

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXVII, serie 6^a, 1^o sem., fasc. 6. - Roma, marzo 1938-xvi

**Il nucleo delle ghiandole salivari delle larve di
« Chironomus plumosus » studiato in campo
oscuro, a luce polarizzata e con la reazione
di Feulgen.**

NOTA

di

C. GUARESCHI



Acc.

13

57

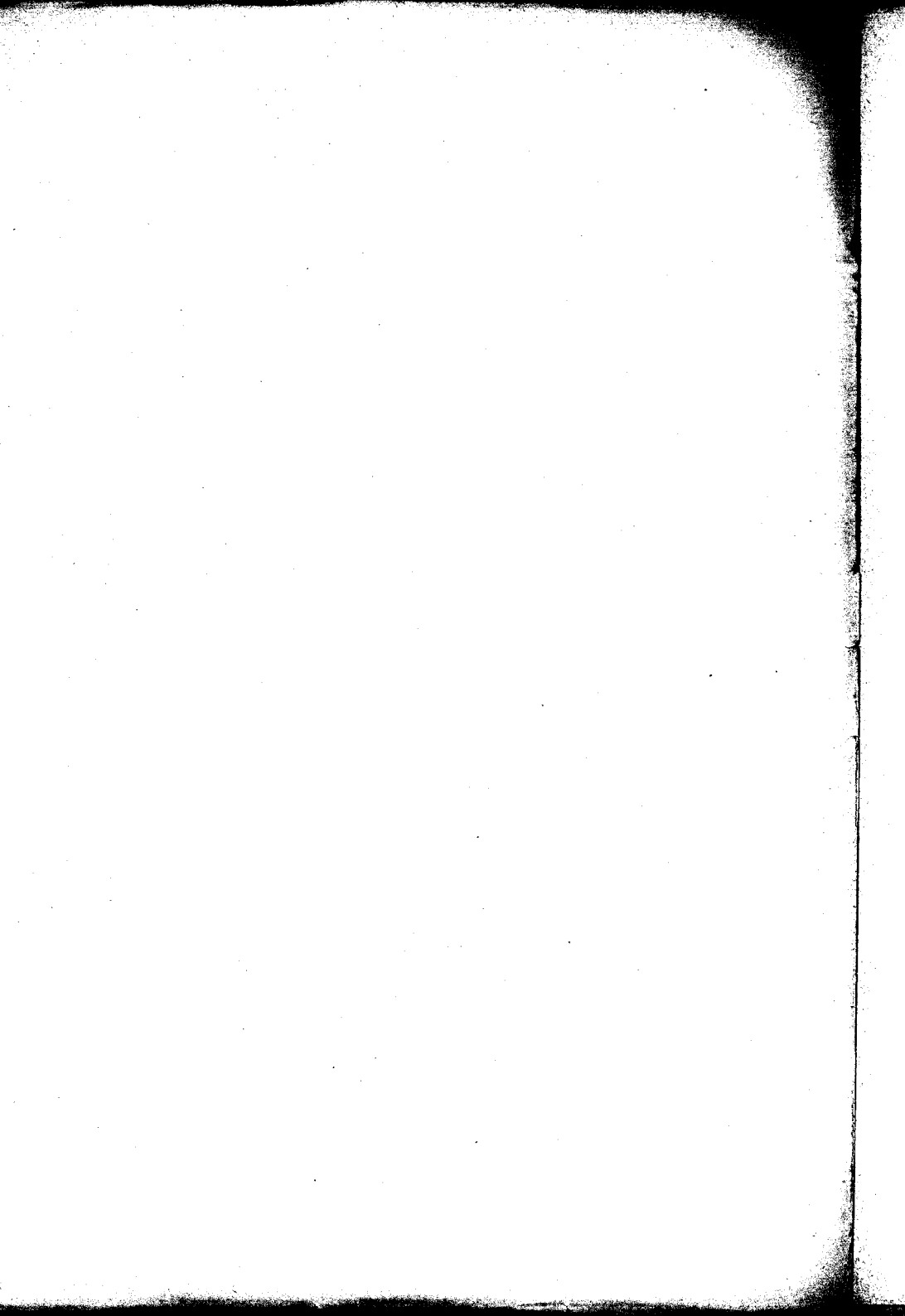
17

ROMA

DOTT. GIOVANNI BARDI

TIPOGRAFO DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

1938-xvi



Biologia generale. — *Il nucleo delle ghiandole salivari delle larve di « Chironomus plumosus » studiato in campo oscuro, a luce polarizzata e con la reazione di Feulgen* ⁽¹⁾. Nota di C. GUARESCHI, presentata ⁽²⁾ dal Socio F. SILVESTRI.

