taille variables; vacuolisation du cytoplasme et modification finale de l'ovocyte que l'on peut interpréter comme une préparation à la ponte.

Ces observations sont discutées par comparaison avec de précédentes études de microscopie électronique portant sur les ovocytes d'autres Démosponges.

## Introduzione

Gli studi in microscopia elettronica sugli ovociti delle Demosponge sono rari e riguardano principalmente specie appartenenti ai Tetractinomorpha. Tra questi, **immagini** dell'ovocita si hanno in *Polymastia robusta* Bowerbank (Borojevic, 1967), *Chondrosia reniformis* (Nardo) (Lévi e Lévi, 1976) e *Tetilla serica* (Lebwohl) (Watanabe, 1978); *Suberites massa* Nardo rappresenta la sola specie in cui, fino ad oggi, sia stato ricostruito dettagliatamente l'intero processo ovogenetico (Diaz e coll., 1973 e 1975). Per quanto attiene specie d'altri gruppi, alcuni aspetti dell'ovogenesi sono stati discussi per *Verongia aerophoba* (Schmidt) e *V. cavernicola* Vacelet (Gallissian e Vacelet, 1976) e per *Halisarca dujardini* Johnston (Korotkova e Aisenstadt, 1976; Aisenstadt e Korotkova, 1976).

Immagini in microscopia fotonica riguardano la riproduzione

sessuale di *Chondrilla nucula*, altra Demospongia tetractinomorfa, studiata da Scalera Liaci e coll. (1971) nel periodo 1968-1971 su esemplari del litorale pugliese. Da queste osservazioni è emerso che *C. nucula* è una specie gonocorica ed ovipara, caratterizzata da un ciclo sessuale molto limitato, con presenza di ovociti da luglio ad ottobre, anche se la maggior parte degli individui in gametogenesi sono concentrati nel mese di agosto. Sempre secondo i suddetti autori, cellule nutrici circonderebbero gli ovociti maturi, condizione questa comune ad altri Poriferi (Fell, 1974; Sara, 1974). In *C. nucula*, come è possibile rilevare da varie immagini (Scalera Liaci e coll., 1971 e 1973; Scalera Liaci e Sciscioli, 1975), questi elementi mostrano una disposizione particolare, avvolgendo radialmente, in maniera molto regolare, tutto l'ovocita.

Si è ritenuto quindi opportuno condurre una indagine in microscopia elettronica, al fine di ottenere maggiori dettagli sulla morfologia dell'ovocita e di precisare eventuali rapporti fra ovociti e cellule nutrici.

### Metodi

Nel corso di precedenti indagini in microscopia elettronica sull'associazione di *C. nucula* con batteri e cianobatteri (Gaino e coll., 1976 e 1977), effettuate su individui provenienti dalle acque di Portofino, non erano mai stati repenti esemplari in gametogenesi. Era quindi preliminare al presente lavoro l'individuazione, in queste acque, del periodo stagionale in cui la specie si riproduce sessualmente. Si è ritenuto, pertanto, che fosse più semplice poter usufruire di forme viventi in acque più calde, in condizioni cioè che meglio si avvicinassero a quelle in cui era stato ricostruito il ciclo sessuale di *C. nucula*: la temperatura sembra esercitare, infatti, nei Poriferi come in altri animali marini, una notevole influenza sulla produzione di uova (Storr, 1964, in Simpson, 1968) e sui fenomeni di sessualità (Simpson, 1968; Diaz, 1973; Fell, 1974).

Grazie all'ospitalità del Reparto Ecologia Marina della Stazione Zoologica di Napoli, i prelievi sono stati effettuati nelle acque dell'Isola di Ischia nel periodo fine agosto-settembre, momento favorevole allo sviluppo sessuale della specie. Tuttavia, nonostante i numerosi campionamenti compiuti in immersione e a differenti profondità, le uniche forme con ovociti furono quelle provenienti da Punta S. Pancrazio (profondità 5-12 m), e dei 64 esemplari esaminati, solamente 5, di grandi dimensioni, erano in ovogenesi.

Frammenti di queste spugne ovigere sono stati fissati per lo studio ultrastrutturale in glutaraldeide al 2,5 p. 100 in acqua di mare portata a pH 7,5-8 con NaOH 0,1 N. Dopo ripetuti lavaggi in acqua di mare addizionata di 6,5 g/l di NaCl e postfissazione in tetrossido di osmio al 2 p. 100 in acqua di mare, l'inclusione è stata fatta in epon e le sezioni, contrastate con acetato di uranile e citrato di piombo, sono state osservate al microscopio Zeiss EM9S-2. Le sezioni semifini di 1-1,5µm sono state colorate con blu di metilene.

## RISULTATI

Le osservazioni condotte su sezioni di *Chondrilla nucula* mostrano che pur non esistendo delle zone preferenziali destinate alla produzione degli ovociti, questi tendono, tuttavia, ad interessare in prevalenza il coanosoma delle regioni meno interne del corpo della spugna, ubicandosi spesso in prossimità dei canali del sistema acquifero. Nelle aree in ovogenesi il numero delle camere flagellate è notevolmente ridotto. La densità degli ovociti è molto variabile e di norma essi costituiscono dei piccoli gruppi di cellule abbastanza ravvicinate tra loro (Tav. I, a).

Non è stato possibile seguire l'origine degli ovociti per precisarne la derivazione, dovuta, secondo Scalera Liaci e coll. (1971 e 1973), ad amebociti di tipo tesocitario, né osservare stadi giovanili dal momento che le immagini si riferiscono ad elementi i cui valori dimensionali si aggirano attorno a quelli già noti per gli ovociti maturi : 50-60  $\mu\text{m}$  di diametro contro i 15-20  $\mu\text{m}$  dalla loro comparsa (Scalera Liaci e coll., 1971).

Gli ovociti di *C. nucula* presentano forma ovoidale con elevato rapporto nucleo-citoplasmatico (Tav. I, b), nucleo da 19 a 21  $\mu\text{m}$  di diametro, nucleolo da 4 a 6  $\mu\text{m}$ , e dimensioni complessive comprese in media tra 50 e 65  $\mu\text{m}$  mentre alcuni elementi possono superare i 70  $\mu\text{m}$ . E' piuttosto difficile, tuttavia, dare dei valori limite esatti dal momento che la superficie esterna dell'uovo è caratterizzata dall'emissione di numerosi pseudopodi che si protendono verso il tessuto circostante (Tav. I, c).

Il nucleo è chiaro, in posizione pressochè centrale o leggermente eccentrico, con cromatina solitamente molto dispersa anche se non sono infrequenti le immagini in cui sono visibili all'interno delle aree più scure a maggiore densità (Tav. I, c). Esso racchiude un unico nucleolo a contenuto molto denso, di norma decisamente spostato verso la membrana nucleare.

