

SERGIO SOMMA (*)

OSSERVIAMO I CROMOSOMI

La scoperta della struttura e del comportamento dei cromosomi, e l'identificazione di essi come vettori dei fattori ereditari, avvenuta per tappe successive durante gli ultimi cento anni, costituisce una delle vicende certamente più appassionanti nella storia della scienza.

Vogliamo ricordare brevemente quali sono state le scoperte che hanno dato l'avvio a questa serie di studi e ricerche e hanno portato al grandioso sviluppo della moderna genetica: nel 1865 G. Mendel enuncia le sue famose leggi sulla distribuzione dei caratteri ereditari, F. Miescher nel 1869 isola e definisce la « nucleina », oggi nota come acido deossiribonucleico (DNA) e per la prima volta, nel 1882, W. Flemming osserva e descrive le varie figure mitotiche.

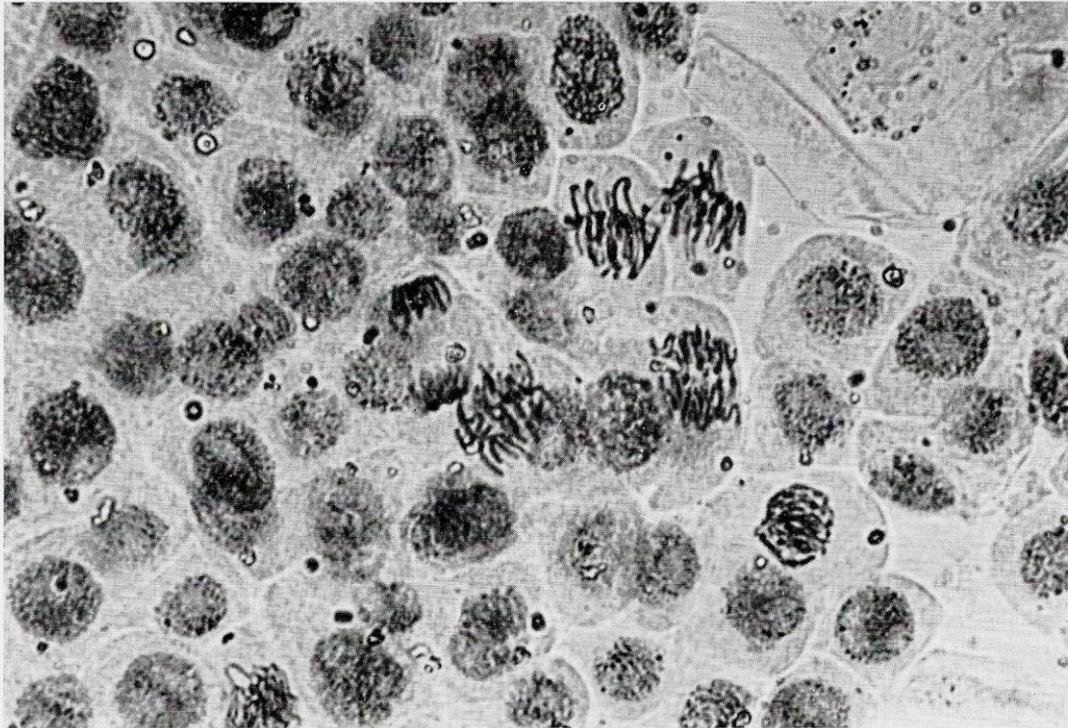
Le indagini chimiche sui cromosomi successivamente hanno rivelato che questi appaiono composti fondamentalmente da due classi di sostanze, gli acidi nucleici e gli istoni; i primi, responsabili delle specifiche reazioni cromatiche del nucleo, sono rappresentati essenzialmente da DNA che, in forma di lunghissime macromolecole, costituisce il substrato fisico della informazione genetica; gli istoni sono invece proteine basiche, la cui funzione sembra eminentemente strutturale.

Lo studio microscopico delle cellule d'altra parte ha condotto progressivamente ad alcune generalizzazioni, la cui validità si estende praticamente a tutta la gamma degli organismi eucarioti: in tutti i casi in cui i cromosomi hanno potuto essere contati con sicurezza, si è trovato che il loro numero è costante nell'ambito di uno stesso individuo, e, con determinate eccezioni, nell'ambito della stessa specie. I cromosomi di una stessa cellula, inoltre, differiscono tra loro, e possono essere distinti in base alla forma e dimensioni, o alla diversa colorabilità; ogni cellula di un determinato organismo ha non solo lo stesso numero ma anche lo stesso assortimento di cromosomi. Infine, nelle cellule somatiche della maggior parte degli organismi superiori, i cromosomi sono presenti in coppia per ciascun tipo; i membri di ciascun paio vengono detti cromosomi omologhi.

Appare evidente che l'esatta riproduzione di una tale struttura durante la divisione cellulare comporta l'esistenza di un preciso meccanismo di replicazione e ridistribuzione dei cromosomi; la sequenza di tali eventi, che si verificano nel nucleo di una cellula in divisione, prende il nome di mitosi.

