
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ALDO ROSSI, VALERIA PRETAZZOLI

**Ulteriori considerazioni sulla morfoecologia
cerebellare degli Urodeli**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 57 (1974), n.1-2, p.
133-140.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1974_8_57_1-2_133_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. — *Ulteriori considerazioni sulla morfoecologia cerebellare degli Urodeli* (*). Nota (**) di ALDO ROSSI e VALERIA PRETAZZOLI, presentata dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The cerebellar morphology and cytoarchitectonic of *Ambystoma tigrinum* and *Triturus cristatus carnifex*, have been studied in relation to developmental and functional factors.

The cerebellum of metamorphosed *Ambystoma* is more and better developed than that of neotenic Axolotl. On the contrary, the cerebellar morphology of *Triturus* premetamorphic larvae is similar to that of the adult.

These data indicate that in Urodela the permanently larval stage is a limiting factor to cerebellar development, independently of functional developmental factors such as the type of locomotion.

In una precedente ricerca (Rossi e Fantini, 1972 [1]) è stato messo in evidenza che gli Urodela adattati alla vita terrestre hanno un corpus cerebelli morfologicamente più evoluto di quello degli Urodela specializzati al nuoto. Similmente agli Anfibi anuri, ai Rettili ed ai Mammiferi (Larsell, 1926 [2]; Pietrogrande, 1941 [3], 1942 [4]; Stefanelli e Pietrogrande, 1942 [5]; Stefanelli, 1943 [6]), anche negli Urodela la specializzazione alla locomozione tetrapoda porta ad un perfezionamento della citoarchitettura delle cellule di Purkinje. Tuttavia è stato considerato che gli Urodela adattati al solo nuoto, si trovano in una condizione di premetamorfosi più o meno avanzata e pertanto si è considerato che il perfezionamento della morfologia e della citoarchitettura del loro cervelletto dipende non solo dalla specializzazione al nuoto ma anche dallo stadio di sviluppo raggiunto a maturità sessuale dall'animale.

Nella presente ricerca si prende nuovamente in esame quest'ultimo aspetto del problema e a tale scopo è stato comparato il cervelletto di un Urodela neotenco (Axolotl) con quello della corrispondente forma metamorfosata (*Ambystoma tigrinum*) ed anche i cervelletti di larve in premetamorfosi, di individui metamorfosati e di adulti, in una specie (*Triturus cristatus carnifex*) che in genere non presenta arresti di sviluppo.

MATERIALE E METODO

Sono stati presi in esame esemplari neotenici (Axolotl) e metamorfosati di *Ambystoma tigrinum* (sin. *Ambystoma mexicanum* Cope) ed esemplari di *Triturus cristatus carnifex* Laur. in stato larvale di premetamorfosi (stadio 62/63 sec. Glücksohn, 1932 [7]), metamorfosati ed adulti. I pesi e le lunghezze degli animali sono indicati nella Tabella I.

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia comparata dell'Università di Roma, con un contributo del CNR.

(**) Pervenuta all'Accademia il 31 luglio 1974.

