
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

IVAN BENEDETTI, MILENA MARINI

**Le cellule gangliari intraspinali nei Teleostei. III.
Brachydanio rerio**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 52 (1972), n.1, p. 101–105.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1972_8_52_1_101_0>](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1972_8_52_1_101_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. — *Le cellule gangliari intraspinali nei Teleostei. III.* Brachydanio rerio (*). Nota di IVAN BENEDETTI e MILENA MARINI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — In an oviparous teleost, *Brachydanio rerio*, the Rohon-Beard cells begin to differentiate early in the dorso-lateral region of the spinal cord (st. 19), then they reach the dorso-medial position (st. 20-23).

The Rohon-Beard cells are completely differentiated at the hatching time (st. 25) when they attain the highest number.

Six days later the Rohon-Beard cells begin to rarefy and then disappear.

The involutive features of these neurons are described.

In due precedenti Note abbiamo riferito che i Teleostei ovovivipari, *Gambusia* (Benedetti e Marini [1]) e *Poecilia* (Marini e Benedetti [2]), non presentano durante lo sviluppo neuroni gangliari intraspinali o cellule di Rohon-Beard; questo fatto è stato messo in rapporto con la condizione ovovivipara. Nella presente Nota riferiamo le osservazioni relative alle cellule di Rohon-Beard in un Teleosteo oviparo.

Vanno ricordati in proposito i dati più indicativi sulle cellule di Rohon-Beard negli embrioni di Teleostei ovipari.

Rohon [3], per primo, ha descritto in embrioni di Trota grandi cellule nervose e precoce differenziamento, situate a coppie nella regione dorso-mediale del midollo spinale. Tale reperto è stato confermato da Van Gehuchten [4], il quale interpreta questi neuroni come elementi gangliari che restano all'interno del midollo spinale.

Harrison [5], sempre in un Salmonide, oltre a confermare il precoce differenziamento delle cellule gangliari intraspinali, precisa che esse compaiono nella regione laterale del midollo spinale e poi migrano nella regione dorsale, ove si dispongono su due file simmetriche rispetto al piano sagittale mediale. Questi neuroni si differenziano durante la migrazione. L'Autore ritiene che tali cellule costituiscano un sistema sensitivo destinato ad involversi all'epoca del riassorbimento del tuorlo.

Successivamente Insabato [6] ha precisato alcuni dettagli morfologici delle cellule di Rohon-Beard in avanotti di Trota prelevati a vari tempi dopo la schiusa.

I neuroni gangliari intraspinali transitori, oltre che nei Salmonidi, sono stati osservati in *Perca* e *Rhodeus* da Studnicka [7], il quale ha rilevato come questo sistema scompaia durante lo sviluppo embrionale.

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia comparata dell'Università, Via Berengarario 14, 41100 Modena.

(**) Nella seduta del 15 gennaio 1972.

Di recente Tracy [8], esaminando lo sviluppo del sistema muscolare e nervoso del tronco in *Opsanus*, ha osservato che il sistema sensitivo transitorio costituito dalle cellule di Rohon-Beard in questo Teleosteo ha uno sviluppo minore di quello osservato in altre specie. Secondo l'Autore ciò è dovuto al fatto che gli embrioni di *Opsanus* sono protetti da involucri ovulari particolarmente robusti.

Weis [9] infine ha osservato che in *Brachydanio* il sistema sensorio primitivo è costituito dalle cellule di Rohon-Beard, le quali si differenziano in embrioni a stadio 22-23, però, a differenza di quanto osservato nelle altre specie, esse migrano (stadio 24) sulla superficie esterna del midollo, sotto la meninge; in questa sede le cellule di Rohon-Beard formano dei piccoli gruppi e restano tali per alcune settimane dopo la nascita, fino a quando la loro funzione non viene assolta dai gangli spinali.

