
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

MARIO COTTA RAMUSINO, GIOVANNI VAILATI

Corda indotta da urea e melanina in embrioni di trota

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 60 (1976), n.2, p. 147–150.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1976_8_60_2_147_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/>

SEZIONE III

(Botanica, zoologia, fisiologia e patologia)

Zoologia. — *Corda indotta da urea e melamina in embrioni di trota* (*). Nota di MARIO COTTA RAMUSINO e GIOVANNI VAILATI, presentata (**) dal Socio S. RANZI.

SUMMARY. — Some cases of heterotopic notochord differentiation of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) embryos which were treated during their development with different concentrations of melamine and urea are described.

The chordal tissue developed inside the neural tube in the dorsal wall of the rombencephalon, in the spinal cord, under the telencephalon and on the side of the notochord.

L'azione dell'urea sulla precoce determinazione embrionale è stata studiata da Jenkinson (1909), Fautrez (1951) e da Leone (1953); tali Autori, trattando embrioni di *Rana temporaria* e di *Rana esculenta* a diversi stadi di sviluppo con diverse concentrazioni di urea, hanno ottenuto fenomeni di cordalizzazione a livello di organi e tessuti di diversa origine, quali il tubo neurale, l'endoderma, il mesenchima pericordale e i somiti.

Tali reperti si inquadrano in un discorso più generale, approfondito da Ranzi e dai suoi collaboratori sull'azione animalizzante che lo ione SCN e altre sostanze, che denaturano le proteine, esercitano sui primi stadi dello sviluppo embrionale di diversi animali. Tali sostanze, come risulta da un riassunto pubblicato da Ranzi (1962) e da ricerche di Vailati, Vitali e Ranzi (1972) su embrioni di pollo, esercitano un'azione che provoca malformazioni tipiche nei diversi gruppi di animali trattati. Queste malformazioni si manifestano con un aumento delle dimensioni della corda dorsale, con fenomeni di cordalizzazione a carico dei tessuti di diversa origine e quindi con presenza di tessuto cordale eterotopico.

Per quanto riguarda i Pesci non si hanno dati circa l'azione della sostanza sopra citata, ad eccezione di un lavoro di Werber (1916) che ha trattato uova di *Fundulus heteroclitus* con urea, tra altre sostanze impiegate, senza però riscontrare caratteristiche malformazioni. Nel corso di ricerche tendenti a studiare l'effetto di alcune sostanze inquinanti sullo sviluppo embrionale di animali acquatici, trattando uova di trota con urea e melamina, abbiamo osservato, tra vari tipi di malformazioni, alcuni casi di cordalizzazione eterotopica che vengono qui descritti.

Sono state allestite quattro vasche nelle quali, mediante un'apparecchiatura a flusso continuo fornita di pompe dosatrici con portata pari a 1 l/h, si aveva un ricambio del 95% delle soluzioni a contatto con le uova ogni 9 ore.

(*) Ricerche eseguite nell'Istituto di Zoologia dell'Università Statale di Milano.

(**) Nella seduta del 14 febbraio 1976.

Si sono trattati lotti omogenei di uova appena fecondate di trota iridea (*Salmo gairdneri* Rich.) con due miscele a concentrazione differente di 2-4-6-triamino-1-3-5-triazina (melamina) ed urea (rispettivamente 2.000 ppm + 1.200 ppm e 500 ppm + 300 ppm) e con una soluzione di sola 2-4-6-triamino-1-3-5-triazina (2.000 ppm).

Per preparare le soluzioni usate si è preferito ricorrere ad acqua standard ottenuta mediante aggiunta di una quantità nota di sali a 100 litri di acqua deionizzata, al fine di ottenere di volta in volta un'acqua dalle caratteristiche costanti ed eliminare eventuali inconvenienti legati all'elevata durezza dell'acqua di rete; il pH risultava essere di 7,8 e la durezza pari a 100 mg/l CaCO_3 (I.R.S.A., 1973).

Una delle vasche, in cui circolava solamente acqua di diluizione, è stata utilizzata come controllo.