TABELLA I

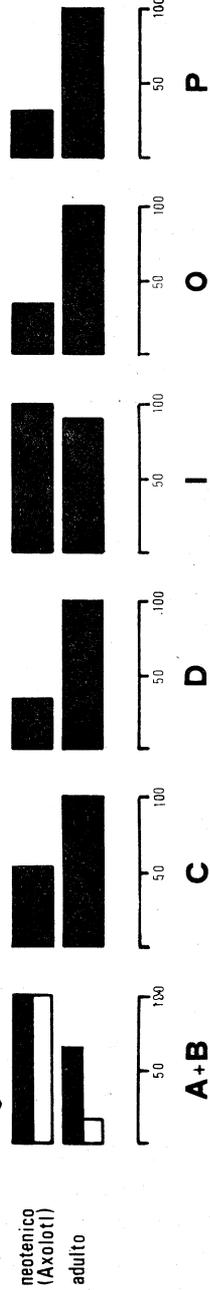
SPECIE	A	B	C	D	E	F	G	H	I	L	M	N	O	P
	Lunghezza corpo animale (cm)	Peso corpo animale (gr)	Volume totale corpus cerebelli (mm ³)	Volume totale parte granulata (mm ³)	% di D rispetto a C	Volume totale parte molecolare (mm ³)	% di F rispetto a C	Diametro medio del nuclei (μ)	Volume medio del nuclei (μ^3)	Densità nucleare per unità di superficie ($150 \times 75 \mu$)	Unità di volume (μ^3)	Valore medio del volume nucleare per unità di volume (μ^3)	Valore medio del volume del nuclei (mm ³)	Valore medio del numero del nuclei
<i>Triturus cristatus carnifex</i>	5,7	1,7	0,01811	0,01245	69	0,00566	31	8,8 ± 1,8	412 ± 263(*)	99,8 ± 15,2(*)	99,348 ± 21,685(*)	41,117,6	0,00515	12,500
premetamorfoosi														
metamorfoosi	6,5	1	0,03035	0,02046	67	0,00988	33	9,3 ± 2,1	491 ± 390	91,4 ± 10,2	105,093 ± 23,495	44,877,4	0,00873	17,780
adulto	11,5	7	0,07243	0,04094	57	0,03151	43	10,2 ± 2,2	634 ± 445	64,8 ± 12,2	114,441 ± 25,087	41,083,2	0,01469	23,170
<i>Ambystoma tigrinum</i>														
neotenco	23	105	0,11662	0,04930	41	0,06733	59	10,1 ± 2,4	623 ± 439	61,8 ± 21,9	113,146 ± 26,542	38,501,4	0,01677	26,918
adulto	15	18	0,22349	0,14605	65	0,07745	35	9,7 ± 2,1	554 ± 352	67,8 ± 14,8	109,865 ± 23,343	37,561,2	0,04993	90,126

(*) deviazione standard; M = diametro (in μ) per unità di superficie ($150 \times 75 \mu$); N = LxL; O = (N x D)/M; P = (O/I).

Triturus cristatus carnifex



Ambystoma tigrinum



I grafici A+B, C, D, I, O, P corrispondono alle colonne contrassegnate con le stesse lettere della Tabella I. Gli istogrammi sono stati ricavati considerando 100 il valore massimo della relativa colonna. Nel grafico A+B le zone nere corrispondono alla lunghezza corporea e quelle bianche al peso dell'animale.

I cervelli sono stati fissati per immersione in Bouin acetico; le sezioni seriate di 10 μ sono state impregnate col metodo Bodian al protargolo virato all'oro. Le sezioni trasverse del cervelletto sono state disegnate e planimtrate per determinare il volume totale dell'organo e quello relativo delle parti granulare e molecolare

RISULTATI

Nella Tabella I è riportato un insieme di dati ⁽¹⁾ riguardanti: a) il corpus cerebelli della larva in premetamorfosi, del metamorfosato e dell'adulto di *Triturus cristatus carnifex*; b) l'intero cervelletto del neotenico e del metamorfosato di *Ambystoma tigrinum*, data l'impossibilità di fare una netta distinzione fra la porzione auricolare ed il corpus cerebelli.

Ambystoma tigrinum.

A) Neotenico.

L'Axolotl è la forma neotenica dell'*Ambystoma tigrinum*. Gli individui esaminati hanno circa 7 anni di età e conducono vita esclusivamente acquatica.

Il cervelletto appare come una breve lamina che origina ai lati del rombencefalo e segue il mesencefalo con l'interposizione di una tela sterile. Non si distinguono le porzioni auricolari. Lo strato granulare non ha precisi confini, poiché elementi cellulari si trovano sparsi in tutto lo spessore della lamina cerebellare. Col tipo di impregnazione impiegato, difficile è la identificazione delle cellule di Purkinje che si trovano sparse fra i granuli e le fibre. Il volume totale del cervelletto è di 0,11662 mm³: il 41% è occupato dalle cellule ed il 59% dalle fibre.

B) Metamorfosato.

Gli animali metamorfosati sono molto più piccoli dei neotenici (Tabella I, colonne A-B) e conducono vita acquatica solo durante i mesi estivi (Noble 1931 [8]).

