
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ALDO ROSSI

Regolazioni nervose nelle parabiosi fra embrioni di Bufo bufo e Rana esculenta

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 34 (1963), n.1, p. 80-87.*

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1963_8_34_1_80_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. — *Regolazioni nervose nelle parabiosi fra embrioni di Bufo bufo e di Rana esculenta* (*). Nota (**) di ALDO ROSSI, presentata dal Corrisp. A. STEFANELLI.

Nelle precedenti Note comparse su questi « Rendiconti » (Rossi 1961 [1-2], 1962 [3]), sono state descritte esperienze di regolazione fra placche neurali di Anfibii anuri della stessa specie ottenute unendo in parabiosi neurale dorso-dorsale embrioni di *Rana esculenta*, previa asportazione dello strato dell'ependima presuntivo.

Da queste precedenti ricerche è risultato che operando in stadi precoci dello sviluppo embrionale (stadio di fine gastrula: tappo vitellino appena represso e pieghe neurali appena sollevate) i due sistemi nervosi si fondono intimamente, con continuità fra gli strati omologhi di cellule e di fibre nervose e si regolano in un modo del tutto particolare.

Infatti quando le due emiplacche sono giustapposte con lo stesso orientamento antero-posteriore (parabiosi dorso-dorsale e cefalo-cefalica) si sono formati due sistemi nervosi il cui asse dorso-ventrale risulta ortogonale all'asse dorso-ventrale di ciascun embrione unito in parabiosi neurale (Rossi 1961 [1]). Lo sviluppo di tali sistemi nervosi si è spiegato ritenendo che ognuno di essi si sia formato per regolazione di due emiplacche giustapposte appartenenti ognuna alla placca neurale di ciascun embrione unito in parabiosi.

Da ricerche successive (Rossi 1961 [2]) è risultato che unendo dorso-dorsalmente le due placche neurali ma con l'asse cefalo-caudale invertito, si formano ugualmente due nuovi sistemi nervosi che però sono in gran parte atipici, a causa delle sensibili differenze morfologiche tra le regioni contrapposte delle due emiplacche; tuttavia ciascun nuovo sistema nervoso presenta una parte ben regolata (rombencefalo). Questo risultato si è spiegato tenendo conto del fatto che le coppie di emiplacche essendo state unite con l'asse cefalo-caudale invertito, si sono potute regolare normalmente solo dove si sono fuse delle parti neurali strutturalmente omologhe.

Da recenti ricerche (Rossi 1962 [3]) è risultato che simili fenomeni regolativi si ottengono semplicemente affiancando due emiplacche neurali, con polarità dorso-ventrale invertita, ciascuna appartenente ad un embrione (parabiosi neurale dorso-dorsale, cefalo-cefalica, previa asportazione da ogni sistema nervoso dell'emiplacca destra tramite un taglio passante per il piano sagittale mediano e ablazione dello strato dell'ependima presuntivo dall'emiplacca sinistra). In queste esperienze si è osservato che la formazione dei due nuovi sistemi nervosi è dovuta sia alla reciproca regolazione delle

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia comparata « G. B. Grassi » dell'Università di Roma, con i mezzi del Centro di Studio di Neuroembriologia del C.N.R.

(**) Nella seduta del 12 gennaio 1963.

parti delle due emiplacche che si sono fuse sia alla regolazione di ogni emiplacca con la contrapposta parte rigenerata dell'altra emiplacca.

Tutte le parabiosi neurali eseguite nelle precedenti esperienze sono state eseguite, come sopra detto, unendo embrioni di Anfibi anuri della stessa specie (*Rana esculenta*): quindi data l'uguaglianza morfologica fra i neuroblasti dei due parabionti, non è stato possibile dare finora una dimostrazione visibile dei fenomeni regolativi che si attuano fra le emiplacche giustapposte e che portano alla formazione di sistemi nervosi il cui asse dorso-ventrale risulta ortogonale rispetto al normale asse dorso-ventrale dei rispettivi embrioni uniti in parabiosi.

Pertanto allo scopo di dare una visibile dimostrazione delle fusioni e delle regolazioni fra le coppie di emiplacche giustapposte, nelle presenti esperienze sono state eseguite delle parabiosi neurali unendo due placche neurali appartenenti ad Anfibi anuri di differenti specie i cui rispettivi neuroblasti si differenziassero per evidenti caratteri morfologici. Per tanto avvalendosi delle differenze morfologiche fra i neuroblasti, si possono più facilmente definire nei nuovi sistemi nervosi, i limiti fra le due emiplacche fuse e regolate.

