

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

NUNZIA FARINELLA FERRUZZA, LETIZIA PALILLO

**Cellule cordali ed endodermiche come induttori  
cerebrali nelle larve di Ascidie**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 60 (1976), n.1, p. 59–63.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1976\\_8\\_60\\_1\\_59\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1976_8_60_1_59_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/>



**Embriologia.** — *Cellule cordali ed endodermiche come induttori cerebrali nelle larve di Ascidie* (\*). Nota di NUNZIA FARINELLA FERRUZZA e LETIZIA PALILLO, presentata (\*\*) dal Corrisp. G. REVERBERI.

SUMMARY. — Further investigations on the evocatory capacity of differentiated chordal and entodermic cells, in Ascidians, are reported. The data obtained, suggest, that the evocatory capacity of the nervous system is maintained unaltered until tail bud stage.

Il sistema nervoso nelle larve di Ascidie, come dimostrato da diversi Autori (Reverberi e Minganti, 1949; Ortolani, 1959; Farinella 1959; Reverberi *et al.*, 1960) si forma dal presuntivo territorio neurale, che allo stadio di 8 blastomeri è localizzato nei blastomeri animali anteriori A4.2, per induzione esercitata dai blastomeri vegetativi anteriori A4.1 che comprendono i territori presuntivi della corda e dell'entoderma. Man mano che lo sviluppo procede queste due territori si separano in blastomeri diversi, finché, alla stadio di 64 blastomeri, quello dell'entoderma si trova localizzato nei blastomeri A7.1, A7.2, A7.5; e quello della corda nei blastomeri A7.3, A7.6, A7.7. Esperienze più recenti (Reverberi G., Ortolani G. e Farinella Ferruzza N., 1960) hanno dimostrato che uno solo dei blastomeri dello stadio 64, o soltanto cordale o soltanto entodermico, se messo a contatto con il territorio neurale presuntivo dello stadio di 8 blastomeri, è sufficiente per il differenziamento di alcune strutture nervose.

Da qui la domanda: fino a che stadio le cellule cordali e le endodermiche conservano la capacità di indurre il territorio presuntivo neurale a differenziarsi? Per rispondere a questa domanda il territorio neurale presuntivo dello stadio di 8 blastomeri è stato messo a contatto con cellule entodermiche o cordali prelevate a stadi più avanzati di sviluppo (bottono codale, larva natante) e se ne è seguito il differenziamento.

#### MATERIALE E TECNICA

Le esperienze sono state effettuate con uova di *Ascidia malaca*, ottenute e fecondate come descritto in altri lavori (Farinella, 1959, Reverberi *et al.*, 1960).

Allo stadio di 8 blastomeri, gli embrioni, previamente liberati dalle membrane, sono stati tagliati in modo tale da separare il quartetto vegetativo (che è stato scartato) dal quartetto animale, utilizzato nei trapianti. Contemporaneamente venivano prelevate alcune cellule entodermiche o cordali in

(\*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Zoologia della Università di Palermo.

(\*\*) Nella seduta del 10 gennaio 1976.

numero di 4-5 di embrioni a stadi avanzati di sviluppo e trasferite sotto il quartetto animale in corrispondenza della coppia dei blastomeri animali anteriori A4.2, comprendente il territorio presuntivo neurale.

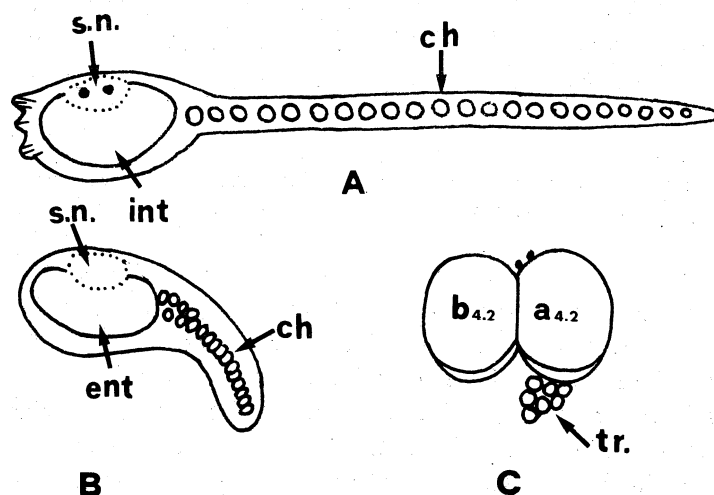


Fig. 1

A = larva natante } stadi corrispondenti al prelievo delle cellule cordali ed entodermiche;  
 B = bottone codale }  
 C = quartetto animale con le cellule trapiantate; ent = entoderma; s.n. = sistema nervoso;  
 ch = corda; int = intestino.

