
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIANFRANCO GHIARA, GIOVANNA PROTA-MISURACA,
CARLO TADDEI

**Assetti strutturali dell'ADN e interazioni
nucleo-citoplasmatiche nella cellula pancreatica
esocrina di Discoglossus (Anfibio Anuro)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 37 (1964), n.6, p. 501–510.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_37_6_501_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/>

Biologia. — *Aspetti strutturali dell'ADN e interazioni nucleo-citoplasmatiche nella cellula pancreatica esocrina di Discoglosso (Anfibio Anuro)* (*). Nota di GIANFRANCO GHIARA, GIOVANNA PROTA-MISURACA e CARLO TADDEI, presentata (**) dal Corrisp. M. BENAZZI.

Le variazioni strutturali del nucleo in interfase e il loro significato funzionale nelle cellule animali sono state soprattutto indagate con riferimento alla cromatina associata al nucleolo (= parti eterocromatiche dei cromosomi) e al nucleolo stesso (cfr. Caspersson, 1950).

Come sottolinea Sirlin (1960), la parte ancora valida della teoria di Caspersson è probabilmente l'individuazione di un'*interfacies* tra cromatina-nucleolo-associata (ADN cromosomico) ⁽¹⁾ e nucleolo, di alta importanza per la sintesi dell'ARN cellulare (si veda anche Sirlin, 1963).

Caspersson et al. (1963) hanno recentemente avanzato l'ipotesi che il « sistema nucleolare » predetto sia implicato nella sintesi dell'ARN strutturale dei ribosomi, o quanto meno di un ARN-messaggero che in altre sedi cellulari verrebbe trasformato in ARN-ribosomico; gli Autori ribadiscono il concetto che la cromatina nucleolo-associata sia un complesso poligenico, contenente un gran numero di geni simili, che perciò consente il rapido avvio di processi di sintesi quantitativamente rilevanti.

Nel nucleo in interfase sono stati invece poco indagati i rapporti strutturali e funzionali tra cromatina nucleolo-associata e restanti parti dei cromosomi, ove si eccettuino il peculiare caso dei cromosomi politenici dei Ditteri, e qualche altra condizione, in genere associata a poliploidia (si vedano ad esempio: Montalenti, 1949, e Siniscalco, 1951).

Si può dire che in generale il problema non è stato portato oltre l'individuazione, ormai accettata da quasi tutti gli Autori, di cromosomi interfascici costituiti da lunghi tratti distesi o poco spiralizzati, con aspetto di sottili filamenti (cromonemi), in continuità con tratti anche notevolmente addensati o spiralizzati (cromocentri), alcuni dei quali rappresentano appunto la cromatina-nucleolo-associata. La vasta bibliografia esistente è stata efficacemente riassunta da Hughes (1952) e da Mirsky e Osawa (1961). Le nostre conoscenze ultrastrutturali in materia, sono in una fase preliminare (cfr. Fawcett, 1964), come risulterà anche da quanto avremo modo di esporre più avanti.

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Istologia ed Embriologia dell'Università di Napoli — Cattedra di Meccanica dello Sviluppo (Titolo: prof. Gianfranco Ghiara), con un contributo del C.N.R.

(**) Nella seduta del 12 dicembre 1964.

(1) Adotteremo, com'è di uso generale, le sigle ADN e ARN per indicare, rispettivamente, l'acido desossoribonucleico e l'acido ribonucleico.

Un contributo interessante è costituito dalle ricerche di Altmann (1952) sulla cellula pancreatica esocrina di *Topo*, durante il ciclo secretorio stimolato con pilocarpina. Secondo i dati dell'Autore, con l'inizio dell'estrusione del secreto, mentre si verifica un progressivo aumento del volume nucleare, il nucleolo si rigonfia, i cromocentri che vi sono addossati si allungano finché uno o più di essi giungono a contatto con la membrana nucleare. Quindi uno o più cromocentri si fendono longitudinalmente in corrispondenza di aperture della membrana stessa: per la via che così si è istituita, che l'A. definisce «Leitbahn» cromosomica, il materiale nucleolare è emesso nel citoplasma, anche con l'ausilio di concomitanti fenomeni di contrazione dei cromosomi, che determinerebbero una spremitura del nucleolo. Successivamente, il nucleo continua a rigonfiarsi e si avrebbe la comparsa di ogni struttura all'interno di esso, che l'Autore spiega con la marcata idratazione dei costituenti nucleari e con l'accentuata despiralizzazione dei cromosomi. Il passaggio al quadro caratteristico dello stadio di riposo – grande nucleolo e grossi cromocentri – avrebbe luogo con modalità in sostanza non dissimili da quelle descritte da Caspersson: la «Leitbahn» cromosomica funzionerebbe in questa fase come via di conduzione centripeta, dal citoplasma al nucleolo.