È ormai universalmente accettato il concetto dell'importanza dei cromosomi nella trasmissione ereditaria; da una trentina d'anni il Morgan e tutta la schiera dei suoi valorosi allievi e collaboratori conducono, inserendole su nuove basi, ricerche numerosissime su tale questione; gli studiosi di tutto il mondo intervenuti nella discussione di tale appassionante problema sono anch'essi numerosissimi.

Vano sarebbe quindi riportare i diversi risultati ottenuti e le varie opinioni emesse, gli uni e le altre più che note; mi limiterò solo a ricordare che per la scuola americana e per molti altri ricercatori i cromosomi sono formati di cromomeri, nei quali sarebbero precisamente localizzati i geni del Mendelismo. Painter, Bridges, ed altri studiosi hanno a lungo cercato di dare una dimostrazione sperimentale di questa concezione del Morgan, senza riuscire ad appoggiarla con prove del tutto irrefutabili; Ellenhorn, Provotieva e Müller (1935) per mezzo della luce ultravioletta hanno potuto svelare l'esistenza di una fine struttura, formata di strie trasversali, all'estremità sinistra

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia comparata « Battista Grassi » della R. Università di Roma.

(2) Nella seduta del 20 marzo 1938.

del cromosoma X della *Drosophila melanogaster*. Questi i risultati più brillanti ottenuti in tale campo fino agli studi di Caspersson (1936).

Questi, con una tecnica complicata basata sull'assorbimento della luce ultra violetta di determinata lunghezza d'onda (2600 Å), accoppiata o no alla digestione con tripsina unita ad acetato di lantanio (si digeriscono così le proteine e le protamine e si rispetta invece l'acido nucleico che viene trasformato in un sale insolubile di lantanio) ha potuto dimostrare come nella profase della meiosi di due specie di Acridi (*Chortippus dorsatus* e *Gomphocerus sp?*) l'acido nucleico si localizzi elettivamente in piccoli corpicciuoli che si dispongono in file regolari e che finiscono poi per formare, nella loro totalità, i cromosomi visibili nella metafase del processo. I corpicciuoli sarebbero piccoli e isolati nello stadio di leptotene, ma confluirebbero poi, formando, prima dell'apparire delle tetradi, una massa senza struttura, nella quale ad ogni modo, dopo la telofase della prima divisione di maturazione, è possibile intravedere la permanenza della struttura a corpicciuoli allineati, specialmente dopo la digestione. Ammettendo l'identità tra tali corpicciuoli e i cromomeri, sarebbe con ciò dimostrata senza possibilità di dubbio la struttura cromomeriale dei cromosomi delle cellule sessuali durante le divisioni maturative.

Anche nei grossi reticoli cromatinici esistenti nelle ghiandole salivari di molti Ditteri, già visti da Balbiani (1881) in *Chironomus plumosus*, da Heitz e Brauer (1933) in *Bibio hortulanus* e da altri in *Drosophila*, in *Sciara* ecc., e le cui bande trasversali già Painter (1934), Heitz (1934), Morgan, Bridges e Schulz (1934), Bridges (1935) ecc., hanno ritenute rappresentare i portatori dei geni o la confluenza dei portatori dei geni di più cromosomi, e nell'ipotesi, dello stesso Caspersson, che i cromosomi in tali reticoli cromatinici « in der Haupsache nur als vergrößerte Wiedergaben der gewöhnlichen Chromosomen angesehen werden, welche Ansicht während der letzten Jahre eine stets stärkere Unterstützung bekommen zu haben scheint » si può notare, con lo stesso Autore, una successione di bande trasversali ricche, alternate con segmenti privi o poveri di acido nucleico. Le bande trasversali, ricche di tale acido, sarebbero già dei complessi, poichè asportando i componenti poveri di esso per mezzo della digestione, appaiono formate da tante strie più sottili, distanti l'una dall'altra circa un decimo di micron. La regolare disposizione di tali strutture parla, sempre secondo l'A., contro l'ipotesi che esse siano degli artefatti.

Quando i grossi cromosomi delle ghiandole salivari, cito sempre le idee dell'A. svedese, vengono ridotti alle dimensioni di cromosomi normali, la distanza fra le bande trasversali diviene dell'ordine di grandezza di una molecola proteica. La distanza fra le fini strutture che si mettono in evidenza in una parte delle bande dopo la digestione è così minima che, dopo riduzione alla grandezza dei normali cromosomi, può trovar posto fra di esse solamente uno strato di molecole dell'ordine di grandezza dei più alti poli-

peptidi. Queste strie più sottili, inoltre, corrispondono perfettamente alle righe trasversali formate dai corpicciuoli nelle divisioni maturative di *Coriippus* e di *Gomphocerus*, così che è possibile omologarle alle zone formate di cromomeri.