Dai dati bibliografici esposti risulta come nei Teleostei ovipari le cellule di Rohon-Beard presentano un quadro uniforme, tranne in *Brachydanio* ove si accenna una situazione del tutto peculiare che ci è parsa degna di un esame dettagliato.

Ai fini della presente ricerca abbiamo esaminato il Teleosteo oviparo d'acqua dolce *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan). Sono stati presi in considerazione una serie di stadi embrionali classificati in base alle tavole di Hisaoka e Battle [10] (da stadio 19 a stadio 25 = schiusa) ed individui prelevati a vari tempi dopo la schiusa (2, 6, 9, 12, 18, 24 e 30 gg.).

Tutto il materiale è stato ottenuto da uova deposte da una sola femmina e lasciate sviluppare in acquario alla temperatura di $26 \pm 1^\circ\text{C}$. Dopo la schiusa i giovani sono stati alimentati con crostacei liofilizzati.

Di ogni stadio sono stati fissati 5 individui in liquido di Bouin. Tutto il materiale, incluso in celloidina-paraffina, è stato sezionato in serie trasversali dello spessore di 5μ .

Oltre ad una serie colorata con il metodo di Mallory-Azan, due serie di preparati sono state trattate con il blu di toluidina in mezzo tamponato a pH 4,6, e controlli pretrattati in acido perclorico, per la messa in evidenza della sostanza basofila.

Le misurazioni delle cellule di Rohon-Beard sono state effettuate su almeno 10 elementi per ogni individuo scelti a vari livelli del midollo; sono stati presi in considerazione solo gli elementi forniti di nucleolo e meglio orientati sul piano di taglio.

Negli embrioni di *Brachydanio* a stadio 19 il midollo spinale è costituito dallo strato mantellare con elementi per lo più indifferenziati, spesso in attività mitotica. Disseminate a varie altezze del grigio laterale e dorsale spiccano alcune cellule per le maggiori dimensioni del nucleo rotondeggiante e vescicoloso (diametro medio $6,1 \mu$) provvisto di uno o più nucleoli; i più dorsali tra questi elementi presentano piccoli granuli di sostanza basofila nel citoplasma e vanno interpretati come cellule di Rohon-Beard in sviluppo (Tav. I, fig. 1).

Nei successivi stadi (20-23) lo strato mantellare si ispessisce, si abbozza lo strato marginale e alla periferia del grigio gli elementi in differenziamento compaiono a tutti i livelli. Nella regione dorsale del grigio (Tav. I, fig. 2) le cellule di Rohon-Beard divengono numerose (in media 57 a stadio 23); inoltre, dislocati a varie altezze, si osservano ancora alcuni grossi neuroblasti. Le dimensioni nucleari delle cellule di Rohon-Beard restano simili a quelle

dello stadio 19 (diametro nucleare medio 6,2–6,3 μ), mentre aumenta la basofilia citoplasmatica (diametro cellulare medio 8,5 μ).

Nel midollo spinale degli embrioni prossimi alla schiusa (stadio 24) e di quelli appena schiusi (stadio 25) lo strato marginale appare ispessito e compaiono le radici ventrali; a livello del grigio ventrale si osservano neuroni motori in avanzato differenziamento. Nel grigio dorsale le cellule di Rohon-Beard sono aumentate di numero (in media 63 elementi a stadio 24 e 85 alla schiusa) e sono scomparsi i grossi neuroblasti. Le cellule di Rohon-Beard, ormai completamente differenziate, spiccano per le dimensioni (diametro citoplasmatico medio 9 μ), per i vistosi nucleoli (1–3), ma specialmente per l'abbondante sostanza basofila in granulazioni marcate che infarciscono il corpo cellulare; esse si presentano singole o a coppie nella tipica posizione dorso-mediale (Tav. I, figg. 3 e 4).

Nel midollo spinale degli individui fissati a vari tempi dopo la schiusa si osserva il progressivo ispessimento della sostanza bianca, mentre le cellule del grigio vanno completando il loro differenziamento; contemporaneamente si formano le radici dorsali dei gangli spinali (Tav. I, fig. 5).

