
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ALDO ROSSI, FIORETTA PALOMBI

Sull'azione del tiocianato di sodio nello sviluppo della corda dorsale di un Anfibio anuro (*Bufo bufo* L.)

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 39 (1965), n.6, p. 583–588.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1965_8_39_6_583_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. — *Sull'azione del tiocianato di sodio nello sviluppo della corda dorsale di un Anfibio anuro (Bufo bufo L.)* (*). Nota di ALDO ROSSI e FIORETTA PALOMBI, presentata (**) dal Corrisp. A. STEFANELLI.

Nella presente Nota vengono esposti i risultati di una ricerca eseguita allo scopo di studiare lo sviluppo della corda dorsale di *Bufo bufo*, in seguito al trattamento di embrioni a vari stadi dello sviluppo con soluzioni molari di NaCNS.

Dall'analisi bibliografica risulta che il tiocianato provoca delle sensibili alterazioni a carico della corda dorsale; tali alterazioni consistono in ripiegamenti dell'organo, nell'aumento del suo diametro trasverso e in protrusioni del materiale cordale nei tessuti circostanti (Ranzi e Tamini, 1942 [1]; Ranzi, Tamini e Storari-Offer, 1946 [2]; Corti, 1950 [3]; Ogi, 1957 [4]; Ranzi e Gavarosi, 1959 [5]; Rossi, 1964 [6]). Tali malformazioni della corda sono state interpretate come dovute all'ipersviluppo dell'abbozzo cordale che si traduce in un aumento numerico e volumetrico delle cellule (Ranzi e Tamini, 1942 [1]; Ranzi, 1943 [7], Ranzi, Tamini e Storari-Offer, 1946 [2]; Corti, 1950 [3]). Diversamente da queste anomalie osservate in *Rana esculenta* e in *Amblystoma tigrinum*, Ranzi e Gavarosi (1959 [5]) hanno constatato, in *Xenopus laevis*, un aumento numerico di cellule senza un significativo aumento del volume della corda, mentre Ôgi (1957 [4]) non ha constatato un apprezzabile aumento di cellule cordali in *Rana nigromaculata* e in *Bufo vulgaris* in seguito a trattamento con tiocianato.

Variazioni della morfogenesi della corda sono state osservate trattando embrioni di Anfibii con urea oppure con NaCl (Jenkinson 1906 [8]) e anche con acido bórico (Takeuchi, 1958 [9]).

MATERIALE E METODO.

Embrioni di *Bufo bufo* L. agli stadi di blastula e di pieghe neurali (stadi 8 e 13 secondo le tabelle di sviluppo del *Bufo bufo* compilate da Rossi, 1958 [10]) sono stati fatti soggiornare, alla temperatura costante di 18° C, in soluzioni scalari di NaCNS alle seguenti molarità: 0,5 M, 0,25 M, 0,125 M, 0,06 M, 0,03 M, 0,015 M, 0,008 M e 0,004 M, per la durata di un'ora e mezza, 3 h, 6 h, 12 h, e 24 h. Scaduto il tempo di trattamento, da ogni lotto si è prelevato un certo numero di animali (40-50) che sono stati ripetutamente lavati in acqua di

(*) 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 dell'11 dicembre 1965.

fonte e si è controllato lo stadio da essi raggiunto; quindi sono stati allevati per altri 10-15 giorni.

Per allestire le soluzioni è stata adoperata acqua di fonte; gli animali sono stati fissati in Bouin acetico, e le sezioni seriate dello spessore di 10μ sono state colorate con emallume ed eosina. Per gli embrioni fissati negli stadi precoci sono stati applicati i metodi di fissazione e di inclusione alla Ruffini (1927 [11]).

I volumi delle corde dorsali degli embrioni trattati e dei rispettivi controlli sono stati calcolati mediante l'uso di una camera lucida (Wild) e di un planimetro (Salmoiraghi mod. 236).

DESCRIZIONE DEI RISULTATI.