Durante l'intera durata dell'esperimento nelle vasche delle uova la temperatura delle soluzioni è stata termostata a 16 °C (± 1 °C) e la percentuale di ossigeno disciolto mantenuta a valori prossimi alla saturazione (90-95%) per mezzo di aereatori; il pH era stabilizzato attorno a 8,2.

In totale sono state usate 2.100 uova di *Salmo gairdneri*, di cui 550 come controllo e 1550 variamente trattate.

Giornalmente si è provveduto ad asportare le uova morte; la mortalità osservata, piuttosto elevata, è risultata essere, in maniera altamente significativa, legata ai trattamenti. Alla comparsa delle vescicole ottiche (dopo circa 18 giorni di trattamento) ed alla schiusa delle uova (dopo circa 23 giorni) gli embrioni e le larve vennero fissati in liquido di Bouin.

Per facilitare l'allestimento dei preparati il sacco del tuorlo veniva rimosso dopo la fissazione.

Dopo disidratazione in alcool, gli embrioni sono stati inclusi in paraffina e sezionati trasversalmente secondo sezioni aventi lo spessore di 10 μ ; le sezioni sono state colorate con ematossilina di Ehrlich ed eosina.

In totale sono stati sezionati 68 embrioni di cui 26 fissati alla comparsa degli occhi e 42 alla schiusa.

In quattro embrioni fissati alla schiusa (5,9 % degli embrioni studiati) sono stati rilevati casi di corda eterotopica che qui vengono descritti.

Nel primo caso la massa di tessuto cordale si trova all'interno del rombencefalo. Si tratta di un grosso nodulo di cellule cordali con un sottile epitelio cordale e guaina; il nodulo ha forma di una sfera irregolare con diametri compresi tra 200 e 280 μ . Le cellule, perfettamente vacuolizzate, e di regolari dimensioni, si trovano immerse in una massa di tessuto nervoso sporgente all'interno del IV ventricolo lateralmente alla volta del rombencefalo (Tav. II, fig. 5).

All'interno della suddetta massa di tessuto nervoso e lateralmente alla massa cordale si forma una caratteristica formazione: si tratta evidentemente di un piccolo tubo neurale la cui architettura sembra indotta dal tessuto cordale, in quanto il suo aspetto anatomico e istologico ricorda quello di un piccolo midollo allungato (Tav. II, fig. 6).

Nel secondo caso la massa di tessuto cordale si trova nella parte dorsale del midollo spinale nella regione a livello delle branchie. Questa formazione, che ha una dimensione massima di circa 310 μ , è composta da noduli di diverse dimensioni costituiti da cellule cordali ben vacuolizzate con abbondanti cellule epiteliomorfe, quali descritte da Lanzavecchia (1960) nella corda dorsale di *Xenopus laevis* e da una guaina cordale ben evidente (Tav. I, figg. 2, 3, 4).

Anche in questo caso la corda eterotopica sembra avere indotto, lateralmente al tubo neurale normale, un altro tubo neurale ad esso perfettamente paragonabile (Tav. I, fig. 3).

Nel terzo caso un nodulo cordale si trova in posizione preipofisaria al di sotto del telencefalo: si tratta di una vera e propria corda lunga circa 300 μ con cellule ben vacuolizzate, eccetto in una zona centrale, anche se di dimensioni minori di quelle della corda dorsale normale, e provvista di un epitelio cordale e di una guaina ben differenziati (Tav. II, figg. 7 e 8).

Nella sezione in cui questa formazione ha la massima dimensione, essa ha forma di ellisse leggermente schiacciata ventralmente, avente gli assi maggiore e minore rispettivamente di 200 e 125 μ . Questa porzione di corda eterotopica non è in rapporto con la corda dorsale vera e propria in quanto è limitata alla regione telencefalica.

L'ultimo caso da noi osservato riguarda una formazione di tessuto cordale che, partendo dalla corda dorsale a livello del midollo spinale, si spinge lateralmente a occupare parte della massa muscolare del somite. Si tratta di una massa di notevoli dimensioni (210 μ circa) contenente diverse cellule vacuolizzate e abbondanti cellule epiteliomorfe non ben organizzate a costituire un epitelio cordale (Tav. II, fig. 9). La massa muscolare del somite ove è presente la formazione in questione sembra non essersi sviluppata.