Stöcker (1962 *a, b*) ha ripreso queste ricerche con l'impiego di precursori radioattivi dell'ARN e delle proteine, ed ha confermato i dati di Altmann, precisando che l'estrusione di materiale nucleolare nel citoplasma attraverso la «Leitbahn» cromosomica è una modalità che si verifica quando la stimolazione della cellula è molto intensa, mentre, di regola, il passaggio di tali materiali nel citoplasma avverrebbe per diffusione attraverso il succo nucleare. Secondo l'Autore la più attiva incorporazione nucleare di citidina tritiata ha luogo durante l'estrusione nucleolare, ma l'incorporazione nucleare di tale precursore dell'ARN è cospicua anche negli stadi in cui manca un nucleolo; il che indicherebbe che questo organulo non è la sola sede nucleare di sintesi dell'ARN. In generale, l'incorporazione nucleare di precursori marcati dell'ARN e delle proteine sarebbe in proporzione diretta con le variazioni di volume del nucleo.

Nel corso di una ricerca su questi aspetti di biologia cellulare nel ciclo secretorio della cellula pancreatica esocrina di *Discoglossus*, istituita in proseguimento di nostri precedenti lavori sul ciclo dei costituenti ergastoplasmatici (Ghiara, 1962 *a, b, c*; Ghiara e Misuraca, 1963), abbiamo rilevato un insieme di dati di microscopia ottica ed alcuni ultrastrutturali, che, a nostro avviso, si prestano ad un'utile discussione nel contesto della bibliografia esposta più sopra.

Le osservazioni sono state raccolte su circa 80 individui, ♂♂ e ♀♀, di *Discoglossus pictus* Otth ⁽²⁾, suddivisi in 5 cicli sperimentali, alimentati in modo controllato e sacrificati scalarmente secondo l'impostazione sperimentale

(2) Gli animali ci sono stati forniti dal prof. Arturo Bolognari, Direttore dell'Istituto di Istologia ed Embriologia dell'Università di Messina, che ringraziamo molto vivamente.

descritta in un precedente lavoro (Ghiara, 1962 *a*). I dati essenziali sui metodi impiegati, sono riferiti nelle « Spiegazioni » delle Tavole: notizie più esaurienti sono fornite in un altro lavoro (Ghiara e Prota-Misuraca, 1964). Precisiamo che le osservazioni di microscopia ottica si riferiscono a preparati con i metodi Verde di metile-pironina sec. Brachet, o Feulgen. Abbiamo anche allestito alcuni preparati per schiacciamento, con il metodo di pre-trattamento con soluzione ipotonica, modificato da Morescalchi (1962).

Lo stadio di riposo, « Stapelzelle », (stadio A dello schema di ciclo cellulare proposto da uno di noi: Ghiara, 1962 *b, c*) è di regola caratterizzato da un nucleo con ADN addensato in grosse zolle (cromocentri), in rapporto più o meno lasso con un nucleolo di dimensioni medie o cospicue, denso, a contorni netti, con accentuata pironinofilia da ARN (Tav. I, figg. 3, 4, 5, 6). I cromocentri possono apparire isolati o congiunti da sottili filamenti Feulgen-positivi; nei preparati allestiti per schiacciamento (Tav. I, fig. 13) sono evidenti sottili filamenti, di regola ad andamento rettilineo o appena incurvato, che collegano i cromocentri a zollette di ADN regolari per forma e disposizione, addossate alla membrana nucleare (Tav. I, figg. 4, 5). In stadi che precedono di poco quello di « Stapelzelle », e che sono già di netto avviamento alla fase di riposo cellulare, l'ADN si presenta spesso addensato in forma di segmenti cromosomici (Tav. I, figg. 1, 2) che hanno rapporti piuttosto lassi con il nucleolo già di dimensioni cospicue.

