

Luigi Zanotti

OSSERVAZIONI SULLA FLUORESCENZA DEI FOTOFORI
DI *LUCIOLA ITALICA* E DI *LUCIOLA LUSITANICA*

Introduzione

Tra i fenomeni di luminescenza di organi animali il più comunemente noto e studiato è la luminescenza della lanterna delle luciole. Potrebbe sembrare che l'argomento sia stato ormai sufficientemente trattato e che ben poco rimanga quindi da dire. Viceversa e nuove possibilità tecniche e nuovi concetti sul meccanismo per cui la chemiluminescenza si attua, rendono il problema, sotto molti aspetti, di notevole attualità.

Pur avendo intenzione di sviluppare al massimo tutti i problemi in proposito anche ricorrendo a collaborazioni di specializzati in vari rami ho, per il momento, potuto toccare solo alcuni argomenti che mi sembrano degni di una pubblicazione anche se tra essi esistono certamente delle lacune.

D'altra parte la possibilità di ottenere anche fuori dalla stagione propizia un certo numero di esemplari, anche allo stato larvale, rende impossibile il rapido completamento di questi primi risultati ottenuti in ricerche condotte già per due stagioni.

Le possibilità strumentali dell'Istituto, del Centro di Istochimica del C.N.R. e la pratica da noi acquisita nello studio dei fenomeni di fluorescenza, hanno fatto sì che queste prime osservazioni vertano principalmente sulla fluorescenza primaria dimostrabile essenzialmente mediante irraggiamento con luce di Wood ed in alcuni casi anche con radiazioni ad energia più elevata quali quelle corrispondenti alla lunghezza d'onda di 312 nm (nanometri) del mercurio, fenomeno che non mi risulta descritto.

Agli effetti di luminescenza prodotti dall'irraggiamento con luce di Wood si riconnettono alcuni dati che più mi hanno colpito nella letteratura.

Mi basti per ora citare i dati di METCALF (15) sulla lampirina, sostanza fluorescente presente al di fuori degli organi fotogeni delle Lampiridi.

D'altra parte, anche le misure sulla intensità di luminescenza delle lucciole hanno acquistato un interesse notevole nei metodi di dosaggio dell'ATP e la interpretazione della questione sembra molto critica anche da un punto di vista teorico per le interrelazioni che possono sorgere nei fatti di chemiluminescenza insorgenti anche in fotofori conservati da lungo tempo a -20°C per il trattamento con ATP, in specie se si pensa che i fenomeni di luminescenza si manifestano anche in fotofori isolati da lungo tempo dal resto dell'animale.

In questa mia prima nota saranno trattate alcune questioni riguardanti la fluorescenza dei fotofori per irradiazione U.V. sia in assenza di qualsiasi trattamento che dopo trattamenti di laboratorio.

Rimandando ad una più ampia nota descrittiva che consideri i fenomeni di fluorescenza sia delle parti corporee esterne che degli organi interni, e in questo le osservazioni si riallaccerebbero agli studi sulla lampirina, a quando mi sarà possibile estendere la ricerca anche ai corpi delle femmine ed il più possibile anche agli stadi larvali.

Non mi consta che al di fuori dei dati di METCALF (15) sulla lampirina, estranei alle specie da me considerate e non concernenti i fotofori, vi siano dei dati sulla fluorescenza dei fotofori con particolare riguardo ai metodi obiettivi.

E' fenomeno che io ritengo abbastanza noto che la lucciola cessa di emettere la normale luminescenza con la morte e che d'altra parte questa non è emessa con intensità costante (9-10-11) ma per impulsi che possono avere diversa intensità ed in qualsiasi condizione di illuminazione.

GERRETSEN (9) ad esempio, già nel 1922 aveva rilevato che durante le notti di plenilunio ben poche sono le lucciole che emettono visibilmente luce e sue esperienze al riguardo avevano dimostrato che illuminando la testa di una lucciola questa cessa di emettere luce; fatto questo che io stesso ho potuto constatare durante le attuali ricerche.

Materiale e metodi

L'osservazione casuale per altri fini alla luce di Wood di insetti a fotofori ormai spenti, mi ha permesso di rilevare i fenomeni di fluorescenza che la stessa radiazione di Wood eccita nei fotofori.

Le osservazioni fino ad ora fatte riguardano maschi adulti di *Luciola italica* (Lin.) e *Luciola lusitanica* (Charp.) in parte vivi e in parte morti e conservati anche per lungo tempo alla temperatura di -20°C .

Prescindendo dalla descrizione di altre pur vistose fluorescenze osservate in diverse parti del corpo dell'animale, do una sommaria descrizione della fluorescenza dei fotofori quale si osserva con forte intensità di irradiazione cioè impiegando una lampada a vapori di mercurio ad alta pressione del tipo HBO 200 della OSRAM con collettore di luce derivato da un dispositivo Kam F della Reichert utilizzando dispositivi quali sono stati descritti da SACCHI VIALLI (16).

La monocromatura era ottenuta mediante filtri in vetro di Wood di 4 mm di spessore più un filtro a liquido (soluzione di solfato di rame in acqua distillata) di 30 mm di spessore per bloccare le radiazioni rosse e termiche non trattenute dal filtro, di Wood.

L'osservazione è stata fatta generalmente senza filtro di sbarramento ma in alcuni casi si sono usati gli appositi occhiali in vetro giallo del tipo U.V. Sperr messi in commercio dalla Ditta Reichert per bloccare le radiazioni paraviolette eventualmente riflesse senza che ne risultassero dei mutamenti apprezzabili nella determinazione del colore della radiazione emessa.

Osservazioni soggettive

La irradiazione della lanterna, sotto tali condizioni, manifesta immediatamente tanto nell'animale vivo che in esemplari morti, un colore di fluorescenza leggermente diverso nei due segmenti costituenti la lanterna e precisamente la parte caudale appare generalmente giallo brillante mentre quella craniale giallo verde.

Già l'osservazione soggettiva permette di vedere che anche nell'intensità della radiazione emessa vi è diversità tra quella emessa dalla parte caudale e quella craniale ed a tale riguardo riporteremo più avanti i dati.

Ho già detto del colore di fluorescenza dei due segmenti del fotoforo ma dirò ancora che, nell'ambito di un segmento, sia il colore che l'intensità della radiazione di fluorescenza emessa in seguito ad eccitazioni in luce di Wood appaiono, anche, come dirò, rispetto a misure eseguite con metodo fotoelettronico costanti al perdurare della irradiazione cioè non soggetti a decadimento. Devo anche ricordare che i fotofori, in luce bianca appaiono, in genere, bianco giallastri.

Il fenomeno osservato deve poi intendersi di vera e propria fluorescenza in quanto non solo non persiste al cessare della radiazione eccitante, ma prove a basse temperature quali quelle consigliate dal BRUHAT (2) per discriminare effetti di fluorescenza da quelli di fosforescenza, lo hanno confermato. A queste osservazioni puramente o quasi soggettive ho fatto seguire alcune misure a carattere del tutto obiettivo mediante l'impiego dell'istofotometro universale da me studiato e descritto in altra sede (20) impiegante un banco Fluorex di Reichert con lampada a vapori di mercurio ad alta pressione HBO 200 della OSRAM accoppiata, per la monocromatura, a filtri in vetro di Wood, ad un filtro, sempre in vetro, per bloccare le radiazioni rosse ed in più un terzo filtro interferenziale con banda passante intorno ai 365 nm. Tra il fotoforo e il rivelatore delle radiazioni, ponevo un filtro giallo di blocco del tipo U.V. Sperr di Reichert. Il discriminatore delle radiazioni era un monocromatore a reticolo Bausch e Lomb ed a seconda dei campi esplorati il rivelatore delle radiazioni era un fotomoltiplicatore della RCA del tipo 1P21 (visibile) o 1P28 (ultravioletto) accoppiato ad un amplificatore a ponte del tipo LAEP in uscita del quale era collegato un registratore a carta della Photovolt da 0,5 mV di sensibilità. Le curve riportate non sono quelle direttamente registrate, ma sono state corrette rispetto alla sensibilità cromatica del fotomoltiplicatore impiegato.