Negli animali sgusciati da 6 gg. il numero delle cellule di Rohon-Beard si riduce a circa 60; nei giorni successivi esse continuano gradualmente a rarefarsi (in media 45 a 12 gg. e 36 a 18 gg.) tanto che a 30 gg. dalla schiusa ne restano solamente una decina. In questo periodo, frammiste a cellule di Rohon-Beard che conservano aspetto tipico, compaiono in numero via via crescente elementi alterati. In base alla progressiva riduzione dei diametri nucleare (da 6,3 μ a 4,2 μ) e cellulare (da 9 μ a 5,3 μ) e alle modificazioni morfologiche sono stati serati tre quadri:

a) elementi con modesta riduzione dei diametri nucleare e cellulare, riduzione della sostanza basofila e lieve deformazione del nucleo (Tav. I, fig. 6);

b) cellule con ulteriore riduzione volumetrica del citoplasma e del nucleo che spesso presenta lobature; la sostanza basofila scompare alla periferia del corpo cellulare, ma si conserva attorno al nucleo (Tav. I, fig. 7);

c) elementi con drastica atrofia del nucleo, che appare spesso torbido e privo di nucleoli, e del citoplasma che si riduce ad un sottile anello basofilo perinucleare (Tav. I, fig. 8).

Dai dati esposti risulta che nel midollo spinale degli embrioni più giovani vi sono alcuni elementi i quali, per la posizione dorsale e l'aspetto morfologico (nuclei grandi e vescicolosi, citoplasma con granulazioni basofile) sono da interpretare come cellule di Rohon-Beard in sviluppo. Oltre a queste cellule, dislocati a varie altezze del grigio dorso-laterale, si osservano alcuni neuroblasti in incipiente differenziamento, come lo denotano i nuclei voluminosi e vescicolosi. Nei successivi stadi di sviluppo, con l'aumento numerico delle cellule di Rohon-Beard si osserva la rarefazione dei grossi neuroblasti del grigio dorso-laterale. Da ciò se ne deduce che le cellule di Rohon-Beard cominciano

a differenziarsi precocemente nella regione laterale del midollo spinale, quindi si portano nella tipica posizione dorso-mediale, come ha osservato Harrison [5] nei Salmonidi.

Va inoltre sottolineato che nei neuroni di Rohon-Beard il primo accenno al differenziamento si manifesta con un aumento volumetrico del nucleo, il quale raggiunge fin dall'inizio le dimensioni tipiche (infatti da stadio 19 fino a dopo la schiusa il diametro nucleare medio oscilla tra $6\ \mu$ e $6,3\ \mu$) (Tav. I, figg. 1-4). Questo processo ricorda quanto descritto da Stefanelli e Baffoni [11] in altri grossi neuroni, a precoce differenziamento, di *Brachydanio*.

