
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ALDO ROSSI, FIORETTA PALOMBI

Correlazioni di sviluppo fra la corda dorsale e l'infundibolo diencefalico di un Anfibio anuro (*Bufo bufo* L.). Esperienze con NaCNS

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 40 (1966), n.2, p. 305–312.
Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1966_8_40_2_305_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. — *Correlazioni di sviluppo fra la corda dorsale e l'infundibolo diencefalico di un Anfibio anuro (Bufo bufo L.). Esperienze con NaCNS (*)*. Nota di ALDO ROSSI e FIORETTA PALOMBI, presentata (**) dal Corrisp. A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The relation between diencephalic infundibulum and notochord has been studied in *Bufo bufo*, either in the normal development or after treatment with thiocyanate. This research has shown that, in the first stages of the normal development (from 18 up to 20) the notochord tip lays upon the diencephalic infundibulum, and between this and the mesencephalon. In the following stages the notochord and the infundibulum separate, and the basal plate develops between them. In the meanwhile, the following facts occur: 1) The roof of the foregut changes its convex shape into flat. 2) The rostral part of the animals develops and this brings the cephalic end far from the telencephalon. 3) Some of the individuals treated with NaCNS at the stages of blastula and neurula display penetration of the notochord into the diencephalic infundibulum, and even into the walls of the neural system, sometimes pushing on near the eyes.

The rostral part of the individuals treated at blastula and neurula stages is significantly shorter than the one of the controls, and the roof of the foregut keeps its convex shape. The length of the rostral part of the individuals treated at neurula stage does not significantly differ from that of the controls, and at the same time the morphogenesis of the roof of the foregut does not differ from that of the controls.

The treated animals are significantly shorter than the controls. The volume of their notochord does not significantly differ from that of the controls. The whole of these results shows that the extension of the notochord into the nervous system is not due to a hypertrophy of the notochord anlage, but to the united effect of a complex of general inhibitions. In short, such anomaly may be explained as follows: due to an inhibition of some morphological processes the notochord does not separate from the infundibulum and penetrates in various ways into the nervous system because of the decrease in length of the animal not followed by a change of the notochordal volume.

È noto che trattando embrioni di Anfibi anuri con soluzioni di tiocianato di sodio si provocano delle caratteristiche malformazioni a carico della corda dorsale (Ranzi e Tamini, 1942 [1]; Ranzi, Tamini e Storari-Offer, 1946 [2]; Ögi, 1957 [3]; Ranzi e Gavarosi, 1959 [4]) consistenti in ripiegamenti e protrusioni nei tessuti circostanti. Fra queste anomalie particolarmente interessante è la penetrazione nel sistema nervoso della corda dorsale (Corti, 1950 [5]; Rossi, 1964 [6]; Rossi e Palombi, 1965 [7]) che si può estendere fino al livello delle vescicole ottiche.

Nel presente lavoro ci si propone di dare una interpretazione a tale anomalia riscontrata in embrioni di *Bufo bufo* L. trattati con NaCNS, basandosi

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia Comparata «G. B. Grassi» dell'Università di Roma, con i contributi del centro di Neuroembriologia del C.N.R. e del gruppo di ricerca per lo studio del differenziamento del C.N.R.

(**) Nella seduta del 12 febbraio 1966.

sulle correlazioni di differenziamento fra la corda dorsale e l'ipotalamo sia in embrioni normali a vari stadi dello sviluppo, sia in embrioni della stessa specie trattati con NaCNS.

MATERIALE E METODO.

Per lo studio dei rapporti tra la corda dorsale e il sistema nervoso sono stati presi in esame embrioni di *Bufo bufo* ai seguenti stadi: 18/19, 20/21, 23, 25+, 25/I, I stadio larvale (secondo le tabelle di sviluppo del *Bufo bufo* compilate da Rossi 1958 [8]). È stato eseguito il conteggio delle sezioni totali dell'embrione, quindi è stato considerato il numero delle sezioni tra l'estremità anteriore del telencefalo e l'estremità caudale dell'infundibolo diencefalico, il numero di sezioni fra l'estremità cefalica della corda dorsale e quella del telencefalo, ed inoltre il numero di sezioni fra l'estremità rostrale dell'animale e l'estremità cefalica del telencefalo; (la scelta dell'estremità anteriore del telencefalo come punto di riferimento, invece dell'estremità cefalica dell'animale, è motivata dalla constatazione che, a partire circa dallo stadio 20, ha inizio lo sviluppo della parte rostrale dell'animale, che progressivamente allontana la sua estremità anteriore dall'inizio del telencefalo. I valori medi ottenuti sono stati espressi in percentuale e ne sono stati calcolati i limiti fiduciali. Lo stesso calcolo è stato eseguito sugli individui trattati con tiocianato.