Le cellule destinate a divenire elementi sessuali (gameti) subiscono un diverso processo di replicazione detto meiosi; lo stesso fenomeno avviene nel corso di una

(*) Dr. SERGIO SOMMA, assistente all'Istituto Botanico dell'Università di Bologna.



Allium cepa: cellule meristematiche dell'apice radicale. Sono visibili, al centro, vari stadi del processo mitotico.

alternanza di generazioni, quando si passa da un organismo diploide ad uno aploide (ad esempio, la formazione di spore nelle Felci e dei granuli pollinici e della megaspore nelle Fanerogame). La meiosi consiste essenzialmente di una serie di due successive divisioni cellulari cui corrisponde una sola divisione dei cromosomi, cosicché da una cellula madre si originano quattro cellule figlie, ciascuna con il numero dei cromosomi ridotto a metà; ciascun membro della coppia di cromosomi omologhi si distribuisce, dopo essersi diviso, in due delle quattro cellule figlie.

Non è il caso in questa sede di descrivere dettagliatamente la successione di eventi che costituiscono i processi mitotico e meiotico; tali descrizioni possono essere facilmente reperite in qualsiasi testo di biologia. Cerchiamo invece di illustrare una facile procedura che permette di ottenere dei preparati cariologici didatticamente significativi e che, richiedendo un'esigua attrezzatura, è alla portata di qualsiasi laboratorio scolastico.

Liquido di fissaggio e colorante

Le preparazioni risulteranno in genere alquanto migliori se i campioni avranno soggiornato per 12-24 ore in un liquido di fissaggio composto di 3 parti di alcool assoluto e 1 parte di acido acetico glaciale; in mancanza di alcool assoluto si può far uso anche di alcool a 95°. I coloranti che in questi casi danno le migliori prestazioni sono il Carminio e l'Orceina, entrambi facilmente reperibili in commercio. Per preparare il reattivo si sciolgono a caldo gr 1 di colorante in 100 cc di acido acetico glaciale al 45 % in acqua distillata e si porta a moderata ebollizione agitando fino a completa dissoluzione; si lascia raffreddare, si filtra su carta porosa e si riaggiunge il solvente perduto durante l'ebollizione. Questa soluzione andrà quindi conservata in una bottiglia a tenuta, di vetro scuro; se si è usato come colorante il carminio sarà opportuno tenere nella bottiglia qualche frammento di ferro; i sali di questo metallo hanno infatti la capacità di renderne più stabile e intensa la colorazione.

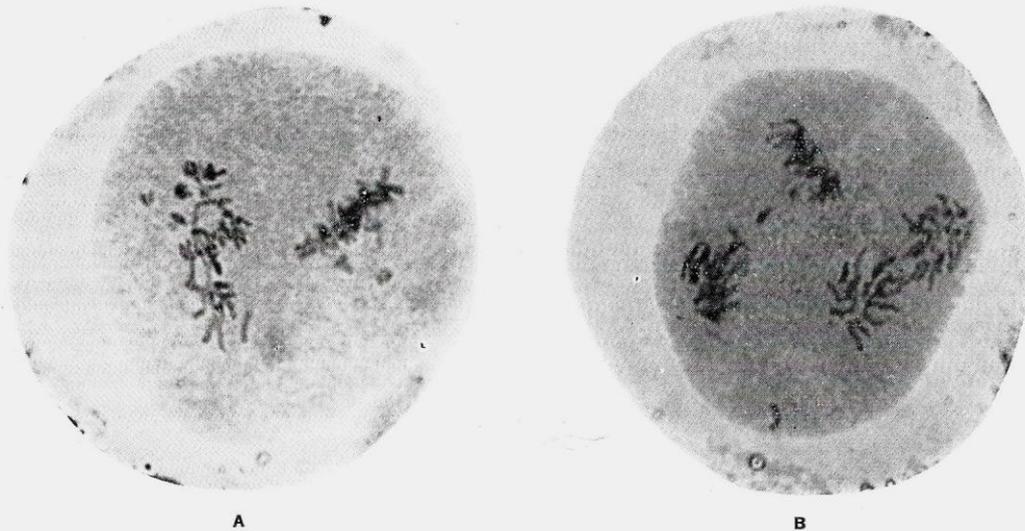
Osservazione della mitosi

Un materiale eccellente per l'osservazione della mitosi e di facilissima reperibilità è costituito dagli apici radicali di cipolla (*Allium cepa*). Per procurarcene mettiamo un bulbo di cipolla sulla bocca di un bicchiere contenente tanta acqua da sfiorare l'estremità inferiore del bulbo stesso e conserviamo al buio. Nel giro di qualche giorno il bulbo emette un fascetto di radici; quando queste hanno raggiunto una lunghezza di 1-2 cm vengono tagliate alla base e poste nel liquido di fissaggio preparato al momento. Poiché il ritmo mitotico dell'apice radicale non è costante, ma subisce oscillazioni sia giornaliere che nell'ambito dell'intero periodo di crescita, sarà opportuno prelevare più getti in diversi giorni e in diverse ore della giornata.