MATERIALE E METODO.

Placche neurali di *Rana esculenta* allo stadio 16 (tappo vitellino appena retratto e pieghe neurali appena sollevate) secondo le tabelle di sviluppo compilate da Manelli e Margaritora (1961[4]) e placche neurali di *Bufo bufo* allo stadio 12-13 (tappo vitellino appena retratto e pieghe neurali appena sollevate) secondo le tabelle di sviluppo di Rossi (1958 [5]), sono state completamente private dello strato dell'ependima presuntivo, con l'aiuto di capelli innestati in bacchette di vetro. Gli embrioni così operati sono stati uniti a coppie in parabiosi neurale eteroplastica (*Bufo bufo* + *Rana esculenta*), dorso-dorsale e cefalo-cefalica. Le operazioni sono state eseguite in soluzione Holtfreter diluita. Sono state eseguite complessivamente 20 parabiosi di cui dieci sono state prese in esame: le coppie parabiontiche sono state prese in esame tra 7 e 15 giorni dopo l'operazione. Come fissativo si è usato tanto il Bouin quanto il Goldschmitt. Le sezioni seriate di 7 μ sono state colorate con il Mallory-Azan oppure con l'ematossilina ferrica.

DESCRIZIONE DEI RISULTATI.

Gli embrioni di *Rana esculenta* e quelli di *Bufo bufo* uniti in parabiosi eteroplastica si saldano intimamente fra di loro tramite un continuo strato di ectoderma. Nei primi tre giorni, gli embrioni si sviluppano senza manifestare evidenti alterazioni morfogenetiche. Successivamente però l'embrione di *Bufo* si accresce e si sviluppa in lunghezza più rapidamente di quello di *Rana*: di conseguenza i territori dell'embrione di *Rana* che si tro-

vano ad immediato contatto con quelli di *Bufo* subiscono delle alterazioni provocate dalla trazione esercitata dai tessuti del rospo che si sviluppano più rapidamente.

Circa dieci giorni dopo l'operazione si riscontrano i primi sintomi di incompatibilità fra l'embrione di *Rana* e quello di *Bufo* ed in conseguenza di ciò diverse coppie parabiontiche sono andate perdute. Non in tutti i casi i fenomeni di incompatibilità si sono manifestati nello stesso tempo, per cui alcune coppie si sono discretamente sviluppate fin 15 giorni dopo l'operazione.

È noto dalla bibliografia che i fenomeni di incompatibilità di *tipo embrionale* (Cotronei e Spirito 1929 [6], 1930 [7-8-9], 1931 [10], 1936 [11]) che si stabiliscono fra questi due Anuri sono dovuti fundamentalmente alla maggior velenosità dell'embrione di *Bufo* rispetto a quello della *Rana* (Bytinski-Salz 1928 [12], Roth 1949 [13]).

L'esame microscopico è stato eseguito su dieci coppie parabiontiche che sono state fissate da 7 a 15 giorni dopo l'operazione; quattro casi presi in esame tra 10 e 15 giorni dopo l'operazione sono i più interessanti ai fini del presente lavoro perchè a tale data il sistema nervoso ha raggiunto un discreto grado di differenziamento.

L'esame microscopico è stato facilitato dalle differenze morfologiche dei due sistemi nervosi uniti in parabiosi. Dato che lo sviluppo del *Bufo bufo* è più rapido di quello della *Rana esculenta*, si nota che nel sistema nervoso del rospo si ha un rapido riassorbimento delle placchette vitelline nei neuroblasti e una precoce comparsa della sostanza bianca, mentre nella rana, a parità di tempo, i neuroblasti sono ancora ricchi di placchette vitelline ed è più tardiva la formazione della sostanza bianca. Inoltre i neuroblasti di *Bufo bufo* hanno nuclei più piccoli di quelli della *Rana esculenta* e a parità di unità di superficie vi sono più neuroblasti di rospo che quelli di rana; infine fra i neuroblasti di rospo vi è più pigmento che fra quelli di rana.

In tutti e quattro i casi presi in esame fra 10 e 15 giorni dopo l'operazione si nota che i sistemi nervosi della *Rana esculenta* e del *Bufo bufo* si sono intimamente fusi fra di loro (vedi fig. 1).

