

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

IVAN BENEDETTI, MILENA MARINI

**Le cellule gangliari intraspinali nei Teleostei. VII.  
Hippocampus guttulatus**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 59 (1975), n.6, p. 836–840.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1975\\_8\\_59\\_6\\_836\\_0>](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_59_6_836_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. VII. Hippocampus guttulatus* (\*). Nota di IVAN BENEDETTI e MILENA MARINI, presentata (\*\*) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — Large dorso-medial neuroblasts are observed in the embryo spinal cord of *Hippocampus guttulatus* Cuv.; these elements differentiate as supramedullary neurons in the adult. Cytomorphosis is described.

Rohon-Beard cells are not detected in the developing spinal cord of this oviparous Teleost. The lack of this embryonal sensitive system is related to the peculiar conditions of embryo development which is isolated from the external environment.

It is confirmed that Rohon-Beard cells and supramedullary neurons are two distinct and independent neuronal systems.

Le ricerche che da tempo stiamo conducendo sui neuroni gangliari intraspinali dei Teleostei, oltre a dimostrare che le cellule di Rohon-Beard degli animali in sviluppo e i neuroni sopramidollari dell'adulto rappresentano due distinti sistemi [1, 2], hanno chiarito la citomorfosi delle cellule di Rohon-Beard in diverse specie di Teleostei ovipari [1, 2, 3, 4] e stabilito la loro assenza nelle specie vivipare [5, 6].

Tenendo presente che le cellule di Rohon-Beard costituiscono il sistema sensorio dei giovani embrioni prima del differenziamento dei gangli spinali [7] abbiamo giustificato la loro assenza nei Teleostei vivipari supponendo che esse siano superflue negli embrioni che, sviluppandosi nel corpo materno, sono isolati dagli stimoli esterni.

È parso pertanto interessante prendere in esame i Singnatidi, Teleostei ovipari provvisti di peculiari strutture che proteggono gli embrioni isolandoli in varia misura dall'ambiente esterno: nel maschio di *Hippocampus*, infatti, vi sono due pieghe ventrali saldate a costituire un marsupio che comunica con l'esterno mediante uno sfintere; in *Syngnatus* le due pieghe sono soltanto ravvicinate; in *Nerophis* le uova sono saldate al ventre del padre.

Va inoltre sottolineato che i Singnatidi adulti risultano provvisti di neuroni sopramidollari, in base ad un elenco riportato da Ariens Kappers, Hüber e Crosby [8].

Nella presente Nota esponiamo i risultati relativi all'esame dei neuroni gangliari intraspinali di *Hippocampus* durante lo sviluppo e nell'adulto.

Ai fini della presente ricerca sono stati impiegati embrioni, giovani e adulti del Teleosteo oviparo *Hippocampus guttulatus* Cuv. I maschi adulti con uova in incubazione marsupiale sono stati pescati a luglio nel bacino di Arcachon; alcuni di essi sono stati mantenuti in

(\*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia comparata dell'Università di Modena (Via Berengario, 14) e nell'Istituto di Istologia generale e speciale della Facoltà di Medicina veterinaria dell'Università di Bari.

(\*\*) Nella seduta del 13 dicembre 1975.

acquari della locale stazione di Biologia marina <sup>(1)</sup> fino al momento del parto, altri sono stati sacrificati per poter estrarre dal marsupio gli embrioni, che sono stati seriatati in base alle tavole di Boisseau [9].

Sono stati fissati in liquido di Bouin embrioni a stadio 6, 10, 12, 14, 18 (una decina per stadio), dieci individui alla nascita (stadio 21) e cinque individui rispettivamente 2 e 4 giorni dopo la nascita. Non abbiamo preso in esame individui più vecchi perchè in acquario al termine della prima settimana di vita la mortalità diventa elevatissima e le condizioni dei superstiti non garantiscono l'integrità del sistema nervoso. Sono stati inoltre fissati in Bouin i midolli isolati di cinque giovani, di circa un anno, prelevati direttamente in natura e di sei adulti.