L'ottica durante le osservazioni degli esemplari interi era del tipo epiilluminante a campo oscuro e precisamente gli obiettivi impiegati erano quelli di Reichert da $5\times$, $11\times$, $32\times$ a seconda dei casi. La medesima ottica veniva da me usata anche durante le osservazioni in luce trasmessa di sezioni di lanterne tagliate al criostato.

L'impiego di tale apparecchiatura mi ha permesso, in primo luogo, grazie anche all'applicazione del registratore a carta, di dosare l'intensità complessiva della radiazione emessa per fluorescenza.

Dati fotometrici e spettrografici

L'intensità emissiva di fluorescenza appare variare, per quanto non di molto, da esemplare ad esemplare e tra animale vivo e fotoforo isolato inoltre non varia, o varia di ben poco, nei fotofori isolati e tenuti a -20°C per un periodo fino ad oltre un anno.

Sono stati eseguiti a tale scopo rilievi di spettri di emissione su esemplari anche alla distanza di un anno e non si sono trovate variazioni degne di nota.

E' da notare che anche il colore, della fluorescenza in base a rilievi colorimetrici obiettivi condotti su diapositive, a colori con metodo « Tristimulus » (1) non muta.

Per controllare la possibile comparsa di un perdurare della emissione di luminescenza al cessare della irradiazione e per classificare come ho precedentemente detto, secondo il Bruhat, eventuali fenomeni di fosforescenza, ho esaminato i fotofori a varie temperature comprese da -20° a $+120^{\circ}\text{C}$, temperatura quest'ultima a cui si osservano già alterazioni di fluorescenza nel colore, nell'intensità ecc.; ma in particolare non si è mai osservata una sia pur lieve persistenza di emissione al cessare della radiazione eccitante.

Per poter dirimere la questione fluorescenza o fosforescenza nel senso riportato dal Bruhat mi sono servito anche di un'altra via che, basata sullo studio della risonanza paramagnetica elettronica sembra possa prospettare almeno la eventualità di un permanere dello stato eccitato ma per questo rimando ad un mio lavoro tutt'ora in corso condotto in collaborazione con LANZI (14).

Sempre riguardo ai valori di intensità emissiva e alle caratteristiche della curva sotto radiazioni U.V. dirò che esse si mantengono costanti nel tempo e non presentano quindi alcun decadimento a meno che il fotoforo, come vedremo più avanti (Fig. 5) non sia stato preventivamente trattato.

Mi sono successivamente posto il problema di quali radiazioni, oltre la 365 nm eccitassero la fluorescenza ed a tale scopo ho illuminato i fotofori con luce monocromatica proveniente da un monocromatore a reticolo del tipo Bausch e Lomb, già citato, utilizzando una lampada Hanovia a vapori di mercurio con fenditura di ingresso aperta a mm 1,6 e così pure quella di uscita il che assicurava

un grado di monocromatura pari a 10 nm e tenendo l'esemplare da esaminare a circa 20 cm di distanza dal condensatore di uscita che era del tipo in quarzo-fluorite mentre quello di ingresso era di quarzo.

L'osservazione è stata compiuta alle righe del mercurio ed ovviamente, essendo a carattere soggettivo, si riferisce a quelle radiazioni che eccitano la fluorescenza con emissione nella banda delle radiazioni visibili e intensità tale da essere apprezzata ad occhio; in alcuni casi era anche possibile registrarne lo spettro emissivo (ad esempio a 312 nm Fig. 7).

E' da notare che l'intensità emissiva soggettivamente osservabile va generalmente diminuendo col diminuire della lunghezza d'onda di eccitazione e le intensità emissive stesse non sono tali da poter essere misurate con gli strumenti attualmente in nostro possesso.

La messa a punto di particolari dispositivi elettronici a sistema integrante, attualmente in costruzione ci metteranno in condizioni di raggiungere tali scopi. Di notevole interesse sono gli andamenti delle curve di fluorescenza sia per eccitazione con luce di Wood che mediante radiazioni pari a 312 nm di lunghezza d'onda.

Rilevamenti di spettri di emissione a 312 nm di eccitazione hanno permesso di mettere in evidenza un forte potere emissivo di fluorescenza del fotoforo anche nella regione delle radiazioni ultraviolette (Fig. 7).

Anche le radiazioni visibili fino a 420 nm di lunghezza d'onda sono atte ad ingenerare fluorescenza anche se di scarsa entità. Mentre già a 396 nm, specie se si tiene conto della scarsa intensità della luce corrispondente a questa riga, la fluorescenza appare sufficientemente intensa tanto da permettere il rilevamento di spettri emissivi.

Tali spettri eseguiti su animali vivi e morti si sono potuti ottenere, come ho già detto, mediante l'impiego dell'istofotometro universale ed ottica ad epiilluminazione a campo oscuro di Reichert mentre la monocromatura della lampada HBO 200 era ottenuta, come ho già ricordato, anche con l'inserzione di un filtro interferenziale a stretta banda passante di 365 nm mentre tra il fotoforo e la fenditura di ingresso del monocromatore era inserito un filtro giallo di sbarramento del tipo U.V. Sperr di Reichert.

Dirò subito che per gli spettri di emissione della fluorescenza era adottato come rivelatore il fotomoltiplicare 1P21 della RCA mentre durante il rilevamento degli spettri emissivi per eccitazione con 312 nm di lunghezza d'onda, la monocromatura era ottenuta mediante un filtro apposito sempre in pasta di vetro previa asportazione dei filtri sia di Wood che antitermici.

Le radiazioni rosse passanti venivano poi bloccate a valle del preparato in esame. E' ovvio che in questo caso anche il filtro U.V. Sperr era asportato ed il rivelatore 1P21 era inoltre sostituito da un fotomoltiplicatore 1P28 sempre della RCA ed anche in tal caso i risultati rilevati sul registratore erano riportati alla sensibilità cromatica del fotomoltiplicatore stesso.

Alcune considerazioni sui dati sperimentali ottenuti

Come ho già avuto occasione di dire, nello studio dei fotofori di *Luciola italica* e *Luciola lusitanica* non mi sono limitato ad osservazioni soggettive in toto o su sezioni preparate sia al criostato che fissate in formalina ma ho potuto registrare anche gli spettri emissivi della luce di fluorescenza emessa dal fotoforo stesso quando fosse irradiato con radiazioni U.V. non limitatamente alla luce di Wood (365 nm) ma anche a 312 nm di lunghezza d'onda oltre a rilevamenti di autoemissione.

I risultati ottenuti sono molteplici il che mi impone di trattarli separatamente pur mantenendo il parallelismo tra gli esemplari di *italica* e di *lusitanica*.

