

50. Vincenzo MANCUSO. — L'azione dell'azide sodico sullo sviluppo dell'uovo di *Physa rivularis* Ph. (*)

Riassunto. — Uova di *Physa* (Gasteropodo polmonato) trattate, ai primi stadi di sviluppo, con azide sodico danno, nel successivo sviluppo, due tipi di anomalie. Parte delle uova non riesce a gastrulare e o si arresta nello sviluppo oppure si sviluppa in forme vescicolari più o meno trasparenti. Parte delle uova invece riesce a gastrulare e a raggiungere lo stadio di *ippo*. Alcuni di questi però presentano delle alterazioni principalmente a carico della testa (sinoftalmia, trioftalmia, anoftalmia, monoftalmia laterale, macroftalmia). Gli stadi più sensibili all'azione dell'azide sodico sono gli stadi a 4 e a 8 blastomeri.

Résumé. — Les oeufs de *Physa* (Gastéropode Pulmoné) traités dans les premières phases de développement, avec de l'azide sodique, donnent, dans leur développement successif, deux types d'anomalies. Une partie des oeufs n'arrive pas à la gastrulation et, ou s'arrête dans son développement, ou bien se développe dans des formes vessiculaires plus ou moins transparentes. Une autre partie des oeufs au contraire après la gastrulation arrive jusqu'à l'état de *hippo*. Certains parmi ceux-ci cependant présentent des altérations surtout en ce qui concerne la tête (synophthalmie, triophthalmie, anophthalmie, monophthalmie latérale, macrophthalmie). Les stades les plus sensibles à l'action de l'azide sodique sont les stades à 4 et à 8 blastomères.

Summary. — *Physa rivularis* eggs have been treated with sodium azide at early stages of development.

The development is possible with solutions of 0,5% and 0,25%; higher concentrations are toxic.

The treatment of *Physa* eggs with sodium azide gives rise to the following abnormalities:

a) disturbances to the gastrulation; the gastrulation stops or exogastrulae are obtained.

b) head malformations (cyclopia, synophthalmia, monophthalmia asymmetrica, triophthalmia, anophthalmia, macrophthalmia).

There is a maximum of sensibility to the action of sodium azide at the 4-and 8- cell stages.

(*) Ringrazio il Prof. REVERBERI per aver consigliato e diretto le presenti ricerche.

Zusammenfassung. — Die Eier der *Physa* (eines Pulmonaten Gastropoden), die in ihren ersten Entwicklungsstadien mit Natriumaziden behandelt worden sind, zeigen in ihrer Weiterentwicklung zwei Typen von Anomalien. Der eine Teil der Eier ist nicht mehr fähig eine Gastrula zu bilden und stellt entweder seine Entwicklung ein oder bildet mehr oder weniger durchsichtige Bläschen. Ein Teil der Eier kann sich bis zur Gastrulation entwickeln und erreicht das « Hippo »-Stadium. Einige von ihnen aber weisen dann vorwiegend am Kopf auftretende Veränderungen auf (Synophthalmie, Triophthalmie, Anophthalmie, seitliche Monophthalmie, Macrophthalmie). Besonders empfindlich den Natriumaziden gegenüber sind die Stadien mit 4 bis 8.

Nell'uovo di *Physa rivularis* è presente, fino dai primi stadi di sviluppo, la G-nadi ossidasi [MANCUSO, 1954 (¹)].

Tale sostanza è localizzata nei mitocondri.

L'azide sodico, in determinate concentrazioni, ne blocca l'attività: sì che l'impiego di questo sale permette di definire se e quali rapporti ci sono tra l'enzima e la morfogenesi.

Con questo problema in mente uova di *Physa* di diversi stadi di sviluppo furono trattate con azide sodico a diverse concentrazioni per un tempo definito (= 4 ore). I controlli erano costituiti da uova delle stesse deposizioni fatte sviluppare in soluzioni di glucosio equimolari alle concentrazioni di azide usate. Controllati il pH (= 7,4) e la temperatura (= 20° C). Le concentrazioni usate 0,5%, 0,25%, permettono lo sviluppo: concentrazioni più alte riescono tossiche.

Durante il soggiorno in azide le uova non si sviluppano: uova dello stadio II, IV, VIII completano al massimo una segmentazione: poi restano in blocco.