Ogni ovocita è compreso in una zona costituita da una matrice di fibre collagene che definiscono attorno ad esso una loggia più chiara (Tav. II e III, a). I tessuti circostanti non mostrano alcuna differenziazione particolare, dal momento che cellule sparse nel mesoilo, quali piccole cellule ameboidi e cellule sferulose ad inclusi densi, nonché la ricca flora dei simbionti batterici associati alla spugna madre (Gaino e coll., 1976 e 1977) sono presenti in prossimità dell'ovocita senza una precisa disposizione (Tav. I, c; Tav. II, b).

La regione più prossima alla superficie esterna della cellula uovo, corrispondente alla suddetta loggia più chiara, è costituita da fibrille di maggiori dimensioni e meno addensate tra loro, sostituite da altre più piccole e fitte, tipiche del mesoilo della spugna, nella parte distale, in prossimità della regione terminale degli pseudopodi (Tav. III, d). Nel collagene a fibrille dense sono

compresi i batteri, le cellule ameboidi e le cellule sferulose (Tav. II, b, c).

Non sembra esistere, perianto, l'involucro follicolare che delimita invece gli ovociti di *Halisarca dujardini* (Aisenstadt e Korotkova, 1976), *Suberites massa* (Diaz e coll., 1975), *Chondrosia reniformis* (Lévi e Lévi, 1976) e *Verongia cavernicola* (Gallissian e Vacelet, 1976), nè, a differenza di quest'ultima, una capsula a fibrille di collagene più dense di quelle dei tessuti limitrofi.

Il citoplasma ovocitario è riccamente infarcito di granuli che possono essere ricondotti a due tipi fondamentali : lipidi ed inclusi vitellini. La loro differente distribuzione permette di distinguere già in microscopia fotonica, una zona più chiara perinucleare da una periferica ad aspetto finemente granulare (Tav. I, a. b).

Pur non esistendo un limite netto tra le due regioni, poichè entrambe le formazioni coesistono in tutto il citoplasma, la zona più prossima al nucleo mostra una preponderanza di sferule lipidiche mentre gli inclusi vitellini tendono ad accumularsi nello strato marginale (Tav. I, c).

Le formazioni lipidiche mostrano un aspetto omogeneo, una forma da sferica a leggermente ovoidale, e possono essere sia isolate che riunite in piccoli gruppi nei quali non sono rare le immagini che sottolineano la tendenza a confluire tra loro in masse più grandi (Tav. II, f; Tav. IV, d). Le dimensioni variano da 0,3 a 1,1  $\mu\text{m}$ . La presenza, nella maggior parte di tali sferule, di bande opache che si ripetono con una certa regolarità, potrebbe essere attribuita a variazioni di densità al loro interno.

Molto eterogenei appaiono invece gli inclusi vitellini che presentano internamente zone molto dense e di forma variabile, aree altrettanto irregolari più chiare ricche in glicogeno, spesso brevi formazioni periferiche a membrane sovrapposte (Tav. II, e) e, meno frequentemente, sferule il cui aspetto ricorda le formazioni lipidiche. Le dimensioni sono comprese tra 0,5 e 1,7  $\mu\text{m}$ .

Tra queste due categorie di inclusi, la massa citoplasmatica si presenta sia con zone più dense ed omogenee, sia con altre a piccole vescicole delimitate da membrana, sia ancora con spazi chiari irregolari, non delimitati da membrana e variamente distribuiti (Tav. I, c).

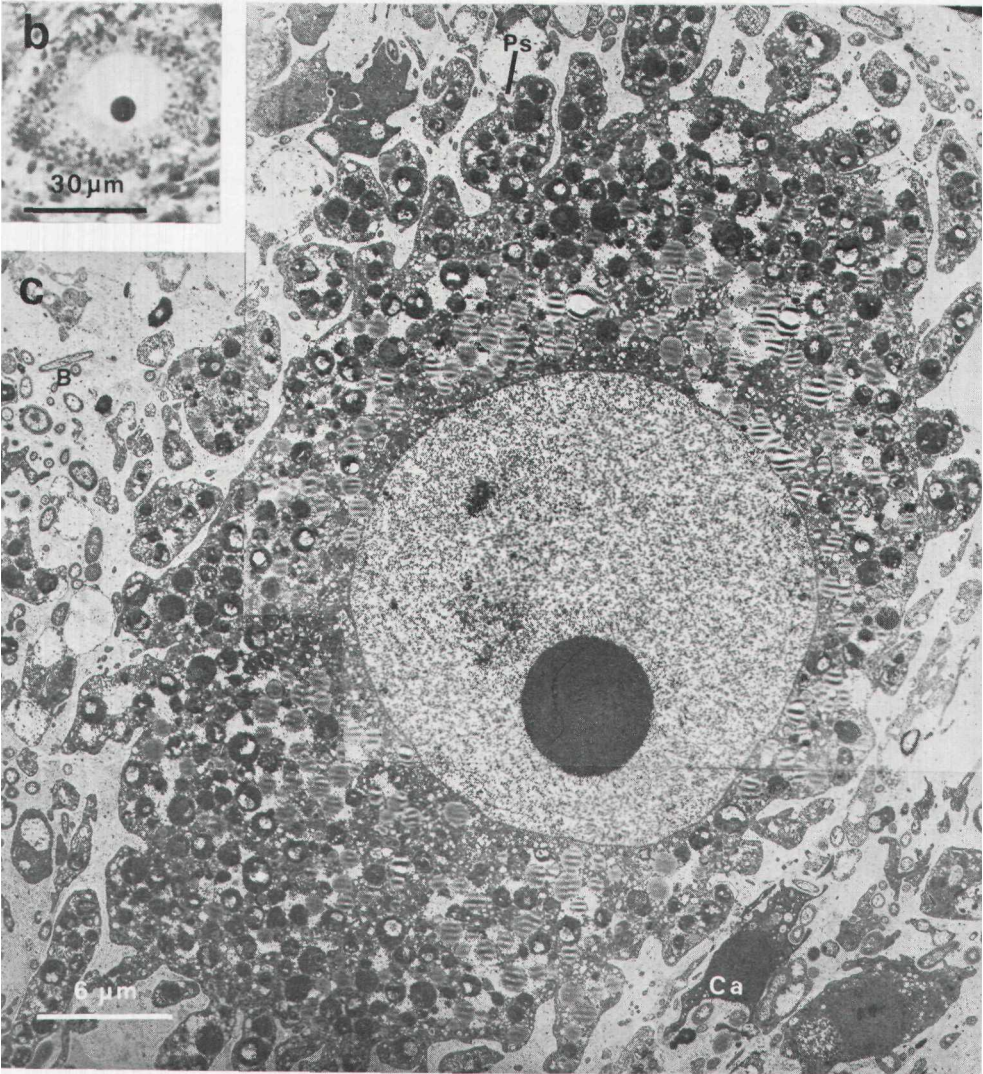
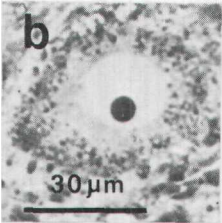
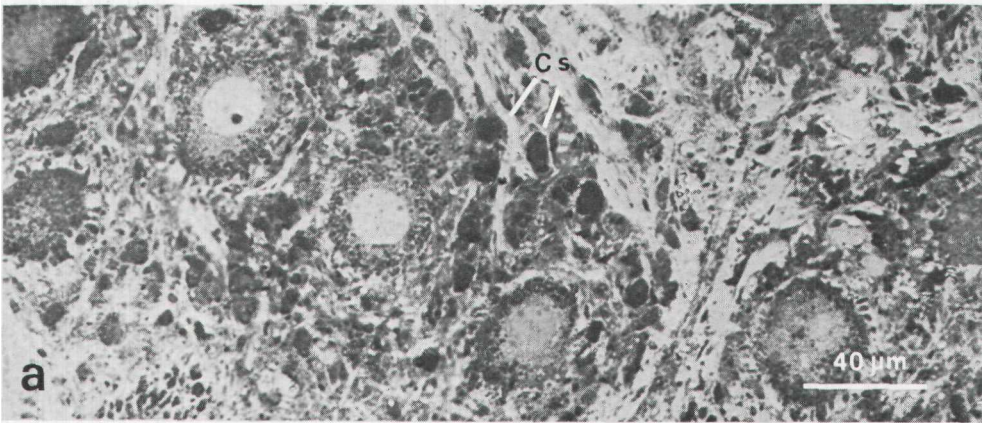
Lipidi, inclusi vitellini e la suddetta struttura citoplasmatica interessano anche l'organizzazione dei numerosi pseudopodi che emergono dalla superficie esterna dell'ovocita. Ciascuno di essi è