Consideriamo dapprima la Fig. 1 in cui sono riportati gli andamenti degli spettri di emissione riguardanti *Luciola italica* (curva A) e *Luciola lusitanica* (curve B-C) entrambe morte e attivate con luce di Wood. Si vede subito che gli spettri sono sostanzialmente identici come picco di emissione massima infatti (ved. Tab. A) per *Luciola italica* si ha il massimo in corrispondenza di 580 nm e per *lusitanica* a 575 nm mentre lo spettro appare leggermente meno esteso per *Luciola italica* anche se valori medi calcolati sulla base di una ventina di esemplari portano ad ampiezze spettrali pressochè analoghe ed estendentisi tra i 410 e i 700 nm. come nel caso riportato in Fig. 2.

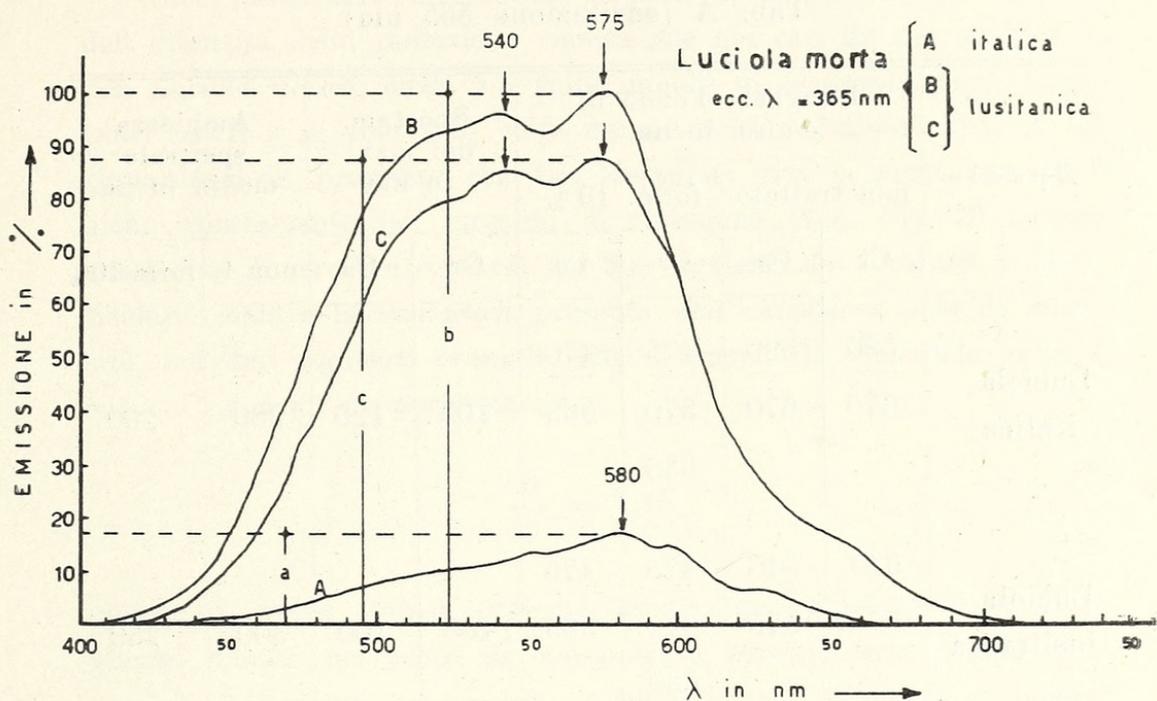


Fig. 1.

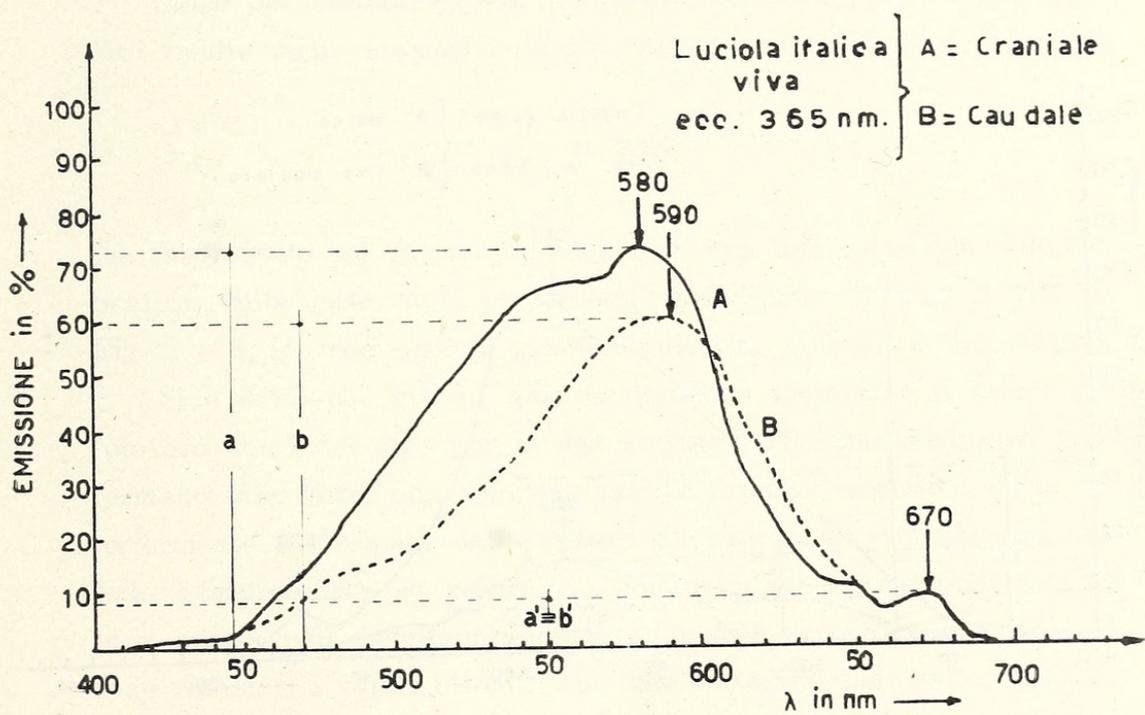


Fig. 2.

Tab. A (eccitazione 365 nm)

Specie	Lunghez. d'onda di emiss. in nm				Spostam. dei max. in nm		Ampiezza spettrale media in nm	
	non trattato		form. 10 %		Cr	Ca	non t.	form.10%
	Cr	Ca	Cr	Ca				
Luciola italica	<u>580</u>	<u>590</u>	<u>475</u>	<u>470</u>	105	120	280	260
	670	670	570	565				
Luciola lusitanica	540	540	<u>475</u>	<u>475</u>	100	100	300	260
	<u>575</u>	<u>575</u>	570	565				
			630	630				

N.B. I valori sottolineati corrispondono ai mass. emissivi e Cr e Ca corrispondono rispettivamente alla sezione craniale e caudale della lanterna.