Con l'inizio dell'estrusione del secreto, mentre le strutture ergastoplasmatiche sono espanse in gran parte dell'area citoplasmatica (stadio C del ciclo: Ghiara, 1962 *b, c*), si manifesta un cospicuo rigonfiamento del nucleolo, e un rimaneggiamento, più o meno concomitante, dei cromocentri, da cui trae origine un anello perinucleolare di ADN, apparentemente continuo e di spessore irregolare (fig. 7) (è verosimile che la figura ad anello sia l'immagine di sezione di un guscio di ADN, probabilmente non continuo e certamente di spessore molto irregolare). In uno stadio ulteriore l'anello perinucleolare di ADN risulta collegato alla membrana nucleare da raggi di ADN, che sembrano bracci cromosomici (Tav. I, figg. 8-9): si determina così un assetto simile a quello descritto da Montalenti (1949) e da Siniscalco (1951) nei nuclei di cellule ghiandolari di un Cimotoide in fasi ritenute di attive sintesi cellulari.

L'anello o guscio perinucleolare si espande, e, per raccorciamento apparente in direzione centrifuga di uno o più dei bracci cromosomici prima descritti, assume rapporti più intimi con la membrana nucleare (si veda nella Tav. I la fig. 10, e la si confronti con la fig. 8). Durante questo processo, di regola si attenua sensibilmente e spesso scompare la pironinofilia da ARN del nucleolo: non possiamo dire se in questi stadi si dissolva effettivamente l'intero nucleolo.

Le figg. 11 e 12 presentano un assetto dell'ADN che nel nostro materiale è caratteristico delle cellule nella fase che segue l'estrusione del secreto, mentre i costituenti ergastoplasmatici si vanno riaddensando alla base cellulare (forse stadio E del ciclo: Ghiara, 1962 *b*). Il cerchio perinucleolare di ADN risulta aperto in corrispondenza di una ristretta zona della membrana nucleare, e il ma-

teriale nucleolare sembra in contiguità con essa. A differenza di quanto hanno descritto Altmann (1952) e Stöcker (1962 *a*) in Topo, nel nostro materiale solo di rado abbiamo rinvenuto simili assetti nella fase di estrusione del secreto.

Nei preparati verde di metile-pironina, all'interno dell'anello di ADN, a ridosso di particolari tratti di esso, si notano irregolari accumuli di ARN, e spesso, in tutto lo spazio nucleolare, una pironinofilia da ARN diffusa e di regola omogenea, o più intensa a ridosso di qualche tratto dell'anello di ADN. Soprattutto questi dati depongono per una fase di sintesi e di accumulo, e non di emissione nel citoplasma, di materiale nucleolare. Questa interpretazione è confortata anche dalla presenza, nel nucleo, di grandi zolle di ADN, alcune apparentemente isolate dall'anello perinucleolare (Tav. I, figg. 11, 12), che in ogni caso indicano l'inizio di un processo di contrazione e di addensamento dei cromosomi, quale è caratteristico delle fasi di « Restituzione » della cellula.

Se quanto abbiamo ora descritto può essere preso come dimostrativo di una « Leitbahn » cromosomica nel senso di Altmann, supponiamo che debba trattarsi dello stadio a funzionalità centripeta, ammesso anche dall'A. In via di ipotesi si potrebbe anche ammettere che l'assetto ora descritto possa corrispondere ad una fase di estrusione nel citoplasma, e di concomitante resintesi, dell'ARN nucleolare, in rapporto con i fenomeni di ricostituzione alla base cellulare di quei grandi addensamenti ribosomici che sono i paranuclei, particolarmente imponenti in Discoglosso (cfr. Ghiara, 1961, 1962 *b, c*).

Che nella specie da noi studiata l'estrusione di ARN nucleolare possa aver luogo, nel succo nucleare o nel citoplasma, in assenza di un dispositivo tipo « Leitbahn » cromosomica, è indicato da quanto abbiamo riscontrato nei primissimi momenti del ciclo digestivo nel materiale di due dei cicli sperimentali istituiti. Poco dopo l'alimentazione degli animali, durante la prima ora del ciclo digestivo (quando il materiale alimentare è appena attaccato dai processi digestivi) e in assenza di ogni fenomeno di estrusione di secreto, microscopicamente rilevabile, il quadro nucleare si modifica, e dall'assetto tipico della « Stapelzelle » si passa ad una struttura simile a quella della Tav. I, fig. 7. Si ha un rigonfiamento del nucleolo e, all'interno del cercine perinucleolare di ADN, la pironinofilia da ARN si indebolisce e in molti casi scompare del tutto. Successivamente, mentre il materiale alimentare permane nello stomaco e viene digerito, si ricostituisce un assetto nucleare simile a quello della « Stapelzelle », che verrà di nuovo e più profondamente modificato, come già si è descritto, con l'inizio della fase di intensa estrusione del secreto, al passaggio del chimo nel duodeno.