TAVOLA I  
*Chondrilla nucula*

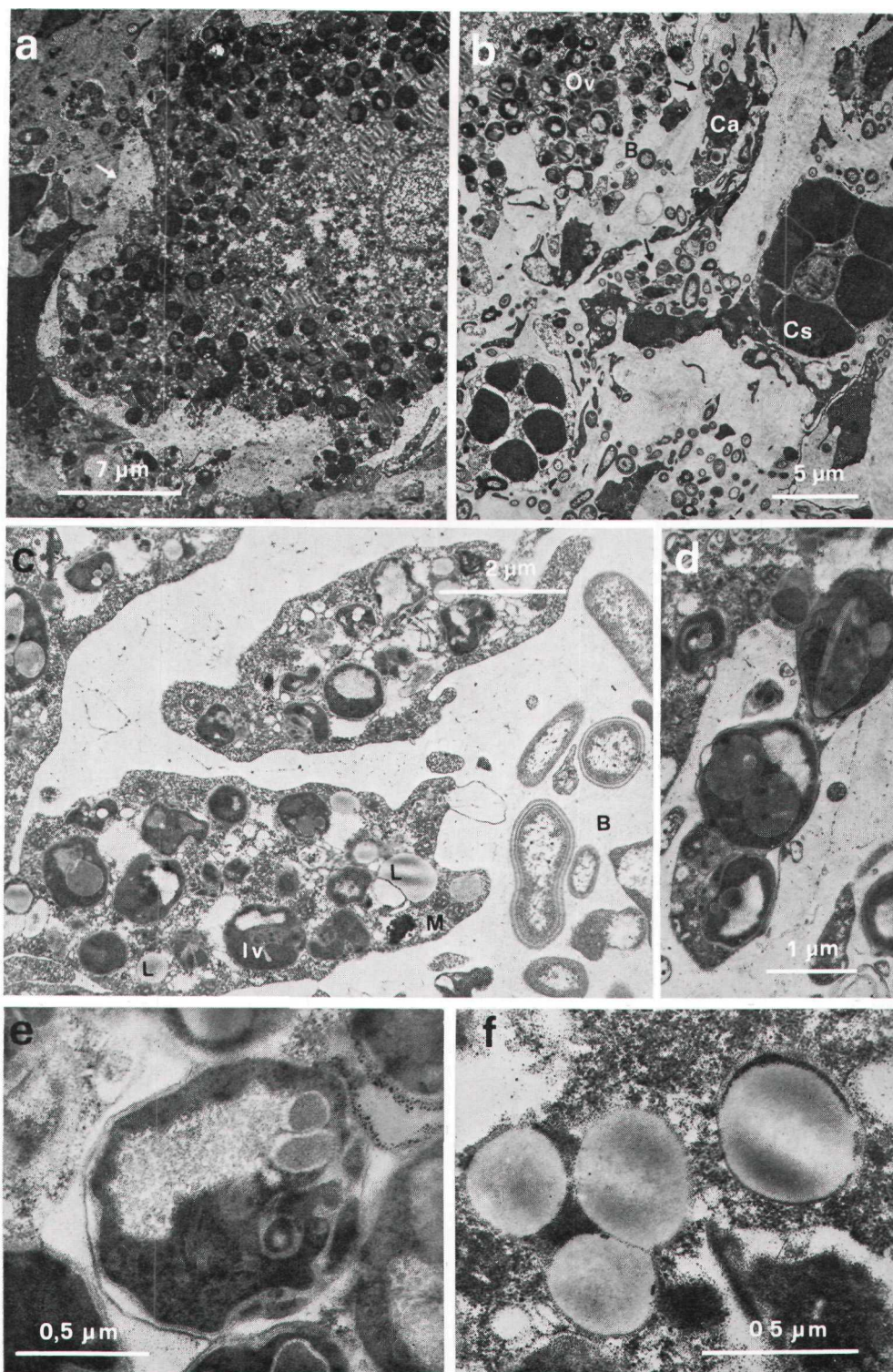
a : Zona in ovogenesi con un gruppo di ovociti sezionati a vari livelli. Cellule sferulose (CS) sono sparse nel mesoilo. (Sezione semifine).

b : Particolare di un ovocita con grande nucleolo. (Sezione semifine).

c : Ovocita in vitellogenesi con numerosi pseudopodi periferici (Ps), batteri (B) associati al mesoilo della spugna madre e cellule ameboidi (Ca).