A causa della differente grandezza della placca neurale del *Bufo bufo* e di quella della *Rana esculenta* è risultato che non si sono uniti, punto su punto, tutti i territori strutturalmente omologhi fra di loro. Per tanto è avvenuto che il telencefalo della rana si è fuso con il diencefalo del rospo e che il diencefalo della rana si è fuso con il mesencefalo o con il rombencefalo del rospo. In tutti i casi si è avuta una estesa fusione dei due midolli spinali ed in una coppia si è realizzata una fusione fra due regioni diencefalo-mesencefaliche contrapposte.

Di conseguenza si osserva che dove si sono fusi territori neurali eterologhi si sono formati dei neurassi strutturalmente organo-chimerici costituiti in parte da territori neurali di rana e in parte da quelli di rospo. Nelle regioni più caudali invece, dove si è realizzato l'appaiamento di territori neurali strutturalmente più affini (midolli spinali), si è avuta la formazione di due sistemi nervosi normali, il cui asse dorso-ventrale è ortogonale rispetto

all'asse dorso-ventrale dei rispettivi embrioni uniti in parabiosi. L'esame istologico conferma che questi sistemi nervosi sono formati per la metà da cellule di rana e per la metà da cellule di rospo.

Particolarmente interessante ai fini della presente ricerca è il caso dove si è realizzata una tipica regolazione fra i due sistemi nervosi al livello del diencefalo. Qui si osserva (vedi fig. 1) che le pareti alari di ciascun sistema nervoso, invece di saldarsi medialmente, sono rimaste divaricate a causa della presenza dell'altro sistema nervoso ad esso giustapposto.

Si osserva chiaramente che le pareti alari di ciascun sistema nervoso, essendo rimaste in buona parte divaricate, si sono fuse e regolate ciascuna con le rispettive pareti alari dell'altro sistema nervoso ad esso giustapposto.

Similmente ai casi descritti in precedenti Note (Rossi 1961 [1-2], 1962 [3]) si osserva anche nelle presenti esperienze che gli infundiboli diencefalici di ciascun sistema nervoso mantengono un normale orientamento, mentre i due neurassi diencefalici che si sono formati per regolazione delle coppie di pareti alari (appartenenti l'una al sistema nervoso della rana e l'altra a quella del rospo), si sono fuse e regolate, formando neurassi disposti ortogonalmente all'asse dorso-ventrale di ciascun embrione unito in parabiosi dorso-dorsale.

In un caso infine si è osservato che mentre i due nuovi sistemi nervosi progressivamente si allontanano l'uno dall'altro, le corde del *Bufo bufo* e della *Rana esculenta* si avvicinano ed infine si fondono in un'unica corda; identici risultati sono stati osservati più volte in precedenti personali ricerche giustapponendo sistemi nervosi di embrioni della stessa specie (*Rana esculenta*).

DISCUSSIONE DEI RISULTATI.

I risultati della presente ricerca, eseguita unendo in parabiosi dorso-dorsale e cefalo-cefalica placche neurali di embrioni di Anfibi anuri di differente specie (*Bufo bufo* + *Rana esculenta*), previa asportazione dello strato dell'ependima presuntivo, hanno ulteriormente confermato e completato i risultati ottenuti nelle personali precedenti ricerche fatte sullo stesso argomento.

Innanzitutto, i dati ottenuti nel presente lavoro hanno confermato che allo stadio di fine gastrula (tappo vitellino appena retratto e pieghe neurali appena sollevate), i neuroblasti dei due sistemi nervosi giustapposti si uniscono, in perfetta conformità con la legge di Born.

Si è confermato altresì che dato il tipo particolare di parabiosi neurale dorso-dorsale, ciascuna placca neurale non si può sviluppare regolarmente poichè l'emiplacca destra non può saldarsi medialmente con la propria emiplacca di sinistra, a causa dell'ostacolo creato dall'altra placca neurale contrapposta: ne consegue che in ambedue i sistemi nervosi uniti in parabiosi, le rispettive emiplacche restano divaricate ortogonalmente rispetto all'asse dorso-ventrale di ciascun embrione unito in parabiosi e in questa posizione

si fondono con le emiplacche dell'altro sistema nervoso giustapposto: si intuisce pertanto come le coppie di emiplacche (corrispondenti l'una alla parete alare destra di un sistema nervoso e l'altra alla parete alare sinistra dell'altro sistema nervoso) si possano regolare in un sistema nervoso il cui asse dorso-ventrale è ortogonale rispetto all'asse dorso-ventrale di ciascun embrione della coppia parabiontica.