Una delle anomalie più caratteristiche che hanno interessato lo sviluppo degli embrioni trattati è l'estensione della corda dorsale oltre il limite dell'infundibolo diencefalico, fin dentro le pareti del diencefalo (vedi Tav. I, fig. 1). Tale anomalia è stata riscontrata in embrioni trattati allo stadio di blastula per un'ora e mezza in una soluzione 0,25M di NaCNS e negli individui trattati allo stadio di neurula a tutte le concentrazioni molari. Anomalie della corda dorsale sono presenti anche nel tronco e nella coda degli individui trattati, e consistono in torsioni, ripiegamenti a gomito dell'organo e protrusioni di materiale cordale nei tessuti circostanti (Tav. I, fig. 3). Tali anomalie sono state trovate prevalentemente negli embrioni trattati allo stadio di blastula.

TABELLA I.

	CORDA								
	Volume ($\times 10^5 \mu^3$)			Lunghezza (μ)			Raggio (μ)		
	B	C	N	B	C	N	B	C	N
Media	1400	1497	1304	4037	6756	5090	105	84	90
Lim. fid.	± 498	± 125	± 272	± 821	± 386	± 763	± 28	± 4	$\pm 3,6$
T Student	0,71		1,86	8,1		5,4	3,4		2,02
Probabilità	P > 0,05		P > 0,05	P \ll 0,01		P \ll 0,01	P < 0,01		P > 0,05
N° casi	4	10	5	4	10	5	4	10	5

Per fare un'analisi qualitativa e quantitativa dello sviluppo della corda dorsale dei trattati e dei controlli, si è considerata la corda come un cilindro di cui si sono calcolati il volume e la lunghezza (n. delle sezioni per 10μ),

e, in base a questi dati, se ne è calcolato il raggio medio. Nella Tabella I e nella fig. 1 sono riportati, con i rispettivi limiti fiduciali, i valori medi del volume, del raggio e della lunghezza delle corde dei controlli e dei trattati allo stadio di blastula (B – alla concentrazione 0,25 M per un'ora e mezza) e allo stadio di neurula (N – alla concentrazione 0,06 M per 3 h). Gli individui trattati sia allo stadio di blastula che di neurula sono stati fissati quando i loro controlli (C) avevano raggiunto lo stadio 23 (comparsa abbozzo arti posteriori).

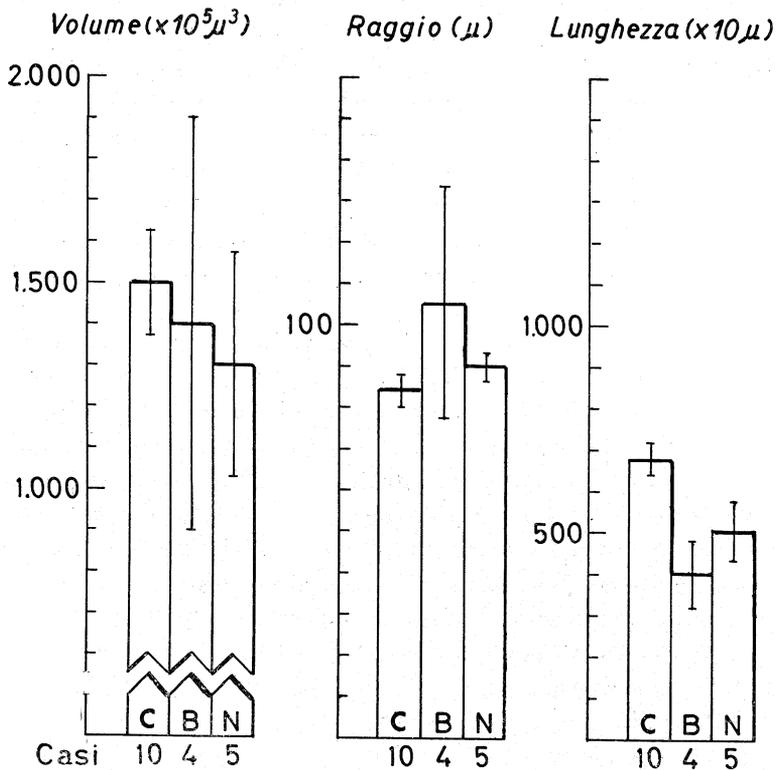


Fig. 1. – Valori medi del volume, del raggio e della lunghezza delle corde degli individui trattati allo stadio di blastula: B), allo stadio di neurula: N) e dei controlli: C). Tanto gli embrioni trattati allo stadio di blastula (NaCNS 0,25 M per un'ora e mezza) quanto quelli trattati allo stadio di neurula (NaCNS 0,06 M per 3 h) sono stati fissati quando i controlli di entrambi avevano raggiunto lo stadio 23.