ELDA GAINO



ELDA GAINO

delimitato, infatti, da un sottile strato periferico che si continua con quello corticale dell'ovocita, più denso del restante citoplasma ed in cui, di massima, sono visibili anche mitocondri sparsi (0,3-0,4  $\mu$ m). Al di sotto, tra goccioline lipidiche ed inclusi vitellini, si evidenzia l'organizzazione più lassa con numerose vescicole delimitate da membrana e spazi chiari irregolari (Tav. II, c). Le piccole vescicole presentano le stesse dimensioni (0,1-0,3  $\mu$ m) che nel restante citoplasma in cui, peraltro, ad eccezione dello strato corticale, sono ugualmente numerose. La quantità di inclusi presenti in ciascuno pseudopodio è molto variabile ed è legata in primo luogo all'estensione della formazione stessa. Di norma più sferule interessano ciascuno pseudopodio, ma non sono rare le immagini in cui essendo esso molto ridotto, gli inclusi vitellini si appaiono gli uni sugli altri facendo ernia all'esterno (Tav. II, d).

Si può altresì osservare che i suddetti organuli non occupano la regione terminale degli pseudopodi, costituita, pertanto, esclusivamente da citoplasma denso. Ogni pseudopodio affonda la propria estremità distale in una matrice di collagene a fibrille dense mentre la restante parte resta confinata tra fibrille lasse (Tav. III, d). Ed è soprattutto a livello della zona distale che cominciano a comparire i simbionti batterici associati ai tessuti della spugna madre (Tav. II, c).

In alcuni casi i batteri appaiono compresi entro introflessioni della superficie degli pseudopodi (Tav. III, c), il che suggerisce la possibilità di una attività fagocitica dell'ovocita; tuttavia, al suo interno, non sono mai stati osservati batteri, né integri né in via di degenerazione, fenomeno questo che è invece frequente in vari tipi cellulari nel mesoilo (Gaino e coll., 1976 e 1977).

Se la struttura degli pseudopodi si ripete con analoghe caratteristiche nella quasi totalità delle uova esaminate, la forma, tuttavia, può essere alquanto variabile. Alcuni ovociti, infatti, presentano pseudopodi più radi, globosi ed in molti punti poco emergenti dalla superficie esterna (Tav. I, a, b, c), altri sono caratterizzati da elementi più lunghi, protesi all'esterno tanto regolarmente da costituire una raggiera attorno ad essi (Tav. III, a, b, c). Questo singolare aspetto era stato interpretato in microscopia fotonica come una struttura eterogenea, costituita da due diverse categorie cellulari riunite in un unico complesso ovocita-cellule nutrici (Scalera Liaci

## TAVOLA II

*Chondrilla nucula*

a : Particolare della zona periferica dell'ovocita delimitata dalla matrice di collagene a fibrille dense ( $\rightarrow$ ).

h : Particolare della superficie esterna dell'ovocita (Ov) in prossimità di batteri (B), piccole cellule ameboidi (Ca) e cellule sferulose ad inclusi densi (Cs). Probabile fagocitosi di lembi di pseudopodi da parte degli elementi mobili ( $\rightarrow$ ).

e : Pseudopodi con granuli lipidici (L), inclusi vitellini (Iv) e mitocondri (M) tra fibrille di collagene più grandi e rade rispetto a quelle della zona a batteri (B).

d : Pseudopodio rigonfiato da inclusi vitellini.

e : Dettaglio di un incluso vitellino.

f : Dettaglio di alcuni globuli lipidici, con una immagine di confluenza.

e. coll., 1971) attribuendo pertanto l'identità di cellule nutritrici a ciò che la microscopia elettronica ha rivelato come pseudopodi.

In alcune sezioni, inoltre, è stato possibile rilevare che frammenti di pseudopodi con o senza inclusi, possono ritrovarsi in zone anche lontane dal punto d'inserzione della formazione stessa. Spesse volte attorno ad essi si evidenziano cellule ameboidi ed in alcune immagini si ha l'impressione che esse stiano fagocitando queste parti (Tav. II, b).

Particolare interesse ha suscitato il ritrovamento di ovociti di maggiori dimensioni (superiori a 70  $\mu\text{m}$ ), caratterizzati da un'ampia fascia centrale con citoplasma meno ricco di inclusi vitellini, e da un nucleo in posizione decisamente eccentrica; in questi ovociti il numero degli pseudopodi sembra ridursi e la morfologia d'insieme fa pensare ad elementi ameboidi (Tav. IV, a). Il nucleo, inoltre, appare circondato da aree chiare scompartite da zone citoplasmatiche (Tav. IV, a), mentre in ovociti di minor taglia la regione perinucleare presenta zone chiare solo per brevi tratti (Tav. III, a).

La sezioni osservate al microscopio elettronico rivelano che le aree chiare sono costituite dagli spazi irregolari già descritti tra le formazioni citoplasmatiche tipiche dell'ovocita, che però qui raggiungono le maggiori dimensioni (Tav. IV, b).

Tali formazioni sono suddivise da regioni citoplasmatiche caratterizzate da granuli el ettrondensi, sparsi o concentrati in gruppi compatti e irregolari, da piccole vescicole delimitate da membrana e spesso da vacuoli autofagici. L'aspetto granulare è tipico anche dell'interno degli spazi chiari in cui, tuttavia, le parti intensamente opache agli elettroni sono maggiormente disperse (Tav. IV, c).

Tale processo di vacuolizzazione, già rilevabile in ovociti di minor taglia, diventa più appariscente durante il loro accrescimento.

Alcune sezioni che interessano la zona pseudopodiale sottolineano che essa non è esclusa da questo fenomeno che investe, pertanto, con intensità differente, la parte citoplasmatica dell'intero ovocita (Tav. IV, d).

La presenza degli spazi chiari fa sì che il citoplasma costituisca una sorta di trama su cui trovano posto gli inclusi vitellini ed i globuli lipidici; non sono infrequenti le immagini che mostrano un addensamento, e talvolta una confluenza, di questi ultimi lungo i bordi degli spazi chiari (Tav. IV, b,d).