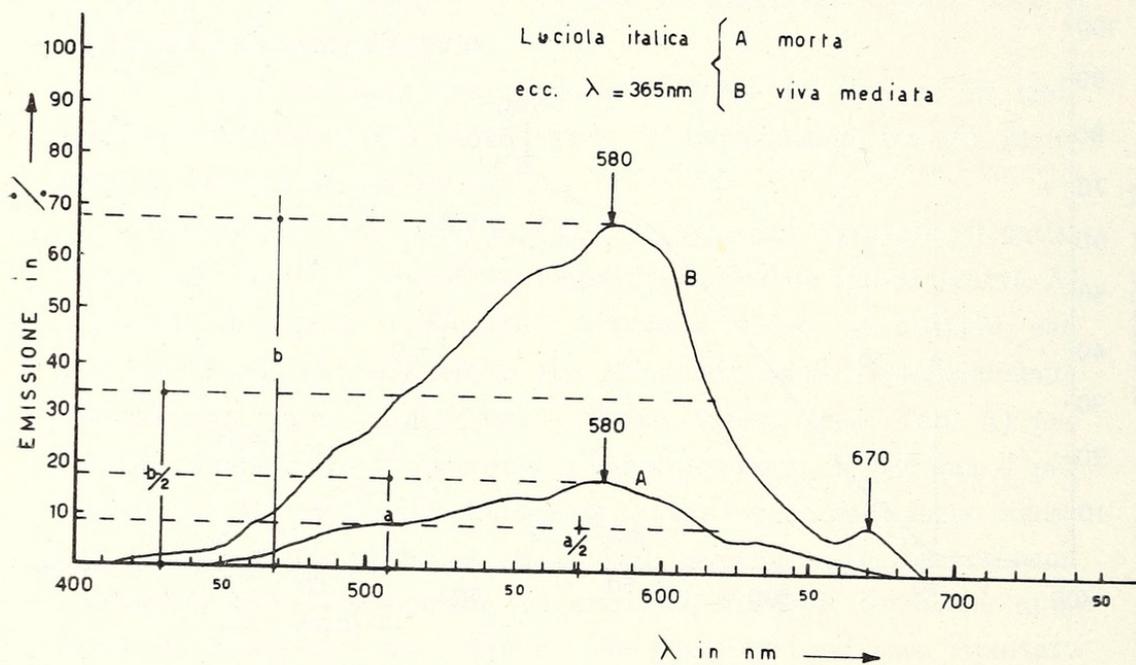


Fig. 3.

Una particolare differenza si nota al contrario nei riguardi dell'intensità della radiazione emessa che nei casi da noi studiati è, per *Luciola italica*, circa 5-6 volte minore di *lusitanica* negli esemplari morti e di solo 0,25 volte minore negli esemplari vivi. A tal riguardo devo precisare che tra esemplari vivi e morti non vi è alcun spostamento nei massimi di emissione (ved. Fig. 3) mentre questo non è vero nei riguardi dei due segmenti del fotoforo. In particolare, mentre la *lusitanica* presenta una variazione solo di intensità, nei due segmenti craniali (Fig. 1 curva B) e caudale (Fig. 1 curva C) con un rapporto pari a:

$$\frac{b}{c} = 1,15$$

quella di specie *italica* presenta anche uno spostamento di lunghezza d'onda nel picco di emissione e precisamente per la zona craniale il massimo corrisponde a 580 nm (Fig. 2 curva A) mentre per la zona caudale il massimo cade intorno a 590 nm (Fig. 2 curva B) con uno spostamento batocromo pari a 10 nm.

Come per *lusitanica*, così per *italica* la parte caudale del fotoforo risulta meno intensamente fluorescente e precisamente (Fig. 2)

$$\frac{a}{b} = 1,24$$

che confrontato col valore precedente mostra una certa concordanza. Sempre sulla base degli spettri riportati tanto in Fig. 1 che in Fig. 2 e 3, si vede come il grado di purezza non sia molto elevato.

Si è detto che già ad una osservazione soggettiva il colore del fotoforo non è identico per le due sezioni e gli spettri emissivi confermano tale fatto, non solo, ma tale differenza cromatica viene ulteriormente confermata dalle misure colorimetriche eseguite con metodo « tristimulus » su pellicola a colori in cui veniva registrata la luce emessa per chemiluminescenza ed a tale riguardo nella Tab. B sono riportati i valori ottenuti con tale metodica delle saturazioni S, cioè per la purezza del colore, raffrontati con quelli di emissione di fluorescenza.

Tab. B

Parte	Saturazione S del colore		Note
	viva (autoemissione)	morta (ecc. 365 nm)	
Craniale	$S^v = 0,509$	$S^m = 0,229$	I valori sono mediati rispetto a più punti del fotoforo.
Caudale	$S^v = 0,457$	$S^m = 0,254$	

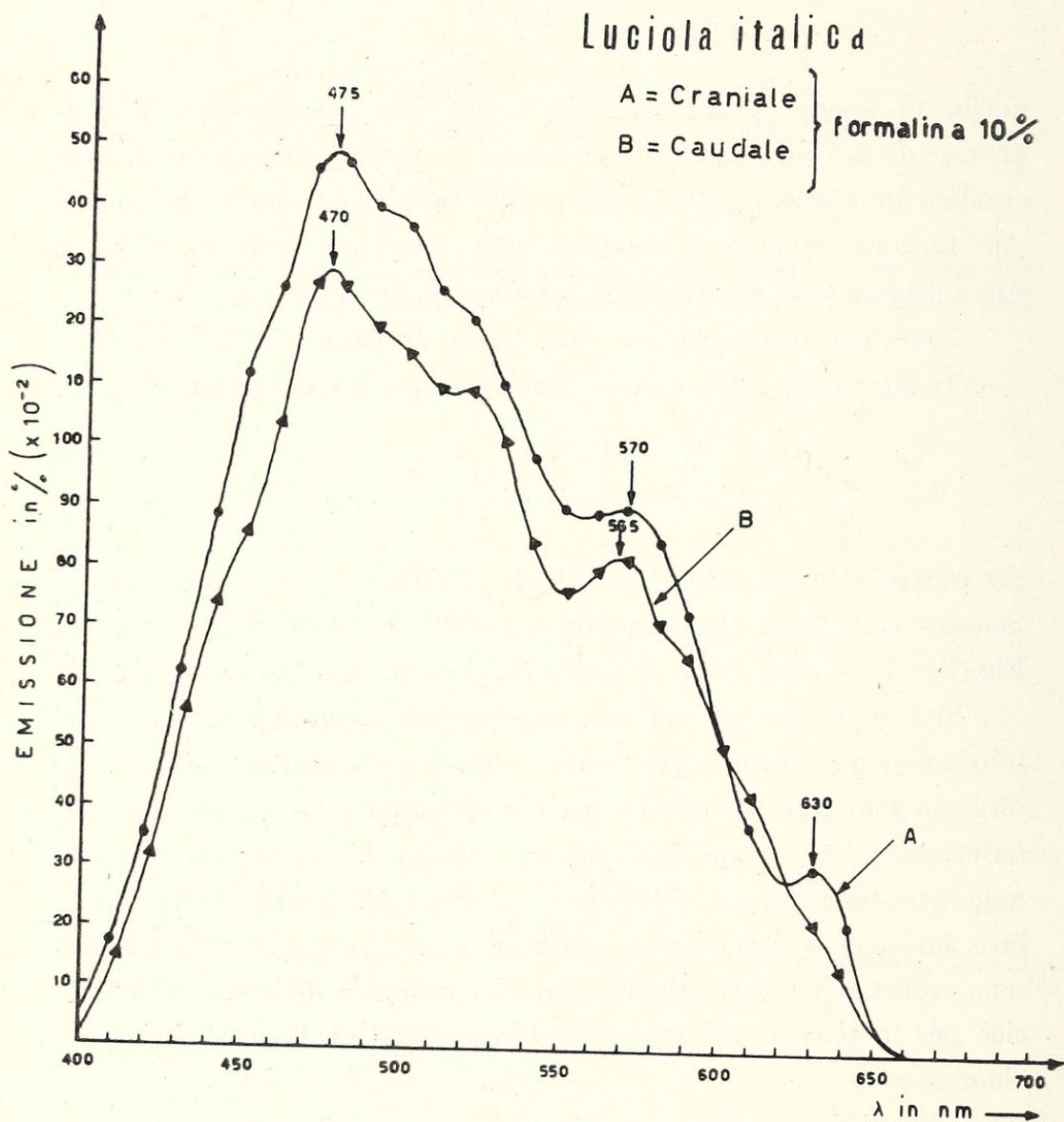


Fig. 4.