Gli animali che presentano l'anomalia in questione sono stati rinvenuti eseguendo l'esame istologico di individui che erano stati in precedenza trattati, agli stadi di blastula e di neurula, con le seguenti soluzioni di NaCNS: trattamento allo stadio di blastula B): NaCNS 0,25 M per un'ora e mezza; trattamenti allo stadio di neurula: N₁): NaCNS 0,06 M per 3 h, N₂): NaCNS 0,125 M per 3 h; N₃): NaCNS 0,008 M per 3 h e 0,004 M per 3 h.

Sia gli individui normali che quelli trattati sono stati fissati in Bouin acetico, e le sezioni seriate, dello spessore di 10 μ , sono state colorate con emalume ed eosina.

DESCRIZIONE DEI RISULTATI.

A) *Rapporti morfologici fra corda dorsale e infundibolo diencefalico nello sviluppo normale.*

Agli stadi 18/19 la corda si trova interposta fra l'infundibolo e la base del mesencefalo, mentre agli stadi 20/21 essa si trova sensibilmente sovrapposta all'infundibolo. Allo stadio 23 tale sovrapposizione è molto ridotta, tanto che la corda ha solo rapporti di contiguità con l'infundibolo.

Si constata che la iniziale sovrapposizione della corda sull'infundibolo è associata essenzialmente ad una considerevole estroffessione dell'infundibolo stesso verso la cavità dell'intestino cefalico, la cui volta risulta notevolmente incurvata. Tuttavia, con l'approssimarsi dell'apertura della cavità stomodeale (stadio 21), progressivamente la volta dell'intestino cefalico si spiana, e con-

temporaneamente l'infundibolo diencefalico si distende, allineandosi con la corda dorsale. Negli stadi successivi i due organi risultano progressivamente più distanziati, e lo spazio fra di essi viene occupato da cellule mesenchimatiche che si trasformano successivamente in cartilaginee, come risulta già evidente allo stadio 25.

TABELLA I.

CONTROLLI						
% di sezioni fra l'inizio del telencefalo e quello della corda dorsale						
STADI	18/19	20/21	23	25+	25/I	I
Media	12,78	11,52	8,70	10,11	8,84	10,05
Lim. fid.	±1,66	±1,11	±1,15	±1,03	±1,66	±1,53
N° casi	4	4	10	4	3	4
% di sezioni fra l'inizio del telencefalo e la fine dell'infundibolo diencefalico						
STADI	18/19	20/21	23	25+	25/I	I
Media	14,03	12,99	8,87	8,61	8,03	8,78
Lim. fid.	±1,21	±0,78	±1,04	±1,51	±1,13	±0,87
N° casi	4	4	10	4	3	4

Nella fig. 1 sono rappresentati graficamente i rapporti di posizione della estremità cefalica della corda e dell'estremità caudale dell'infundibolo diencefalico, prendendo come punto di riferimento l'estremità cefalica del telencefalo: i dati quantitativi riferentisi a tali rapporti sono riportati nelle Tabelle I e II.

B) *Rapporti morfologici fra corda dorsale e infundibolo diencefalico negli individui trattati agli stadi di blastula e neurula.*

Sono stati presi in esame sette individui trattati allo stadio di blastula (un'ora e mezza con NaCNS 0,25 M). In quattro di questi casi la corda giunge fino al livello posteriore degli occhi o in prossimità di essi, attraversando una delle pareti del neurasse, prevalentemente quella di sinistra. Negli altri tre casi la corda penetra meno profondamente nel sistema nervoso estendendosi fra la base del neurasse e l'infundibolo diencefalico che rimane fortemente compresso.