Di tutto il materiale, incluso in celloidina-paraffina, sono state eseguite sezioni seriali trasversali dello spessore di  $7\ \mu$ . I preparati istologici sono stati colorati con il blu di toluidina in mezzo tamponato a pH 4,6 con controlli pretrattati in acido perclorico.

I valori dimensionali riportati per i vari tipi di neuroni, rappresentano la media di almeno dieci misurazioni effettuate su elementi scelti a diversi livelli del midollo spinale tra i meglio orientati sul piano di taglio.

Nei più giovani embrioni esaminati (stadio 6) il midollo spinale è costituito da uno strato mantellare compatto e da un esile strato di fibre. Alla periferia del grigio si osservano alcuni elementi in incipiente differenziamento, come lo denotano il nucleo vescicoloso, il nucleolo marcato e l'anello perinucleare di sostanza basofila; tali elementi divengono più evidenti e numerosi negli embrioni a stadio 10 (Tav. I, fig. 1), ove si osservano con chiarezza le radici ventrali.

Con il procedere dello sviluppo, mentre la sostanza bianca si ispessisce progressivamente, la sostanza grigia diventa meno compatta per il differenziamento dei neuroni e l'interposizione delle fibre, tuttavia non assume in sezione il disegno ad Y rovesciata tipico dei Teleostei in quanto, anche nell'adulto, i neuroni motori restano raccolti attorno al canale ependimale e conservano dimensioni relativamente modeste (diametro nucleare medio  $6\ \mu$ ; diametro cellulare medio  $11\ \mu$ ).

Nel grigio dorsale degli embrioni a stadio 12 spiccano una ventina di neuroblasti con nucleo rotondeggiante e vescicoloso (diametro nucleare medio  $4\ \mu$ ), 1-2 nucleoli marcati ed un alone basofilo perinucleare (diametro cellulare medio  $6\ \mu$ ; Tav. I, fig. 2); a stadio 14, oltre a numerosi neuroblasti simili a quelli descritti nello stadio precedente (diametro nucleare medio  $5\ \mu$ ; diametro cellulare medio  $6\ \mu$ ), si notano una settantina di elementi con nucleo simile a quello dei neuroblasti (diametro medio  $5\ \mu$ ), ma con sostanza basofila più abbondante e talora addensata ad un polo del nucleo (diametro cellulare medio  $8\ \mu$ ). Tutti questi elementi sono di norma situati in prossimità della membrana limitante esterna.

A partire dagli embrioni a stadio 18 nel grigio dorsale, oltre a neuroblasti con le caratteristiche già descritte (diametro nucleare medio  $5\ \mu$ ; diametro cellulare medio  $6\ \mu$ ) che in numero esiguo si possono reperire ancora 4 giorni

(1) I più vivi ringraziamenti ai Proff. Boisseau e Cazaux e a tutto il personale della Stazione di Biologia marina di Arcachon per la cordiale ospitalità ricevuta.

dopo la nascita, si osservano circa 250 elementi caratterizzati dalle maggiori dimensioni, dai nucleoli più marcati e dalla maggiore basofilia citoplasmatica. Questi elementi, tra loro simili per l'aspetto e le dimensioni del nucleo (diametro medio  $6 \mu$ ), differiscono per la quantità della sostanza basofila che in alcuni casi è decisamente abbondante e più addensata ad un polo del nucleo (diametro cellulare medio  $9 \mu$ ).

Tali elementi diventano via via più numerosi (circa 300 alla nascita e circa 400 4 giorni dopo), ma conservano dimensioni pressoché invariate; infatti negli individui di 4 giorni gli elementi che spiccano maggiormente per l'abbondanza della sostanza basofila, presentano diametro nucleare medio di  $6 \mu$  e diametro cellulare medio di  $10 \mu$  (Tav. I, fig. 3).

Nel grigio dorsale dei giovani di un anno si notano in media 500 neuroni globosi o piriformi caratterizzati dalle cospicue dimensioni (Tav. I, fig. 4); essi hanno nucleo rotondeggiante (diametro medio  $10 \mu$ ), nucleoli marcati (1-3) e abbondante sostanza basofila (diametro cellulare medio  $18 \mu$ ).

