

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

TOMMASA CUSIMANO-CAROLLO, GIULIA FARFAGLIO

## L'induzione della bocca in *Discoglossus pictus* dopo trattamento con actinomicina D

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 39 (1965), n.3-4, p.  
212-217.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1965\\_8\\_39\\_3-4\\_212\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1965_8_39_3-4_212_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.** — *L'induzione della bocca in *Discoglossus pictus* dopo trattamento con actinomicina D* (\*) (\*\*). Nota (\*\*\*) di TOMMASA CUSIMANO-CAROLLO e GIULIA FARFAGLIO, presentata dal Corrisp. P. PASQUINI.

#### INTRODUZIONE.

1. La meccanica dello sviluppo della bocca, negli Anfibi anuri, è stato recente oggetto di studio. Fagone [1], su *Discoglossus pictus*, con il metodo dei trapianti omo- e xenoplastici ha mostrato che una bocca completa di tutte le strutture (cavità, dentelli cornei, becco corneo, papille) si ha esclusivamente quando il territorio presuntivo boccale è colonizzato da elementi ecto-mesodermici provenienti dalla piega neurale trasversa. L'azione esercitata da questi elementi non è ancora ben chiara, ma sembra essere dovuta ad una azione induttiva [2].

Gli elementi delle porzioni meno centrali della piega neurale trasversa [3], [2] posseggono ancora la capacità di indurre la formazione della bocca, ma in grado meno accentuato.

Infine gli elementi delle porzioni laterali e posteriori delle pieghe neurali non posseggono questa capacità; porzioni di piega neurale laterale e posteriore acquistano però questa capacità se trapiantati al posto della piega neurale trasversa [4], [5].

La induzione da parte dei derivati della piega neurale trasversa, si esercita in un periodo ben definito e piuttosto breve dello sviluppo embrionale. Se essa è dovuta ad informazioni sotto forma di RNA-messenger rilasciate immediatamente prima della sua azione, dovrebbe essere possibile bloccarla mediante l'uso della actinomicina.

2. L'azione dell'actinomicina sui sistemi induttori degli embrioni degli Anfibi ha costituito oggetto di studio recente. Uno dei risultati più interessanti al riguardo è quello ottenuto in *Xenopus*: il trattamento con 10  $\gamma$  produce exogastrulazione; la stessa concentrazione fatta agire su gastrule di *Pleurodeles* private di membrana vitellina causa assenza del sistema nervoso [6], [7].

Risultati contrastanti sono quelli ottenuti su *Triturus vulgaris* [8] in cui non si ebbero anomalie dello sviluppo; gli Autori attribuirono tale risultato ad una mancata penetrazione dell'actinomicina nell'embrione.

(\*) Lavoro eseguito presso l'Istituto di Zoologia dell'Università di Palermo, sotto la direzione del prof. G. Reverberi.

(\*\*) L'actinomicina D ci è stata gentilmente fornita dalla Merck Sharp & Dohme.

(\*\*\*) Pervenuta all'Accademia il 26 settembre 1965.

In *Rana pipiens* il Flickinger [9] ha osservato che il trattamento con actinomicina a 40-60  $\gamma$  è tossico; il trattamento con 10  $\gamma$  permise uno sviluppo fino a bottone codale: nel caso in cui, dopo il trattamento, gli embrioni furono riportati in soluzione fisiologica, lo sviluppo procedette fino a larva: queste risultarono, però, microcefale ed incapaci di movimento; in sezione esse risultarono mancanti del cervello e del midollo spinale della regione troncale. I risultati ottenuti da Flickinger sono in favore dell'idea che la sintesi dell'RNA-messenger si compie poco prima del differenziamento di un territorio.

Altre ricerche sono quelle di Denis [10] il quale ha ottenuto la completa soppressione del potere induttore del labbro dorsale del blastoporo trattato con actinomicina (10  $\gamma$  per 2 h); il trattamento per un tempo più breve non sopprime che parzialmente questo potere induttore; il trattamento per un tempo più lungo provoca una degenerazione più o meno rapida dell'induttore.