In sezione sagittale si nota che la volta dell'intestino cefalico è notevolmente ricurva verso la cavità, in una condizione del tutto simile a quella che si osserva in embrioni agli stadi 18/20, mentre nei controlli di pari età

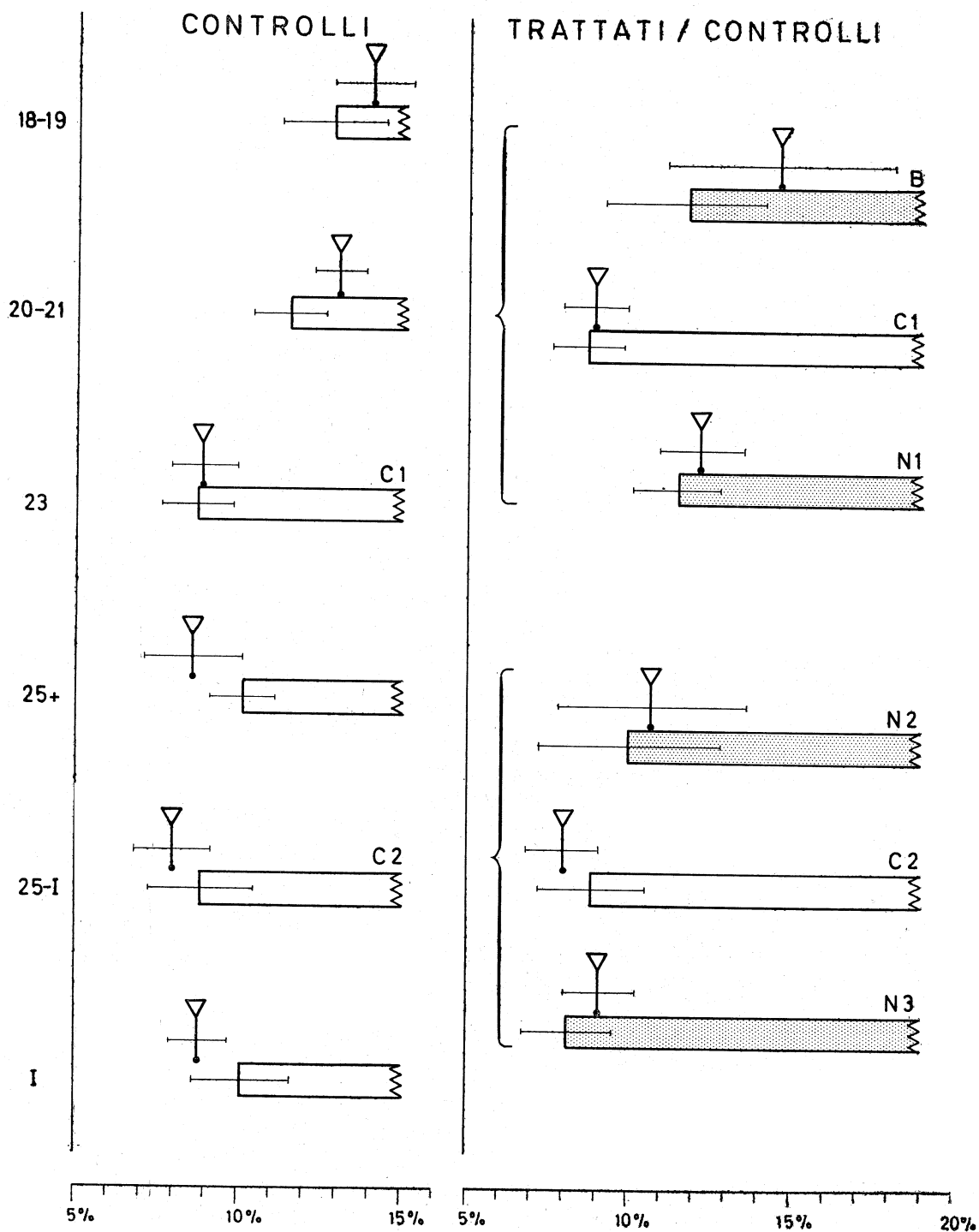


Fig. I.

(stadio 23) la volta del faringe è già praticamente piana, e la corda si trova in uno stato di contiguità con l'infundibolo diencefalico, ma già numerose cellule mesenchimatiche si stanno interponendo fra di essi.

TABELLA II.