Sembra dunque che durante ogni ciclo secretorio della cellula pancreatica esocrina di Discoglosso (le cui manifestazioni citoplasmatiche corrispondono bene alle classiche descrizioni di Hirsch: cfr. Hirsch, 1961), mentre i costituenti ergastoplasmatici presentano un ciclo unico in rapporto ai fenomeni di sintesi, di accumulo e di estrusione del secreto, i costituenti nucleari compiano due successivi cicli, sul cui significato non possiamo formulare, in questa sede, alcuna ipotesi (cfr. Ghiara e Prota-Misuraca, 1964).

In base ai dati sperimentali finora raccolti, in *Discoglossus* sembrerebbe assente, almeno nei suoi caratteri estremi, la fase di accentuata decondensazione e di apparente scomparsa dei costituenti nucleari, descritta da Altmann (1952) in *Topo*. Ciò, unitamente alle altre caratteristiche differenziali, che prima abbiamo descritte, può essere forse posto in relazione, sia con l'impostazione sperimentale da noi adottata (alimentazione controllata, e non somministrazione di pilocarpina), che comporta una stimolazione meno drastica della cellula pancreatica esocrina, sia con caratteristiche biologiche degli Anfibi, tra cui va annotata la maggior quantità di ADN per nucleo rispetto agli altri Vertebrati (cfr. Mirsky e Osawa, 1961; Waddington, 1962, p. 59).

Secondo Kaufmann (1960) ogni unità riconoscibile al microscopio ottico – cromosoma, cromatidio o mezzo cromatidio – all'analisi ultrastrutturale si rivela costituita da un numero variabile di sottili elementi fibrillari, *sub-cromonemi*, disposti a spirale, e costituiti ciascuno, di regola, di due subfilamenti appaiati. I *sub-cromonemi* hanno uno spessore di 100–120 Å, e i filamenti che li costituiscono, di 35–40 Å (cfr. anche Jacob e Sirlin, 1963; La Fontaine e Chouinard, 1963).

Hay e Revel (1963) hanno descritto un assetto ultrastrutturale molto diverso nel nucleo di alcuni tipi cellulari nell'arto rigenerante di alcune specie di Urodeli. Le desossiribonucleoproteine costituirebbero un gel reticolare tridimensionale di filamenti di 50–75 Å di diametro. Nei cromosomi, e nei cromocentri (eterocromatina) del nucleo interfase, l'assetto sarebbe molto addensato, e le desossiribonucleoproteine sarebbero inattive nella sintesi dell'ADN; l'inverso si verificherebbe – nei nuclei in interfase – nelle zone ad assetto più finemente disperso, corrispondenti alle parti eucromatiche, che incorporano attivamente la timidina tritiata.

Alcune nostre osservazioni di microscopia elettronica consentono di portare un contributo a questo problema.

La fig. 14 è una micrografia d'insieme di una cellula pancreatica esocrina di *Discoglossus*, in uno stadio funzionale vicino a quello di « *Stapelzelle* ». Non ci soffermiamo sulla struttura del citoplasma, che d'altro lato ci sembra chiara (G indica la zona di Golgi, e, in alto, Z, un granulo di secreto): in cellule contigue, colpite dalla sezione a livello dell'ergastoplasma, questo ha già un assetto molto addensato.

