
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ELEONORA PATRICOLO

Ricerche preliminari sulla presenza e la localizzazione di alcuni enzimi negli ovari di Ascidie

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 34 (1963), n.1, p. 62-64.*

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1963_8_34_1_62_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/>

Embriologia chimica. — *Ricerche preliminari sulla presenza e la localizzazione di alcuni enzimi negli ovari di Ascidie* (*). Nota di ELEONORA PATRICOLO, presentata (**) dal Corrisp. P. PASQUINI.

Le ricerche intese a stabilire se nelle diverse fasi dello sviluppo dell'uovo di Ascidie vi è una localizzazione di enzimi in alcuni territori hanno portato ai seguenti risultati.

La citocromo-ossidasi [1], la succino-deidrogenasi [2], alcune perossidasi [3] possono mettersi in evidenza in epoche assai precoci dello sviluppo, sono legate ai mitocondri e, come questi, sono localizzate principalmente nel territorio di origine della muscolatura; le fosfatasi alcaline [4], la colinesterasi [5], la dopa-ossidasi [6] si manifestano tardivamente (alla neurulazione), non hanno nulla a che fare con i mitocondri e sono localizzate nel territorio dell'intestino primitivo (fosfatasi), o del sistema nervoso e della muscolatura (colinesterasi), o del cervello (dopa-ossidasi).

Questi risultati hanno aperto il problema della *genesì* di questi ed altri enzimi: allo scopo è sembrato ovvio il portare la ricerca innanzitutto sull'uovo al principio del suo sviluppo. Tale ricerca, fino a questo momento non è stata fatta, né con i metodi chimici né con i metodi citochimici.

Recentemente l'applicazione dei metodi citochimici all'ovario delle Ascidie è stata fatta da Cowden [7]; ma in generale si può affermare che la ricerca della esistenza e della topografia degli enzimi nell'ovario degli Invertebrati è stata poco curata, fatta eccezione per le fosfatasi (cfr. [8], [9], [10], [11]).

MATERIALE E METODO.

Le ricerche sugli enzimi sono, com'è noto, particolarmente delicate a causa della loro instabilità. Molte difficoltà al riguardo possono essere superate evitando i mezzi che li denaturano: il modo migliore è l'uso delle basse temperature. In questa ricerca si fece, perciò, ricorso al criostato; il metodo seguito fu il seguente: disidratazione degli ovari in essiccatore per 5 o 6 ore a 0°; immersione in soluzione di saccarosio 1,1 M per alcune ore: il saccarosio penetra gradualmente nell'interno degli ovari imbibendoli; congelamento in saccarosio 1,1 M con CO₂.

Le sezioni tagliate a 10 μ riescono abbastanza bene e le strutture citologiche sono conservate. Sulle sezioni così ottenute furono condotte delle colorazioni specifiche, allo scopo di individuare le diverse strutture; ciò fatto, furono eseguite alcune reazioni enzimatiche tipiche.

(*) Le presenti ricerche furono eseguite presso la Stazione Zoologica di Napoli con un contributo del C.N.R. Ringrazio il dr. P. Dohrn e il personale per la gentile ospitalità.

(**) Nella seduta del 12 gennaio 1963.

OSSERVAZIONI.

A) Colorazioni.

a) *Verde di metil pironina*: gli ovociti del 1° e del 2° stadio presentano il citoplasma e il nucleolo colorati di un rosso intenso; gli ovociti del 3° stadio presentano il citoplasma rosa e il nucleolo rosso intenso. Le cellule testali e follicolari sono incolori.

b) *Emallume ed eosina*: gli ovociti del 1° e del 2° stadio presentano il citoplasma ed il nucleolo viola scuro, molto intenso; gli ovociti del 3° stadio hanno il citoplasma viola chiaro e il nucleolo viola scuro. Le cellule testali prendono un colore violaceo, colore che si riscontra anche nel nucleo delle cellule follicolari.

c) *Rosso neutro*: gli ovociti del 1° e del 2° stadio presentano il citoplasma e il nucleolo rosso chiaro; gli ovociti maturi presentano il citoplasma rosella e il nucleolo rosso. Le cellule testali e follicolari non si colorano.

d) *Bleu di Toluidina*: si ha colorazione metacromatica. Gli ovociti del 1° e del 2° stadio presentano il citoplasma e il nucleolo bleu scuro; gli ovociti del 3° stadio hanno il citoplasma azzurro pallido. Le cellule testali presentano granuli rosso violaceo; le cellule follicolari non si colorano.

e) *Verde di metile*: colorazione metacromatica. Gli ovociti del 1° e del 2° stadio presentano il citoplasma e il nucleolo verde-azzurro; gli ovociti del 3° stadio hanno il citoplasma viola pallido. Le cellule testali presentano granuli rosso violaceo e le cellule follicolari restano incolori.