L'osservazione dei dati della Tab. B mette in evidenza oltre il maggior grado di saturazione del colore nella autoemissione e nella emissione di fluorescenza, anche un altro fatto interessante e cioè che negli animali morti il grado di saturazione è maggiore nella parte caudale del fotoforo, contrariamente a quanto avviene negli esemplari vivi.

Studi analoghi ai precedenti ma su animali fissati a lungo in formalina al 10% dimostrano una forte intensità emissiva (Fig. 4) accompagnata da un forte spostamento nel massimo di emissione che trovasi ora a 470 e 475 nm con uno spostamento ipsocromo pari a circa 110 nm in rapporto agli esemplari non trattati pur mantenendosi la distinzione tra le due zone del fotoforo, ma riducendone ulteriormente il grado di purezza del colore.

Oltre allo studio degli spettri di emissione per eccitazione con luce di Wood ho rilevato l'andamento spettrale della radiazione emessa per eccitazione a 312 nm di lunghezza d'onda e tale spettro è riportato in Fig. 7.

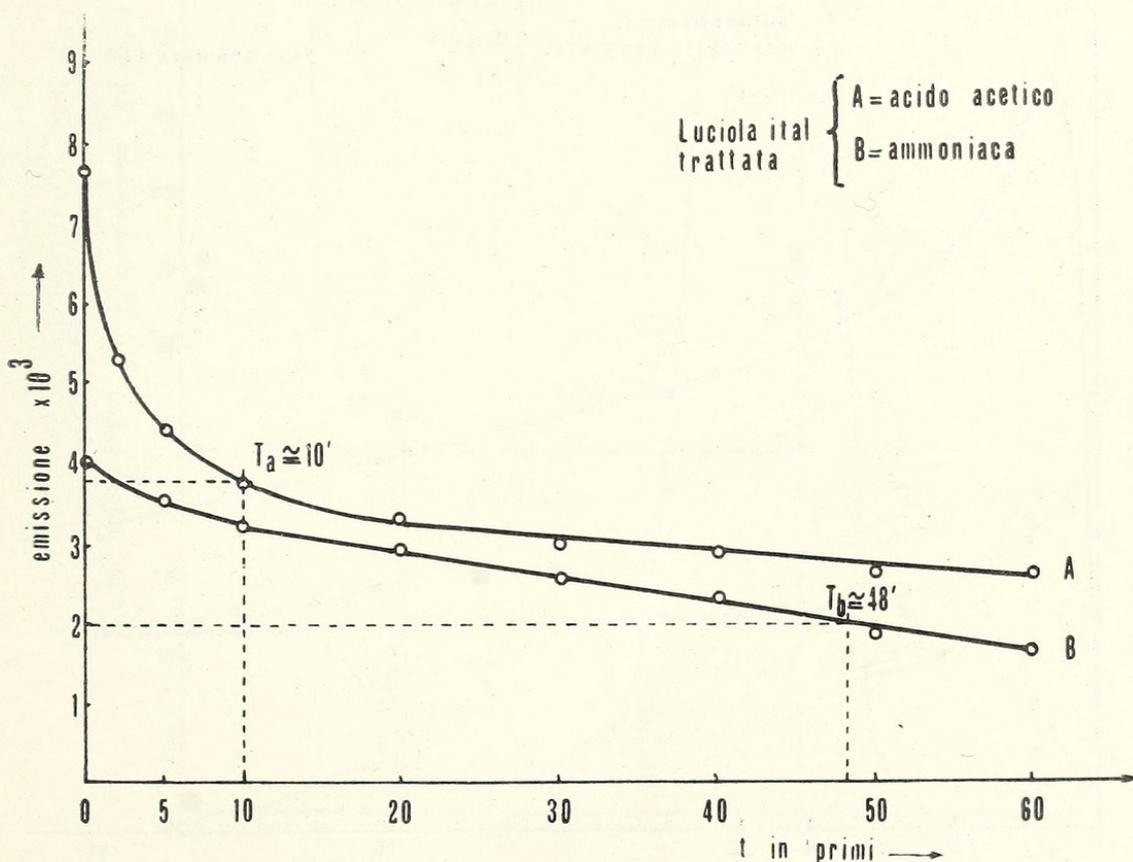


Fig. 5.

Lo spettro, di estensione abbastanza elevata (da 310 a 420 nm) presenta un notevolissimo grado di purezza con due picchi netti e precisamente un massimo a 393 nm con picco secondario a 332 nm i cui rapporti intensivi stanno come 20:1.

Il fatto interessante è che lo spettro trovasi quasi interamente sviluppato nel campo delle radiazioni U.V. ed a ciò anche è da attribuirsi il fatto che alle alte energie di irradiazione l'intensità emessa dal fotoforo appare talvolta subbiottivamente debole.

Misure sul comportamento della fluorescenza dei fotofori previo trattamento con acido acetico e con ammoniaca (Fig. 5) portano al rilevamento di un decadimento in entrambi i casi con tempi però assai diversi e precisamente nel trattamento con acido acetico la vita media risulta di circa 10 minuti primi mentre il materiale trattato con ammoniaca presenta una vita media di circa 48 minuti primi.

Qualche prima prova di attivazione della chemiluminescenza con ATP ha portato ai risultati illustrati in Fig. 6 dove la curva A

