
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

FILIPPO CECERE, MARIO BUONGIORNO-NARDELLI

Osservazioni sulle cellule nutritive di *Dytiscus marginalis*: esperienze di centrifugazione

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 36 (1964), n.6, p. 894–896.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_36_6_894_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/>

Citologia. — *Osservazioni sulle cellule nutrici di Dytiscus marginalis: esperienze di centrifugazione.* Nota (*) di FILIPPO CECERE e MARIO BUONGIORNO-NARDELLI, presentata(**) dal Corrisp. P. PASQUINI.

Nell'ovaio del Ditisco, del tipo meroistico politrofico, si susseguono nei vari ovaroli gruppi di cellule nutrici ed oociti in progressivi stadi di accrescimento. Come dimostrato da Giardina (1901), ogni oogonio dà origine ad un oocite ed a quindici cellule nutrici, che costituiscono una unità germinale. La morfologia nucleare delle cellule nutrici è molto diversa da quella della vescicola germinativa dell'oocite; la differenza più appariscente è rappresentata dal fatto che il nucleo delle cellule nutrici è Feulgen-positivo, mentre la stessa reazione è negativa a livello della vescicola germinativa.

In un recente studio (Urbani e Russo-Caia, 1964) è stato dimostrato che la timidina H^3 viene incorporata nel nucleo delle cellule nutrici e che in uno stesso gruppo di cellule nutrici soltanto i nuclei di alcune assumono il precursore del DNA, mentre tutte incorporano simultaneamente i precursori dell'RNA. Ciò ha portato a concludere che in queste cellule il metabolismo dell'RNA è sincrono, mentre vi è asincronismo nel metabolismo del DNA. La ipotesi che in un determinato momento non tutti i nuclei delle quindici cellule nutrici si trovino nelle condizioni di poter incorporare la timidina ha avuto una conferma sperimentale: iniettando ad un femmina di Ditisco in un primo tempo della timidina H^3 ed a distanza di giorni della timidina C^{14} , si sono potuti osservare alcuni nuclei marcati con il primo isotopo ed altri marcati con il secondo.

Urbani e Russo-Caia (1964) hanno anche visto che è possibile dimostrare nel citoplasma delle cellule nutrici la presenza di granuli Feulgen-positivi, marcati con timidina H^3 . Questo risultato è in accordo con le osservazioni di Brachet e Quertier (1963) sugli oociti di Anfibi, dove con particolari accorgimenti tecnici si è rivelata nel citoplasma l'esistenza di DNA sotto forma di granuli. Evidentemente sia nell'oocite di Anfibi che nelle cellule nutrici di Ditisco una certa quantità di DNA nucleare passa nel citoplasma assumendo il significato di DNA metabolico *labile*, in contrapposizione al DNA genetico *stabile*.

Nel quadro delle ricerche sulla oogenesi di *Dytiscus marginalis* e sul metabolismo delle cellule nutrici, abbiamo compiuto alcune osservazioni su cellule che sono state centrifugate con la seguente tecnica. Si è preferito, anziché prelevare gli ovari e centrifugarli in soluzione di saccarosio di opportuna densità, centrifugare l'intero animale, immobilizzandolo nella provetta

(*) Lavoro eseguito presso l'Istituto di Biologia e Zoologia generale, Facoltà di Medicina della Università Cattolica, Roma.

(**) Nella seduta del 10 giugno 1964.

della centrifuga ed orientandolo in modo che la base degli ovariooli risultasse al polo centrifugo e la camera terminale al polo centripeto. La centrifugazione, da 20.000 a 40.000 g per 15 minuti, è stata effettuata in una centrifuga MSE High Speed 18. Terminata la centrifugazione, gli animali, che non mostravano alcun segno di sofferenza per il trattamento, sono stati immediatamente aperti e gli ovai sono stati fissati in alcool acetico 3 : 1. In alcuni casi si sono adoperati animali ai quali un giorno prima erano stati iniettati 5-10 μ c di timidina H^3 . Gli ovai, inclusi in paraffina, sono stati sezionati a 7 μ e sulle sezioni è stata eseguita la reazione di Feulgen con idrolisi in HCl 1 N a temperatura ambiente (18° C circa) per 16-20 ore. Alle sezioni di ovai trattati con timidina H^3 è stata applicata la tecnica autoradiografica con le modalità seguite da Urbani e Russo-Caia (1964).