Il nucleo, compreso nella metà inferiore del campo, presenta particolari ultrastrutturali di notevole interesse. Lungo la membrana interna dell'involucro nucleare ⁽³⁾ sono presenti accumuli di materiale, la cui natura fibrillare (fibrille o filamenti di circa 120 Å di spessore) è ben evidente in qualche zona (si veda, ad esempio quella compresa tra le due sbarre nere). Questi accumuli, che contornano i pori dell'involucro nucleare, corrispondono, per dimensioni e

(3) La membrana appare di struttura duplice. A più forte risoluzione (Tav. II, fig. 19) tale duplicità risulta dovuta all'allineamento, a distanza abbastanza regolare dalla membrana, delle estremità o di tratti dei filamenti subcromonemici.

disposizione, alle zollette Feulgen-positive, che si rilevano a ridosso della superficie interna della membrana nucleare nei preparati per microscopia ottica (cfr. in particolare, la Tav. I, figg. 5, 7). Anche in base ai dati di altri Autori, prima citati, riteniamo che si tratti di fibrille o filamenti di ADN o di desossiribonucleoproteine. Il nucleolo è situato nella parte inferiore della micrografia; ma, nel presente lavoro, non ci occuperemo dei suoi caratteri ultrastrutturali.

Una struttura a disposizione chiaramente spiralizzata è evidente nella zona indicata dalle due *freccie* corte. Il medesimo campo è riprodotto a più forte risoluzione nella Tav. II, figg. 16 (*freccia* a sinistra) e 17: il filamento (o i filamenti?) spiralizzato appare costituito da due sub-filamenti appaiati. Poco più sopra un tratto della spirale risulta tagliato longitudinalmente dal piano di sezione. Si può rilevare l'esistenza di una *spirale minore*, che a sua volta si attorciglia su se stessa formando una *spirale maggiore*. A livello di questi filamenti, che, anche in base alla loro sub-struttura sono da ritenersi *subcromonemi* (come sono stati descritti da altri Autori in altre specie animali e vegetali), si avrebbe quindi lo stesso tipo di avvolgimento, che al microscopio ottico si riscontra nei cromonemi e nei cromatidi.

Nella Tav. I, figg. 14 e 15, Tav. II, figg. 16 e 18 si possono osservare altri particolari di struttura dei subcromonemi. Nella fig. 15, la *freccia* indica la sezione longitudinale di uno di essi: i due sub-filamenti che lo costituiscono hanno uno spessore sui 35-40 A, e risultano connessi da tratti trasversi, che hanno l'aspetto di spire, a livello delle quali i due sub-filamenti si attorcigliano tra di loro. Secondo Steffensen (1960) sarebbe quasi certo che i sub-filamenti di 35-40 A rappresentino ciascuno una singola molecola di ADN associata a proteine, come nello schema proposto da Wilkins (1956).

Nel nostro materiale resta da chiarire come i subcromonemi si associno a costituire un cromonema, risolubile a livello ottico almeno al contrasto di fase. Nella fig. 14, nella zona indicata dalla *freccia* a doppia barra terminale, si può riconoscere una struttura (il cui contorno sinuoso è delimitato da altre *freccie*), che sembra costituita da più subcromonemi. Nella Tav. II, fig. 16 (*freccia* nella zona all'incirca centrale), in uno di tali subcromonemi sono presenti alcune spire, la cui disposizione apparentemente raggiata sembra riferibile ad un ripiegamento ad ansa della *spirale maggiore*.

I filamenti subcromonemici, di circa 120 A di spessore possono anche rinvenirsi poco o non spiralizzati (Tav. I, fig. 15 e Tav. II, fig. 16, e, in particolare, fig. 18). Questi assetti sono presenti, per lo più, in zone alle quali sembra di dover attribuire un significato particolare, sia per la struttura, che per la loro posizione nel nucleo. Si consideri ad esempio la zona indicata con *crc* nella Tav. I, fig. 14 (cfr. anche fig. 16). In essa i cromonemi (o i subcromonemi) non presentano una individualità ben riconoscibile, come invece hanno nella zona, situata più in alto a sinistra, dove sono disposti in rapporti reciproci più lassi, a costituire un intreccio irregolare. In base a quanto sappiamo sulle proprietà dell'eterocromatina (cfr. Ferguson-Smith, 1964), è verosimile ritenere che *crc* rappresenti l'insieme delle zone eterocromatiche, inti-

mamente, adese, di cromonemi i cui segmenti eucromatici almeno in parte costituirebbero l'intreccio irregolare sopra detto ⁽⁴⁾.