L'insieme dei risultati ottenuti nelle precedenti ricerche (Rossi 1961 [1-2] Rossi 1962 [3]) e nel presente lavoro, ci permettono ora di dare alcune positive interpretazioni intorno ai processi regolativi che si realizzano fra placche neurali unite in parabiosi neurale. Condizione principale affinché due emiplacche giustapposte si possano vicendevolmente regolare in un normale sistema nervoso (il cui asse dorso-ventrale risulta ortogonale rispetto al normale asse dorso-ventrale di ciascun embrione unito in parabiosi) è che esse siano state unite con lo stesso orientamento antero-posteriore in modo tale da far coincidere, punto su punto, coppie di territori neurali strutturalmente omologhi (Rossi 1961 [1]).

Se due territori neurali omologhi vengono uniti dorso-dorsalmente ma con l'asse antero-posteriore invertito (Rossi 1961 [2]), essi ugualmente si regolano e si sviluppano in quella parte del tubo neurale che è ad essi competente, il cui asse dorso-ventrale risulta sempre ortogonale, rispetto al normale asse dorso-ventrale di ciascun embrione unito in parabiosi: tuttavia questa parte del tubo neurale non ha una polarità cefalo-caudale e la sua struttura macroscopica presenta vari gradi di perfezione morfologica.

Infatti quando due territori omologhi vengono uniti dorso-dorsalmente con l'asse antero-posteriore invertito può accadere che la parte cefalica dell'uno si fonda e si regoli con la parte caudale dell'altro e viceversa, mentre le parti mediali si fondono e si regolano fra di loro. Ne consegue che le parti mediane dei rispettivi territori neurali omologhi, essendo strutturalmente molto affini si regolano molto meglio delle parti cefaliche fuse con le parti caudali, perchè l'affinità strutturale di quest'ultime è più lontana. Pertanto la parte del tubo neurale che si forma dalla regolazione di due territori neurali omologhi, uniti con l'asse antero-posteriore invertito, presenta la parte mediale strutturalmente più perfetta delle due parti estreme, le quali morfologicamente si assomigliano: è facile intuire che la parte del neurasse che si sviluppa per regolazione di due territori neurali omologhi, uniti con l'asse antero-posteriore invertito, non abbia una propria polarità cefalo-caudale.

Se due placche neurali, giustapposte dorso-dorsalmente con lo stesso orientamento antero-posteriore, si fondono in modo tale che si vengono ad unire territori neurali eterologhi fra di loro (come si è verificato nelle presenti esperienze), si formano neurassi che strutturalmente sono organo-chimerici; poichè in questo caso i rispettivi territori neurali eterologhi appartengono a placche neurali di Anfibi anuri di specie differente, si formano neurassi che sono contemporaneamente organo-specie-chimerici.

Identici risultati si ottengono unendo dorso-dorsalmente placche neurali, ma con l'asse antero-posteriore invertito (Rossi 1961 [2]): in tal modo

si vengono a fondere in generale territori eterologhi fra di loro e causalmente, in un sol punto, territori omologhi tra di loro. Come sopradetto se si fondono territori omologhi con l'asse antero-posteriore invertito, questi si regolano e formano quella parte del tubo neurale che è ad essi competente, mentre in tutti gli altri punti dove si fondono territori eterologhi, si formano neurassi che strutturalmente sono organo-chimerici.

CONCLUSIONI.

Nelle presenti esperienze sono state unite in parabiosi dorso-dorsale e cefalo-cefalica placche neurali di *Rana esculenta* con placche neurali di *Bufo bufo*, previa asportazione dello strato dell'ependima presuntivo, ambedue appartenenti ad embrioni operati allo stadio di fine gastrula (tappo vitellino appena represso e pieghe neurali appena sollevate).

Scopo della ricerca è stato quello di dare una visibile dimostrazione dei fenomeni regolativi che avvengono fra placche neurali unite dorso-dorsalmente, avvalendosi delle differenze morfologiche peculiari dei sistemi nervosi dei due Anfibi anuri.

