



## RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXIII, serie 6<sup>a</sup>, 1<sup>o</sup> sem., fasc. 11. — Roma, giugno 1936-xiv.

**Biologia generale.** — *Studi di Biologia embrionale.* — I. *Il fenomeno dell'anaerobiosi studiato comparativamente nei Petromizonti e negli Anfibi anuri* <sup>(1)</sup>. Nota di ALDO SPIRITO, presentata <sup>(2)</sup> dal Socio F. SILVESTRI.

313106

Lo studio del fenomeno dell'anaerobiosi ha appassionato vivamente, specie negli ultimi tempi, i biologi per i risultati di notevole importanza che ne sono scaturiti. Basti ricordare il grande interesse che suscitavano alcuni anni or sono le ricerche di Warburg e della sua scuola sulla glicolisi anaerobia e i rapporti che tali studi, eseguiti anche su uova di echinodermi e di uccelli, hanno con la biologia dei tumori.

Non è il caso, in questa Nota, di riferire la estesa letteratura riguardante questi problemi: mi limito per ora ad esporre brevemente i risultati da me ottenuti nelle indagini eseguite a proposito del fenomeno dell'anaerobiosi durante i primi periodi dello sviluppo embrionale in alcuni Anfibi anuri e nei Petromizonti. Anche per quel che riguarda tale lato particolare del problema generale vi sono vari lavori in letteratura (confrontare per esempio quelli di Samassa, Schultz, Godlewski, Bataillon, Parnas e Krasinska, Loeb, Amberson, Fauret-Fremiet, Lernnerstrand, Brachet, ecc.) sì che noi oggi abbiamo in proposito parecchi dati che saranno da me riferiti nel lavoro in esteso in preparazione. Mi sia permesso tuttavia far notare che tali dati, pur ottenuti da studiosi di embriologia, hanno per lo più apportato a conclusioni ben lontane da quelle che si sarebbero potute attendere se le indagini fossero state condotte da un punto di vista comparativo. Infatti è chiaro che la comparazione di diversi comportamenti, osservabili in diverse specie animali di fronte ad uno stesso trattamento, potrà aprire nuove vie di studio, in quanto che servirà a farci sceverare, tra le varie proprietà intrinseche degli esemplari sperimentati, quelle che possano essere la causa dei diversi comportamenti osservati.

Nei riguardi del problema dell'anaerobiosi embrionale, a sua volta strettamente correlato a quelli più vasti delle ossidazioni intraorganiche, alcuni dati della letteratura ci fanno intravedere queste differenze che si verificano tra specie diverse. Purtroppo esse sfuggono però alla possibilità di una vera comparazione, che, per effettuarsi, deve poter usufruire di risultati ottenuti attraverso le indagini più rigorose, nelle quali ogni volta e per ogni specie

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia e Embriologia comparate della R. Università di Roma.

(2) Nella seduta del 5 giugno 1936.

Loe  
B  
55  
5



adoperata siano riprodotte tutte quelle condizioni sperimentali, al di là delle quali possa scaturire il dato intrinseco differenziale.

Ed è stato appunto per quest'insieme di considerazioni che ho voluto impostare un piano di ricerche sul fenomeno dell'anaerobiosi embrionale, studiato comparativamente in parecchie specie animali. Ma queste nuove esperienze, a loro volta, si debbono pure intendere correlate ad altre da me fatte precedentemente e riguardanti il comportamento di un fermento respiratorio (perossidasi) durante la vita embrionale e studiato anch'esso da un punto di vista morfologico e comparativo in alcuni Ciclostomi, Pesci, Anfibi, Uccelli<sup>(1)</sup>. Già allora prospettavo la necessità di ampliare le ricerche nelle stesse specie con lo studio di altre proprietà intrinseche rilevabili durante lo sviluppo, sì che per prima cosa ho voluto iniziare queste nuove esperienze sul fenomeno dell'anaerobiosi. Ma contemporaneamente a queste ricerche sulla privazione di ossigeno ne sono state eseguite altre con le quali si è voluto studiare l'azione del KCN nello sviluppo embrionale. È chiaro che i due metodi si integrano a vicenda per la comprensione dei risultati che possono scaturirne: nel primo caso abbiamo infatti l'assenza di ossigeno, mentre nel secondo, pur nella presenza di quest'ultimo, si ha l'azione del KCN che impedisce, o per lo meno rende irrilevante, la sua utilizzazione.

Come materiale di studio ho per ora adoperato vari stadi embrionali di *Petromyzon fluviatilis* fra i Ciclostomi, e di *Rana esculenta*, *Rana agilis*, *Hyla arborea*, *Bufo viridis*, *Bufo vulgaris*, *Discoglossus pictus* tra gli Anfibi anuri.