Riportate in acqua di fonte riprendono a segmentarsi e svilupparsi: ciò avviene dopo 1 ora circa dal transfert. Lo sviluppo risulta ritardato rispetto ai controlli: una crisi si determina alla gastrulazione: molte uova vanno in citolisi, una parte danno exogastrule, altre procedono fino ad *ippo* di cui alcuni anomali. Gli stadi più sensibili all'azione dell'azide sono quelli a 4-8 blastomeri: gli stadi 32-64 blastomeri non risentono sensibilmente l'azione dell'azide: nel grafico della Fig. 1 sono riportati i risultati relativi alle due concentrazioni usate: la linea continua per la concentrazione di 0,5%, la tratteggiata per la concentrazione di 0,25%.

Un'anomalia frequente è quella data dalle exogastrule. Si tratta di

forme vescicolari ripiene di liquido jalino e con una parete costituita in parte da cellule trasparenti e in parte da cellule opache riempite da granuli di tuorlo (Fig. 2, 1). Accanto a queste forme sferiche sono altre forme

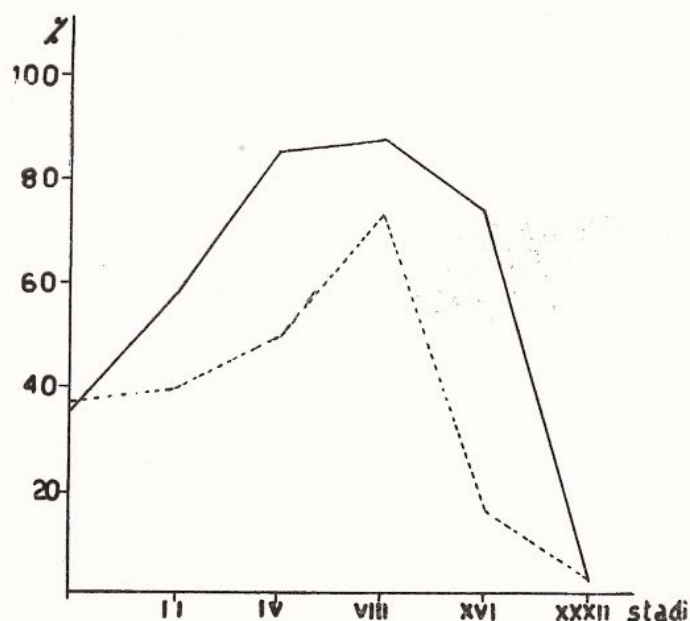


Fig. 1. - Percentuali di uova sensibili all'azide nei diversi stadi: la linea continua è relativa alla concentrazione di 0,5%; la linea tratteggiata è relativa alla concentrazione di 0,25%.

