

**A T T I**  
**DELLA**  
**SOCIETÀ TOSCANA**  
**DI**  
**SCIENZE NATURALI**  
**RESIDENTE IN PISA**

**MEMORIE - SERIE B**

**VOL. LXXXIV - ANNO 1977**

## I N D I C E

INNOCENTI A. M., BITONTI B. - Età del seme e variazioni nel rapporto istoni/DNA in meristemi quiescenti di <i>Triticum durum</i> cv. Cappelli . . .	Pag. 1
MARCHIORI S., TORNADORE MARCHIORI N. - Lineamenti vegetazionali del Monte Pelato - Castiglioncello (Livorno) . . . . . »	7
DEL PRETE C. - Contributi alla conoscenza delle orchidaceae d'Italia. II - Il genere <i>Cephalanthera</i> Richard in Toscana . . . . . »	17
SCRUGLI A. - <i>Narcissus papyraceus</i> Ker-Gawl. ( <i>Amaryllidaceae</i> ) in Sardegna. Analisi cariologica e considerazioni sul suo indigenato nell'isola . . . . . »	35
BOCCHIERI E. - <i>Parapholis incurva</i> (L.) C. E. Hubbard (Gramineae): prime indagini sulla ecologia della germinazione . . . . . »	45
MONTI G. - Macromiceti apuani. I: le raccolte tra Canevara e Santa Croce (Massa) . . . . . »	59
DEL PRETE C., TOMASELLI M., GIOVANNINI A. - Il paesaggio vegetale della conca del Lago Torbido e del Lago Turchino al Monte Rondinaio (Appennino lucchese-modenese). I contributo . . . . . »	77
BALSAMO M. - Prime ricerche sui Gastrotrichi dulciacquicoli italiani . . . . . »	87
ROMÈ A., TOMEI P. E. - Il Cuculo dal ciuffo - <i>Clamator glandarius</i> (L.) in Toscana . . . . . »	151
GANDOLFI G., MARSHALEK M. T., TONGIORGI P. - Un ghiozzo nuovo per le coste italiane: <i>Millerigobius macrocephalus</i> (Kolombatović) (Pisces, Gobiidae) . . . . . »	161
AMBROSI A. C., FORMICOLA V. - Resti eneolitici della Tana della Volpe (Equi Terme) . . . . . »	173
BORGOGNINI TARLI S. M., LA GIOIA C. - Studio antropologico di un gruppo di scheletri di età romana (I a.C.-I d.C.) rinvenuti nella necropoli di Collelongo (L'Aquila, Abruzzo) . . . . . »	193
<i>Elenco dei Soci per l'anno 1977</i> . . . . . »	227
<i>Norme per la stampa di note e memorie sugli Atti della Società Toscana di Scienze Naturali</i> . . . . . »	239

A. M. INNOCENTI, B. BITONTI (\*)

ETA' DEL SEME E VARIAZIONI NEL RAPPORTO ISTONI/DNA  
IN MERISTEMI QUIESCENTI DI *TRITICUM DURUM*  
cv. CAPPELLI

**Riassunto** — In relazione alla diversa risposta alla germinazione di semi di età diversa è stato saggiato il rapporto istoni/DNA nelle popolazioni presintetiche di meristemi quiescenti di *Triticum durum* in cariossidi postmature di un anno, che germinano al 100% entro 72h, ed in cariossidi vecchie di quattro anni che non germinano più. L'analisi è stata condotta solo su cellule con contenuto in DNA/nucleo 2C e minor volume cellulare e nucleare, perfettamente isodiametriche. Dai dati raccolti appare evidente che il rapporto istoni/DNA è più elevato nelle popolazioni nucleari presintetiche di meristemi radicali vecchi che nelle stesse popolazioni appartenenti a meristemi giovani. Inoltre tale rapporto presenta nei meristemi radicali di semi vecchi una maggiore eterogeneità.

**Summary** — Cytophotometric analysis of nuclear DNA and histones content were carried out in *Triticum durum* resting meristems of different age. It was shown that the nuclei in the presynthetic phase of nuclear cycle, all having 2C DNA content, display different amount of fast-green stainable histones both in aged and in young caryopses. As to histones / DNA ratio, the collected data indicate that the ratio is higher in old resting meristems which do not germinate any more than in young resting meristems. Besides the histones / DNA ratio appears more heterogeneous in old meristems. The possible significance of the quantitative variations in histones content is discussed.