TRATTATI - CONTROLLI						
% di sezioni fra l'estremità cefalica dell'animale e quella del telencefalo						
	B	C ₁	N ₁	N ₂	C ₂	N ₃
Media	1,01	3,86	2,79	4,28	7,25	5,13
Lim. fid.	±0,24	±0,83	±2,32	±3,55	±1,89	±2,08
T Student	6,323		1,388	1,697		1,403
Probabilità	P < 0,01		P > 0,05	P > 0,05		P > 0,05
N° dei casi	7	10	5	5	3	8
% di sezioni fra la fine dell'infundibolo diencefalico e l'inizio del telencefalo						
	B	C ₁	N ₁	N ₂	C ₂	N ₃
Media	14,59	8,87	12,24	10,71	8,03	9,09
Lim. fid.	±3,52	±1,04	±1,25	±2,94	±1,13	±1,12
T Student	4,355		4,600	1,874		1,307
Probabilità	P < 0,01		P < 0,01	P > 0,05		P > 0,05
N° dei casi ¹	7	10	5	5	3	8
% di sezioni fra l'inizio della corda dorsale e quello del telencefalo						
	B	C ₁	N ₁	N ₂	C ₂	N ₃
Media	11,69	8,70	11,48	10,04	8,84	8,12
Lim. fid.	±2,45	±1,15	±1,36	±2,81	±1,63	±1,37
T Student	2,899		3,432	0,866		0,713
Probabilità	0,01 < P < 0,05		P < 0,01	P > 0,05		P > 0,05
N° dei casi	7	10	5	5	3	8

Sono stati presi in esame cinque individui (N₁) trattati per 3 h con NaCNS 0,05 M, cinque (N₂) trattati per 3 h con NaCNS 0,125 M e otto individui trattati per 3 h con NaCNS 0,008 M (due casi) e 0,004 M (sei casi).

Gli individui del lotto N₁ presentano una persistente sovrapposizione della corda sull'infundibolo diencefalico, sovrapposizione che risulta significativa-

mente maggiore di quella dei controlli (stadio 23) (vedi Tabella II e fig. 1). In nessun caso si è notato che la corda si sia estesa nelle pareti del diencefalo.

Nel lotto N₂ solo un caso presenta la corda dorsale estesa nella parete del diencefalo fino al livello degli occhi. Negli altri casi la corda non raggiunge questo livello e si trova variabilmente situata sotto, o di fianco, o dentro l'infundibolo diencefalico.

TABELLA III.

LUNGHEZZA CORDA (μ)						
	B	C ₁	N ₁	N ₂	C ₂	N ₃
Media	4218	6756	5090	7076	9740	7540
Lim. fid.	± 416	± 386	± 763	± 1635	± 800	± 721
N° casi	7	10	5	5	3	8
LUNGHEZZA EMBRIONE (μ)						
	B	C ₁	N ₁	N ₂	C ₂	N ₃
Media	5230	7909	6208	8658	11800	9020
Lim. fid.	± 599	± 480	± 842	± 1229	± 700	± 669
N° dei casi	7	10	5	5	3	8

Nel lotto N₃ solo in due casi la corda si estende fino al livello degli occhi, mentre negli altri casi è posta ora dentro l'infundibolo, ora fra la base del sistema nervoso e l'infundibolo, o sotto l'infundibolo stesso. I controlli di pari età (stadio 25/I (fig. 1)) presentano la corda dorsale sensibilmente distanziata dall'infundibolo diencefalico, e fra di essi è interposta la cartilagine della base del cranio. Nella figura 1 sono riportate graficamente le posizioni dell'estremità cefalica della corda e di quella caudale dell'infundibolo rispetto all'estremità anteriore del telencefalo, sia dei controlli che dei trattati N₂ e N₃, e nella Tabella II sono riportati in percentuale i rispettivi valori numerici.

Dal conteggio delle sezioni seriate interposte fra l'estremità cefalica dell'animale e quella del telencefalo risulta che la porzione rostrale dei trattati allo stadio di blastula (B) e di neurula (N₁, N₂, N₃) è significativamente minore di quella dei rispettivi controlli (Tabella II).

DISCUSSIONE.

La penetrazione della corda dorsale nel sistema nervoso degli individui di *Bufo bufo* in seguito al trattamento con NaCNS è interpretabile, in base

alle presenti ricerche, come conseguenza di un generale arresto dello sviluppo dell'embrione, e in particolare della sua testa.

