ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ARMANDO SABBADIN

Le basi genetiche della capacità di fusione fra colonie in *Botryllus schlosseri* (Ascidacea)

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 32 (1962), n.6, p. 1031–1035.

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1962_8_32_6_1031_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 basi genetiche della capacità di fusione fra colonie in Botryllus schlosseri (Ascidacea)* (*). Nota di ARMANDO SABBADIN, presentata (**) dal Socio U. D'ANCONA.

Un sistema di seni sanguigni fra loro confluenti attraversa la tunica delle colonie di *Botryllus schlosseri*, unendo in un unico circolo sanguigno gli zooidi che le compongono. Alla periferia della colonia i seni sanguigni si espandono in ampolle, che fra le altre funzioni hanno quella di far aderire la colonia al supporto. Generalmente solo le ampolle di un lato della colonia sono in fase di attività, con forma allungata ed epitelio colonnare, mentre altrove sono arrotondate e con epitelio appiattito. Strisciando sulla superficie di attacco, le ampolle attive fanno muovere la colonia nella direzione del loro asse.

Due colonie che, aderendo allo stesso supporto, giungano in questo modo a contatto, possono fondersi: la parete delle ampolle contrapposte si rompe nell'area di contatto e i due circoli sanguigni confluiscono, unendo le due colonie in una sorta di parabiosi.

Questa capacità di fusione delle colonie dei Botrilli era nota da lungo tempo ed era stata intuitivamente ritenuta un indizio di affinità: affinità sistematica secondo Giard ⁽¹⁾, il quale, interpretando come specie diverse fenotipi di una stessa popolazione diversamente pigmentati, ricorreva al criterio della fusione per decidere se due fenotipi, con differenze di pigmentazione non sufficientemente marcate, andassero ascritti alla stessa specie o no; affinità genetica secondo Bancroft ⁽²⁾, il quale dimostrò che colonie non legate da vincoli di parentela generalmente non si fondono, mentre colonie sorelle si fondono spesso e pezzi della stessa colonia si fondono sempre.

La questione è stata ripresa recentemente da Oka e Watanabe ⁽³⁾, in *Botryllus primigenus*. Gli Autori hanno confermato che colonie senza legami di parentela generalmente non si fondono e che pezzi della stessa colonia si fondono sempre, anche dopo essere stati separati per lungo tempo. In più hanno visto che vi è costante fusione fra colonie figlie e colonie genitrici. Le

(*) Lavoro eseguito con un contributo del Consiglio Nazionale delle Ricerche, nell'Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Padova e nella Stazione Idrobiologica di Chioggia.

(**) Nella seduta del 12 giugno 1962.

(1) A. GIARD, *Recherches sur les Ascidies composées ou Synascidies*, « Arch. Zool. expér. 1 », 501-704 (1872).

(2) F. W. BANCROFT, *Variation and fusion of colonies in compound Ascidians*, « Proc. Calif. Acad. Sci. », 3rd ser., 3, 137-186 (1903).

(3) H. OKA, H. WATANABE, *Colony-specificity in compound Ascidians as tested by fusion experiments*, « Proc. Imp. Acad. Japan », 33, 657-659 (1957).

colonie sorelle si fondono nella maggioranza dei casi e precisamente, le colonie derivate da una coppia di genitori che non si fondono, si distribuiscono in 4 gruppi: nell'ambito di ciascun gruppo le colonie si fondono sempre fra di loro e quelle di un gruppo si fondono con quelle di due altri gruppi e non con quelle del gruppo restante. Pertanto Oka e Watanabe hanno supposto che la capacità di fusione sia controllata da un sistema di alleli di uno stesso gene i quali, se presenti in coppie diverse nei due genitori, per esempio AB e CD, nella discendenza si distribuiscono in 4 gruppi, AC/AD/BC/BD. Le colonie di un gruppo, oltre che fra loro, si fondono con le colonie di quegli altri due gruppi con cui hanno un allele in comune, mentre rifiutano la fusione con le colonie di quel gruppo che ha alleli entrambi diversi.