Tali neuroni sono disposti di norma in posizione mediale singolarmente o a coppie immediatamente sotto la membrana limitante esterna, tranne nelle sezioni più rostrali ove sono spostati lateralmente e possono apparire fino a quattro nella stessa sezione.

Nel grigio dorsale dell'adulto si rinvencono in media 550 grossi neuroni globosi o piriformi (Tav. I, fig. 5-6) con la stessa localizzazione osservata nel giovane, ma con dimensioni decisamente superiori (diametro nucleare medio  $15,5 \mu$ ; diametro cellulare medio  $26 \mu$ ). Inoltre alcuni di essi presentano nuclei ellissoidali, talora lobati, con numerose masse basofile che differiscono tra loro per la grandezza e l'intensità della colorazione (Tav. I, fig. 6).

Per quanto riguarda i gangli spinali va precisato che essi negli embrioni a stadio 6 sono rappresentati da piccoli gruppi di cellule indifferenziate ai lati del midollo spinale; negli embrioni a stadio 10 numerosi elementi gangliari sono in via di differenziamento e allo stadio 12 sono evidenti le radici dorsali.

Le osservazioni condotte sul midollo spinale di *Hippocampus*, durante lo sviluppo e nell'adulto, hanno messo in evidenza che nel grigio dorsale si differenziano degli elementi nervosi caratterizzati da cospicue dimensioni e di norma situati in prossimità della membrana limitante esterna.

I primi di questi elementi si evidenziano negli embrioni a stadio 12 come grossi neuroblasti con nucleo rotondeggiante e vescicoloso, nucleolo marcato e anello perinucleare di sostanza basofila (Tav. I, fig. 2). Nei successivi stadi di sviluppo, frammisti agli elementi di questo tipo, reperibili in piccolo numero ancora 4 giorni dopo la nascita, compaiono elementi con nucleo simile, ma con sostanza basofila più abbondante i quali divengono progressivamente più numerosi (circa 400 negli individui nati da 4 giorni). Per quanto riguarda il quadro della sostanza basofila va sottolineato che è stato possibile osservare i termini di passaggio dal neuroblasto con anello basofilo perinucleare (diametro cellulare medio  $6 \mu$ ) al grosso elemento con sostanza basofila abbondante spesso più addensata ad un polo del nucleo (diametro cellulare medio  $10 \mu$  4 giorni dopo la nascita; Tav. I, fig. 3).

Nel giovane di un anno si osservano in media 500 voluminosi neuroni, molti dei quali ricordano per l'aspetto i più grossi elementi dorsali osservati negli individui di 4 giorni, pur avendo dimensioni notevolmente superiori (diametro cellulare medio  $18 \mu$ ; cfr. Tav. I, figg. 3 e 4).

Nell'adulto si rinvencono in media 550 grossi neuroni con la stessa localizzazione osservata nel giovane di un anno, ma con dimensioni ancora superiori (diametro cellulare medio  $26 \mu$ ). Va inoltre precisato che nell'adulto, mentre alcuni di questi neuroni conservano aspetto simile a quello osservato nel giovane di un anno (Tav. I, fig. 5), molti sono piriformi e presentano nuclei lobati contenenti masse basofile di varia grossezza e colorabilità (Tav. I, fig. 6).

In base a questi dati possiamo concludere che i vari aspetti descritti nel corso dello sviluppo a carico dei grossi elementi dorsali del midollo spinale di *Hippocampus*, rappresentano le varie tappe del differenziamento di un unico tipo di neurone. Tali neuroni per l'aspetto morfologico e la posizione che presentano nell'adulto, vanno interpretati come neuroni sopramidollari [1, 2, 10, 11, 12, 13, 14].

I presenti risultati confermano ed estendono le nostre osservazioni su *Coregonus* e *Perca* [1, 2] grazie al materiale particolarmente favorevole. Infatti in *Hippocampus* l'elevato numero di neuroni sopramidollari, il loro differenziamento asincrono, la possibilità avuta di esaminare giovani di un anno oltre agli adulti, hanno permesso di descrivere la citomorfosi di questi neuroni.