Le cariossidi di *Triticum durum*, come del resto la maggior parte dei semi, manifestano differenti capacità di germinazione se saggiate a diversa età. In particolare semi più vecchi germinano in percentuali inferiori e dopo tempi più lunghi dalla messa in germinazione, finché non perdono definitivamente tale capacità. Durante la quiescenza devono perciò avvenire cambiamen-

---

(\*) Dipartimento di Ecologia dell'Università della Calabria, Arcavacata di Rende (Cosenza).

ti metabolici che influenzano la risposta dei tessuti meristemati.

Nell'intento di chiarire alcuni aspetti citologici di questa diversità di risposta, ci siamo posti il problema di analizzare popolazioni di cellule meristematiche quiescenti in momenti diversi della vita del seme.

Data la variabilità esistente nell'ambito delle cellule meristematiche, per confrontare popolazioni corrispondenti di età diverse abbiamo preso in esame esclusivamente cellule con contenuto in DNA/nucleo 2C e fra queste le cellule a minor volume cellulare e nucleare, perfettamente isodiametriche.

Poiché, come è riportato in letteratura, sono riscontrabili cambiamenti nel contenuto in istoni nucleari colorabili al fast-green sia considerando stadi funzionali diversi delle cellule (DWIVEDI e NAYLOR, 1968; GIFFORD e TEPPER, 1962; CORSI ed AVANZI, 1970) che considerando l'attività genetica della cromatina (HUANG and BONNER, 1962; BERLOWITZ, 1965; RUCH and ROSSELET, 1970); abbiamo pensato di saggiare il rapporto istoni / DNA nelle popolazioni presintetiche di meristemi quiescenti di *Triticum durum* in cariossidi post mature di un anno che germinano al 100% ed in cariossidi vecchie di quattro anni che non germinano più.

Cariossidi di *Triticum durum* cv. Cappelli in un anno e di quattro anni di età sono state fissate in formalina neutra al 10% e lavate tutta la notte. Allo scopo di garantire il più possibile le stesse condizioni di confronto sono stati eseguiti, su ogni singolo vetrino portaoggetti sia uno striscio di meristema radicale di *Triticum* di un anno che uno striscio di meristema radicale di quattro anni, ben separati l'uno dall'altro.

Entrambi gli strisci di ogni vetrino sono stati colorati con il metodo Feulgen, sostituendo acido Tricloroacetico 1N (TCA) all'acido cloridrico 1N (HCl) sia nell'idrolisi di 20 minuti che nel reattivo di Schiff. Dopo tre passaggi in anidride solforosa SO<sub>2</sub> e disidratazione, i vetrini sono stati montati in balsamo del Canada. Le misure citofotometriche del contenuto in DNA dei singoli nuclei sono state effettuate a 565  $\mu$ m seguendo le procedure di MC LEISH e SUNDERLAND (1961). Dopo estrazione del DNA i nuclei sono stati colorati con Fast-green alcalino a pH 8.1 e misurati a 635  $\mu$ m, secondo il metodo di ALFERT e GESCHWIND (1953) modificato da BLOCH e GODMAN (1954). La doppia determinazione è stata resa possibile mappando i nuclei su fotografie.

In ciascun individuo esaminato sono stati misurati 20 nuclei

del meristema radicale di seme giovane di un anno di età e 20 nuclei del meristema radicale del seme vecchio di quattro anni. Le misure sono state ripetute in 6 individui diversi.

## RISULTATI E CONCLUSIONI

Nella Fig. 1 sono rappresentati gli istogrammi del rapporto istoni / DNA in meristemi radicali di cariossidi di *Triticum durum* vecchie e non più germinanti (istogramma nero) ed in meristemi radicali di cariossidi di *Triticum durum* giovani in condizioni ottimali di germinabilità (100% di germinanti entro 72 h dalla messa in germinazione) in tre ripetizioni successive *a*, *b* e *c*.

Appare evidente che il rapporto istoni/DNA è più elevato nelle popolazioni nucleari presintetiche di meristemi radicali vecchi rispetto al rapporto delle stesse popolazioni appartenenti a meristemi giovani.