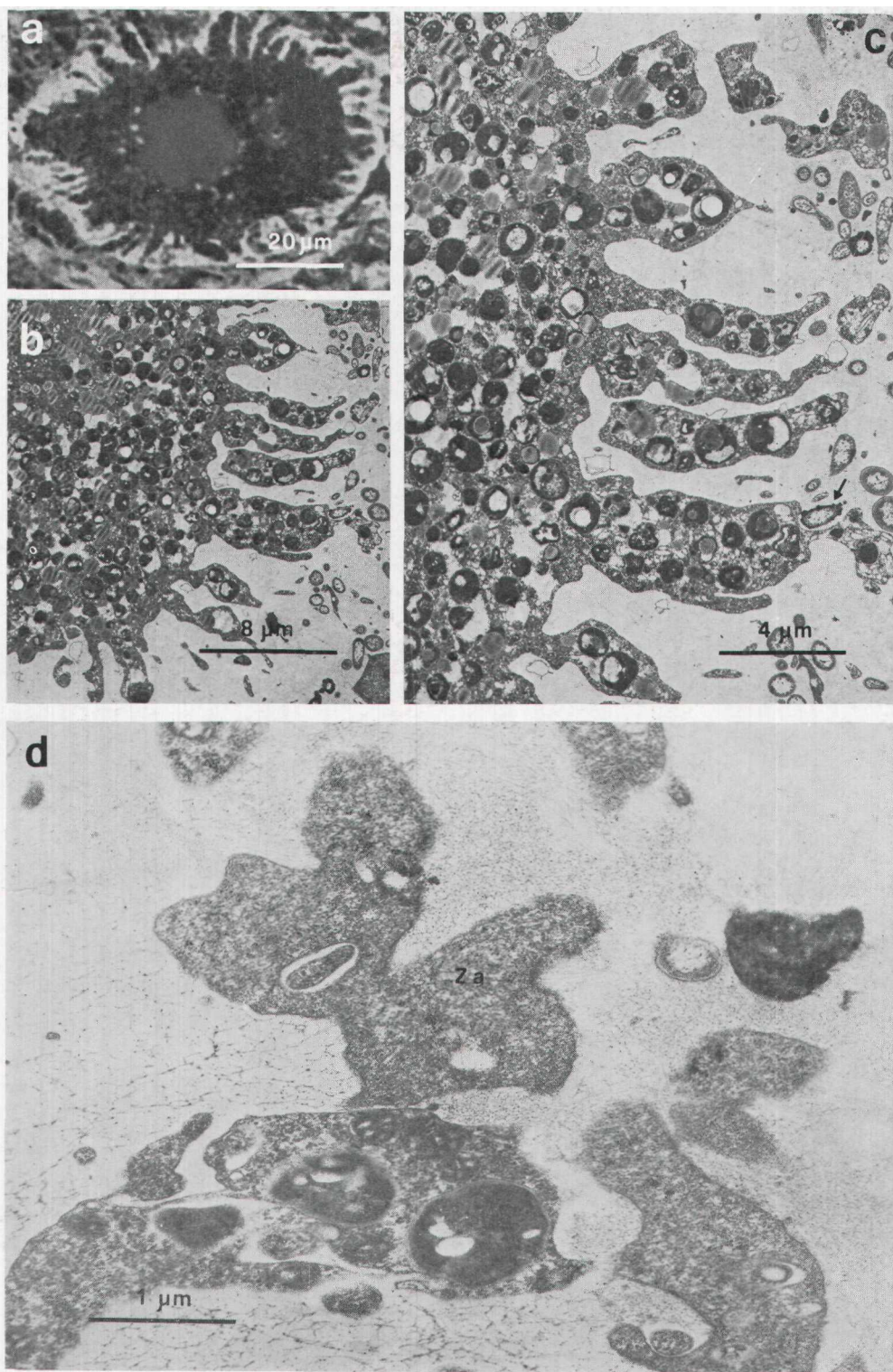
### TAVOLA III *Chondrilla nucula*

a : Ovocita con pseudopodi radiali, incluso nella matrice di collagene. Regione perinucleare con zone chiare. (Sezione semifine).

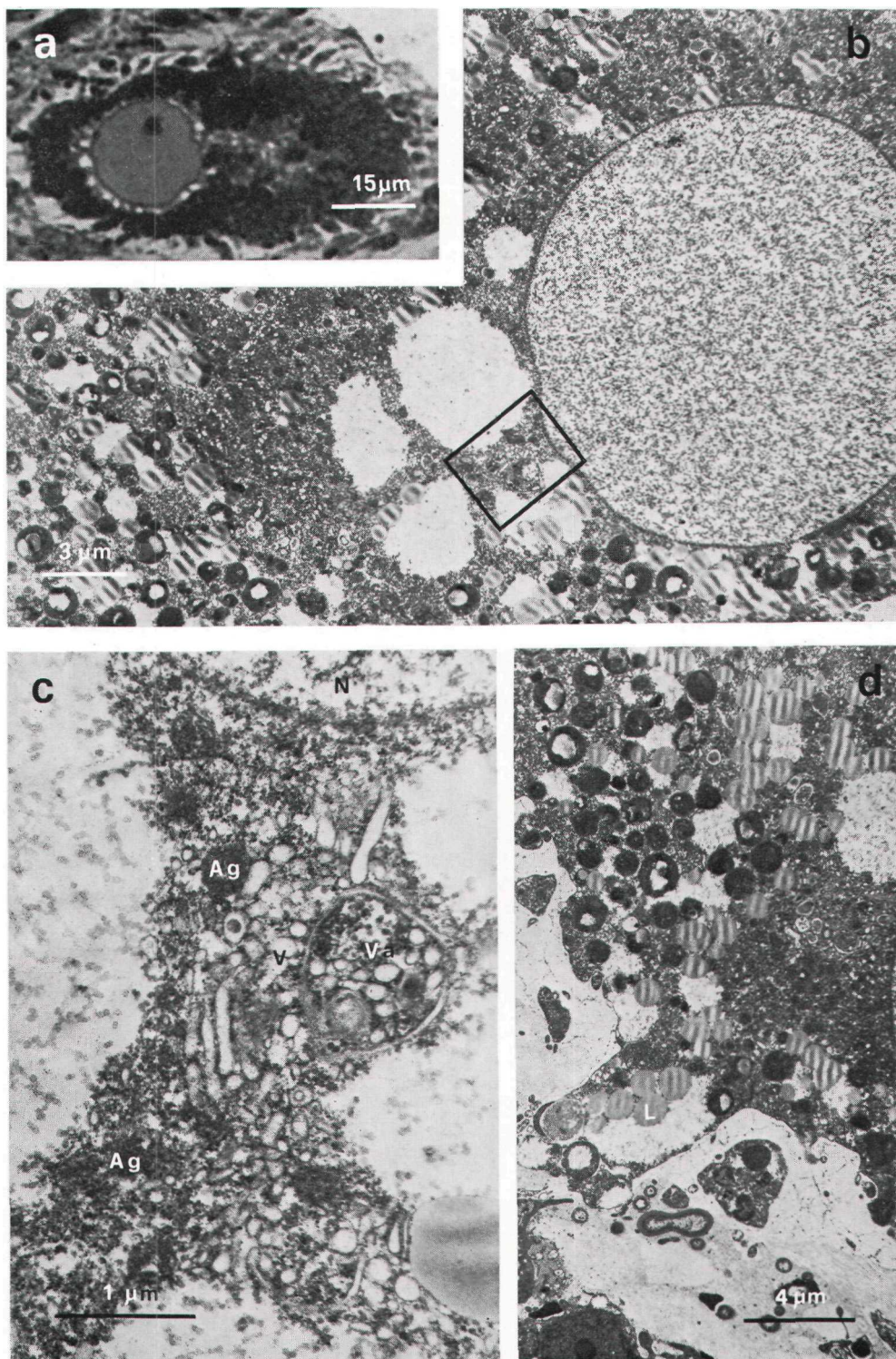
b : Caratteristica disposizione a raggiera degli pseudopodi emergenti dalla superficie esterna dell'ovocita.

c : Particolare della fig. b. Batterio compreso in una introflessione pseudopodiale ( $\rightarrow$ ).

d : Dettaglio di zona apicale (Za) di pseudopodio priva di inclusi, immersa nella matrice di collagene a fibrille dense; la sottostante regione, con granuli, è circondata da fibrille più lasse.



