

so viel Ca^{++} vorinkubiert, dass die Endkonzentration der mit dem Enzympräparat in den Ansatz gebrachten Ca -Ionen 0,5 mM war.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, bleibt die Ca -Hemmung bestehen, wenn das Reaktionsgemisch Ca^{++} und Citrat im Verhältnis von 1:10 enthält. Dagegen wird die Ca -Hemmung durch Oxalat beseitigt, da das Ca^{++} als Ca -Oxalat gefällt wird. Wird aber das Ca^{++} mit dem Enzympräparat vorinkubiert und anschliessend dem Ansatz zugegeben, so

bleibt die Hemmung auch in Anwesenheit von Oxalat erhalten.

Es folgt daraus, dass die Ca -Ionen während der Vorinkubierung an das Enzym gebunden und durch Oxalat davon nicht entfernt werden können.

Die Ca -Hemmung der $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase in Gegenwart von ÄDTA hängt von der ÄDTA-Konzentration ab. Es ist quantitativ unerheblich, ob das Reaktionsgemisch unmittelbar oder durch das Enzympräparat mit Ca -Ionen beschickt wird. Die Ca -Hemmung ist noch beträchtlich, wenn die molare Konzentration von ÄDTA gleich der der Ca -Ionen ist. Der Enzympräparat- Ca -Komplex scheint recht stabil zu sein, da, bezogen auf die Ca -Konzentration, die 10fache Konzentration von Oxalat gar nicht, die zweifache Menge von ÄDTA nur teilweise das Ca^{++} vom Enzympräparat ablösen kann.

Es wäre vorstellbar, dass die Ca -Ionen möglicherweise durch den Einfluss auf das $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ -ATPase-System eine regulatorische Rolle im aktiven Ionentransport spielen.

Die Wirkung von Citrat, Oxalat bzw. ÄDTA auf die Ca -Hemmung des $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ aktivierbaren ATPase-Systems

CaCl_2	ATPase-Aktivität ($\mu\text{Mol P}/10 \text{ min}$ abgespalten)		
	Im Reaktionsgemisch abwesend anwesend		Im vorinkubierten Enzympräparat
1. Kontrolle	1,10	0,56	–
+5 mM Citrat	1,14	0,63	–
2. Kontrolle	1,11	0,57	0,55
+5 mM Oxalat	1,12	1,13	0,47
3. Kontrolle	1,01	0,48	0,45
+0,25 mM ÄDTA	1,08	0,66	0,49
+0,5 mM ÄDTA	1,10	0,87	0,75
+1,0 mM ÄDTA	1,11	0,98	0,89

Ca -Konzentration: 0,5 mM. Proteingehalt: 0,2 mg/Ansatz.

Summary. Ca^{++} , being bound to the sodium-potassium-stimulated ATPase-system of the brain, inhibits this system. It can only partially be removed by EDTA. It cannot be removed by oxalate.

J. SOMOGYI

Experimentelle Forschungsabteilung der Medizinischen Universität Budapest (Ungarn), 8. Oktober 1963.

Mitocondri, zone del Golgi e globuli vitellini negli ovociti in accrescimento di *Planorbis corneus* L. (Moll. Gast. Polm.)

Precedenti indagini¹⁻³ sugli ovociti di alcune specie di Molluschi e di Echinodermi avevano consentito di stabilire come la formazione dei globuli vitellini avvenisse per aggregazione di particelle proteiche (di probabile natura ribosomiale) esistenti nel citoplasma o in forma «libera» o in forma «legata» a citomembrane. Era stato anche osservato⁴, negli ovociti di *Patella coerulea* e di *Aplysia depilans*, come le zone del Golgi si rivelassero attorno ai globuli vitellini durante la fase della loro costituzione, tanto da non potere più essere poste in evidenza a vitellogenesi ultimata. Si era pertanto ritenuto che, almeno negli ovociti, le zone del Golgi fossero relative ad una determinata condizione fisico-chimica connessa con i processi di sintesi della vitellogenesi.

In base alle ricerche eseguite da FAVARD e CARASSO⁵ e da uno di noi⁶, era risultato che negli ovociti di *Planorbis corneus* la formazione dei globuli vitellini potesse avvenire pure per trasformazione dei mitocondri. I due autori francesi avevano anche ammesso che gli stessi globuli avessero una origine più complessa con l'entrata in giuoco di porzioni di citoplasma comprendenti o no dei mitocondri, e limitate da lamine ergastoplasmatiche senza granulazioni.