Il cervelletto è costituito da due porzioni controlaterali (corpus cerebelli) fuse medialmente ed è sormontato dalla porzione caudale del mesencefalo. Non si distinguono le tipiche porzioni auricolari. Netta è la separazione fra gli strati molecolare e granulare: al loro confine sono identificabili cellule di Purkinje disposte in più file. Il volume totale del cervelletto è di 0,22349 mm³: il 65% è costituito dalla parte granulare ed il 35% da quella molecolare.

Triturus cristatus carnifex.

Questo Urodelo, anche dopo la metamorfosi, conserva uno stretto rapporto con la vita acquatica, soprattutto durante il periodo della riproduzione.

(1) Ringraziamo la dott.ssa Semprini per l'elaborazione statistica dei dati.

A) Larve in premetamorfosi.

Nel cervelletto si distinguono le parti auricolari ed il corpus cerebelli. Quest'ultimo è costituito da due parti controlaterali fuse medialmente ed è sormontato dalla parte caudale del mesencefalo. Netta è la separazione fra gli strati molecolare e granulare: in quest'ultimo rilevante è l'addensamento degli elementi cellulari (Tav. I, fig. 3 e Tab. I, colonna L). Con l'impregnazione Bodian virata all'oro, non si identificano le cellule di Purkinje. Il volume del corpus cerebelli è di $0,01811 \text{ mm}^3$: il 69 % è costituito dalla parte granulare ed il 31 % da quella molecolare.

B) Metamorfosati.

Il corpus cerebelli è morfologicamente simile a quello delle larve in premetamorfosi. Con la tecnica d'impregnazione seguita, non si identificano le cellule di Purkinje al confine fra gli strati molecolare e granulare; gli elementi cellulari di quest'ultimo sono addensati (Tav. I, fig. 4) ma in minor grado rispetto alla larva in premetamorfosi (Tab. I, colonna L). Il volume del corpus cerebelli è di $0,03035 \text{ mm}^3$: il 67 % è costituito dalla parte granulare ed il 33 % da quella molecolare.

C) Adulto.

Il corpus cerebelli, pur conservando la morfologia generale di quello dell'individuo appena metamorfosato, presenta una netta evoluzione strutturale a livello dei fasci e delle commissure, un maggior spazio fra le cellule dello strato granulare (Tav. I, fig. 5 e Tab. I colonna L) ed un preciso differenziamento delle cellule di Purkinje, disposte in più file, al limite fra gli strati molecolare e granulare. Il volume del corpus cerebelli è di $0,04094 \text{ mm}^3$: il 57 % è costituito dalla parte granulare ed il 43 % da quella molecolare.

DISCUSSIONE

È noto che il perfezionamento della morfologia cerebellare è dipendente dalla qualità e quantità delle vie afferenti al cervelletto. In quei Teleostei in cui vi è una specializzazione alla elettrolocalizzazione, si determina un alto perfezionamento morfologico e citoarchitettonico del corpus cerebelli (Franz, 1912 [9]). Inoltre è stato osservato che nei buoni nuotatori la valvola è più sviluppata di quella dei pesci stanziali (Bănărescu, 1957 [10]; Rossi, Capanna e Tamino, 1968 [11]). Diversamente nei Vertebrati terrestri l'evoluzione della struttura del cervelletto e della citoarchitettonica delle cellule di Purkinje, sono dipendenti dalla specializzazione alla locomozione tetrapoda (Larsell, 1926 [2]; Pietrogrande, 1941 [3], 1942 [4]; Stefanelli e Pietrogrande, 1942 [5]; Stefanelli, 1943 [6]).