ELDA GAINO



ELDA GAINO

## DISCUSSIONE

L'esiguo numero di esemplari in gametogenesi rilevata nel corso dell'indagine condotta su *Chondrilla nucula* ha riproposto il problema della bassa percentuale di individui in cui si attua la riproduzione sessuale anche nell'ambito di vaste popolazioni.

La presenza di ovociti in determinati periodi stagionali, induce a ritenere che la temperatura costituisca in *Chondrilla*, come in altri Poriferi, un importante fattore in grado di influenzarne la sessualità. Inoltre, poichè le forme ovigere sono rappresentate da individui di una certa taglia, si può pensare che anche la dimensione non deve essere estranea a tale processo. Questo fatto si accorperebbe con quanto osservato in alcuni Poriferi come *Clathrina coriacea* (Sarà, 1955) e *Hippospongia lachne* (Storr, 1964 in Fell, 1974).

Le piccole dimensioni degli ovociti e la loro posizione a livello del coanosoma sono caratteristiche che accomunano *C. nucula* alla maggior parte delle forme ovipare (Lévi, 1951; Fell, 1974). In questa specie si osserva la tendenza ad una riduzione del numero di camere flagellate nella zona in ovogenesi, fenomeno questo che è stato anche osservato in *Halisarca dujardini* (Korotkova ed Aisenstadt, 1976).

Alcuni aspetti citologici osservati in *Chondrilla* possono essere ricollegati a quelli che l'indagine ultrastrutturale ha permesso di evidenziare negli ovociti di altre spugne. Tra questi, particolare interesse rivestono gli inclusi vitellini, formazioni eterogenee costituite al loro interno da strutture di natura diversa disposte irregolarmente, reperibili anche nelle gemmule di Spongillidi.

Se la prensenza di tali inclusi sembra essere tipica, perianto, delle cellule di Demospongie che accumulano sostanze di riserva, la conformazione mostra, tuttavia, aspetti diversi. Mentre in *C. nucula* tali strutture ripropongono quanto osservato in *Polymastia robusta* (Borojevic, 1967), *Suberites massa* (Diaz e coll., 1975), *Verongia cavernicola* (Gallissian e Vacelet, 1976), *Halisarca dujardini* (Aisens-

## TAVOLA IV

*Chondrilla nucula*

a : Aspetto tipico di un grande ovocita : nucleo fortemente eccentrico; regione perinucleare occupata da aree chiare; fascia centrale e citoplasma meno ricco di inclusi vitellini ; riduzione degli pseudopodi. (Sezione semifine).

b : Ampi spazi chiari non delimitati da membrana, in prossimità del nucleo.

c : Dettaglio della zona inquadrata nella fig. b : aspetto del citoplasma che scompartisce gli ampi spazi chiari perinucleari. (N : núcleo; V : vescicole; Va : vacuolo autofagico; Ag : ammassi di granuli elettrocondensi).

d : Pseudopodio con inclusi lipidici (L) in prossimità di uno spazio chiaro che ne occupa tutta la lunghezza.

tadt e Korotkova, 1976) e *Tetilla serica* (Watanabe, 1978), nelle gemmule esse mostrano una maggiore complessità. Nei tesociti di *Suberites domuncula*, infatti, gli inclusi vitellini sono delimitati da numerose membrane unitarie e presentano una particolare ricchezza in RNA (Carrière e coll., 1974; Connes, 1975), a cui si aggiunge in *Ephydatia fluviatilis* una organizzazione del contenuto secondo un piano strutturale ben preciso (De Vos, 1971).

Gli inclusi vitellini sono stati considerati, in genere, come il risultato di processi di fagocitosi. In effetti, l'accrescimento dell'ovocita richiederebbe, in molti casi, l'attività di cellule **nutrid**, anche se il loro ruolo non è sempre ben chiaro : o essere fagocitate direttamente dalla cellula uovo o essere in grado di trasferirvi le sostanze nutritive (Fell, 1974). In ogni caso i materiali pervenuti all'uovo sarebbero convertiti, poi, in sferule vitelline.

La derivazione del vitello a seguito di attiva fagocitosi, avanzata anche in *P. robusta* per spiegare l'ultrastruttura dei granuli e validamente dimostrata per le gemmule di Spongillidi, non troverebbe, peraltro, conferma negli ovociti di *Chondrilla*. Qui, infatti, tolte alcune immagini di una possibile fagocitosi batterica, il cui numero esiguo indicherebbe che questo meccanismo sarebbe incapace di assicurare da solo la ricchezza di inclusi, non sono stati osservati processi di inglobamento attivo a carico delle cellule del tessuto materno. Tuttavia, poiché non sono state ricostruite in questa specie, le varie fasi dell'ovogenesi, l'assenza di indagini su stadi precedenti l'uovo maturo non consente di escludere che sostanze di accumulo pervengano, almeno in un primo momento, a questa cellula per fagocitosi.

La microscopia elettronica mette in evidenza aspetti diversi nelle varie specie prese in considerazione.

In *Suberites massa* (Diaz e coll., 1975) le immagini di fagocitosi sono molto rare e l'elaborazione del vitello avverrebbe prevalentemente per pinocitosi e per suzione delle cellule nutritive ad opera di numerosi pseudopodi.

In *Verongia* (Gallissian e Vacelet, 1976) è ipotizzata l'origine endogena delle sostanze necessarie alla formazione del vitello a partire da vacuoli autofagici che, con l'apporto di materiale sintetizzato a livello del citoplasma, si accrescerebbero successivamente secondo meccanismi non ancora precisati.

In *Halisarca dujardini* (Aisenstadt e Korotkova, 1976) sono stati osservati vari aspetti sia di fagocitosi che di pinocitosi, tuttavia gli Autori affermano che una diretta trasformazione delle strutture fagocitate in granuli di vitello è poco probabile e ritengono che la formazione del vitello abbia inizio nelle vescicole dell'apparato del Golgi e che il loro accrescimento avvenga con l'apporto delle sostanze provenienti dai vacuoli fagici e pinocitici.

In *Tetilla serica* (Watanabe, 1978) vengono riportate immagini di fagocitosi a carico di cellule nutritive, ma anche in questo caso la derivazione del tuorlo sarebbe endogena, a partire da centri consistenti di aggregati di numerosi mitocondri.