I nostri dati ultrastrutturali consentono dunque di concludere che anche nel nucleo interfase di cellule di Anfibi, le desossiribonucleoproteine – e i cromonemi – presentano una struttura analoga a quella descritta per altre specie di animali e di piante superiori (cfr. Kaufmann, 1960), e da Pappas *et al.* (1959) in *Amoeba proteus*. Anche le possibilità di individuazione, a livello ultrastrutturale, delle parti eterocromatiche ed eucromatiche dei cromosomi in interfase, offerte dal nostro materiale, portano a conclusioni diverse da quelle di Hay e Revel (1963). D'altro lato, la presenza di subcromonemi, poco o non spiralizzati, – e quindi in assetto ultrastrutturale rispondente, per quanto in generale è noto in letteratura, ad uno stato di maggiore attività funzionale – in zone da noi interpretate come eterocromatiche è in buon accordo con il concetto, ormai suffragato da una larga massa di dati sperimentali, che a livello dell'eterocromatina del nucleo in interfase siano particolarmente attive le sintesi di ARN e di proteine (cfr. parte introduttiva).

Dai nostri dati risulta intanto che non tutte le zolle di materiale addensato, Feulgen-positivo, riconoscibile nel nucleo interfase, possono essere interpretate come eterocromatiche, come già avevano indicato precedenti Autori (Schultz, 1947, Montalenti, 1949).

Ci sembra inoltre verosimile che la modalità con cui si evidenziano, in determinati momenti del ciclo, i bracci cromosomici disposti a raggio tra la cromatina nucleolo-associata e la membrana, possa consistere nella progressiva spiralizzazione (anche a livello dei costituenti ultrastrutturali) di segmenti eucromatici di cromosomi aventi già tale disposizione, e nel marcato e progressivo loro accostamento, probabilmente in rapporto a concomitanti riassetamenti dei rispettivi segmenti eterocromatici, intimamente adesi a costituire la cromatina nucleolo-associata ⁽⁵⁾.

Non disponiamo di dati che consentano di identificare a livello ultrastrutturale una «Leitbahn» cromosomica nel senso di Altmann (1952), quale probabilmente si attua, con le limitazioni che abbiamo indicato, anche nel tipo cellulare da noi studiato.

(4) È probabile che due localizzazioni, di assetto ultrastrutturale così sensibilmente diverso, come quelle descritte nella Tav. I, fig. 14, si presentino al microscopio ottico – dati i limiti di risolubilità – con un aspetto sostanzialmente simile, come zolle Feulgen-positive più o meno omogenee: cioè come cromocentri. In questo caso però, solo uno dei due sarebbe costituito da strutture aventi le caratteristiche dell'eterocromatina.

(5) È assai problematico un confronto con i dati sulle zone eterocromatiche di cromosomi metafasici, studiati in altri tessuti somatici della stessa specie (il reperto di mitosi nel pancreas di Discoglossus adulto è eccezionale). Secondo Morescalchi (1964) il corredo cromosomico ($2n = 28$) risulta di 26 cromosomi metacentrici e 2 acrocentrici; una zona chiaramente eterocromatica è presente soltanto in una coppia di cromosomi metacentrici (la 7^a). L'eterocromatina nei nuclei interfase delle cellule esocrine del pancreas, intesa anche restrittivamente come cromatina associata al nucleolo, risulta molto più abbondante, e non vi sono dati che facciano sospettare, in queste cellule, l'esistenza – almeno con frequenza significativa – di condizioni di poliploidia.

BIBLIOGRAFIA.