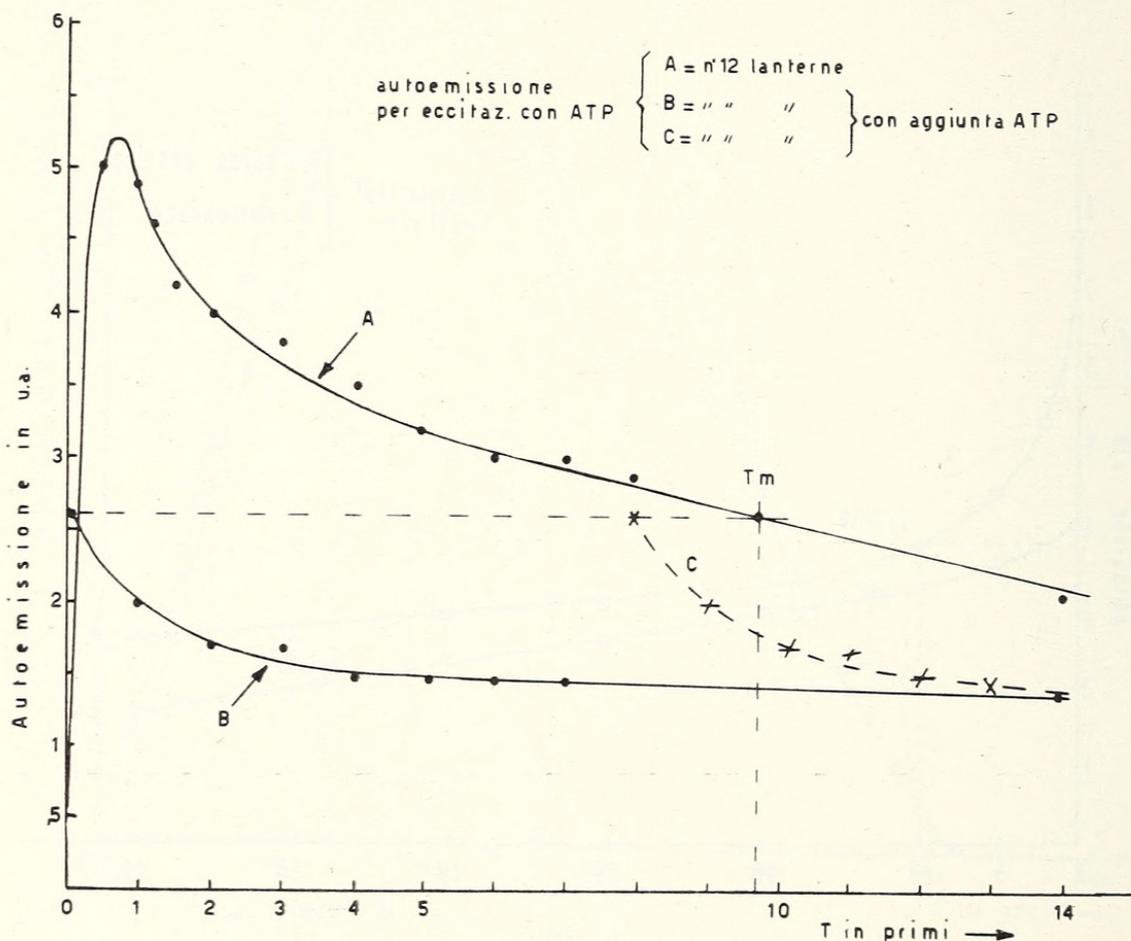


Fig. 6.

rappresenta nel tratto ascendente l'attivazione, mentre in quello discendente illustra l'andamento della disattivazione.

L'aggiunta ulteriore di ATP dopo 8 minuti primi (ossia già

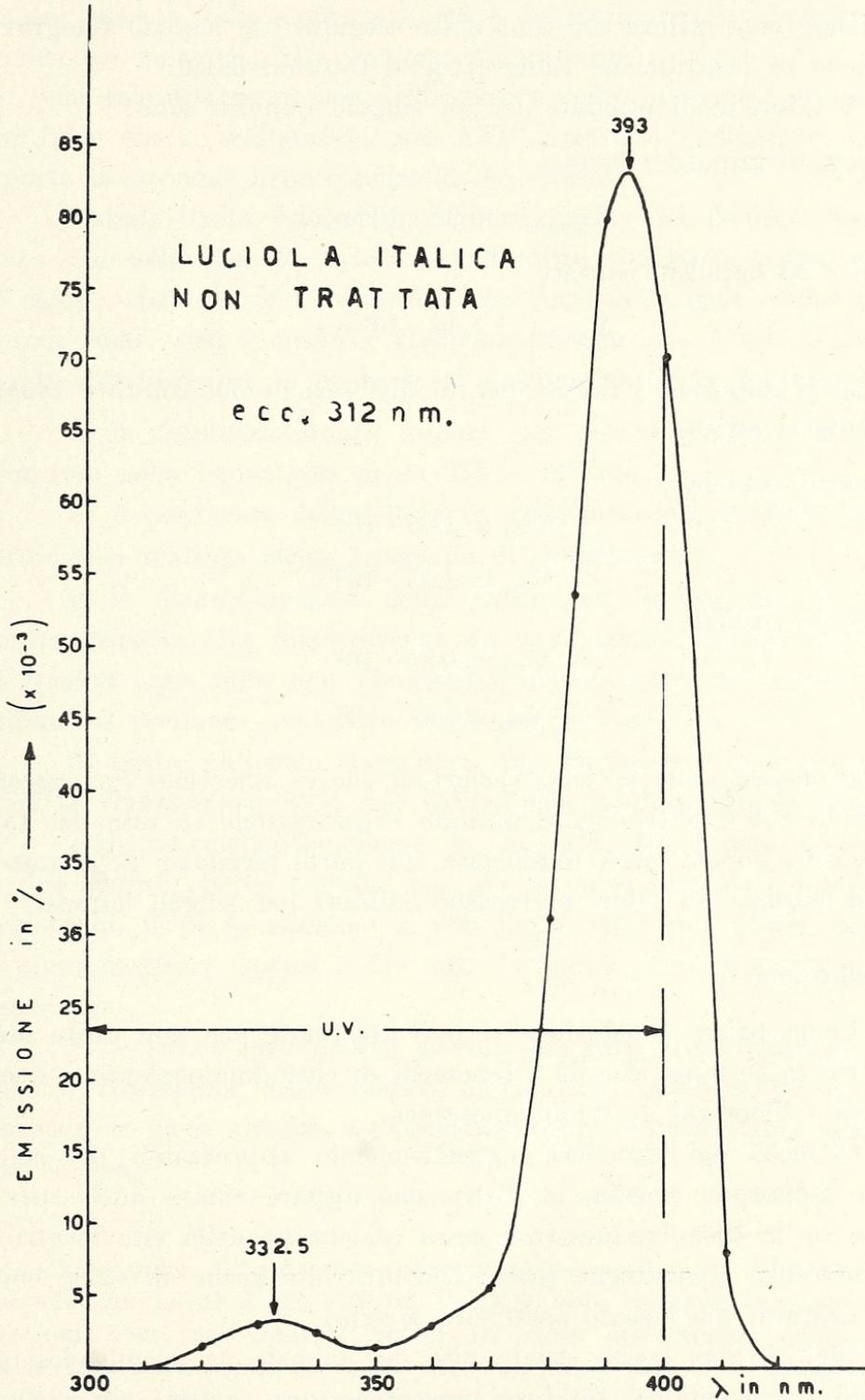


Fig. 7.

nella fase di disattivazione) non solo non ripristina i valori emissivi, ma accelera il decadimento.

Da ultimo riferirò su alcune misure eseguite per controllare i valori medi dell'intensità degli impulsi emessi direttamente dall'animale vivo misure che sono state eseguite con metodo fotografico (metodo di integrazione fotografica) e fotoelettronico.

I valori medi ottenuti per un singolo impulso sono:

A) per 10 impulsi misurati

$$V_{\text{medio}} = 0,95 \cdot 10^3 \text{ u.a.}$$

B) per 20 impulsi misurati

$$V_{\text{medio}} = 1,46 \cdot 10^3 \text{ u.a.}$$

ma se si eseguono i calcoli per le due sezioni del fotoforo separatamente si ottiene:

C) parte caudale

$$V_{10} = 1,05 \cdot 10^3$$

$$V_{20} = 2,05 \cdot 10^3$$

D) parte craniale

$$V_{10} = 0,85 \cdot 10^3$$

$$V_{20} = 0,87 \cdot 10^3$$

il che mostra come le forti variazioni che si osservano sia soggettivamente che obiettivamente durante l'osservazione in toto del fotoforo, sono dovute quasi totalmente alla parte terminale in quanto la parte craniale ha valori pressochè costanti per singoli impulsi.

Conclusioni

Come prima conclusione si può affermare che non esiste identità tra la sostanza che dà i fenomeni di chemiluminescenza e quella che dà i fenomeni di fotoluminescenza.

Oltrechè dai caratteri soggettivamente apprezzabili del colore della radiazione emessa, la distinzione appare chiara anche per il fatto che la chemiluminescenza cessa col cessare della vita mentre la luminescenza si mantiene pressochè invariata anche all'esame obiettivo eseguito con metodo spettrofotometrico.

Inoltre, man mano che la vita dell'animale va spegnendosi entrambi i segmenti del fotoforo presentano zone sempre più vaste in cui la chemiluminescenza non si manifesta (Tav. XIX - b) mentre per

irradiazione il fotoforo appare sempre uniformemente illuminato (Tav. XIX - c) anche se la radiazione emessa è cromaticamente diversa per le due sezioni.

Il primo fatto citato indica sicuramente una variazione, anche se pur piccola della sostanza a cui è da attribuirsi la chemiluminescenza nei riguardi della sostanza fluorescente.