Nel corso dell'ovogenesi particolare interesse riveste la produ-

zione di pseudopodi. Noti da tempo negli ovociti delle spugne, la loro presenza non ha nulla di originale, ma l'indagine ultrastrutturale ha permesso di evidenziare che accanto alla funzione tradizionale di spostamento meccanico conosciuta, ad esempio, nelle Calcispongie, essi possono assolvere a processi trofici e secretori. Oltre all'assorbimento di sostanze come in *S. massa*, ad essi è legata, infatti, la produzione in *Verongia* di una capsula follicolare a fibrille dense.

Anche per l'ovocita maturo di *Chondrilla*, in cui non si sono osservati processi di inglobamento attivo a carico di cellule del tessuto della spugna madre, sono stati peraltro evidenziati batteri associati al mesoilo materno in prossimità dei caratteristici pseudopodi. Questo fatto suggerirebbe una loro probabile partecipazione, anche se in scala ridotta, al trofismo cellulare. Non è da escludere che, in questa specie, la parte distale di ognuno di essi, affondata nella matrice di collagene della spugna madre, possa trarre direttamente dal mesoilo le sostanze nutritive. D'altra parte è noto che gli ovogoni di *Ephydatia fluviatilis* e *Spongilla lacustris* si accrescono assorbendo sostanze dal mesoilo per diffusione (Leveaux, 1942 in Brien, 1973).

E' interessante sottolineare che in *C. nucula* gli pseudopodi mostrano un contorno meno netto alla loro estremità che va sfumando nella zona dove il collagene è più denso (Tav. III, d); è probabile che essi possano avere anche una funzione nella produzione di questa matrice.

Ancora agli pseudopodi è affidata in *Verongia* la cattura dei batteri viventi in associazione con i tessuti della spugna ovigera che, racchiusi in logge citoplasmatiche, vengono trasmessi inalterati al giovane individuo. Questo particolare aspetto non è stato rilevato in *C. nucula*, il che ripropone ancora una volta la problematica relativa alle modalità di trasmissione dei simbionti in questa specie.

Anche se gli pseudopodi sono strutture frequenti negli ovociti delle spugne, la loro morfologia assume in *Chondrilla* caratteristiche del tutto peculiari. Infatti, in tutte le specie finora studiate in microscopia elettronica tali formazioni sono sempre apparse prive degli inclusi vitellini e dei globuli lipidici che contribuiscono, invece, a dare particolare rilievo agli pseudopodi di *C. nucula*. Inoltre, la disposizione regolare degli pseudopodi attorno all'ovocita determina in *C. nucula* quell'immagine tipica interpretata in passato come corona di cellule nutrici.

La presenza di cellule attorno all'ovocita è stata spesso considerata come fonte alimentare da cui l'uovo può trarre le sostanze nutritive. L'uso della microscopia elettronica ha contribuito recentemente a chiarire in *Verongia* e *C. reniformis* la funzione di questi elementi dimostrando che essi, pur essendo strettamente associati alla cellula uovo, non provvedono al suo trofismo, e fungono unicamente come cellule follicolari, di rivestimento. Quindi, un involucro cellulare attorno all'uovo non significa necessariamente la presenza di cellule nutrici. In *Chondrilla*, non è stato neppure evidenziato uno strato follicolare, a meno che esso non si formi ancora più tardivamente. Non è tuttavia da escludere che l'uovo possa essere evacuato

senza la protezione di questi elementi. In effetti, questa condizione è stata osservata anche in altre Tetractinomorpha come *Polymastia robusta* (Borojevic, 1967), in cui l'uovo è protetto da un sottile strato mucoso, e in *Tetilla serica* e *T. japonica* in cui esiste una corona di fibrille striate simili a collagene (Watanabe, 1978).

Molto difficile è l'interpretazione delle immagini relative alla realizzazione di spazi chiari irregolari di dimensioni variabili che finiscono per interessare l'intera massa citoplasmatica dell'uovo maturo. Tale aspetto riproporrebbe, tuttavia, quanto osservato da Lévi (1956) in *Polymastia mamillaris* in cui viene sottolineata come particolarità di notevole interesse, la disposizione del citoplasma in una sorta di « reticolo araneide » che limita vacuoli molto grandi, su cui si dispongono i granuli di vitello. Poichè in *Chondrilla* gli inclusi lipidici tendono a raggrupparsi, come in *Verongia*, attorno a spazi chiari, non è improbabile che la formazione di quest'ultimi sia conseguente alla degradazione metabolica dei lipidi stessi, anche perchè gli spazi di maggiori dimensioni finiscono per interessare proprio la zona perinucleare, più ricca di tali inclusi.

In accordo con precedenti osservazioni in *C. nucula* (Scalera Liaci e coll., 1971), la maturazione degli ovociti sembra essere sincrona e le diversità morfologiche rilevabili tra le cellule dovrebbero essere interpretate come espressione di momenti funzionali diversi piuttosto che come stadi differenti del processo maturativo. Anche la tendenza alla riduzione degli pseudopodi, l'aspetto ameboide e l'eccentricità del nucleo, particolarmente evidenti negli ovociti di maggiori dimensioni, potrebbero essere attribuiti a rimaneggiamenti citoplasmatici precedenti la deposizione delle uova.

Questi processi non sono infrequenti, infatti, nei Tetractinomorpha. La retrazione degli pseudopodi alla fine dell'accrescimento del gamete femminile è stata evidenziata, ad esempio, in *S. massa* (Diaz e coll., 1976) ed in *Ficulina ficus*; in quest'ultima specie, come in *Adreus fascicularis*, è stato osservato anche lo spostamento del nucleo ad un polo della cellula uovo prima della sua evacuazione (Lévi, 1956).

Contrariamente a quanto osservato in precedenza in *C. nucula* (Scalera Liaci e coll., 1971), la microscopia elettronica non ha fornito immagini relative a fenomeni di fecondazione in questa specie; tale processo potrebbe avvenire, quindi, dopo l'espulsione delle uova, in accordo con la maggior parte dei dati relativi alle Demospongie ovipare.

Desidero ringraziare vivamente i Dott. M. Pansini e R. Pronzato per i ripetuti prelievi di materiale effettuati in immersione; l'équipe del Centro di Microscopia elettronica dell'Istituto di Anatomia Patologica dell'Università di Genova per la realizzazione delle microfotografie; il Prof. M. Sarà per il costante interesse e criticismo nel corso della realizzazione di questo lavoro.

### Riassunto

Viene descritta la morfologia dell'ovocita maturo di *Chondrilla nucula* sulla base delle osservazioni in microscopia elettronica. L'ovocita maturo non appare circondato né da cellule nutrici né da elementi follicolari, ma è alloggiato in una matrice di fibrille di collagene.