Eakin [11] ha esaminato il differenziamento dell'organo adesivo in *Hyla regilla* dopo trattamento con actinomicina. Neurale giovani furono trattate per 48 ore con 4-6  $\gamma$ : le larve che si svilupparono presentavano organi adesivi ridotti, spesso fusi, poco differenziati, scarsamente pigmentati: questi risultati furono riferiti alla soppressione della sintesi dell'RNA-messenger, operata dall'actinomicina.

#### OPERAZIONI E TECNICA.

Sono stati fatti i seguenti tipi di esperimenti:

A) *Trapianto, sul fianco di un embrione normale, di piega neurale trasversa (frammento n. 1) e del vicino territorio presuntivo boccale precedentemente trattati con actinomicina (10  $\gamma$ , 20  $\gamma$ , 30  $\gamma$ , 40  $\gamma$ ): (10 esperimenti per concentrazione).*

B) *Trapianto di piega neurale trasversa (frammento n. 1) trattata con actinomicina (50  $\gamma$ ) insieme con il territorio presuntivo boccale normale: (10 esperimenti).*

C) *Trapianto di piega neurale trasversa (frammento n. 1) normale insieme con il territorio presuntivo boccale trattato con actinomicina (50  $\gamma$ ): (9 esperimenti).*

D) *Trapianto di piega neurale trasversa (frammento n. 1) trattata con actinomicina (20  $\gamma$ , 30  $\gamma$ , 40  $\gamma$ ) (7 esperimenti per concentrazione).*

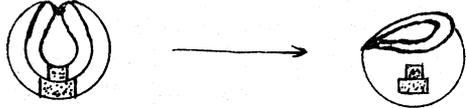
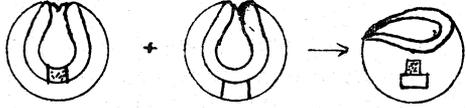
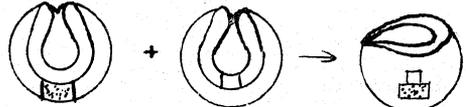
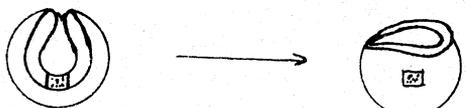
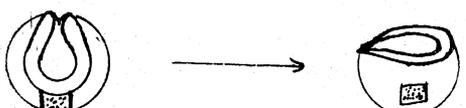
E) *Trapianto del territorio presuntivo boccale trattato con actinomicina (40  $\gamma$ ): (7 esperimenti per concentrazione).*

I pezzi da trapiantare venivano prelevati da embrioni dello stadio di piastra neurale; i territori prelevati venivano messi a soggiornare per un periodo di 15-30' nella soluzione di actinomicina, quindi veniva eseguito il trapianto sul fianco dell'embrione ospite, dello stesso stadio del donatore.

Altri esperimenti sono stati eseguiti ritrapiantando il pezzo dopo il trattamento con actinomicina, allo stesso posto da cui era stato prelevato.

Nella Tabella I sono riportati in schema le operazioni eseguite e i risultati ottenuti.

TABELLA I.

SCHEMA DELLE OPERAZIONI	N° di esper.	CONCENTRAZIONI IN $\gamma$				
		10	20	30	40	50
	15	++++	—	—	—	—
	10					++
	9					—
	7		—	—	—	
	7				—	

 = frammento trattato con actinomicina;  
 ++++ = bocca normale;  
 ++ = organo adesivo.