Più recentemente la Pirocchi (1937), nel reticolo nucleare delle ghiandole salivari di *Calliphora vomitoria* ha potuto notare delle bande trasversali più colorate, formate da «granuli più o meno sottili e più o meno accollati» distribuiti alla periferia del reticolo e in numero non fisso; essa li considera come sezioni di cromosomi unitari riuniti a formare il cromosoma gigante. Baldi (1937) in *Drosophila melanogaster* riesce a risolvere le bande in granuli affiancati e suppone che il cromosoma abbia la forma di un cilindro nel quale i rosari di granuli si dispongono lungo le generatrici. Infine Barigozzi (1937) incenerendo le ghiandole salivari di *Chironomus Thommi* e di *Drosophila melanogaster* ottiene spodogrammi dai quali risulta come le bande più ricche di acido nucleico, individuate da Caspersson, sono anche più ricche di sostanze minerali, mentre quelle povere del medesimo acido ne sono pressochè prive. Le prime hanno perciò una composizione più complessa, e ciò appoggia l'ipotesi di Caspersson e di molti altri genetisti, secondo la quale le bande scure ricche di acido nucleico sono la sede dei geni contro quella del Metz e di altri i quali pensano che anche le bande chiare possono essere similmente sede dei geni.

*
* *

Da quanto sopra ho riferito sorge spontanea una osservazione.

Molti genetisti, ammettendo l'identità tra i veri cromosomi e il reticolo cromatinico delle ghiandole salivari, per cui questo reticolo rappresenterebbe la riunione di modelli permanenti ed enormemente ingranditi dei cromosomi che si mettono in evidenza solo in particolari momenti della vita cellulare nelle altre cellule e specie in quelle germinali, si sono affannati a ricercarne la costituzione morfologica. Si è anche parlato, dall'uno o dall'altro A., della possibilità che nei preparati fissati e colorati si trattasse di artefatti, ed accuse di tal genere sono state scambiate tra alcuni ricercatori, ma ciò nonostante nessuno si è preoccupato di studiare, se non superficialmente, quello che tali reticoli siano *in vivo*. Il solo Caspersson ha iniziato anche tale studio, servendosi sempre del suo metodo dell'assorbimento della luce U.V. di determinata lunghezza d'onda; l'ha però abbandonato ben presto perchè i preparati fissati gli davano risultati migliori.

Con i vari mezzi tecnici a mia disposizione, cioè a luce polarizzata e in campo oscuro, e senza trascurare di completare le mie osservazioni con il confronto di quanto si osserva a luce ordinaria secondo la tecnica di Baibiani e Korschelt, ho cercato di colmare questa lacuna, studiando nel nucleo delle ghiandole salivari di *Chironomus plumosus* tanto i reticoli *in*

vivo che i preparati fissati e colorati, allestiti soprattutto con un metodo specifico per l'acido nucleinico, vale a dire con la reazione di Feulgen. Ed ecco le prime osservazioni eseguite.

In vivo e a luce polarizzata il reticolo si presenta tutto monorifrangente; a nicolos incrociati sia le bande scure che quelle chiare, visibili a luce ordinaria, scompaiono completamente. L'alternanza di zone chiare e di zone scure non è quindi dovuta all'alternanza di dischi mono e birifrangenti. Ciò non contraddice minimamente le idee dei precedenti AA., perchè l'acido nucleinico non è birifrangente e le sostanze minerali trovate da Barigozzi a livello delle bande scure possono anch'esse essere monorifrangenti.

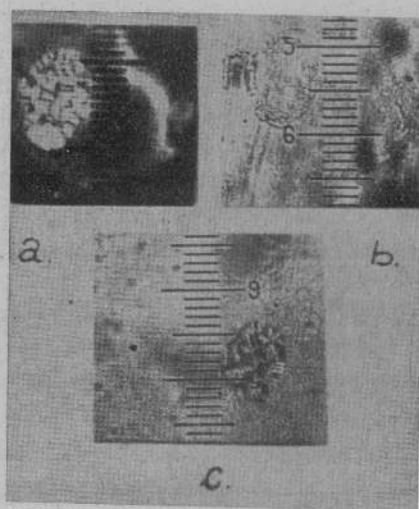


Fig. 1. — Microfotografie del medesimo reticolo cromatinico: a) in campo oscuro; b) a luce ordinaria; c) dopo fissazione e colorazione con la reazione di Feulgen.

In campo oscuro il reticolo cromatinico appare tutto intensamente luminoso sullo sfondo opalescente della cellula e su quello intensamente oscuro del resto del nucleo, il che indica che esso è in una condizione permanentemente gelificata, *anche in vivo*. È da notare infatti che, ad evitare possibili alterazioni postvitali, eseguiamo il preparato secondo la tecnica di Balbiani, con la massima rapidità, senza aggiungere alcuna soluzione fisiologica, usando invece, come liquido di sospensione, la emolinfa della larva cui la ghiandola apparteneva. All'osservazione immediata (l'allestimento del preparato può durare un 30 secondi circa) il reticolo appare luminoso e così si mantiene per un tempo sufficientemente lungo.