- ALTMANN H. W., « Zeitschr. f. Krebsforsch. », 58, 632–45 (1952).
- CASPERSSON T., *Cell Growth and Cell Function. A Cytochemical Study*, Norton Co., New York (1950).
- CASPERSSON T., « Exptl. Cell Res. », 32, 529–552 (1963).
- FAWCETT D. W., in *Modern Development in Electron Microscopy*, Acad. Press, New York, pp. 257–334 (1964).
- FERGUSON-SMITH M. A., « Cytogenetics », 3, 124–134 (1964).
- GHIARA G., « Boll. Zool. », 28 (2), 493–503 (1961).
- GHIARA G., « Boll. Zool. », 29 (1), 73–99 (1962 a).
- GHIARA G., « Rend. Accad. Naz. Lincei », ser. 8^a, 33 (5), 347–53 (1962 b).
- GHIARA G., « Boll. Zool. », 29 (2), 219–304 (1962 c).
- GHIARA G. MISURACA G., « Arch. Zool. Ital. », 48, 23–51 (1963).
- GHIARA G., MISURACA G., « Boll. Zool. », 31 (in corso di stampa) (1964).
- HAY E. D., REVEL J. P., « J. Cell Biol. », 16, 29–52 (1963).
- HIRSCH G. C., in *Biological Structure and Function*, Acad. Press., New York, vol. 1, pp. 195–208 (1961).
- HUGHES A., *The Mitotic Cycle*, Butterworths Sc. Public., London (1952).
- JACOB J., SIRLIN J. L., « J. Cell Biol. », 17, 153–165 (1963).
- KAUFMANN B. P., in *The Cell Nucleus*, Butterworths, London, pp. 251–63 (1960).
- LA FONTAINE J. G., CHOUINARD L. A., « J. Cell. Biol. », 17, 167–202 (1963).
- MIRSKY A. E., S. OSAWA, in *The Cell*, Acad. Press., New York, vol. 2, pp. 677–770 (1961).
- MONTALENTI G., « Exptl. Cell Res. », Suppl. 1, 123–28 (1949).
- MORESCALCHI A., « Boll. Zool. », 29 (2), 601–608 (1962).
- MORESCALCHI A., « Caryologia », 17, 2 (in corso di stampa) (1964).
- PAPPAS G. D., BRANDT P. W. (1959), (cit. da KAUFMANN (1960)).
- REYNOLDS E. S., « J. Cell. Biol. », 17, 208–212 (1963).
- SABATINI D. D., et al., « J. Cell Biol. », 17, 19–58 (1963).
- SCHULTZ J., « Cold. Spr. Harb. Symp. Quant. Biol. », 12, 179–91 (1947).
- SINISCALCO M., « Caryologia », 4, 1–24 (1951).
- SIRLIN J., in *The Cell Nucleus*, Butterworths Sc. Public., London, pp. 35–48 (1960).
- SIRLIN J., « Intern. Rev. Cytol. », 15, 35–96 (1963).
- STEFFENSEN D., in *The Cell Nucleus*, Butterworths Sc. Public., pp. 216–21 (1960).
- STÖCKER E., « Zeitschr. f. Zellforsch. », 57, 145–171 (1962 a).
- STÖCKER E., ibidem, 57, 47–62 (1962 b).
- WADDINGTON C. H., *New patterns in Genetics and Development*, Columbia Univ. Press, New York (1962).
- WILKINS M. H. F., « Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol. », 21, 35–87 (1956).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I E II

Le microfotografie e le micrografie elettroniche si riferiscono a cellule pancreatiche esocrine di Discoglossus.

TAVOLA I.

Fig. 1. – Fissaz. Stieve. Coloraz. Verde di metile-pironina sec. Brachet. Individuo alimentato: stomaco vuoto, chimo in intestino oltre l'ansa duodenale. Cellule esocrine con ergastoplasma in via di riaddensamento alla base cellulare. Nucleo con grosso nucleolo, pironinofilo, denso a contorni netti. Cromatina generalmente in forma di filamenti spessi e corti, in rapporti lassi con il nucleolo. 1000 ×.