B) Reazioni specifiche per alcuni enzimi.

Sono stati presi in considerazione questi enzimi: perossidasi e fosfatasi alcaline. Furono ottenuti i seguenti risultati.

a) *Perossidasi*: per le perossidasi fu seguito il metodo della benzidina. Fu preparata una soluzione acquosa di benzina acidificata con acido acetico glaciale [12]. Al momento della reazione, sulle sezioni, alla benzidina si aggiungevano alcune gocce di H_2O_2 a 20 vol.

Una colorazione bleu apparve soltanto nel citoplasma degli ovociti del 1° e del 2° stadio; gli ovociti maturi non presentarono reazione alcuna. Debole colorazione delle cellule testali.

b) *Fosfatasi alcaline*: per le fosfatasi furono impiegati due metodi, e cioè, del nitrato di cobalto secondo Gomori con la variante di Danielli [13] e del nitrato di argento secondo von Kossa nella modificazione di Osawa [14]. Il substrato usato fu il β -glicerofosfato di sodio che fu omesso nei controlli. Le sezioni furono controcolorate con eosina. Con entrambi i metodi la reazione fu positiva, differendo soltanto in una gradazione di colore; nerastra per il nitrato di cobalto, marrone per il nitrato di argento.

Presenza di fosfatasi alcaline risultò nel nucleo di tutti gli ovociti, nelle cellule testali circondanti gli ovociti maturi, nella zona centrale delle cellule follicolari. Il citoplasma e il nucleolo degli ovociti a tutti gli stadi di sviluppo non dettero reazione.

CONSIDERAZIONI.

I risultati su esposti sono da considerarsi solo come orientativi.

La presenza di fosfatasi alcaline nel nucleo degli ovociti trova spiegazione (se non si tratta di un artefatto di tecnica) ammettendo una relazione dell'enzima con il metabolismo degli acidi nucleici [15].

Per le perossidasi, l'assenza dell'enzima nell'ovocita maturo potrebbe spiegarsi supponendo che l'enzima è in quantità così minime da non essere rivelabile con la reazione.

Ulteriori prove, comunque, daranno la risposta definitiva alla localizzazione di questi e di altri enzimi. È da sottolineare in ogni modo il vantaggio della tecnica adoperata.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] G. REVERBERI, « *Experientia* », 12, 55 (1956).
- [2] V. MANCUSO, « *Rend. Ist. Sup. Sanità* », 15, 265 (1952).
- [3] E. URBANI e L. URBANI-MISTRUZZI, « *Pubbl. Staz. Zool. Napoli* », 21, 67 (1947).
- [4] A. MINGANTI, « *Pubbl. Staz. Zool. Napoli* », 25, 92 (1954).
- [5] M. DURANTE, « *Rend. Ist. Sci. Camerino* », 2, 243 (1961).
- [6] A. MINGANTI, « *Pubbl. Staz. Zool. Napoli* », 23, 52 (1951).
- [7] R. R. COWDEN, « *Acta Embryol. Morphol. Exper.* », 4, 123 (1961).
- [8] M. J. ALLEN, « *Acta Embryol. Morphol. Exper.* », 4, 219 (1961).
- [9] L. ARVY, « *Z. Zellforsch.* », 51, 406 (1960).
- [10] P. CHR. RAVEN, *Oogenesis*, Pergamon Press Inc. New York, 1961.
- [11] V. K. VENUGOPOLAN, « *Exp. Cell Res.* », 24, 565 (1961).
- [12] L. LISON, *Histochimie et cytochimie animales*, Paris 1953.
- [13] J. F. DANIELLI, « *J. Exp. Biol.* », 22, 110 (1946).
- [14] S. OSAWA, « *Embryologia* », 2, 1 (1951).
- [15] J. BRACHET e R. JEENER, « *Biochem. Biophys. Acta* », 2, 423 (1948).