Che tale differenza non debba essere molto notevole è dimostrato dal fatto che il trattamento con ATP ripristina l'emissione, quindi riporta la sostanza nelle condizioni del vivente.

Lo studio della fotoluminescenza da parte del fotoforo per effetto sia della luce di Wood che di altre radiazioni appartenenti al campo spettrale U.V. dimostra che l'emissione deve essere considerata come vera e propria fluorescenza primaria e tra le diverse caratteristiche messe in evidenza si possono ricordare le seguenti:

a) la fotoluminescenza appare per eccitazione con radiazioni comprese nella banda che va da 235 a 420 nm;

b) il perdurare dell'eccitazione nel tempo non provoca nel fotoforo non trattato alcun fenomeno di decadimento;

c) la discriminazione della natura di fluorescenza in senso stretto rispetto alla fosforescenza da irradiazione secondo le vedute di Bruhat data dalla non persistenza dell'emissione al cessare della radiazione eccitante anche alle basse temperature ⁽¹⁾;

d) tanto all'esame soggettivo che spettrografico e colorimetrico la fluorescenza delle due sezioni del fotoforo appare diversa;

e) le istospettrofotometrie di emissione dimostrano l'esistenza di due distinti spettri emissivi che per la parte craniale del fotoforo presentano il picco massimo a 580 nm mentre per quella caudale il picco massimo trovasi a 590 nm. Le curve però in parte si corrispondono;

f) le prime osservazioni su fotofori sottoposti a diversi trattamenti (formalina, acido acetico, ammoniaca) indicano che la fluorescenza ne viene alterata sia cromaticamente che nei valori di intensità emessa;

⁽¹⁾ Ricerche di risonanza paramagnetica elettronica che sto conducendo con Lanzi e che riferirò in altra sede indicano la presenza di elettroni liberi nei fotofori isolati dal resto dell'animale anche dopo molto tempo sia senza che sotto irradiazione e misure di attivazione e decadimenti denotano un diverso perdurare dello stato eccitato dall'elettrone.

g) il trattamento formolico oltre alle precedenti variazioni porta lo spettro di emissione del fotoforo non trattato ad uno spostamento ipsocromo nel picco di emissione notevole (~ 100 nm), cui dovrebbe corrispondere una variazione nella energia di legame della sostanza reagente senza che varino i valori d'intensità;

h) la sostanza a cui devesi la fluorescenza si conserva per più di un anno tanto a bassa temperatura che a temperatura ambiente e negli animali fissati in toto in formalina;

i) la sostanza fluorescente da me studiata e di cui riporto gli spettri emissivi non dovrebbe avere nulla a che vedere con la lampirina studiata da Metcalf in altri organi di altre specie di lucciole;

l) l'azione dell'ATP che come si è detto ripristina la chemiluminescenza, è soggetta a decadimento che viene accelerato per una somministrazione ulteriore (Fig. 6).

Per ora gli elementi raccolti non sono sufficienti a chiarire le possibili interrelazioni tra il fenomeno della chemiluminescenza e quello della fotoluminescenza.

E' certo che come diverse sono le sostanze a cui bisogna imputare i due fenomeni, diversi devono anche essere necessariamente i meccanismi che vi presiedono e cioè una vera e propria trasformazione chimica per quanto concerne la chemiluminescenza, mentre il contrario può dirsi per l'effetto di fotoluminescenza.

Ovviamente alcuni dei dati da me riportati specialmente per la chemiluminescenza costituiscono la descrizione di fatti già riportati da altri autori ma anche per questi la conferma data con metodo obiettivo appare interessante in sè. Ritengo inoltre che un accurato studio, che spero possibile nella prossima stagione, potrà indicare qualcosa di più sulla natura della sostanza fluorescente.

In tale studio avranno notevole valore anche le ricerche su sezioni di fotofori per la esatta localizzazione della sostanza fluorescente.

Qualche saggio orientativo indica la possibilità e l'utilità di studi del genere.

Uno dei tanti problemi è quello del possibile significato che nella biologia dell'animale possono avere i fatti osservati ed anche questo problema sarà, al momento opportuno, con maggiore dovizia di dati raccolti, tenuto presente.

Anche i rapporti tra la sostanza fluorescente da me trovata e la lampirina di Metcalf, che per altro non sembrerebbe sia stata

studiata nelle specie *Luciola italica* e *lusitanica*, meriterebbero attenzione.

Analoga cosa può dirsi per l'esame dei fatti di fluorescenza da me osservati anche in altre specie di lampiridi e di gruppi affini ed a tale proposito voglio ricordare che Metcalf ha trovato che la sua lampirina è presente tanto in specie luminose che non.

Una ricerca analoga verrà fatta per la sostanza da me identificata.

Riassunto

L'Autore rende note osservazioni sulla fluorescenza in luce di Wood e sui rapporti di essa con la chemiluminescenza nei fotofori di *Luciola italica* e *lusitanica*.

Oltre ad osservazioni subietive l'Autore ha utilizzato metodi fotometrici ed istospettrografici per l'analisi fine dei fenomeni di fluorescenza. Oltre alle osservazioni su fotofori di animali vivi e di animali conservati a temperatura ambiente e a -20°C l'A. prese in esame le condizioni della fluorescenza dei fotofori dopo trattamenti termici o chimici (formalina, acido acetico, ammoniacca).