Da questa ricerca è risultato evidente che quando due placche neurali vengono unite dorso-dorsalmente e cefalo-cefalicamente, le rispettive emiplacche restano divaricate ortogonalmente rispetto all'asse dorso-ventrale di ciascun embrione e in quella posizione si fondono e si regolano con le emiplacche giustapposte dell'altro sistema nervoso: pertanto da ogni coppia di emiplacche giustapposte si sviluppa un sistema nervoso il cui asse dorso-ventrale è ovviamente ortogonale a quello di ciascun embrione unito in parabiosi dorso-dorsale.

Si è confermato infine che la principale condizione affinché due territori neurali contrapposti si possano regolare in una struttura unitaria normale è che essi siano morfologicamente omologhi; quando invece si fondono due territori neurali eterologhi, si formano sempre delle strutture neurali la cui regolazione porta alla formazione di una struttura mista (strutture neurali organo-chimeriche e organo-specie-chimeriche).

BIBLIOGRAFIA.

- [1] A. ROSSI, *Nuove esperienze sulle regolazioni nervose nelle parabiosi fra embrioni di Anfibi anuri*, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. 8^a), 30, 937 (1961).
- [2] A. ROSSI, *Ulteriori ricerche sulle regolazioni nervose nelle parabiosi fra embrioni di Anfibi anuri*, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. 8^a), 31, 165 (1961).
- [3] A. ROSSI, *Nuove ricerche sulle regolazioni nervose nelle parabiosi fra embrioni di Anfibi anuri*, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. 8^a), 33, 110 (1962).
- [4] H. MANELLI e F. MARGARITORA, *Tavole cronologiche dello sviluppo di Rana esculenta* « Rend. Acc. Naz. XL » (ser. 4^a), 12, 3 (1961).
- [5] A. ROSSI, *Tavole cronologiche dello sviluppo embrionale e larvale del Bufo bufo (L.)*, « Monit. Zool. Ital. », 66, 133 (1958).

- [6] G. COTRONEI e A. SPIRITO, *Costituzione zoologica e trapianti. Esperienze tra Anuri e Urodeli*, « Rend. R. Acc. Naz. Lincei (ser. 6^a), 10, 212 (1929).
- [7] G. COTRONEI e A. SPIRITO, *Costituzione zoologica e trapianti. Esperienze tra Anuri e Urodeli*, « Rend. R. Acc. Naz. Lincei » (ser. 6^a), 11, 425 (1930).
- [8] G. COTRONEI e A. SPIRITO, *Costituzione zoologica e trapianti. Nuove esperienze tra Anuri e Urodeli*, « Rend. R. Acc. Naz. Lincei » (ser. 6^a), 11, 854 (1930).
- [9] G. COTRONEI e A. SPIRITO, *Costituzione zoologica e trapianti. Nuove esperienze tra Anuri e Urodeli*, « Rend. R. Acc. Naz. Lincei » (ser. 6^a), 12, 69 (1930).
- [10] G. COTRONEI e A. SPIRITO, *Costituzione zoologica e trapianti. Nuove esperienze tra Anuri e Urodeli*, « Rend. R. Acc. Naz. Lincei » (ser. 6^a), 14, 149 (1931).
- [11] G. COTRONEI e A. SPIRITO, *Fenomeni di accrescimento embrionale e larvale studiati nei trapianti tra Anuri e Urodeli*, « Rend. R. Acc. Naz. Lincei » (ser. 6^a), 23, 943 (1936).
- [12] H. BYTINSKI-SALZ, *Die Wirkung von xenoplastischen Implantaten und Embryonalextrakten auf die Entwicklung junger Amphibienkeime*, « Arch. Entw. mech. », 114, 665 (1929).
- [13] H. ROTH, *Überverträglichkeitsreaktionen bei Amphibien Chimären*, « Rev. Suisse Zool. », 56, 291 (1949).

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

Microfotografia e rispettiva rappresentazione grafica di una sezione seriata al livello del diencefalo, dei sistemi nervosi di *Rana esculenta* e di *Bufo bufo* uniti in parabiosi dorso-dorsale e cefalo-cefalica.

Figg. 1-2: Si osserva che le pareti alari di ciascun sistema nervoso (*Bufo bufo* tratteggiato e *Rana esculenta* punteggiato) sono rimaste in gran parte divaricate e in questa posizione si sono fuse e regolate con le pareti alari dell'altro sistema nervoso giustapposto.

B. = *Bufo bufo*; ot. = vescicola otica; R. = *Rana esculenta*.

Ogni unità della scala in calce alla tavola è uguale a 50 μ .