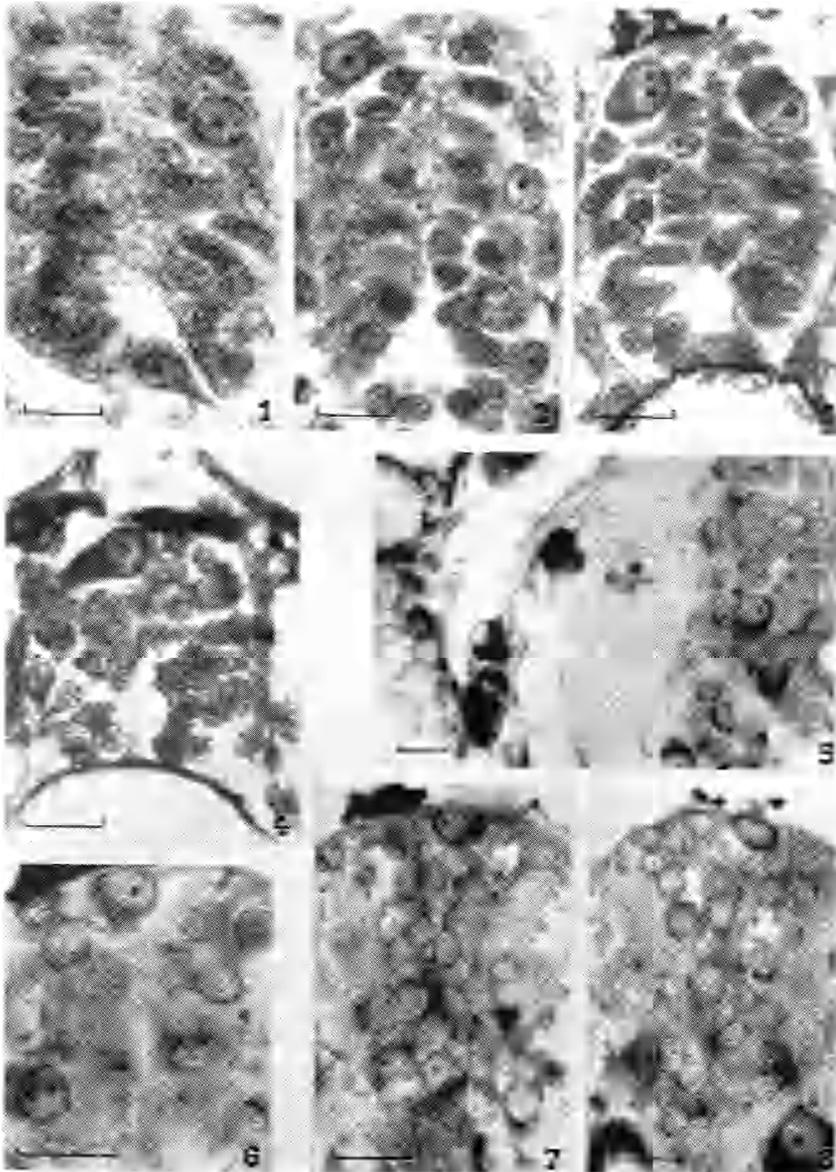
All'epoca della schiusa le cellule di Rohon-Beard raggiungono la massima densità numerica (in media 85) e le massime dimensioni cellulari (diametro medio $9\ \mu$); esse presentano nuclei forniti di vistosi nucleoli e citoplasma infarcito di marcate granulazioni basofile.

A partire da una settimana dopo la schiusa le cellule di Rohon-Beard cominciano a rarefarsi; nello stesso tempo compaiono cellule di Rohon-Beard alterate, disseminate tra altre che conservano l'aspetto tipico. Va sottolineato che mentre il numero totale delle cellule di Rohon-Beard diminuisce, tra le superstiti divengono progressivamente più numerosi gli elementi alterati; infatti nei giovani a 18-21 gg. dopo la schiusa tutte le cellule di Rohon-Beard si presentano nei vari quadri di involuzione (Tav. I, figg. 6-8) mentre a 30 gg. le poche cellule superstiti presentano il quadro più alterato (Tav. I, fig. 8). Ciò è avvalorato dalla riduzione del diametro cellulare ($9\ \mu$ alla schiusa, $7,5\ \mu$ a 18 gg., $5,8\ \mu$ a 21 gg. e $5,3\ \mu$ a 30 gg.) e nucleare ($6,3\ \mu$ alla schiusa, $4,9\ \mu$ a 12-21 gg. e $4,2\ \mu$ a 30 gg.). La riduzione volumetrica e le modificazioni morfologiche presentate dalle cellule di Rohon-Beard, in concomitanza con la rarefazione numerica, sono espressione del processo involutivo che porta alla scomparsa di questi neuroni. Le modalità con cui tale processo si effettua ricordano i quadri della tigliolisi periferica descritta da Baffoni e Catte [12] a carico dei neuroni mauthneriani in involuzione.