Da dati precedentemente ottenuti (Rossi e Palombi, 1965 [7]) è da escludersi che tale anomalia sia attribuibile all'ipertrofia dell'abbozzo cordale, poiché si è constatato che i volumi delle corde degli individui trattati non differiscono in modo significativo da quelli delle corde dei controlli. Dato che la lunghezza degli animali trattati è significativamente inferiore a quella dei controlli (Tabella III), ne consegue che una delle cause della penetrazione della corda nelle strutture del sistema nervoso va ricercata nel raccorciamento dell'animale trattato e nella mancata proporzionale riduzione volumetrica della corda dorsale.

Lo studio delle normali correlazioni morfologiche fra la corda dorsale e l'infundibolo diencefalico a vari stadi dello sviluppo embrionale, ha chiarito che tale anomalia è dovuta essenzialmente ad un precoce arresto dei processi morfogenetici che regolano il differenziamento di questi due organi. Da tale analisi è risultato che nelle prime fasi dello sviluppo embrionale l'estremità cefalica della corda dorsale è sovrapposta all'infundibolo diencefalico, e interposta fra questo organo e la base del mesencefalo. Solo in seguito ai processi morfogenetici che conducono al perfezionamento della testa dell'animale (come l'estensione della porzione rostrale, l'apertura della cavità boccale e le modificazioni della volta dell'intestino cefalico che da convessa diviene piana), la corda e l'infundibolo risultano distanziati, e fra di essi si interpone la cartilagine della placca basale.

Diversamente, negli individui trattati con NaCNS, la corda dorsale non si separa dall'infundibolo diencefalico, ed è quindi evidente che, diminuendo la lunghezza dell'animale, ma non variando il volume della corda, quest'ultima penetra in varia misura nelle strutture del sistema nervoso.

In particolare negli individui trattati allo stadio di blastula si osserva che a questo complesso di anomalie si associa una sensibile riduzione della porzione rostrale dell'animale accompagnata da una persistente convessità della volta dell'intestino cefalico. La forma convessa della volta dell'intestino cefalico è tipica dei precoci stadi dello sviluppo embrionale mentre essa, in seguito alla apertura della cavità della bocca, diviene piana. È pertanto chiaro che negli embrioni trattati allo stadio di blastula il tiocianato ha arrestato lo sviluppo anche di questa porzione cefalica dell'apparato digerente, unitamente alle altre strutture della testa (Rossi, 1964 [6]).

Mentre è significativa la riduzione della porzione rostrale degli individui trattati allo stadio di blastula, tale riduzione non è risultata significativa negli individui trattati allo stadio di neurula, dove si è anche constatato che la volta dell'intestino cefalico è solo lievemente incurvata rispetto a quella dei controlli. Questa differente morfogenesi degli individui trattati agli stadi di blastula e di neurula è attribuibile al differente momento del differenziamento dei vari organi dell'embrione in cui ha agito il tiocianato di sodio.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] S. RANZI e E. TAMINI, *Azione di NaSCN sullo sviluppo di embrioni di Anfibi*. I. *Azione su embrioni in toto*, « R. Ist. Lomb. Sci. e Lett. », 75, 695 (1942).
- [2] S. RANZI, E. TAMINI e E. STORARI-OFFER, *Alterazioni dello sviluppo embrionale di Anfibi prodotte da solfocianato e da altre sostanze*, « R. Ist. Lomb. Sci. e Lett. », 79, 161 (1946).
- [3] K. I. ÖGI, *Influence of sodium iodide and sodium thiocyanate upon the development of frog's embryos*, « Embryologia », 3, 221 (1957).
- [4] S. RANZI e G. GAVAROSI, *Dimensions of the notochord and somites in embryos of Xenopus laevis treated with thiocyanate*, « J. Embryol. exper. Morph », 7, 117 (1959).
- [5] C. CORTI, *Ricerche sull'ipersviluppo della corda e iperinduzione degli Anfibi*, « Riv. Biol. di Perugia », 42, 443 (1950).
- [6] A. ROSSI, *Effetto del tiocianato di sodio sullo sviluppo di Bufo bufo*, « Rend. Ist. Sci. Camerino », 5, 151 (1964).
- [7] A. ROSSI e F. PALOMBI, *Sull'azione del tiocianato di sodio nello sviluppo della corda dorsale di un Anfibio anuro (Bufo bufo L.)*, « Rend. Accad. Lincei » [in corso di stampa, vol. 39] (1965).
- [8] A. ROSSI, *Tavole cronologiche dello sviluppo embrionale e larvale del Bufo bufo (L.)*, « Monit. Zool. Ital. », 66, 133 (1958).