Era quindi interessante non solo confermare l'origine mitocondriale dei globuli vitellini di *Planorbis*, ma anche di vedere se effettivamente, durante la costituzione di

essi, si svelassero le zone del Golgi. A tale scopo sono state compiute ricerche al microscopio ottico su preparati fissati in Bouin-Hollande e in Helly e colorati con i metodi MALLORY e GALGANO I⁶; le osservazioni sul condrioma sono state eseguite su preparati fissati in Regaud e colorati con ematossilina ferrica di Heidenhain, nonché su preparati allestiti secondo la tecnica di Altmann-Kull, quelle sulle zone del Golgi su preparati allestiti con i metodi di Da Fano (al nitrato di argento) e Kolatschew (al tetrossido di osmio). Sono state eseguite altresì osservazioni al microscopio elettronico su preparati fissati in soluzione di tetrossido di osmio all'1% tamponata secondo Palade, ed inclusi in miscela di n-metacrilato di metile e n-metacrilato di butile.

Nel periodo previtellogenetico si può rilevare che nel citoplasma si trova un insieme di granuli molto fini sparsi in pressochè tutta la sua area. Durante l'intero periodo vanno man mano aumentando di numero fino a raggiungere la massima concentrazione al termine di esso. Nel

¹ A. BOLOGNARI, Nature 186, 490 (1960).

² A. BOLOGNARI, Atti Soc. Peloritana Sci. Fis. Mat. Nat., Messina 6, 55 (1960).

³ A. BOLOGNARI, Boll. Zool. 28, 597 (1961).

⁴ A. BOLOGNARI, Nature 186, 565 (1960).

⁵ P. FAVARD e N. CARASSO, Arch. Anat. Micr. 47, 211 (1958).

⁶ M. GALGANO, Rend. Acc. Naz. Lincei, Cl. Sci. Fis. Mat. Nat., Ser. 8 3, 629 (1947).

periodo vitellogenetico i globuli vitellini appaiono costituirsi entro la massa granulare (Figura 1); inizialmente si trovano nella parte basale degli ovociti, quindi si estendono verso la parte intermedia, per raggiungere, alla fine, la parte apicale. I granuli col Mallory si colorano in rosso, col Galgano I in rosso-viola; i globuli vitellini con i due metodi in rosso.

I metodi per la rivelazione dei mitocondri consentono di osservare che quelli di maggiori dimensioni si trovano all'inizio nella parte basale degli ovociti, indi anche nella parte intermedia (Figura 2) ed infine in tutto il citoplasma. Così le zone del Golgi si vanno manifestando anch'esse dalla parte basale a quella apicale; esse di solito appaiono con forme circolari o a semilune avvolgenti i globuli in formazione (Figura 3). Alla fine della vitellogenesi, quando cioè gli ovociti hanno il citoplasma quasi interamente riempito di globuli vitellini (Figura 1), è dato rinvenire ovunque scarsi mitocondri e quasi nessuna zona del Golgi.