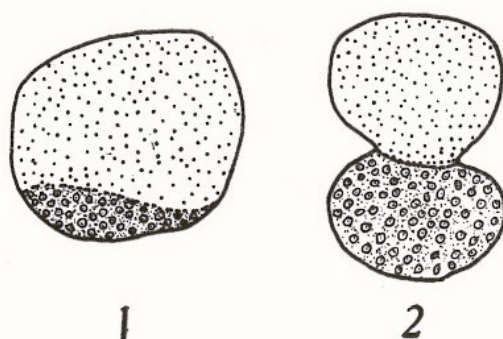
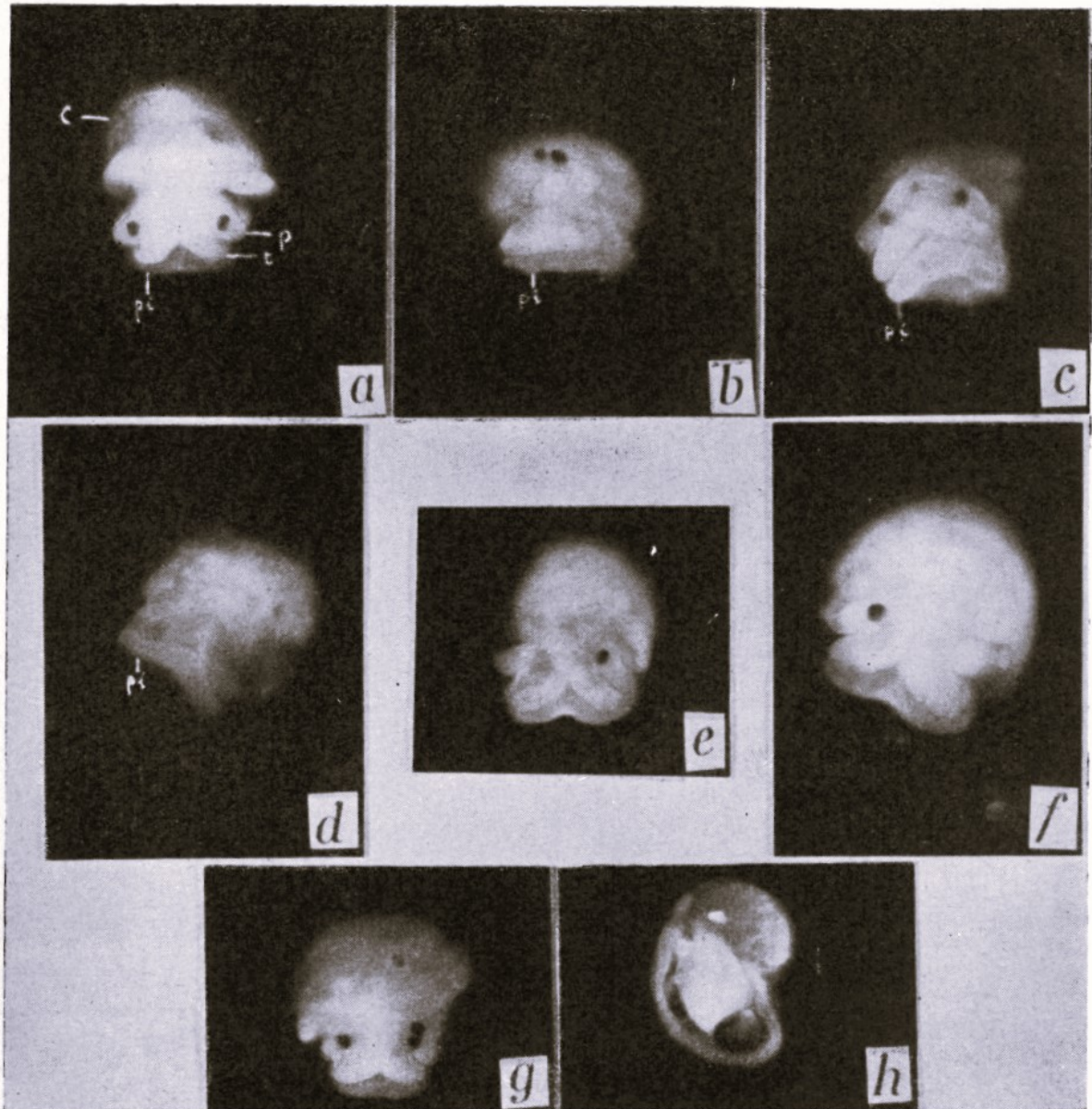


Fig. 2. - Exogastrule: 1 forma vescicolare; 2 forma con blastoporo. Punteggiata la zona costituita da cellule trasparenti; con cerchietti la zona delle cellule opache.

in cui il blastoporo strozza due semivescicole costituite l'una da cellule trasparenti, l'altra da cellule ricche di tuorlo ed opache (Fig. 2, 2).

Frequenti le anomalie a carico della testa negli *ippo*.

Nella Fig. a della tavola I è rappresentato un embrione normale visto dal dinnanzi: lo stadio è di *ippo*. Si distinguono il piede (pi) la



c = conchiglia, p = tentacolo laterale, t = tentacolo labiale, pi = piede.

a - ippo normale.

b - embrione sinofthalmico.

c - embrione con triofthalmia; il terzo occhio è mediano.

d - embrione anofthalmico.

e - monofthalmia laterale sinistra.

f - monofthalmia laterale destra.

g - triofthalmia; due occhi sono sul fianco sinistro, uno sul destro.

h - macrofthalmia

testa, la massa viscerale avvolta dalla conchiglia (c). Nella testa, lateralmente, alla base di due estroflessioni laterali che costituiscono i tentacoli laterali (p) sono gli occhi; ventralmente a questi sono i tentacoli labiali (t) che costituiscono una sorta di labbro superiore.

Negli embrioni con malformazioni cefaliche ottenuti per l'azione dell'azide la disposizione delle strutture cefaliche sopra descritte è alterata. Nei casi di ciclopia è presente un solo occhio nella parte mediana. I tentacoli labiali e i tentacoli laterali sono fusi in un unico grosso tentacolo.