È stato preso in esame anche un altro lotto di individui trattati allo stadio di neurula con NaCNS 0,125 M per 3 h, e fissati quando i controlli avevano raggiunto lo stadio 25/1 (inizio della vita larvale). Attualmente si sono presi in esame solo tre controlli e quindi ancora poco significativi sono i dati statistici di confronto fra i trattati e i controlli. Tuttavia dai dati fino ad ora ottenuti si nota già che i rapporti fra i valori medi del volume, del raggio e della lunghezza della corda dei trattati e i valori medi corrispondenti dei controlli sono del tutto simili a quelli ottenuti nelle due precedenti esperienze.

DISCUSSIONE DEI RISULTATI.

Dai dati bibliografici risulta difficile trarre delle generali conclusioni sull'azione del tiocianato nello sviluppo della corda dorsale degli Anfibi anuri: in *Xenopus laevis* questo sale induce la formazione di un maggior numero di cellule cordali, senza provocare un significativo aumento del volume della corda dorsale (Ranzi e Gavarosi, 1959 [5]). Diversamente in *Rana esculenta* l'aumento numerico delle cellule cordali provocato dal NaCNS determina un contemporaneo aumento del volume dell'organo (Ranzi, Tamini e Storari-Offer, 1946 [2]; Corti, 1950 [3]) mentre in *Rana nigromaculata* e in *Bufo vulgaris*, pur essendovi delle alterazioni della morfogenesi della corda dorsale del tutto simili a quelle osservate in *Xenopus laevis* e in *Rana esculenta*, non si hanno variazioni né di numero né di volume delle cellule cordali (Ôgi, 1957 [4]). Dai nostri dati infine, in *Bufo bufo*, risulta che, pur non essendovi un aumento di volume delle corde trattate, compaiono gli stessi fenomeni di alterata morfogenesi della corda dorsale, osservati negli altri Anuri dai su citati Autori.

La spiegazione dell'aumento dei diametri della corda osservato in *Bufo bufo* si può trarre dall'esame dei valori riportati nella Tabella I e nella fig. 1 del presente lavoro. Tali dati dimostrano che le corde dorsali degli individui trattati sono significativamente più corte dei controlli, mentre hanno raggi medi maggiori di quelli dei controlli (tale differenza è significativa solo per il trattamento allo stadio di blastula). D'altra parte i volumi delle corde dei trattati non differiscono in modo significativo da quelli dei controlli. Ciò dimostra che l'aumento dei diametri delle corde trattate non è dovuto ad un iperaccrescimento dell'organo, bensì al suo raccorciamento.

Similmente a quanto abbiamo osservato in *Bufo bufo*, anche in *Xenopus laevis* (Ranzi e Gavarosi, 1959 [5]) il trattamento con NaCNS non provoca variazioni del volume della corda e in *Rana nigromaculata* e in *Bufo vulgaris* (Ôgi, 1957 [4]) non determina l'aumento né numerico né volumetrico delle cellule cordoidi; appare quindi positivo il fatto che in questi Anuri tale sostanza non provoca un'ipertrofia dell'organo.

In *Xenopus laevis*, Ranzi e Gavarosi (1959 [5]) hanno osservato che vi è un significativo aumento del numero delle cellule cordali, ma non hanno specificato se le dimensioni cellulari sono variate. Poiché il volume totale della corda dorsale non varia, si desume che vi sia una riduzione del volume cellulare. Pertanto si deve concludere che la corda dorsale di *Xenopus laevis* in seguito al trattamento con NaCNS ha subito un aumento numerico cellulare, ma non una ipertrofia generale.