In *B. primigenus*, questa capacità di fusione, o « affinità vegetativa », si contrappone alla « affinità sessuale » o capacità di fecondazione reciproca, nel senso che la fecondazione è possibile solo fra colonie che non si fondono. Pertanto, oltre all'autofecondazione manca anche la fecondazione fra colonie figlie e colonie genitrici, e nell'ambito di una serie di colonie sorelle è possibile la fecondazione solo fra colonie appartenenti a gruppi che non hanno alcun allele in comune. Questo schema interpretativo della affinità vegetativa e sessuale in colonie di *B. primigenus* è paragonabile a quello del sistema S di alleli multipli che governa l'autosterilità e la sterilità incrociata di molte piante.

Evidentemente non è possibile una dettagliata analisi genetica del fenomeno della fusione, se non si può procedere all'incrocio fra colonie capaci di fondersi. Questa difficoltà non si presenta nella specie *B. schlosseri*. In essa si verifica anche una limitata autofecondazione e comunque è sempre possibile l'incrocio fra colonie con legami stretti di parentela, indipendentemente dal fatto se esse siano o no in grado di fondersi.

In considerazione di queste maggiori possibilità di studio, ci è sembrato opportuno procedere all'analisi genetica della affinità vegetativa fra colonie in *B. schlosseri*.

METODO DELLA RICERCA.

Le colonie di cui si vuol saggiare l'affinità vegetativa vengono tagliate in sistemi e un sistema dell'una viene trapiantato accanto ad un sistema dell'altra, facendo sì che si contrappongano ampolle in fase attiva. In questo modo, un buon contatto delle ampolle delle due colonie viene realizzato generalmente nell'ambito di 24 ore, e dopo altre 24 o 48 ore è possibile avere la prima risposta.

La fusione è facilmente riconoscibile dalla confluenza dei due sistemi sanguigni e quindi dallo stabilirsi di una corrente sanguigna comune fra le due colonie.

La repulsione può assumere aspetti diversi. Tipico è il formarsi di una chiara zona necrotica alla estremità delle ampolle nell'area di contatto; però in qualche caso non si osservano distinte necrosi (forse perché del tutto tran-

sitorie), ma solo incapacità delle due colonie a fondersi. Talvolta la necrosi si estende alle intere ampolle in contatto e alla parte terminale dell'albero sanguigno di una o di entrambe le colonie. Spesso è stato visto che la necrosi segue ad una fusione e causa la rottura della fusione stessa, ed è possibile che ogni necrosi sia la conseguenza di una fusione almeno momentanea. Ma talvolta anche fra colonie che si respingono si può verificare in prove ripetute qualche fusione duratura, apparentemente normale o che si accompagna al riassorbimento di una delle colonie. Per questa variabilità di aspetti che la repulsione presenta, la sua valutazione può essere talvolta difficile ed occorre dedurla da molte prove.

Dopo 24 ore dalla constatata fusione o repulsione le due colonie vengono separate e sono considerate disponibili per altre prove solo dopo un intervallo di tempo di almeno 4 giorni. È stata infatti osservata da Oka e Watanabe la possibilità che una colonia si assuma il ruolo di colonia ponte fra altre due colonie, influenzandone i rapporti. Ad esempio, due colonie sorelle che in partenza si respingono, se vengono rimesse a contatto dopo essere state fuse per un giorno con uno dei genitori, si possono fondere; viceversa, due colonie sorelle capaci di fondersi, possono rifiutare la fusione dopo essere state fuse per un giorno l'una con l'uno e l'altra con l'altro genitore. Questa capacità di influenzamento cessa tuttavia dopo poco tempo dalla separazione delle due colonie.

PRIMI RISULTATI DELLA RICERCA.

Le osservazioni eseguite su *B. schlosseri* hanno innanzitutto riconfermato la costante fusione fra pezzi della stessa colonia e la costante fusione fra colonie figlie e colonie genitrici. Le possibilità di fusione fra colonie probabilmente estranee sono assai scarse, anche se le colonie sono state prelevate in natura da un'area assai limitata: per esempio su 38 combinazioni fra colonie diverse sono state osservate solo 4 fusioni.