Il prelievo delle cellule entodermiche e di quelle cordali è stato fatto allo stadio di bottone codale e di larva natante. Gli embrioni sono stati osservati nel loro sviluppo fino alla schiusa dei controllati; quindi sono stati fissati in formalina, colorati *in toto* con carminio boracico per lo studio istologico.

Nella fig. 1 è riportato lo schema dell'operazione.

#### RISULTATI

- 1) *Trapianto di cellule entodermiche prelevate dall'abbozzo dell'intestino di un embrione allo stadio di bottone codale.*

Sono state fatte 61 esperienze.

Le cellule entodermiche aderiscono bene al quartetto animale e vengono presto inglobate dai blastomeri animali in attiva segmentazione.

A sviluppo ultimato, cioè quando i controllati raggiungono lo stadio di larva, si ottengono embrioni che presentano all'esterno un continuo strato di ectoderma, all'interno masserelle di cellule piccole con qualche granulo di pigmento e, cellule entodermiche in massa compatta non organizzate in un intestino con lume.

Lo studio istologico condotto su preparati allestiti *in toto* ha confermato quanto osservato *in vivo*. Le masserelle di cellule dal nucleo piccolo e sferico

osservate nella parte più anteriore dei semi embrioni, sono state identificate per cellule nervose; inoltre a contatto con esse si rinvengono con chiarezza le cellule entodermiche trapiantate.

2) *Trapianto di cellule entodermiche prelevate dall'intestino di larva natante.*

Gli esperimenti comprendono 74 operazioni.

Le cellule entodermiche prelevate dall'intestino di una larva natante, trapiantate sotto il quartetto animale, vi aderiscono con molta difficoltà. Il quartetto animale e le cellule trapiantate continuano a segmentarsi, ma in maniera indipendente, costituendo due masse distinte che facilmente si staccano l'una dall'altra. A sviluppo completo si osservano: una vescicola ectodermica simile a quella che si ottiene dai quartetti animali isolati (Reverberi e Minganti, 1949) e una massa di cellule entodermiche differenziate ma non organizzate in intestino con lume.

3) *Trapianto di cellule cordali prelevate allo stadio di bottone codale.*

Questo gruppo di esperienze comprende 156 operazioni.

Le cellule cordali aderiscono bene e vengono presto inglobate dai blastomeri animali in segmentazione. A fine sviluppo gli embrioni risultano bene organizzati: in essi si può distinguere una parte esterna di natura ectodermica e, una interna costituita da cellule piccole a carattere neurale, frammiste alle cellule cordali trapiantate.

4) *Trapianto di cellule cordali prelevate allo stadio di larva natante.*

Sono state effettuate 94 operazioni.

Le cellule cordali prelevate dalla coda di una larva natante, trapiantate sotto al quartetto animale, difficilmente vi aderiscono. Esse continuano a segmentarsi pur rimanendo indipendenti. A sviluppo ultimato non si osserva traccia di strutture neurali. Le due parti si sono differenziate secondo il loro destino: i blastomeri del quartetto animale hanno dato una semplice vescicola di natura ectodermica, mentre le cellule cordali trapiantate rimanendo all'esterno sono diventate vacuolate e in alcuni casi si sono disposte linearmente come a volere costituire frammenti di corda.

#### DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati ottenuti portano alle seguenti conclusioni:

A) trapiantando sotto al quartetto animale, in corrispondenza della coppia dei blastomeri A4.2, cellule entodermiche o cordali prelevate dall'intestino o dalla corda di un embrione allo stadio di bottone codale, si ottengono formazioni neurali. Il trapianto aderisce con facilità e prende parte al disegno segmentativo operato dalle metà animali.

B) Trapiantando sotto al quartetto animale in corrispondenza della coppia A4.2, cellule entodermiche o cordali prelevate da una larva natante, non si ottengono strutture nervose; le cellule trapiantate presentano difficoltà di adesione.

Prima di discutere i due punti sopra esposti, si ritiene opportuno richiamare alcuni dati in base ai quali i risultati trovano sostegno.

Le condizioni richieste per la formazione del sistema nervoso sono: presenza del territorio competente neurale, presenza del territorio evocante, contatto tra i due territori (Reverberi *et al.*, 1960). L'evocazione entra in funzione con la gastrulazione come negli Anfibi, ed è una conseguenza del contatto che si viene a stabilire tra l'ectoderma presuntivo neurale e la volta archenterica costituita dalla corda e dall'entoderma derivato dai blastomeri vegetativi A.4.1 dello stadio 8.