## RISULTATI.

A) *Trapianto di piega neurale ( frammento n. 1) e del territorio presuntivo boccale, ambedue trattati con actinomicina (10  $\gamma$ , 20  $\gamma$ , 30  $\gamma$ , 40  $\gamma$ ).*

a) *Concentrazione 10  $\gamma$ .* - Il trapianto attecchisce e dopo poco tempo comincia ad accrescersi e a rilevarsi sulla superficie dell'ospite. Dopo qualche giorno vi si nota la presenza di un organo adesivo con la tipica forma, pigmenta-

zione e funzione; nella porzione posteriore del trapianto si nota una invaginazione che è l'inizio della cavità orale. Dopo qualche giorno si ha nel trapianto una bocca completa di labbra (superiore ed inferiore), di papille, dentelli, becco corneo: queste formazioni sono confermate dallo studio delle sezioni.

b) *Concentrazioni* 20  $\gamma$ , 30  $\gamma$ , 40  $\gamma$ . - Non si ha mai formazione di bocca né di alcuna struttura boccale. Non si nota neppure presenza di organo adesivo. Lo studio istologico conferma l'assenza di ogni differenziazione.

Questi esperimenti sono stati eseguiti con una variante: il territorio presuntivo boccale insieme con la piega neurale trasversa (frammento n. 1) dopo il trattamento venivano ritrapiantati allo stesso posto a cui erano stati prelevati. I risultati non sono stati diversi: non si è avuta mai formazione di bocca nella larva. Il pezzo trattato con 20  $\gamma$ , 30  $\gamma$ , rimane informe, diviene grinzoso e, dopo circa 6 giorni, va in degenerazione.

B) *Trapianto di piega neurale trasversa (frammento n. 1) trattata con actinomicina (50  $\gamma$ ) insieme con il territorio presuntivo boccale normale.*

Sul trapianto si differenzia un grosso organo adesivo, fortemente pigmentato, che secerne muco: esso, dopo alcuni giorni, entra in involuzione. Per quanto concerne la bocca o formazioni boccali, esse non si ebbero mai: solo in qualche caso fu rilevata una leggera invaginazione dell'ectoderma. Lo studio istologico delle sezioni conferma questi risultati.

C) *Trapianto di piega neurale trasversa normale (frammento n. 1) insieme con il territorio presuntivo boccale trattato con actinomicina (50  $\gamma$ ).*

I frammenti attecchiscono e aderiscono bene sul fianco dell'ospite; però, nella totalità dei casi, non danno strutture boccali. Assente anche l'organo adesivo.

Dai risultati ottenuti in A, B e C è evidente che la formazione di una bocca o di strutture boccali si ha solo alla concentrazione di 10  $\gamma$ ; e, inoltre, che non si hanno strutture boccali anche quando nel trattamento con actinomicina è interessato solo uno dei due frammenti implicati nella formazione della bocca.

Per meglio chiarire il significato di questi ultimi risultati fu impiantata una nuova serie di esperimenti: precisamente fu fatto il trapianto del territorio della piega neurale trasversa o rispettivamente del territorio presuntivo boccale trattati con actinomicina (20  $\gamma$ , 30  $\gamma$ , 40  $\gamma$ ) sul fianco di un altro embrione; ciò allo scopo di studiare le capacità organo-formative dei frammenti trattati.

D) *Trapianto di piega neurale trasversa (frammento n. 1) trattata con actinomicina (20  $\gamma$ , 30  $\gamma$ , 40  $\gamma$ ) sul fianco di un altro embrione.*

Il frammento di piega neurale attecchisce sul fianco dell'ospite formando un piccolo rilievo, scarsamente pigmentato, che ben presto si involge. Anche nelle sezioni non si riscontra alcuna differenziazione.

E) *Trapianto del territorio presuntivo boccale trattato con actinomicina (40  $\gamma$ ), sul fianco di un altro embrione.*

Dal trapianto non si differenzia alcuna struttura boccale né organo adesivo. Lo studio istologico delle sezioni conferma quanto osservato *in vivo*.

#### DISCUSSIONE.

1. Da quanto esposto risulta che, in seguito al trattamento con actinomicina (20  $\gamma$ , 30  $\gamma$ , 40  $\gamma$ , 50  $\gamma$ ) il complesso costituito dal territorio presuntivo boccale + piega neurale trasversa perdono la capacità di dare origine ad una bocca.