Come metodo di indagine mi sono valso di quelli già da tempo in uso in questo genere di ricerche, secondo modalità che saranno precisate nel lavoro in esteso. Con queste esperienze si è voluto pertanto indagare nelle forme suddette il comportamento di alcuni stadi embrionali sottoposti alla privazione di ossigeno. Riferisco brevemente i risultati ottenuti.

Per quel che riguarda gli Anfibi anuri da me adoperati dirò subito che sottoponendo alla privazione di ossigeno stadi in cui si ha il primo accenno della formazione della piastra neurale (si era visto da altri AA., Samassa, Godlewski, Bataillon, Parnas Krasinska, Brachet, che in alcuni Anfibi anuri la segmentazione dell'uovo era possibile in ambiente privo di ossigeno) si ha immediatamente un arresto nello sviluppo (rilevabile all'esame eseguito al microscopio binoculare) in *Hyla arborea*, *Rana agilis*, *Rana esculenta* e la giovane neurula va in necrosi tra le 30 e le 50 ore di esperimento, quando cioè i controlli normali hanno raggiunto lo stadio di bottone codale e lo hanno anche oltrepassato.

In *Bufo viridis* invece, prima dell'inizio dei processi di necrosi, si ha un certo avanzamento, talchè, partendo dallo stesso stadio predetto, si può

(1) « Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. », 9, 1934; « Arch. Scienze Biol. », 20, 1934; « Mon. Zool. Ital. », 15, Suppl., 1934; « Arch. Zool. Ital. », 22, 1935; « Riv. Biol. », 19, 1935.

giungere quasi ad avere la chiusura delle pieghe neurali, ed ancor di più si è ottenuto in *Bufo vulgaris* dove, prima della necrosi che può venire anche dopo 60 ore di privazione di ossigeno, si ha la chiusura e la saldatura delle pieghe neurali, con un discreto allungamento dell'embrione, mentre i controlli normali presentano l'accento del bottone codale. Con il *Discoglossus* poi si ha il massimo dei risultati, poichè, prima della necrosi che avviene dopo circa 60 ore di esperimento, si raggiungono stadi in cui gli embrioni si contraggono spontaneamente e presentano un primo accenno di formazione della pinna codale, in confronto ai controlli normali natanti con circolazione sanguigna già bene sviluppata.

Di fronte a questi risultati, che ci fanno distinguere gli Anfibi anuri predetti in due diversi gruppi, si pongono quelli ottenuti in *Petromyzon fluviatilis*. Le prime esperienze su tale materiale furono iniziate usando stadi paragonabili a quelli adoperati per gli Anfibi e cioè stadi in cui si ha il primo accenno di piastra neurale. Si notò in tale caso un arresto immediato nello sviluppo e un inizio nei processi di necrosi dopo circa 24 ore. Per tale risultato si paragonarono dapprima questi stadi di *Petromyzon fluviatilis* a quelli di *Rana esculenta*, *Rana agilis*, *Hyla arborea*, ma contemporaneamente si fecero altre ricerche con stadi più precoci (uova in segmentazione) per i quali in *Rana esculenta* si era vista la possibilità di un certo sviluppo nelle condizioni sperimentali di privazione di ossigeno. Per *Petromyzon fluviatilis* invece i miei risultati hanno dimostrato, anche per questi stadi precoci, un rapido arresto di sviluppo e inizio di processi necrotici in circa 24 ore, sì che tale specie si differenzia rispetto alla privazione di ossigeno anche da *Rana esculenta*, *Rana agilis* e *Hyla arborea*.

Contemporaneamente a queste ricerche sul fenomeno dell'anaerobiosi e come necessaria estensione per ottenere altri risultati da potersi correlare con quelli riferiti più sopra, sono state eseguite altre esperienze sottoponendo alcuni stadi embrionali delle specie predette all'azione di soluzioni 1/1000 m. di KCN, che, come si sa, inibisce i processi di ossidazione.

Tali indagini sperimentali sono state eseguite anche da altri AA. (Bataillon, Bellamy, Blumenthal, Runnström, Brachet, Zawadkowski ecc.), sugli Anfibi e su altro materiale, ma di ciò tratterò nel lavoro in esteso, dove pure cercherò di spiegare le ragioni delle divergenze che si possono rilevare tra alcuni loro risultati ed i miei. Dirò intanto che proprio come si era potuto stabilire nei riguardi del fenomeno dell'anaerobiosi, così anche rispetto al trattamento con KCN, inibitore delle ossidazioni, si possono dividere le specie sperimentate in tre gruppi per i diversi risultati che sono stati ottenuti.