Del tutto differente è il comportamento della corda di *Rana esculenta* che in seguito al trattamento con NaCNS presenta sia un aumento numerico delle cellule che una ipertrofia generale (Ranzi, Tamini e Storari-Offer, 1946 [2]; Corti, 1950 [3]). Tali risultati sono difficilmente inseribili nel quadro generale del comportamento delle corde dorsali degli altri Anuri, e non sono inoltre

conciliabili con quelli ottenuti in *Rana nigromaculata* e in *Bufo vulgaris* (Ôgi, 1957 [4]).

Per quanto riguarda l'estensione della corda dorsale oltre il confine dell'infundibolo diencefalico, si è constatato da ricerche attualmente in corso che tale anomalia è dovuta ad un arresto di sviluppo; infatti in stadi precoci embrionali (18-19-20-21) si osserva che la corda dorsale si trova tra la base del neurasse e l'infundibolo diencefalico, mentre in stadi successivi l'infundibolo e la corda si distanziano, e fra di essi si interpone la base del cranio.

TABELLA II.

LUNGHEZZA DELL'EMBRIONE (μ)			
	B	C	N
Media	5045	7909	6208
Lim. fid.	± 1190	± 480	± 842
T Student	6,63	4,6	
Probabilità	$P \ll 0,01$	$P \ll 0,01$	
N° casi	4	10	5

Questi processi morfogenetici non si sono potuti realizzare negli animali trattati, con ogni probabilità anche perché essi sono significativamente più corti dei controlli (vedi Tabella II).

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. Sc. 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] C. CORTI, *Ricerche sull'ipersviluppo della corda e iperinduzione degli Anfibi*, « Riv. Biol. » (Perugia), 42, 443 (1950).
- [4] K. I. ÔGI, *Influence of sodium iodide and sodium thiocyanate upon the development of frog's embryos*, « Embryologia », 3, 221 (1957).
- [5] 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).
- [6] A. ROSSI, *Effetto del tiocianato di sodio sullo sviluppo di Bufo bufo*, « Rend. Ist. Sci. Camerino », 5, 151 (1964).
- [7] S. RANZI, *Modificazioni dello sviluppo embrionale degli Anfibi prodotte da sostanze chimiche*, « R. Ist. Lomb. Sci. e Lett. », 78, 1 (1943).
- [8] J. W. JENKINSON, *On the effect of certain solutions upon the development of the frog's egg* « Arch. Entw. Mech. », 21, 367 (1906).

- [9] T. TAKEUCHI, *Effects of boric acid on the development of the eggs of the toad* *Bufo vulgaris formosus*, «Sci. Rep. Tôhoku Univ.» (4) 24, 33 (1958).
- [10] A. ROSSI, *Tavole cronologiche dello sviluppo embrionale e larvale del Bufo bufo (L.)*, «Monit. Zool. Ital.», 66, 133 (1958).
- [11] A. RUFFINI, *Processi di tecnica embriologica ed istologica*, Ed. Cappelli (1927).

SUMMARY. — Embryos of *Bufo bufo* at the stages of blastula and neurula have been treated with solutions of NaCNS at different molarities. In the treated embryos the notochord often extends as far as the diencephalic infundibulum, and in many cases it shows bends in the trunk, and increase of its diameter.

The average volume of the notochord of the treated embryos does not differ significantly from the one of the controls.

The notochord of the embryos treated at the stage of blastula shows an average radius significantly longer than the one of the controls, while this difference is insignificant for the embryos treated at the stage of neurula. The average length of the notochord of the treated embryos is significantly lower than the one of the controls.

This demonstrates that the notochord of the treated embryos has not undergone a hypertrophy, but the malformations which, at first sight, seem due to abnormal increase of the organ (such as the increase of its diameter) are to be related to its shortening, not followed by a proportionate change of volume.

The lack of hypertrophy of the notochord leads us to think that the extension of this organ beyond the diencephalic infundibulum is due to an inhibition of the general development of the embryo.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

Figg. 1 e 3. — Sezioni trasverse a livello del diencefalo e del midollo spinale di uno stesso embrione di *Bufo bufo* trattato con NaCNS 0,25 M per un'ora e mezza allo stadio di blastula.

Figg. 2 e 4. — Sezioni trasverse a livello del diencefalo e del midollo spinale di uno stesso controllo di *Bufo bufo* allo stadio 23. C: corda.