Non si ha formazione di bocca anche nel caso in cui sia fatto trattamento a 50  $\gamma$  o della sola piega neurale trasversa o del solo territorio presuntivo boccale. Ciò è dovuto al fatto che questi territori, dopo il trattamento con l'actinomicina, se trapiantati isolatamente sul fianco di un embrione, non sono neppure capaci di dare luogo alle formazioni che da essi normalmente originano [4, 5].

Da quanto esposto si può dedurre che l'actinomicina, a partire dalla concentrazione 20  $\gamma$  esercita un'azione tossica sui territori trattati.

Questa ipotesi trova conferma nei risultati ottenuti in seguito ad altri esperimenti eseguiti sul territorio dell'organo adesivo. Questo territorio veniva prelevato da embrioni dello stadio di neurula finale, trattato con actinomicina (20  $\gamma$ , 30  $\gamma$ , 40  $\gamma$ ) e quindi trapiantato sul fianco di un embrione ospite. Sebbene il trattamento con actinomicina, in questo caso, fosse stato in epoca certamente successiva alla determinazione del territorio, non si ebbe mai differenziazione di organo adesivo dal trapianto. In molti casi si aveva addirittura la completa degenerazione del territorio trapiantato.

Questo risultato indica che l'actinomicina alle concentrazioni indicate, indipendentemente dall'azione che può avere sul sistema informazionale, agisce come sostanza tossica.

2. Il trattamento del territorio presuntivo boccale + piega neurale trasversa con actinomicina a basse concentrazioni (10  $\gamma$ ) non impedisce la formazione di una bocca normale. Evidentemente a questa concentrazione l'actinomicina non è tossica. D'altra parte essa non interferisce con eventuali « informazioni » possibilmente emesse dal sistema induttore. Ciò dice che tali informazioni non vengono emesse; una alternativa è che tali informazioni furono emesse in un'epoca precedente al trattamento, e vengono « realizzate » solo al momento dell'induzione. In questa alternativa dovrebbe ammettersi che un RNA-*m* stabile, costruito in epoche lontane dal trattamento, viene ad essere funzionale solo al momento dell'induzione. Guardando le cose in un altro modo può dirsi anche che le cellule dei diversi territori embrionali posseggono già da lungo tempo le informazioni su ciò che devono compiere e che la realizzazione di esse venga suscitata da condizioni esteriori come il contatto immediato tra l'induttore e l'indotto.

## BIBLIOGRAFIA.

- [1] A. FAGONE, « Acta Embryol. Morphol. Exper. », 2, 133 (1959).
- [2] T. CUSIMANO, A. FAGONE e G. REVERBERI, « Acta Embryol. Morphol. Exper. », 5, 82 (1962).
- [3] A. FAGONE, « Rend. Acc. Naz. Lincei », 28, ser. 8<sup>a</sup>, 249 (1960).
- [4] T. CUSIMANO, « Rend. Acc. Naz. Lincei », 33, ser. 8<sup>a</sup>, 354 (1962).
- [5] T. CUSIMANO-CAROLLO, « Acta Embryol. Morphol. Exper. », 6, 158 (1963).
- [6] J. BRACHET e H. DENIS, « Nature (London) », 198, 205 (1963).
- [7] J. BRACHET, H. DENIS e F. DE VITRY, « Devel. Biol. », 9, 398 (1964).
- [8] S. TOIVONEN, T. VAINIO e L. SAXEN, « Rev. Suisse Zool. », 71, 139 (1964).
- [9] R. A. FLICKINGER, « Science », 141, 1063 (1963).
- [10] H. DENIS, « Devel. Biol. », 9, 437 (1964).
- [11] R. M. EAKIN, « Z. Zellforsch. », 63, 81 (1964).

A. ROSSI-FANELLI e B. FINZI