Anche negli Urodela il perfezionamento della morfologia cerebellare appare correlata al tipo di locomozione dell'animale (Rossi e Fantini 1972 [1]): infatti

gli Urodeli adattati alla vita terrestre (*Hydromantes genei* e *Salamandra maculosa*) hanno un perfezionamento morfologico e citoarchitettico del corpus cerebelli superiore a quello degli Urodeli con vita acquatica e terrestre (*Triturus cristatus carnifex* e *Triturus vulgaris*) e di quelli completamente acquatici (Axolotl, *Amphiuma tridactylum*, *Necturus maculosus*). È tuttavia necessario distinguere fra gli Urodeli adattati al nuoto, quelli che vivono in acqua in dipendenza della loro persistente condizione di neotenia e quelli metamorfosati che tornano all'acqua per la riproduzione o per altre esigenze ambientali. Appare possibile quindi che lo stadio di sviluppo raggiunto dall'Urodello rispetto all'adulto, possa agire da fattore limitante l'evoluzione cerebellare indipendentemente dalle differenze determinate dal tipo di locomozione dell'animale.

Confrontando l'*Ambystoma* con l'Axolotl, risulta che il cervelletto del metamorfosato è strutturalmente molto più evoluto di quello della forma neotenuca. Nel cervelletto di quest'ultimo le cellule non sono riunite in un definito strato granulare, mentre nel cervelletto dell'*Ambystoma* vi è una netta distinzione fra gli strati molecolare e granulare e al loro confine sono distribuite – in più file – le cellule di Purkinje. La lunghezza ed il peso dell'*Ambystoma* sono minori rispetto a quelli dell'Axolotl, tuttavia il cervelletto del metamorfosato è volumetricamente maggiore di quello del neotenuco: in particolare la parte granulare aumenta di più di quella molecolare e tale incremento è dovuto principalmente all'aumento numerico degli elementi cellulari.

In *Triturus cristatus carnifex* il corpus cerebelli delle larve in premetamorfosi ha già una organizzazione morfologica generale simile a quella del corpus cerebelli degli individui metamorfosati ed adulti. Con lo sviluppo corporeo degli animali, il corpus cerebelli aumenta volumetricamente ed in proporzione la parte molecolare aumenta più di quella granulare. L'incremento volumetrico di quest'ultima dipende in parte dall'aumento numerico degli elementi cellulari (Tab. I, colonna P) e ciò è in accordo con le precedenti ricerche di Baffoni (1961 [12]) sull'attività mitotica nell'abbozzo cerebellare durante lo sviluppo di *Triturus*. Dalle nostre osservazioni risulta inoltre che l'aumento volumetrico della parte granulare dipende anche dall'aumento della grandezza cellulare e degli spazi intercellulari (Tab. I, colonne I, D, O).

Da questo breve raffronto appare evidente che in *Triturus* gli ormoni della metamorfosi predispongono il corpus cerebelli delle larve in premetamorfosi per una organizzazione strutturale e citoarchitettica già simile a quella dell'adulto e pertanto idonea al futuro adattamento dell'animale alla vita terrestre. Dopo la metamorfosi la specializzazione alla locomozione tetrapoda può essere una delle principali cause dell'incremento volumetrico del corpus cerebelli e numerico degli elementi cellulari della parte granulare come anche del differenziamento e della citoarchitettica delle cellule di Purkinje.

In *Ambystoma tigrinum* la morfologia cerebellare dell'Axolotl è diversa da quella della corrispondente forma adulta ed anche da quella delle larve in premetamorfosi di *Triturus*. Diversamente i cervelletti di *Ambystoma* e di *Triturus* adulti sono simili dal punto di vista citoarchitettico.

Si deve ritenere pertanto che nell'Axolotl il differenziamento delle strutture cerebellari si è arrestato ad uno stadio larvale precoce. La mancanza di un differenziamento condizionato dall'azione dell'ormone tiroideo sul sistema nervoso centrale (Weiss e Rossetti, 1951 [13]) - dipendente da una carente interazione ipotalamo-ipofisaria (Etkin, 1964, p. 455 [14]) - ha limitato l'accrescimento numerico degli elementi cellulari e conseguentemente l'aumento volumetrico del cervelletto. Il successivo adattamento morfologico dell'organo all'accrescimento corporeo dell'animale ed il suo invecchiamento in un perenne stato di sviluppo larvale, possono aver contribuito a modificare l'originale citoarchitettura dello strato granulare e quello delle cellule di Purkinje.