Ma su tale divisione occorre fermare l'attenzione perchè apparentemente, a prescindere da piccole variazioni di massima e minima resistenza, si ha per le varie specie di Anfibi anuri usate un comportamento pressochè uguale nei riguardi dello stadio a cui possono giungere gli embrioni sottoposti al-

l'azione del KCN. Riferirò per esempio che giovani neurule di *Hyla arborea*, *Rana esculenta*, *Rana agilis*, *Bufo viridis*, *Bufo vulgaris*, *Discoglossus pictus* possono tutte raggiungere in parecchi giorni (7-9), pur attraverso uno sviluppo molto rallentato rispetto ai controlli normali, stadi un po' più avanzati di quelli caratterizzati dalla presenza del bottone codale, per arrestarsi e poi disfarsi se lasciati nelle soluzioni. Ma se si studia il comportamento degli esemplari delle varie specie a brevi intervalli si può notare che fin dall'inizio del trattamento con KCN le giovani neurule di *Rana esculenta*, *Rana agilis* e *Hyla arborea* (gli stessi stadi si arrestano subito in ambiente privo di ossigeno) subiscono un notevolissimo ritardo nello sviluppo rispetto ai controlli normali; mentre invece per quel che riguarda *Bufo viridis*, *Bufo vulgaris*, *Discoglossus pictus* (gli stessi stadi riescono a svilupparsi un po' in anaerobiosi) per molte ore (24-48) dopo l'inizio dell'esperimento lo sviluppo degli esemplari trattati con KCN è sincrono o pressochè sincrono rispetto agli esemplari normali di controllo. Soltanto più tardi, in questi casi, esso rallenta rispetto a quello di questi ultimi, per poi arrestarsi come ho detto più sopra.

Se ora consideriamo gli stessi stadi di *Petromyzon fluviatilis* nei riguardi del loro comportamento rispetto all'azione del KCN vediamo che si ottengono risultati diversi da quelli descritti per gli altri due gruppi precedenti. Infatti giovani neurule di *Petromyzon fluviatilis* (in ambiente privo di ossigeno si arrestano immediatamente anche se si inizia l'esperienza con stadi di segmentazione) poste in soluzione 1/1000 m. si arrestano immediatamente nel loro sviluppo e dopo un certo numero di giorni vanno in necrosi. Se si parte da stadi più precoci (uova in segmentazione) si riesce ad avere un certo avanzamento fino allo stato di blastula, stadio che però non viene oltrepassato.

In questa Nota preliminare ho voluto esporre semplicemente i primi risultati accertati in questo campo di ricerche: i particolari di essi e delle esperienze con le quali sono stati ottenuti si troveranno nel lavoro in esteso in preparazione, insieme alle prime considerazioni che su di essi ho creduto di poter fare.

A conclusione di questa Nota desidero mettere in risalto che l'indagine comparativa sperimentale ha così messo in luce delle profonde differenze nei riguardi del comportamento di alcuni stadi embrionali di Anfibi anuri e di Petromizonti. Ciò prospetta tutto un campo di indagini per le ulteriori ricerche causali di tali fenomeni.

#### NOTA AGGIUNTA.

Dopo la presentazione di questa Nota ho avuto la possibilità di sperimentare anche con uova di Urodeli (*Axoloti*). Le esperienze di anaerobiosi hanno chiaramente dimostrato, anche per questi esemplari, un arresto nello

sviluppo quando si sottopongono a privazione di ossigeno le giovani neurule. Trattando queste ultime con soluzioni 1/1000 m. di KCN si ha immediatamente un forte rallentamento nello sviluppo rispetto a quello dei controlli normali.

Queste ricerche su esemplari di *Axolotl*, eseguite nelle identiche condizioni sperimentali osservate in quelle fatte precedentemente sugli Anuri e sui Petromizonti, ci portano a mettere quest'Urodelo insieme a *Rana esculenta*, *Rana agilis*, *Hyla arborea* per quel che riguarda il loro comportamento di fronte alla privazione di ossigeno e all'azione del KCN.

**Biologia.** — *Scarica del protoplasma per sottrazione degli elettroliti dal mezzo ambiente in cellule di tessuti coltivate « in vitro »*. Nota di H. GROSSFELD, presentata dal Socio G. LEVI.

Sarà pubblicata in un prossimo fascicolo.

**Fisiologia.** — *Ricerche sulla permeabilità della membrana vitellina del tuorlo dell'uovo di gallina di fronte ad alcuni ferrocianuri*. Nota di A. ORRÙ, presentata dal Corrisp. S. VISCO.

Sarà pubblicata in un prossimo fascicolo.

**Fisiologia.** — *Sulla velocità di accrescimento dell'uovo di gallina*. Nota di A. ORRÙ, presentata dal Corrisp. S. VISCO.

Sarà pubblicata in un prossimo fascicolo.

**Fisiologia.** — *Relazioni tra temperatura ed attività del fermento glicogenolitico del fegato degli animali pecilotermi*. Nota di E. TRIA, presentata dal Corrisp. S. VISCO.

Sarà pubblicata in un prossimo fascicolo.