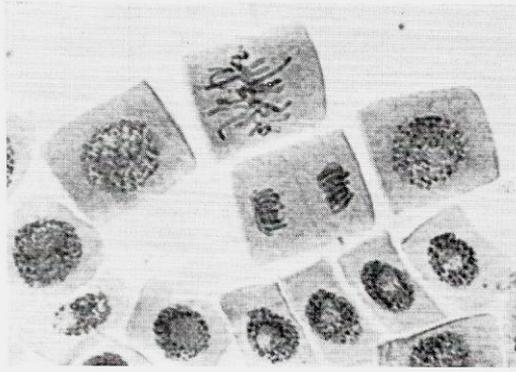
Coloriamo ora immergendo i campioni nella soluzione di carminio od orceina e facendo bollire delicatamente per qualche secondo, oppure esponendo il recipiente a vapori di acqua bollente per qualche minuto. Lasciamo raffreddare e asciughiamo i pezzi di radice appoggiandoli su carta bibula; con un ago manicato stacciamo gli apici per una lunghezza di 1 mm circa e

li deponiamo su un vetrino portaoggetti molto pulito; la parte apicale è sempre facilmente riconoscibile perché appare colorata più intensamente; aggiungiamo quindi una goccia di colorante fresco e vi appoggiamo sopra un vetrino coprioggetto pure molto pulito; ora, tenendo ben fermo il coprioggetto mediante pressione su un angolo di esso, diamo dei leggeri colpi sul vetro con il manico dell'ago, fino a disperdere completamente i frammenti degli apici radicali. (Notiamo che questo avviene molto facilmente perché l'acido acetico contenuto nella soluzione colorante scioglie le lamelle mediane, di natura pectica, delle pareti cellulari, provocando la disintegrazione dei tessuti). È necessario fare molta attenzione a che il coprioggetto non subisca più alcuno spostamento laterale, che causerebbe la deformazione delle cellule sottostanti.

Se ora poniamo il preparato sotto il microscopio e guardiamo a medio ingrandimento (4-500 X), dovremmo essere in grado di osservare una immagine simile a quella della fig. 1. Esplorando metodicamente il preparato potremo quindi incontrare tutte le figure mitotiche delle cellule in divisione.



Hemerocallis fulva: cellule madri del polline. Due successivi stadi della meiosi: A) 2^a metafase; B) 2^a anafase.



Allium cepa: particolare di cellule di meristemi apicali in mitosi. In alto è visibile una metafase e subito sotto una anafase.

Osservazioni della meiosi

Nelle Fanerogame il processo riduzionale ha luogo al momento della formazione dei granuli pollinici e della megaspora (o cellula madre del sacco embrionale). L'osservazione di quest'ultima risulta abbastanza complessa, a causa degli abbondanti tessuti che la avvolgono completamente; ci occuperemo perciò della formazione del polline, di assai facile dimostrabilità. Le giovani antere di molte Liliacee forniscono il materiale migliore per lo studio del processo meiotico.

Nella tabella 1 sono riportati i numeri cromosomici di alcune di queste Liliacee adatte per preparazioni didattiche; particolarmente consigliabili sono i fiori di *Lilium* e di *Hemerocallis*.

Poiché la formazione del polline avviene molto precocemente rispetto alla schiusura del fiore e le fasi della meiosi si

TABELLA 1 - Numero cromosomico di alcune comuni Liliacee

Specie	2n =
<i>Hemerocallis</i> sp.	22
<i>Allium cepa</i> *	16
<i>Allium porrum</i>	32
<i>Lilium</i> sp.	24
<i>Tulipa gesneriana</i>	24-36
<i>Aloë</i> sp.	14
<i>Agapanthus umbellatus</i>	30
<i>Trillium</i> sp.	10

(*) e altre specie dello stesso genere.

compiono in maniera sincrona in ciascuna antera, sarà necessario procurarsi una serie di boccioli a diversi stadi di sviluppo, cominciando da quelli più piccoli. Nel caso che non sia possibile utilizzare subito il materiale, questo potrà essere conservato per qualche tempo in alcool a 70°.

Estraiamo le antere dai boccioli, e, dopo fissazione e colorazione, svolte come nel caso precedente, le schiacciamo delicatamente tra i vetrini portaoggetto e coprioggetto, usando le precauzioni già accennate.

Potremo notare allora la presenza nei preparati di una notevole quantità di cellule sferoidali di grandi dimensioni, le cellule madri del polline, nel cui citoplasma possono essere visibili le varie figure del processo meiotico e in quelle più mature già distinti i quattro giovani granuli pollinici.