Concludendo, nell'Axolotl lo stato di neotenia dell'animale condiziona il differenziamento delle strutture cerebellari indipendentemente da altri fattori morfogenetici come il tipo di afferenze cerebellari in relazione alla locomozione natatoria. Negli Urodela che invece metamorfosano, il cervelletto, strutturalmente già simile a quello dell'adulto, si perfeziona sotto l'azione morfogenetica esercitata dalle afferenze cerebellari dipendenti dall'adattamento alla vita terrestre e dalla specializzazione alla locomozione tetrapoda.

BIBLIOGRAFIA

- [1] A. ROSSI e M. S. FANTINI (1972) - *La struttura cerebellare degli Anfibi urodela in rapporto al loro tipo di locomozione*, « Arch. Ital. Anat. Embr. », 77, 347.
- [2] O. LARSELL (1926) - *The cerebellum of reptiles: lizards and snake*, « J. Comp. Neurol. », 41, 59.
- [3] V. PIETROGRANDE (1941) - *Sulla disposizione delle cellule di Purkinje in rapporto al modo di locomozione in alcuni Rettili*, « Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. », 16, 25.
- [4] V. PIETROGRANDE (1942) - *La citoarchitettura cerebellare dei Rettili e suo rapporto con il tipo di locomozione*, « Arch. Ital. Anat. Embriol. », 48, 300.
- [5] A. STEFANELLI e V. PIETROGRANDE (1942) - *Ricerche istologiche comparative sui nuclei cerebellari dei Rettili*, « Ric. Morf. », 20, 351.
- [6] A. STEFANELLI (1943) - *Osservazioni comparative sui nuclei cerebellari dei Rettili in relazione al differente modo di locomozione*, « Monit. Zool. Ital. », 54, 62.
- [7] S. GLÜCKSOHN (1932) - *Äussere Entwicklung der Extremitäten und Stadieneinteilung der Larvenperiode von Triton taeniatus Leyd. und Triton cristatus Laur.*, « Arch. Entw. mech. », 125, 341.
- [8] G. NOBLE (1931) - *The biology of the Amphibia*, McGraw-Hill Book Company, New York and London.
- [9] V. FRANZ (1912) - *Das Mormyridenhirn*, « Zool. Jb. », 32, 465.
- [10] P. BANARESCU (1957) - *Vergleichende Anatomie und Bedeutung der Valvula cerebelli der Knochenfische*, « Rev. Biol. Bucaresti », 2, 255.
- [11] A. ROSSI, E. CAPANNA e M. G. TAMINO (1968) - *Prime osservazioni sulla citoarchitettura cerebellare nei Teleostei*, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 45, 1.
- [12] G. M. BAFFONI (1961) - *Considerazioni sull'attività mitotica nel sistema nervoso centrale durante lo sviluppo di Anfibi anuri ed urodela*, « Boll. Zool. », 28, 661.
- [13] P. WEISS e F. ROSSETTI (1951) - *Growth responses of opposite sign among different neuron types exposed to thyroid hormone*, « Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. », 37, 540.
- [14] W. ETKIN - *Metamorphosis in Physiology of the Amphibia*, Ed. Academic Press. New York and London.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

- Fig. 1. - Axolotl: irregolare distribuzione delle cellule dei granuli e delle cellule di Purkinje.
- Fig. 2. - *Ambystoma tigrinum* adulto: netta distinzione fra gli strati molecolare e granulare. Le cellule di Purkinje sono disposte in più file fra i due strati.
- Fig. 3. - *Triturus cristatus carnifex* in premetamorfosi: distinzione fra gli strati molecolare e granulare. Si noti l'addensamento cellulare. Non si identificano le cellule di Purkinje.
- Figg. 4-5. - *Triturus cristatus carnifex* metamorfosato e adulto: si osservi il progressivo allontanamento fra le cellule dei granuli e la identificazione delle cellule di Purkinje fra gli strati molecolare e granulare.

G : granuli, M : strato molecolare; P : nuclei delle cellule di Purkinje; sf : strato delle fibre.

Ogni unità delle scale in calce alle figure corrisponde a 10 μ .