Va sottolineato che la descrizione dei quadri della involuzione fisiologica che porta alla scomparsa delle cellule di Rohon-Beard di *Brachydanio*, è un dato nuovo per i Teleostei.

In base ai risultati esposti si può quindi concludere che anche in *Brachydanio* le cellule di Rohon-Beard cominciano a differenziarsi precocemente nella regione laterale del midollo spinale (stadio 19), quindi si portano nella tipica posizione dorso-mediale (stadio 20-23); all'epoca della schiusa esse raggiungono il numero più elevato e, a partire da 6 gg dopo la schiusa, gradualmente si rarefanno e si involgono dopo la formazione delle radici dorsali dei gangli spinali (Tav. I, fig. 5).

In *Brachydanio* pertanto, le cellule di Rohon-Beard non abbandonano il midollo, come supposto da Weis [9], ma si comportano come osservato in Condroidi (cfr. Beard [13]), Osteitti (cfr. Harrison [5], Insabato [6], Tracy [8] ed Anfibi ovipari (cfr. Coghil [14], De Filippis [15], Nieuwkoop



Cellule di Rohon-Beard in embrioni di *Brachydanio* a stadio 19 (fig. 1), 21 (fig. 2), 24 (fig. 3) e 25 (fig. 4); ganglio spinale e radice dorsale in un individuo a 18 gg. dopo la schiusa; cellule di Rohon-Beard in involuzione di individui a 18 gg. dopo la schiusa (figg. 6-7) e a 30 gg. (fig. 8).

(Ogni tratto in calce alle fig. = 10 μ).

e Faber [16], Marchesini e Marini [17]). Ciò conferma che il sistema sensitivo transitorio costituito dalle cellule di Rohon-Beard, presenta uniformità di comportamento tra Vertebrati appartenenti a classi diverse.

BIBLOGRAFIA

- [1] BENEDETTI I. e MARINI M., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 49, 223-228 (1970).
- [2] MARINI M. e BENEDETTI I. « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 51, 260-263 (1971).
- [3] ROHON J. V., « Sitzber. Bayer. Akad. Wiss. » (Munchen), 39-56 (1884).
- [4] VAN GEHUCHTEN A., « Bull. Acad. Roy. Sci » (Belg), 30, 495-519 (1895); 34, 24-38 (1897).
- [5] HARRISON R. G., « Arkiv mikr. Anat. Entw. », 57, 354-444 (1901).
- [6] INSABATO L., « Arch. Ital. Anat. Embriol. », 18, Suppl., 11-28 (1922).
- [7] STUDNIČKA F. K., « Sitzber. Kön. Böhmisch. Ges. Wiss. » (Prag) 51, 1-32 (1895).
- [8] TRACY H. C., « J. Comp. Neurol. », 116, 291-315 (1961).
- [9] WEIS J. S., « J. Embryol. exp. Morphol. », 19, 109-119 (1968).
- [10] HISAOKA K. K. e BATTLE H. I., « J. Morphol. », 102, 311-328 (1958).
- [11] STEFANELLI A. e BAFFONI G. M., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 12, 110-116 (1952).
- [12] BAFFONI G. M. e CATTE G., « Riv. Biol. », 43, 373-397 (1951).
- [13] BEARD J. « Zool. Jahrb. » (Abt. f. Anat.), 9, 319-426 (1896).
- [14] COGHILL G. E., « J. Comp. Neurol. », 24, 161-233 (1914).
- [15] DE FILIPPIS S., « La Ric. Sci. », 28, 967-972 (1958).
- [16] NIEUWKOOP P. D. e FABER J., *Normal table of Xenopus laevis (Daudin). A systematical and chronological survey of the development from the fertilized egg till the end of metamorphosis.* (North-Holland Pu. Co., Amsterdam 1967).
- [17] MARCHESINI D. e MARINI M., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 45, 84-89 (1968).