In campo oscuro, la luminosità del reticolo non è però omogenea; si osservano delle zone chiare separate da sottili linee più oscure il che indica che a zone fortemente gelificate si alternano zone meno gelificate.

Tale alternanza, però, non corrisponde a quella osservabile a luce ordinaria. Con l'osservazione sul medesimo reticolo, in campo chiaro, appare evidente che le bande chiare sono molto più sottili e più numerose di quelle che si vedono in campo oscuro (fig. 1, *a* e *b*).

Riprendendo il medesimo reticolo, fissandolo con alcool a 45° ed eseguendo su di esso la reazione di Feulgen, si ottiene quanto è indicato nella fig. 1, *c*⁽¹⁾; appare cioè, così, una striatura sottile, paragonabile a quella visibile in campo chiaro, ma non a quella che si scorge in campo oscuro. Si osservi a questo proposito lo schema riportato nella fig. 2, dove uno

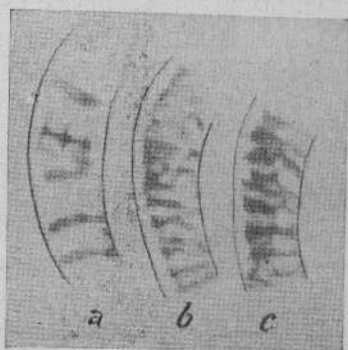


Fig. 2. — Lo stesso tratto del reticolo della figura precedente ingrandito e ripreso dalle tre osservazioni in campo oscuro (*a*), a luce ordinaria (*b*) e dopo colorazione col metodo di Feulgen.

stesso tratto del reticolo della fig. 1 è disegnato alla camera chiara riprendendolo dalle tre osservazioni in campo oscuro, in campo chiaro e dopo colorazione col metodo di Feulgen. Le bande chiare, visibili all'ultra microscopio, corrispondono a complessi di strie chiare e scure visibili a luce ordinaria e di strie più o meno ricche di acido nucleinico che si mettono in evidenza con la reazione di Feulgen.

*
* *

Già Caspersson, operando come ho detto sopra, aveva notato che le bande trasversali più ricche di acido nucleinico possono risolversi, dopo la digestione con pepsina e acetato di lantanio, in strie più sottili, del cui complesso esse sono quindi costituite. Con la reazione di Feulgen si ottiene direttamente, almeno in parte, quest'ultimo risultato: ciò è dovuto probabilmente alla minore sensibilità della reazione istologica in confronto al

(1) Notisi che in quest'ultimo caso il reticolo appare più piccolo. Ciò è dovuto all'inevitabile retrazione prodotta dal fissativo e dai reattivi della tecnica istologica.

metodo dell'assorbimento, minore sensibilità la quale fa sì che le strie intercalate a quelle ricche di acido nucleinico, e che probabilmente presentano solo tracce minime di tale sostanza, non si colorino; tale minore sensibilità ci è in tal caso utile (fig. 3).

Ed allora, se ammettiamo l'identità tra le strie così messe in evidenza e quelle di Caspersson, ne viene logico ammettere pure l'identità fra le bande (formate dalla riunione di più strie) del medesimo A. e le zone luminose (formate pur esse dalla riunione di più strie) visibili in campo oscuro. Un confronto diretto non è malauguratamente possibile, non esistendo in Roma e credo nemmeno in tutta Italia, un dispositivo sperimentale del tipo di quello usato da Caspersson, ma anche la semplice ipotesi da me ora emessa



Fig. 3. — Come si presenta un reticolo cromatinico completo trattato con la reazione di Feulgen.

mi sembra presentare un certo interesse; da essa può sorgere una deduzione di notevole importanza teorica. Ammesso sempre, come ritengono ormai numerosissimi AA., molti dei quali appartengono alla scuola del Morgan, la scuola madre di tali studi, che i cromosomi giganti delle ghiandole salivari siano modelli ingranditi di quelli delle cellule germinali, si verrebbe in tal modo a provare che i vari cromomeri costituiscono dei complessi intimamente uniti, complessi che a loro volta si riuniscono fra loro, in modo più labile, a formare i diversi cromosomi. E se si ammette ancora che i cromosomi siano i portatori dei geni, tali zone di unione più labile, e quindi di minore resistenza, potrebbero essere precisamente quei *loci* di cui tanto si parla e nei quali più facilmente si verificano le rotture che danno origine a tutti i fenomeni di traslocazione di *crossing-over*, di spezzamento ecc.





~~323325~~