Ciò è riscontrabile in ciascuna delle tre ripetizioni: *a*, *b* e *c*. Se poi consideriamo l'andamento del rapporto istoni/DNA nell'ambito di ciascuna ripetizione, sembra abbastanza chiaro che nel meristema vecchio vi è un rapporto più eterogeneo rispetto al meristema giovane.

Dunque nel seme che ha una pronta risposta alla germinazione tutti i nuclei presintetici del meristema si trovano in condizioni simili per quanto riguarda il rapporto istoni/DNA, mentre, invece, durante l'invecchiamento non tutti i nuclei avrebbero modificato le loro condizioni in ugual misura rispetto al parametro da noi considerato.

Dato che gli istoni associati al DNA ne inibiscono l'attività di trascrizione (FRENSTER et al., 1963; HUANG and BONNER, 1962; BILLEN and HNILICA, 1964) la minore risposta o l'assenza di risposta alla germinazione potrebbe essere influenzata da una maggiore quantità di istoni nucleari associati al DNA.

Un'altra osservazione da tenere presente è che il volume nucleare nelle popolazioni presintetiche dei meristemi radicali dei semi vecchi è del 13% inferiore rispetto al volume nucleare delle popolazioni presintetiche dei meristemi radicali dei semi giovani. Questo si potrebbe spiegare sia perché gli istoni sono responsabili della contrazione della cromatina (MIRSKY et al., 1968), sia perché i nuclei in posizione presintetica del ciclo mitotico potrebbero con-

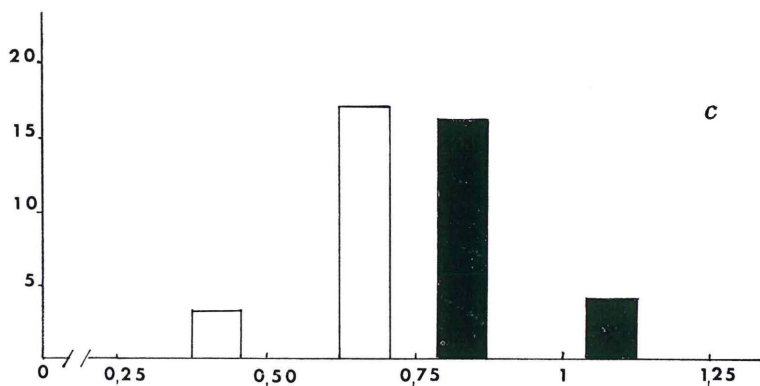
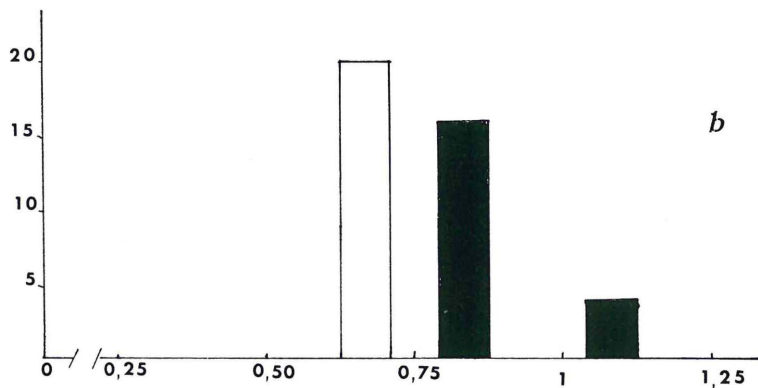
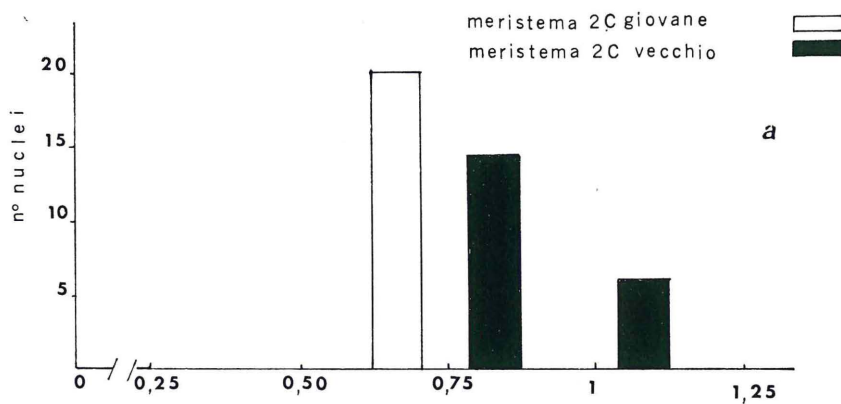


Fig. 1 - Frequenze del rapporto istoni/DNA in popolazioni nucleari 2C di meristemi radicali di cariossidi di *Triticum durum* di un anno (istogramma chiaro) e di quattro anni (istogramma scuro).

tenere, nei meristemi giovani, più proteine acide, dato che sembrano influire di più sull'aumento del volume nucleare (ALFERT, 1958).