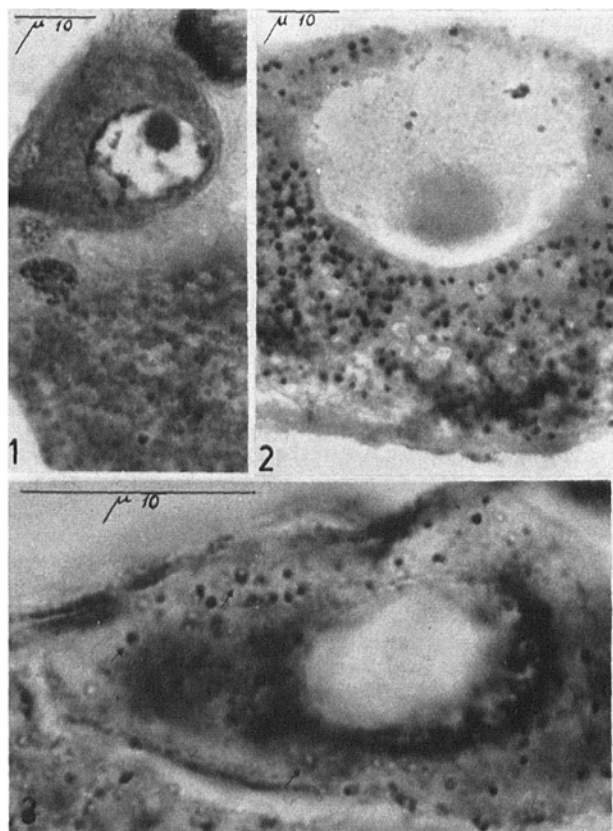


Fig. 1. Microfotografia di sezione di gonade ermafrodita di *Planorbis corneus* con un ovocita all'inizio della vitellogenesi (pochi globuli nella parte basale) e porzione di ovocita a vitellogenesi ultimata (numerosi globuli sparsi ovunque). Fiss. Bouin-Hollande; coloraz. Galgano I.

Fig. 2. *Idem* con ovocita avente numerosi grossi mitocondri nella parte basale ed in quella intermedia. Fiss. Regaud; color. ematossilina ferrica di Heidenhain.

Fig. 3. *Idem* con ovocita che presenta zone del Golgi (freccie) attorno a globuli vitellini in formazione. Metodo Da Fano.

I dati della microscopia ottica consentono pertanto di far rilevare che, parallelamente alla formazione dei globuli di vitello, si ha il graduale manifestarsi di grossi mitocondri, nonché di zone del Golgi.

Le osservazioni al microscopio elettronico permettono di accertare la stretta dipendenza esistente fra i mitocondri e la formazione dei globuli vitellini. Infatti, è dato rilevare che i primi, dopo avere subito un accentuato rigonfiamento ed una perdita delle «cristae mitochondriales» vanno gradualmente riempiendosi di granulazioni aventi un diametro medio di circa 150 Å. Si può notare altresì che le granulazioni (di probabile natura ribosomiale), sono le stesse di quelle già rinvenibili in forma sparsa nel succo citoplasmatico. È da ritenersi che le granulazioni passino dall'esterno all'interno dei mitocondri; indicazioni in merito si hanno da forme di «correnti» di esse fra le cavità dei mitocondri ed il citoplasma circostante, nonché dal numero molto ridotto di granulazioni «libere» esistenti a vitellogenesi ultimata o quasi.

Le osservazioni così compiute al microscopio ottico ed al microscopio elettronico appaiono integrarsi vicendevolmente, per cui si deduce che la formazione dei globuli vitellini avviene per trasformazione dei mitocondri, i quali, in seguito al loro rigonfiamento, consentono il riempimento con particelle proteiche; queste sarebbero investite nel contempo da processi fisico-chimici favorevoli alla formazione di zone del Golgi, quanto dire la precipitazione dell'argento o dell'osmio a seconda delle soluzioni impiegate per l'impregnazione. In sostanza si ha che a livello degli stessi elementi strutturali vengono individuati mitocondri, zone del Golgi e globuli vitellini.

I risultati conseguiti negli ovociti di *Planorbis corneus*, per un aspetto, rappresentano una conferma dei risultati ottenuti in precedenza nella stessa specie^{3,6}, e, per altri aspetti, di quelli avuti in ovociti di altre specie di Molluschi e di Echinodermi¹⁻³. In base ad essi, in generale, la formazione dei globuli vitellini si compie per aggregazione di particelle proteiche (di probabile natura ribosomiale). Se in *Planorbis* detta aggregazione avviene entro mitocondri, nelle altre specie avviene liberamente nel citoplasma. Gli stessi risultati fanno pure ammettere che le zone del Golgi si rendano manifeste limitatamente alle fasi del processo di sintesi; esse differiscono dai corpi del Golgi, i quali appunto al microscopio elettronico risultano avere quegli aspetti particolari, che sono stati descritti da vari autori^{7,8}. Zone del Golgi e corpi del Golgi, tuttavia, hanno entrambi la caratteristica di essere svelati dagli stessi metodi di impregnazione metallica.

Summary. The authors observed, in the oocytes of *Planorbis corneus*, that the yolk globules are formed from the mitochondria, which first swell up and then are filled with proteic particles (of a probably ribosomal nature). Such a process is in relation to the formation of the Golgi zones.

M. P. ALBANESE e A. BOLOGNARI

Istituto di Zoologia e di Anatomia comparata dell'Università di Messina (Italia), il 16 settembre, 1963.

⁷ A. J. DALTON, Z. Zellf. 36, 522 (1952).

⁸ F. S. SJÖSTRAND, Int. Rev. Cytol. 5, 455 (1956).