Dai dati esposti risulta con chiara evidenza che nel midollo spinale di *Hippocampus* in sviluppo sono assenti le cellule di Rohon-Beard, neuroni a precoce differenziamento che si involgono allorché i gangli spinali divengono funzionanti. Questo dato rappresenta una novità non solo per i Teleostei, ma per gli Anamni in genere, in quanto tutte le specie ovipare sinora studiate sono risultate provviste di cellule di Rohon-Beard. L'assenza di questi neuroni in *Hippocampus* va messa in relazione con le modalità di sviluppo che sono molto simili a quelle dei vivipari. In entrambi i casi infatti gli embrioni si sviluppano isolati dall'ambiente esterno e al momento della nascita i piccoli di *Hippocampus* hanno riassorbito completamente il tuorlo come i vivipari e pertanto sono ad uno stadio di sviluppo decisamente più avanzato rispetto agli ovipari al momento della schiusa. Va inoltre ribadito che in *Hippocampus* già negli embrioni a stadio 12 i gangli spinali sono in differenziamento e presentano le radici dorsali.

Si può quindi concludere che l'assenza del sistema sensitivo a precoce differenziamento rappresentato dalle cellule di Rohon-Beard, non è correlata con la viviparità di per sé, ma con le condizioni di isolamento in cui si sviluppa l'embrione.

Va infine sottolineato come la presenza di neuroni sopramidollari in *Hippocampus*, Teleosteo privo di cellule di Rohon-Beard, è la più chiara dimostrazione che i due tipi di neuroni appartengono a due sistemi distinti ed indipendenti.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] BENEDETTI I. e MARINI M. (1973) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 54, 157-161.  
 [2] MARINI M. e BENEDETTI I. (1973) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 55, 600-602.  
 [3] BENEDETTI I. e MARINI M. (1972) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 52, 101-105.  
 [4] MARINI M. e BENEDETTI I. (1972) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 52, 579-582.  
 [5] BENEDETTI I. e MARINI M. (1970) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 49, 223-228.  
 [6] MARINI M. e BENEDETTI I. (1971) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 51, 260-263.  
 [7] COGHILL G. E. (1914) - « J. Comp. Neurol. », 24, 161-233.  
 [8] ARIENS KAPPERS C. U., HUBER G. C. e CROSBY E. C. (1960) - *The comparative anatomy of the nervous system of Vertebrates, including Man*. (Hafner Pu, Co. New York).  
 [9] BOISSEAU J. (1967) - *Les regulations hormonales de l'incubation chez un Vertébré mâle: recherches sur la reproduction de l'Hippocampe*, Thèse Fac. Sci. Univ. Bordeaux.  
 [10] FRITSCH G. (1886) - « Sitz.-ber. K. Preus. Akad. Wiss. » (Berlin), 2, 1145-1151; (1886) - « Arch. mikr. Anat. », 27, 13-31.  
 [11] TAGLIANI G. (1894) - « Monit. Zool. Ital. », 5, 248-258; (1895) - « Boll. Soc. Nat. », (Napoli), 9, 60-69; (1897) - « Monit. Zool. Ital. », 8, 264-275; (1898) - « Anat. Anz. », 15, 234-237.  
 [12] KOLSTER R. (1898) - « Anat. Anz. », 14, 250-253.  
 [13] DAHLGREN U. (1897) - « Anat. Anz. », 13, 281-293; (1898) - « J. Comp. Neurol. », 8, 177-179.  
 [14] SARGENT P. E. (1898) - « J. Comp. Neurol. », 8, 183-194; (1898) - « Anat. Anz. », 15, 212-225.

## SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

Fig. 1, midollo spinale in embrione di *Hippocampus* a stadio 10; figg. 2-6, citomorfosi dei neuroni sopramidollari; fig. 2, embrione a stadio 12; fig. 3 individuo di 4 giorni; fig. 4, giovane di un anno; figg. 5 e 6 adulto.

(Ogni tratto in calce alle figure = 10  $\mu$ ; fiss. Bouin; col. blu di toluidina).