Lo studio del rapporto istoni/DNA nelle due popolazioni pre-sintetiche di meristemi quiescenti di *Triticum durum* ci dà comunque solo un parziale aspetto di quello che è il complesso quadro dell'invecchiamento. Ci stimola comunque a porre alcuni problemi:

- i) Se in effetti l'alto contenuto in istoni per nucleo nel meristema già vecchio sia la causa o piuttosto il risultato dell'invecchiamento;
- ii) Se i nuclei che si trovano in fase post-sintetica del ciclo mitotico o G<sub>2</sub> subiscono negli anni analoghi cambiamenti.

Per quanto riguarda il secondo punto appare abbastanza verosimile che i nuclei G<sub>2</sub> possono avere modelli di invecchiamento caratteristici dato che presentano comportamento diverso dai nuclei G<sub>1</sub> nella loro quiescenza (AVANZI et al., 1963).

#### BIBLIOGRAFIA

- ALFERT M. (1958) - Variation in cytochemical properties of cell nuclei. *Exp. Cell. Res.*, Suppl., **6**, 227-235.
- ALFERT M., GESCHWIND I. I. (1953) - A selective staining method for the basic proteins of cell nuclei. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **29**, 991-999.
- AVANZI S., BRUNORI A., D'AMATO F., NUTI RONCHI V., SCARASCIA MUGNOZZA G. T. (1963) - Occurrence of 2C (G<sub>1</sub>) and 4C (G<sub>2</sub>) nuclei in radicle meristems of dry seeds in *Triticum durum* Desf. Its implications in studies on chromosome breakage and developmental process. *Caryologia*, **16**, 553-558.
- BERLOWITZ L. (1965) - Analysis of histone in situ in developmentally inactivated chromatin. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **54**, 476-480.
- BILLEN P., HNILICA L. S. (1964) - Inhibition of DNA synthesis by histones. The nucleohistones. Ed. Bonner J. and Ts'o P., San Francisco.
- BLOCH D. P., GODMAN G. C. (1954) - A microspectrophotometric study of DNA and basic proteins of the nucleus in the mitotic cycle. *J. Histochem. Cytochem.*, **2**, 455.
- CORSI G., AVANZI S. (1970) - Cytochemical analyses on cellular differentiation in the root tip of *Allium cepa*. *Caryologia*, **23**, 381-394.
- DWIVEDI R. S., NAYLOR J. M. (1968) - Influence of apical dominance on the nuclear proteins in cells of the lateral bud meristem in *Tradescantia paludosa*. *Canad. J. Bot.*, **46**, 289-298.
- FRENSTER J. H., ALLFREY V. G., MIRSKY A. E. (1963) - Repressed and active chromatin isolated from interphase lymphocytes. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **50**, 1026-1032.

- GIFFORD E. M., TEPPER H. B. (1962) - Histochemical and autoradiographic studies of floral induction in *Chenopodium album*. Amer. J. Bot., **49**, 706-714.
- HUANG R. C., BONNER J. (1962) - Histone, a suppressor of chromosomal RNA synthesis. Proc. Nat. Acad. Sci., **48**, 1216-1222.
- MC LEISH J., SUNDERLAND N. (1961) - Nucleic acid content and concentration in root cells of higher plants. Exp. Cell. Res., **24**, 541-554.
- MIRSKY A. E., BURDICK C. J., DAVIDSON E. H., LITTAU V. C. (1968) - The role of lysinerich histone in the maintenance of chromatin structure in metaphase chromosomes. Proc. Nat. Acad. Sci. Biochemistry, **61** (2).
- RUCH F., ROSSELET A. (1970) - A cytological study of euchromatin and heterochromatin in roots of *Rhoeo discolor*. Exp. Cell. Res., **62**, 219-227.

(ms. pres. il 6 marzo 1977; ult. bozze il 15 settembre 1977).