La sua morfologia d'insieme, pur riproponendo quanto osservato in altre Demospongie, offre a considerare alcune particolarità : presenza costante di inclusi vitellini e sferule lipidiche all'interno degli pseudopodi; disposizione di questi Ultimi generalmente a raggiera attorno alle cellule, anche se essi possono mostrare forma e dimensione variabili; tendenza del citoplasma ad una progressiva vacuolizzazione; modificazione dell'aspetto complessivo dell'ovocita, interpretata come fase di preparazione all'espulsione.

Tali osservazioni vengono discusse anche sulla base di precedenti dati in microscopia elettronica relativi agli ovociti di altre Demospongie.

### Summary

An ultrastructural analysis on the mature oocytes of *Chondrilla nucula* Schmidt (Porifera, Demospongiae).

The morphology of the mature oocyte of *C. nucula* observed at the electron microscopy has been described.

Neither feeding cells nor a follicular envelope surround the mature oocyte, which is located among collagenous fibrils.

Although the general morphology of this oocyte is close to that of others Demospongiae, some peculiarities can be remarked: presence of yolk inclusa and lipidic zones inside the pseudopodia; generally radial pattern of pseudopodia which look different in morphology and dimensions around the oocytes; vacuolation of cytoplasm and final variation of the oocyte that could be interpreted as a preparation to spawning.

These observations have been discussed and compared with previous ultrastructural studies on the oocytes of other Demospongiae.

### BIBLIOGRAFIA

- AISENSTADT, T.B. e KOROIKOVA, G.P., 1976. — Studio sull'ovogenesi della spugna marina *Halisarca dujardini*. II. Attività fagocitica degli ovociti e vitellogenesi. *Zitologhija*, 18, pp. 818-823 (in russo).
- BRIEN, p., 1973. — Les Démosponges : morphologie et reproduction. In : « Traité de Zoologie, Anatomie, Systématique, Biologie : Spongiaires ». P.P. Grasse, éd. Masson, Paris, 3, pp. 133-461.
- BOROJEVIC, n., 1967. — La ponte et le développement de *Polymastia robusta* (Démosponges). *Cah. Biol. Mar.*, 8, pp. 1-6.
- CARRIERE, D., CONNES, R. et PARIS, J., 1974. — Ultrastructure et nature chimique de la coque et du vitellus chez l'Eponge marine : *Suberites domuncula* (Oliv.) Nardo. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 278, pp. 1557-1580.
- CONNES, R., 1975. — Mode de formation de certains systèmes membranaires au niveau des plaquettes vitellines des thésocytes d'une Démosponge marine : *Suberites domuncula* (Oliv.) Nardo. *C.R. Acad. Sc. Paris, Ser. D*, 281, pp. 1851-1854.
- DE vos, L., 1971. — Etude ultrastructurale de la gemmulogenèse chez *Ephydatia fluviatilis*. I. Le vitellus, formation, teneur en ARN et glycogène. *J. Micr.*, 10, pp. 283-304.
- DIAZ, J.P., 1973. — Cycle sexuel de deux Démosponges de l'Etang de Thau : *Suberites massa* Nardo et *Hymeniacidon caruncula* Bowerbank. *Bull. Soc. zool. France*, 98, pp. 145-156.
- DIAZ, J.P., CONNES, R. et PARIS, J., 1973. — Origine de la lignée germinale chez une Démosponge de l'Etang de Thau : *Suberites massa* Nardo. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 277, pp. 661-664.
- DIAZ, J.P., CONNES, R. et PARIS, J., 1975. — Etude ultrastructurale de l'ovogenèse d'une Démosponge : *Suberites massa* Nardo. *J. Microscopie Biol. Cell.*, 24, pp. 105-116.
- FELL, P.E., 19774. — *Porifera*. In : Reproduction of marine Invertebrates. Giese A.C. e Pearse J.S., Acad. Press, New York, London, pp. 51-131.
- GAINO, E., PANSINI, M. e PRONZATO, R., 1976. — Osservazioni sull'associazione tra una Cianofitea Crococcace e la Demospongia *Chondrilla nucula*. *Archo Oceanogr. Limnol.* 18, pp. 545-552.

- GAINO, E., PANSINI, M. e PRONZATO, H., 1977. — **Aspetti** dell'associazione tra *Chondrilla nucula* Schmidt (Demospongiae) e microorganismi simbiotici (batteri e Cianoficce) in condizioni naturali e sperimentali. *Cah. Biol. Mar.*, 18, pp. 303-310.
- GALLISSIAN, M.F. et VACELET, J., 1976. — Ultrastructure de quelques stades de l'ovogenèse de spongiaires du genre *Verongia* (Dictyoceratida). *Ann. Se. Nat., Zool.*, 12 S., 18, pp. 367-380.
- KOROTKOVA, G.P. e AISENSTADT, T.B., 1976. — Studio sull'ovogenesi della spugna marina *Halisarca dujardini*. I. Origine degli ovogoni e vari stadi di sviluppo degli ovociti. *Zitologhija*, 18, pp. 549-555 (in russo).
- LÉVI, C., 1956. — Etude des *Halisarca* de Roscoff. Embryologie et systématique des Démonsporges. *Arch. Zool. exp. gén.*, 93, pp. 1-181.
- LÉVI, c. et LÉVI, p., 1976. — Embryogenèse de *Chondrosia reniformis* (Nardo), Démonsporge ovipare, et transmission des bactéries symbiotiques. *Ann. Sc. Nat., Zool.*, 12 S., 18, pp. 367-380.
- SARA, M., 1955. — La nutrizione dell'ovocita in Calcispongie Omoceli. *Ann. Ist. Museo Zool. Univ. Napoli*, 7, pp. 1-30.
- SARA, M., 1974. — Sexuality in the Porifera. *Boll. Zool.*, 41, pp. 327-348.
- SCALERA LIA«, L. and SCISCIOLO, M., 1975. — Sexual cycles of some marine Porifera. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, 39 Suppl., pp. 307-316.
- SCALERA LIACI, L., SCISCIOLO, M. e MATAHRESE, A., 1971. — La riproduzione sessuale di alcuni Tetractinomorpha (Porifera). *Atti Soc. Pelorit. Sc. fis. mat. Ital.*, 17, pp. 235-245.
- SCALERA LUCI, L., SCISCIOLO, M. and MATAHRESE, A., 1973. — Sexual reproduction in some sponges : *Chondrilla nucula* O.S. and *Chondrosia reniformis* Nardo (Tetractinomorpha). *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, 22, pp. 129-130.
- SIMPSON, T.L., 1968. — The biology of the marine sponge *Microciona prolifera* (Ellis and Solander). II. Temperature-related, annual changes in functional and reproductive elements with a description of larval metamorphosis. *I, exp. mar. Biol. Ecol.*, 2, pp. 252-277.
- WATANABE γ., 1978. — The development of two species of *Tetilla* (Demosponge). *NSR Ō. U.*, 29, pp. 71-106.