I risultati da noi ottenuti appaiono nelle microfotografie riportate nella presente Nota. Le figg. 1 e 2 (ogni unità della scala è uguale a 10 μ) mostrano che nelle cellule nutrici appartenenti ad una stessa unità germinale il nucleo, Feulgen-positivo non si stratifica in eguale maniera: in alcune cellule la cromatina è infatti addensata al polo centrifugo, mentre in altre non ha subito spostamenti. Tra questi due casi limite si trovano numerose condizioni intermedie.

Questo risultato dimostra una diversa viscosità del carioplasma che, sollecitato dalla stessa forza centrifuga, subisce una differente sedimentazione nelle varie cellule. In rapporto con questo dato stanno alcune osservazioni di Brun e Chevassu (1958) dalle quali risulta che i nuclei delle cellule nutrici di *Drosophila melanogaster* reagiscono in maniera uniforme ad alcuni fissativi citologici ed in maniera diversa se trattati con altri fissativi. In altri termini, i nuclei di uno stesso gruppo di cellule nutrici hanno una diversa sensibilità di fronte ad alcuni fissativi, che si traduce in immagini differenti tra nucleo e nucleo. Queste nostre prime osservazioni non mostrano però una relazione tra viscosità della cromatina ed attitudine ad incorporare la timidina: si possono infatti trovare dei nuclei completamente stratificati che sono marcati con il precursore del DNA, mentre altri, egualmente stratificati, non lo sono affatto.

La fig. 3 mostra i granuli Feulgen-positivi localizzati nel citoplasma di una cellula nutrice non sottoposta a centrifugazione. Nella fig. 4 è riprodotta una cellula centrifugata ed alla periferia del citoplasma è visibile un ammasso di granuli Feulgen-positivi che si sono raccolti al polo centrifugo (freccia). Questa esperienza conferma la localizzazione citoplasmatica dei granuli di DNA dimostrata da Urbani e Russo-Caia (1964).

Nella fig. 5 è visibile un nucleo fortemente sedimentato e marcato con timidina H^3 , mentre in corrispondenza del citoplasma (c) in regioni lontane dal nucleo non vi sono tracce dovute ad incorporazione del precursore. Nella fig. 6 appare invece che la centrifugazione ha provocato una dislocazione nel citoplasma (c) di numerosi granuli che hanno incorporato la timidina H^3 come la cromatina del nucleo (n); in questo caso non si è però ottenuto un ammassamento dei granuli stessi al polo centrifugo come nella fig. 4.

In conclusione, con la tecnica di centrifugazione da noi adottata è stato possibile dimostrare una viscosità differenziale del carioplasma delle cellule nutrici appartenenti alla stessa unità germinale. Evidentemente le cellule nutrici si trovano in condizioni metaboliche differenti.

I granuli di DNA localizzati nel citoplasma possono essere spostati al polo centrifugo della cellula, come è dimostrabile sia con la reazione di Feulgen che con l'impiego di timidina tritiata.

BIBLIOGRAFIA.

BRACHET J. e QUERTIER J., « Exp. Cell Res. », 32, 410 (1963).

BRUN J. e CHEVASSU D., « Chromosoma », 9, 537 (1958).

GIARDINA A., « Intern. Monatschr. für Anat. Physiol. », 18, 417 (1901).

URBANI E. e RUSSO-CAIA S., « Rend. Ist. Sci. Camerino », 5, 19 (1964).