I processi formativi della differenziazione del cervello nelle Ascidie agiscono nello stesso modo che negli Anfibi e il meccanismo è lo stesso nei due gruppi; l'unica differenza è la seguente: negli Anfibi il tetto dell'archenteron è costituito dal cordo-mesoderma, nelle Ascidie dal cordo-entoderma.

Con queste premesse è possibile dare spiegazione dei risultati ottenuti.

A) La formazione delle strutture neurali da parte del territorio competente messo a contatto con le cellule entodermiche o cordali prelevate dall'intestino di un embrione allo stadio di bottone codale, potrebbe spiegarsi nei casi positivi (42 % per le cellule entodermiche 33 % per le cordali) ammettendo che le cellule trapiantate durante i processi di sviluppo, favorite dalla loro perfetta adesione con le metà animali, vengono in parte coinvolte dal territorio competente neurale. In tale situazione riescono a invaginarsi come avviene nei processi di una gastrulazione normale e a stabilire con il territorio competente quelle interazioni richieste per dare le strutture che vi sono programmate. In altri termini, si viene così a realizzare il contatto tra territorio competente e territorio evocante. Nei casi negativi (58 % per le cellule entodermiche e 67 % per le cellule cordali) la spiegazione potrebbe essere duplice: a) durante l'operazione sono state trapiantate casualmente cellule entodermiche destinate alla formazione del pavimento dell'archenteron che non hanno nessuna influenza nella evocazione del sistema nervoso; b) le cellule trapiantate durante i processi morfogenetici di invaginazione, hanno stabilito l'intimità di contatto con l'ectoderma privo di qualsiasi competenza neurale, localizzato nei blastomeri B4.2 il cui destino è quello di dare l'epitelio della futura larva.

B) Le cellule entodermiche o cordali prelevate dall'intestino e dalla corda di una larva natante trapiantate sotto al quartetto animale vi aderiscono con molta difficoltà e, di conseguenza non si hanno strutture neurali.

Per spiegare questo risultato possono essere fatte due ipotesi: la prima include la possibilità che le cellule entodermiche e cordali pur conservando inalterata la loro proprietà di evocatori del sistema neurale non possono eser-

citare il loro meccanismo di azione sul territorio competente per la loro scarsa adesione e, quindi per il loro mancato contatto. La seconda ipotesi da discutere riguarderebbe la perdita di adesività da parte delle cellule trapiantate altamente differenziate.

Si può infatti supporre che fino ad un certo stadio (bottono codale) le membrane delle cellule cordali ed endodermiche, capaci di stretta adesione alle cellule contenenti il territorio neurale presuntivo, permettano il passaggio delle sostanze responsabili della evocazione neurale. Sotto questo aspetto gli embrioni di Ascidie presentano condizioni diverse che negli Anfibi, dove l'induzione neurale può aver luogo anche interponendo un filtro di millipore tra l'induttore e l'indotto (Saxen 1961). Successivamente, tali capacità, sono perdute, in relazione al completo differenziamento di intestino e di corda. Probabilmente a questo stadio, poichè la larva si avvicina al complicato processo della metamorfosi, le membrane delle cellule cordali ed endodermiche, in conseguenza dell'arresto di tutte le attività metaboliche (sintesi di DNA, RNA e sintesi proteica), abbiamo modificato la struttura delle molecole proteiche e lipidiche di cui sono costituite perdendo anche il loro potere adesivo.

Il presente lavoro indica con sufficiente evidenza che tra lo stadio di bottono codale e di larva natante hanno luogo profonde modificazioni.

Ricerche ultrastrutturali e biochimiche durante tale periodo critico possono portare ulteriori contributi al problema in esame.

#### BIBLIOGRAFIA

- FARINELLA FERRUZZA N. (1959) - *Fenomeni di induzione nelle Ascidie*, « Boll. Zool. », 26, 357-363.
- ORTOLANI G. (1959) - *Ricerche sulla induzione del sistema nervoso nelle larve delle Ascidie*, « Boll. Zool. », 26, 341-348.
- REVERBERI G. e MINGANTI (1949) - *Ulteriori ricerche sulla formazione del cervello, degli organi di senso e dei palpi nelle Ascidie*, « Riv. Biol. », 41, 125-161.
- REVERBERI G., G. ORTOLANI e N. FARINELLA-FERRUZZA (1960) - *The causal formation of the brain in the Ascidian larva*, « Acta Embryol. Morphol. Exper. », 3, 296-336.
- SAXEN L. (1961) - *Transfilter neural induction of Amphibian ectoderm*, « Dev. Biol. », 3, 140-152.