Nella tavola I sono riportate alcune delle anomalie ottenute.

Nella Fig. *b* è rappresentato un caso di sinoftalmia. Sono presenti due occhi ravvicinati medialmente. I tentacoli laterali sono fusi in un unico tentacolo che sovrasta i due occhi. Anche i tentacoli labiali sono fusi e chiaramente visibili sopra il bordo del piede (pi).

Nella Fig. *c* è un caso di trioftalmia. In questo embrione si hanno due occhi laterali, mentre il terzo occhio, più piccolo dei primi due, si trova medialmente; anche esso, come i primi due, è ben pigmentato. I tentacoli labiali sono distinti. I tentacoli laterali sono saldati medialmente da un terzo tentacolo che sovrasta l'occhio mediano.

In *d* è un caso di anoftalmia. Gli occhi sono completamente assenti. Sono presenti due grossi tentacoli fusi nella parte superiore.

Le Figg. *e*, *f*, rappresentano due casi di monoftalmia laterale. Nella Fig. *e* l'embrione possiede soltanto l'occhio sinistro, manca il destro; nell'embrione della Fig. *f* manca invece l'occhio sinistro, è presente il destro.

La Fig. *g* rappresenta un altro caso di trioftalmia. Sul fianco sinistro dell'embrione sono presenti due occhi ben differenziati, mentre il terzo occhio, anche esso ben sviluppato è sul fianco destro.

La Fig. *h* mostra un caso di macroftalmia. I due occhi si sono sviluppati considerevolmente. I tentacoli laterali e i tentacoli labiali sono molto ridotti.

CONCLUSIONI

Dalle presenti ricerche emergono i seguenti risultati:

a) l'azide sodico, in concentrazioni appropriate, produce blocco della segmentazione: questo blocco, però non è irreversibile perchè, ricondotte le uova in acqua normale, queste riprendono a svilupparsi, sebbene più lentamente dei controlli. Questa azione dell'azide sodico sulla segmentazione è stata osservata da diversi Autori, e può essere ri-

condotta alla soppressione dell'attività enzimatica nei cicli interessati con l'energia;

b) le uova sottratte all'azione dell'azide riprendono il loro sviluppo: ma l'azione dell'azide si rivela, sia nella gastrulazione, sia nella morfogenesi. Molte uova, all'epoca della gastrulazione, vanno in disfacimento; altre non gastrulano (= exogastrule); altre procedono nello sviluppo, ma danno origine a forme più o meno anormali. Le anomalie più salienti sono a carico delle formazioni cefaliche: tentacoli, occhi; frequente la fusione degli occhi, l'assenza di un occhio o di ambedue, la triplicazione. Queste anomalie esterne devono essere accompagnate da anomalie interne che uno studio istologico potrà mettere in evidenza;

c) le anomalie da azione dell'azide non sembrano essere specifiche: il litio infatti, secondo le ricerche di RAVEN ⁽²⁾, è capace di produrre nell'uovo della *Limnaea*. Il KCN [HALJE e RAVEN ⁽³⁾] e l'anaerobiosi [RAVEN e RIJCKEVORSEL ⁽⁴⁾] possono ancora produrre tali malformazioni.

Il problema nodale è quello del significato di tali anomalie. Una ponderata considerazione spinge a ritenere che l'azide eserciti la sua azione sulla segmentazione e sui movimenti morfogenetici. Probabilmente l'unica cosa che venga inceppata dall'azione dell'azide sodico sono i meccanismi connessi con la liberazione dell'energia. Questo modo di vedere corrisponde anche meglio alla raffigurazione che noi ci facciamo degli enzimi e della loro azione.

Palermo — Istituto di Zoologia dell'Università e Roma — Istituto Superiore di Sanità.

BIBLIOGRAFIA .

(¹) MANCUSO V. - Ric. Scient., 24: 1886 (1954).

(²) RAVEN CHR. P. - Arch. Néerl. Zool., 8: 1 (1949).

(³) HALJE S. C. A. e RAVEN CHR. P. - Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch., Amsterdam, 56: 327 (1953).

(⁴) RAVEN CHR. P. e RIJCKEVORSEL V. F. - Proc. Kon. Akad. v. Wetensch., Amsterdam, 56: 1 (1953).