- Fig. 2. – Fissaz. Carnoy I. Coloraz. e altri dati, come il precedente. 1000 $\times$.
- Fig. 3. – Fissaz. e coloraz. come i precedenti. Individuo digiuno da 6 giorni. Cellule in stadio di «Stapelzelle», con ergatoplasma basale molto addensato (freccia). Nucleoli più grandi e più pironinofili dei due preparati precedenti. 1200 $\times$.
- Figg. 4–12. – Fissaz. Carnoy I. Coloraz. Feulgen.
- Fig. 4. – Individuo digiuno da 6 giorni. Nucleo con ADN a grandi cromocentri situati nella zona centrale attorno allo spazio nucleolare: piccole zolle di ADN disposte assai regolarmente a ridosso della superficie interna della membrana nucleolare. 1200 $\times$.
- Fig. 5. – Individuo digiuno da 6 giorni. Assetto dell'ADN simile al caso precedente. Si noti la disposizione regolare delle zollette dell'ADN a ridosso della membrana nucleare. 1500 $\times$.
- Fig. 6. – Individuo digiuno da 6 giorni. Assetto dell'ADN come nei due casi precedenti. 1200 $\times$.
- Fig. 7. – Individuo rialimentato; chimo in stomaco: digestione iniziale. Cellule in fase di stimolazione iniziale. Nucleo con anello irregolare di ADN attorno allo spazio nucleolare. Si noti la disposizione molto regolare delle zollette di ADN a ridosso della m. nucleare. 1300 $\times$.
- Fig. 8. – Individuo rialimentato: chimo in duodeno. Cellula in fase di intensa estrusione del secreto. Nucleo con ADN disposto ad anello perinucleolare, dal quale si dipartono raggi, che si congiungono a zollette di ADN situate a ridosso della m. nucleare, alcune delle quali appaiono come rigonfiate. 900 $\times$.
- Fig. 9. – Medesimo campo della fig. 8 a maggiore ingrandimento. 2200 $\times$.
- Fig. 10. – Individuo rialimentato: chimo in 3° inferiore dell'intestino. Cellule con ergatoplasma in via di riaddensamento basale. Nel nucleo in alto l'anello perinucleolare è a più intimo contatto, su di un lato, con la m. nucleare. 1150 $\times$.
- Fig. 11. – Stesso individuo della fig. 10. L'anello di ADN perinucleolare risulta aperto a ridosso della m. nucleare, contro la quale si notano masserelle irregolari di ADN. 1200 $\times$.
- Fig. 12. – Medesimo campo della fig. 11 a maggiore ingrandimento. 2400 $\times$.
- Fig. 13. – Fissaz. Carnoy I dopo trattamento con soluz. ipotonica. Schiacciamento. Coloraz. Feulgen. Contrasto di fase. Individuo digiuno da 6 giorni. Nel nucleo in basso a sinistra è evidente il nucleolo (spazio chiaro rotondeggiante), cui sono addensati grossi cromocentri. Negli altri 2 nuclei sono evidenti numerosi cromonemi, Feulgen-positivi, in genere a disposizione radiale tra i cromocentri addensati al nucleolo e corrispondenti masserelle di ADN, a ridosso della m. nucleare. 1600 $\times$.
- Figg. 14–19. – Sono date qui le spiegazioni essenziali: una descrizione più esauriente è data nel testo. Le micrografie sono state eseguite con il m.e. Hitachi HS-6 del nostro Istituto.
- Fig. 14. – Doppia fissaz. Glutaraldeide in tampone cacodilato – Acido osmico (cfr. Sabatini, et al. 1963). Coloraz. Pb citrato sec. Reynolds (1963). 23000 $\times$.
- Fig. 15. – Particolare della fig. 14 nella regione nucleare indicata dalla *freccia* corta a sinistra. La *freccia* indica un filamento subcromonemico. 78000 $\times$.

TAVOLA II.

- Fig. 16. – Particolare della fig. 14 in una regione nucleare delimitata a sinistra dalle *freccie corte* appaiate. La *freccia* a sinistra indica un filamento sub-cromonemico spiralizzato, che si continua in alto. È evidente la presenza di una *spirale minore*, costituita dalle spire

del filamento, e una *spirale maggiore*, che si origina per attorcigliamento della spirale maggiore su se stessa. La *freccia* a destra indica alcuni filamenti subcromonemici despiralizzati. 42000 $\times$.

Fig. 17. - Stesso particolare della fig. 14 a maggiore ingrandimento. Sono meglio evidenti i particolari strutturali del subcromonema spiralizzato, tra cui la sua struttura duplice. 65000 $\times$.

Fig. 18. - Particolare della fig. 14: metà inferiore sinistra della regione nucleare. La *freccia* superiore indica una struttura spiralizzata che si prolunga verso l'alto e in basso verso la massa densa del nucleolo. La *freccia* in basso indica alcuni filamenti, in uno dei quali è evidente una struttura duplice. 42000 $\times$.

Fig. 19. - Particolare della fig. 14, a livello dell'involucro nucleare. Le due *freccie* corte indicano due pori dell'involucro. Si notino i ribosomi disposti regolarmente sulla membrana esterna dell'involucro. I pori appaiono attraversati da un setto: ma probabilmente si tratta dell'immagine di sezione di una zona del bordo porale. La *freccia* lunga indica alcuni filamenti subcromonemici disposti con direzione obliqua rispetto alla membrana interna dell'involucro: i filamenti non sembrano giungere a contatto di essa. 65000 $\times$.