I nostri risultati su un teleosteo sono in accordo con le ricerche degli Autori citati che hanno studiato l'azione dell'urea sullo sviluppo embrionale degli Anfibi e in particolare con il lavoro di Leone (1952) che osservò sviluppo di porzioni di corda in espianti ventrali di gastrule di *Rana esculenta* nei quali era assente l'abbozzo presuntivo della corda. Poiché l'urea è un forte agente denaturante le proteine, queste nostre osservazioni confermano l'idea di Ranzi (1962) che la formazione dell'abbozzo della corda si accompagna a denaturazione di proteine (cfr. anche Leonardi Cigada e Ranzi, 1975).

LAVORI CITATI

- FAUTREZ J. (1951) - *Action de l'urée sur le développement de Rana temporaria*, « Arch. Biol. », 42, 195.
- I.R.S.A. (Istituto di ricerca sulle Acque) (1973) - *Metodi analitici per le acque*. Vol. III, « La Pergamena », Roma.
- JENKINSON J. (1909) - *Experimental Embryology*, Oxford, University Press.
- LANZAVECCHIA G. (1960) - *Ultrastruttura della corda dorsale in larve di Xenopus laevis*, « Ist. Lomb., Rend. Sc. », B. 94, 257.
- LEONARDI CIGADA M. e RANZI S. (1975) - *Azione dei sali ed antibiotici sulla prima determinazione embrionale di vertebrati*, L'Ateneo Parmense, « Acta naturalia », II, 153.
- LEONE V. (1952) - *Effetti di trattamento con urea su espianti ventrali di gastrule di Rana esculenta L.*, « Rend. Acc. Naz. Lincei (Sc. fis.) » (8), 12, 195.
- LEONE V. (1953) - *Sull'azione dell'urea nello sviluppo embrionale di Anfibi*, « Ist. Lomb. Rend. Sc. », 86, 351.

- RANZI S. (1962) - *The proteins in embryonic and larval development*, « Adv. in Morphogenesis », 2, 211.
- VAILATI G., VITALI P. e RANZI S. (1972) - *Azione di solfocianuro di sodio nei primi stadi dello sviluppo dell'embrione di pollo*, « Rend. Acc. Naz. Lincei (Sc. fis.) », (8), 53, 594.
- WERBER E. I. (1916) - *Experimental studies on the origin of monsters. An etiology and an analysis of morphogenesis of monsters* « Jour. Exp. Zool. », 21, 485.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-II

TAVOLA I

- Fig. 1. - Larva di 23 giorni. Controllo della fig. 2. ($\times 44$).
- Fig. 2. - Larva di 23 giorni trattata con 500 ppm di melamina e 300 ppm di urea. Sezione trasversale condotta a livello del midollo spinale, all'interno del quale sono visibili grossi noduli di corda. ($\times 44$).
- Fig. 3. - Particolare ingrandito della larva della fig. 2. È visibile il secondo tubo neurale (\nearrow) organizzatosi vicino alla corda eterotopica. ($\times 144$).
- Fig. 4. - Particolare ingrandito della fig. 2. ($\times 480$).

TAVOLA II

- Fig. 5. - Trattamento con 500 ppm di melamina e 300 ppm di urea. Larva di 23 giorni. Nodulo cordale nella volta del rombencefalo. ($\times 37$).
- Fig. 6. - Particolare ingrandito della fig. 5. ($\times 160$).
- Fig. 7. - Trattamento con 2000 ppm di melamina. Larva di 23 giorni. Corda al di sotto del telencefalo. ($\times 47$).
- Fig. 8. - Particolare ingrandito della fig. 7. ($\times 300$).
- Fig. 9. - Trattamento con 500 ppm di melamina e 300 ppm di urea. Larva di 23 giorni. Grosso nodulo di cellule cordali lateralmente alla corda dorsale a livello del midollo spinale. ($\times 160$).