Summary

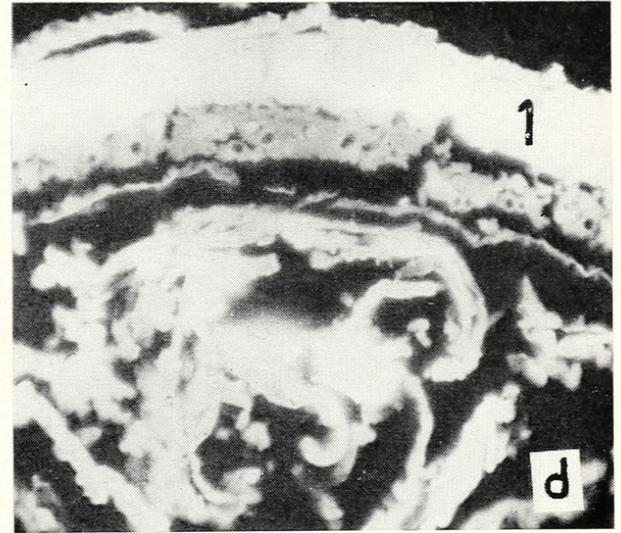
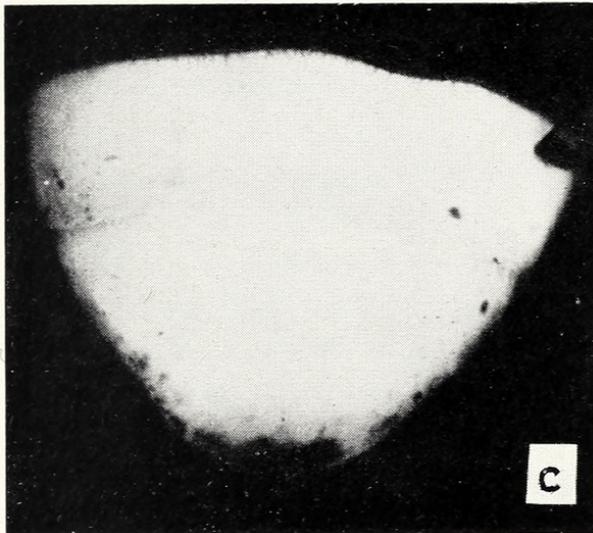
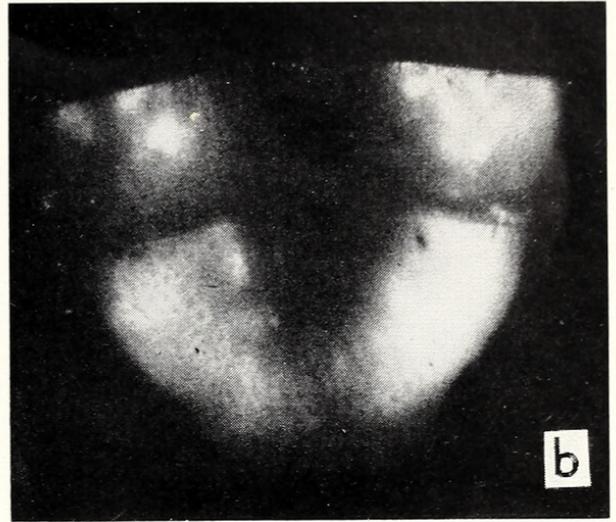
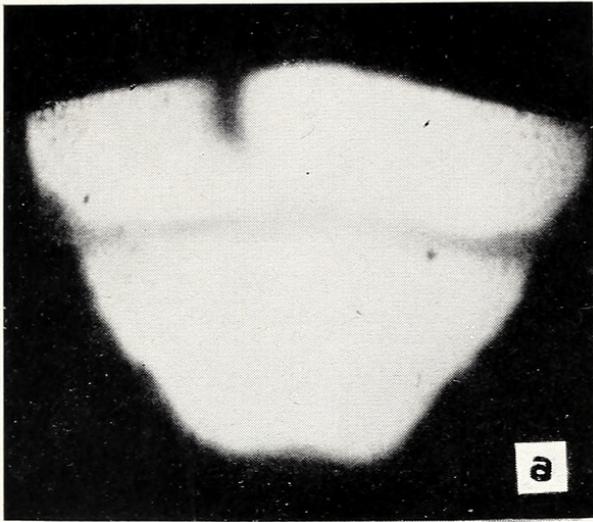
The Autor reports about the researchs on the fluorescence in Woodlight and on its relations with the chemiluminescence in photophores of *Luciola italica* and *Luciola lusitanica*.

The A. besides subjective observations has made use of photometric and histospectrographic methods for the fine analysis of fluorescence phenomena. Besides observations on photophores of alive animals and of animals maintained to ambient temperature and to -20°C , l'A. examines the conditions of the fluorescence of the photophores after thermal or chemical treatment.

BIBLIOGRAFIA

- (1) BOUMA P. Y. - Les couleurs et leur perception visuelle. Bibliot. Tech. Philips. (1949).
- (2) BRUHAT G. - Cours de Physyque Générale-Optique. Masson e Cie (1959).
- (3) CHAUVIN R. - Physiologie de l'insecte. Les Organes Lumineux. Instit. Génér. de la Rech. Agron., Paris (1956).
- (4) DE LERMA B. - Un nuovo metodo di indagine istochimica: la citofluorospettrografia quantitativa. 1° Attrezzature strumentali e tecnica di ricerca. Boll. Soc. Nat. Napoli 52, 2 (1942).

- (5) DE LERMA B. - La spettrofotometria in biologia. *Scienza e Tecnica*, 8°, 3/4, 93 (1947).
- (6) DE LERMA B. - La spettrofotometria quantitativa in biologia: metodi e problemi. *Boll. Soc. Nat. Napoli*, 51, 2 (1940).
- (6') DE LERMA B. - Di Anwendung von Fluoreszenzlicht in der Histochemie, in: Graumann W., Neumann K. - *Handbuch der Histochemie* - Bd I/1 Verl. Fischer (1958).
- (7) DÉRIBÉRE M. - Sur des fluorescences à grande persistance dans le groupe des calcaires naturels. *C. R. Acad. Sc.*, vol. 207 (1938).
- (8) DUBOIS A. - Contribution à l'étude de la production de la lumière par les êtres vivants. - *Bull. Soc. Zool. Fr.* II, 1-275 (1886).
- (9) GERRETSEN F. L. - Einige Notizen über das Leuchten des javanischen Leuchtkäfer *Luciola vittata*. *Biol. Zbl.*, 42, 1-9 (1922).
- (10) GHIGI A. - La vita degli animali. 4°, 11-171, UTET, Torino (1951).
- (11) GILMOUR D. - The biochemistry of insects (Light production) Academic Press., 167-171 (1961).
- (12) GRANDI G. - Introduzione allo studio dell'entomologia. Vol. 1°, 124-130 et vol. 2°, 726-728, Ed. Agricole, Bologna (1951).
- (13) HARVEY E. N. - Bioluminescence. Acad. Press (1952).
- (14) LANZI G. e ZANOTTI L. - Risultati preliminari di misure di risonanza paramagnetica elettronica in fotofori di *Luciola italica*. *Ist. Lomb. Sc. e Lett.* (in corso di stampa).
- (15) METCALF R. L. - The isolation of a red fluorescence pigment lampyrine from the lampyridae. *J. Franklin Inst.*, 36, 37-40 (1943).
- (16) SACCHI VIALLI G. - Ricerche sulla fluorescenza dei fossili. III) Osservazioni comparative chimiche e di fluorescenza sulla costituzione dei denti di *Carcharodon megalodon* Ag., in condizioni naturali e sperimentali. *Atti Ist. Geol. Univ. Pavia*, XV, 90-145 (1964).
- (17) VIALLI M. - Acquisizioni e prospettive in istochimica. *Riv. Biol.*, 45, 3-71 (1953).
- (18) VIALLI M. - Introduzione alla ricerca in istochimica. *Ind. Poligrafica Lombarda*, Milano (1956).
- (19) WHITE E. H. - Citato in: *Notiz. U.S.I.S.*, X, n. 14 (1961).
- (20) ZANOTTI L. - Istofotometro universale per fotometria normale ed U. V., assunzione di curve di assorbimento e di fluorescenza in luce trasmessa e riflessa. *Acta histoch.*, 11, 239-265 (1961).



Luciola italica (Lin.)

- a — Autoluminescenza (viva-obiettivo 5X epi).
- b — Autoluminescenza (ante mortem-obiettivo 5X epi). Sono visibili le zone di massima intensità emissiva e di pigmentazione.
- c — Fluorescenza in luce di Wood (post mortem-obiettivo 5X epi).
- d — Fluorescenza di fotoforo tagliato al criostato eccitata con luce di Wood (obiettivo 32X epi). La zona 1 è quella responsabile della fluorescenza.



Zanotti, L. 1964. "Osservazioni sulla fluorescenza dei fotopori di *Luciola italica* e di *Luciola lusitanica*." *Atti della Società Italiana di Scienze Naturali e del Museo Civico di Storia Naturale in Milano* 103, 356–374.

View This Item Online: <https://www.biodiversitylibrary.org/item/266199>

Permalink: <https://www.biodiversitylibrary.org/partpdf/325446>

Holding Institution

Natural History Museum Library, London

Sponsored by

Natural History Museum Library, London

Copyright & Reuse

Copyright Status: In copyright. Digitized with the permission of the rights holder.

Rights Holder: Società Italiana di Scienze Naturali (SISN)

License: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Rights: <http://biodiversitylibrary.org/permissions>

This document was created from content at the **Biodiversity Heritage Library**, the world's largest open access digital library for biodiversity literature and archives. Visit BHL at <https://www.biodiversitylibrary.org>.