Stabilite queste premesse, si è passati all'esame dei poteri di fusione fra colonie sorelle e alla verifica sperimentale dell'ipotesi di Oka e Watanabe sul loro determinismo genetico. Il programma di lavoro, ancora in via di esecuzione, comprende diverse tappe, qualcuna delle quali non è ancora stata affrontata. Ma ecco le tappe percorse e i risultati fin qui acquisiti:

1° Una prima serie (a) di 25 colonie sorelle, generate dall'incrocio di due colonie che non si fondevano fra loro (quindi da un incrocio del tipo $AB \times CD$ secondo l'ipotesi degli Autori suddetti), sono state saggiate fra loro nelle varie combinazioni. Esse si ordinano effettivamente in 4 gruppi (AC/AD/BC/BD in base al tipo di incrocio indicato), rispettivamente di 8-6-5-6 colonie. Fra i 4 gruppi vigono i rapporti messi in evidenza per le colonie sorelle di *B. primigenus*: nell'ambito di ciascun gruppo le colonie si fondono tutte fra loro e le colonie di un gruppo si fondono con quelle di altri due gruppi e non con quelle del gruppo rimanente. Ciò fa effettivamente pensare ad un fenomeno controllato da un sistema di alleli dello stesso gene,

ABCD... , tale che ciascun gruppo, caratterizzato da una coppia di alleli, si fonde con quegli altri due gruppi con i quali ha almeno un allele in comune (AC con AD e BC, AD con AC e BD ecc.) e rifiuta la fusione con l'altro gruppo che ha entrambi gli alleli diversi (AC non si fonde con BD ; AD non si fonde con BC).

Analogamente una seconda serie (*b*) di 9 colonie sorelle, derivate dall'incrocio di due fratelli di altra provenienza, che non si fondevano fra di loro, si è pure distribuita in 4 gruppi rispettivamente di 2-2-3-2 colonie, con gli stessi rapporti reciproci della serie precedente.

2° La serie (*a*) era cugina della serie (*b*), essendo uno dei suoi genitori fratello di uno dei genitori della serie (*b*). All'epoca dell'esperimento i due fratelli non erano più disponibili, per cui non è stato possibile accertare se erano o no in grado di fondersi fra loro. Nell'ipotesi probabile che potessero avere in comune almeno un fattore di fusione, che si sarebbe trasmesso alla rispettiva discendenza, la serie (*a*) è stata confrontata con la serie (*b*).

È stato così possibile accertare che il 2° e 4° gruppo della serie (*a*) non si fondevano con alcun gruppo della serie (*b*), mentre il 1° e 3° gruppo della serie (*a*) si fondevano con il 2° e 4° gruppo della serie (*b*). D'accordo con l'ipotesi di Oka e Watanabe ciò indica che i due fratelli facenti parte l'uno di una e l'altro dell'altra coppia genitrice delle due serie, avevano in comune il fattore C, che si è distribuito ai gruppi 1° e 3° della serie (*a*) e ai gruppi 2° e 4° della serie (*b*). Per i 4 gruppi di quest'ultima serie si può dunque immaginare una costituzione genetica del tipo EG/EC/FG/FC, dall'ipotetico incrocio $EF \times GC$.

Come era da attendersi in base alla constatata scarsa frequenza di fusioni fra colonie estranee, il sistema di alleli controllanti la fusione stessa si preannuncia formato da numerosi fattori.

3° L'incrocio fra due colonie del gruppo EG ha dato una serie di colonie sorelle, 27 delle quali sono state finora studiate nei loro rapporti. Esse si sono distribuite in 3 gruppi, rispettivamente di 6-15-6 colonie, dei quali il secondo si fonde con entrambi i rimanenti, mentre il primo ed il terzo si respingono fra di loro. Cioè, come postula l'ipotesi degli Autori giapponesi, l'incrocio di due colonie appartenenti ad uno stesso gruppo EG ha portato alla distribuzione dei suoi due alleli nei tre gruppi EE/EG/GG, due dei quali con uno dei due fattori allo stato omozigote. Che questa sia effettivamente la costituzione genetica dei tre gruppi, è dimostrato dai loro rapporti con gli altri tre gruppi (EC-FG-FC) della serie cui appartiene il gruppo dei loro genitori. Le colonie dei tre gruppi EE-EG-GG rifiutano tutte la fusione con il gruppo FC; le colonie del gruppo EG si fondono con EC e FG, mentre le colonie del gruppo EE si fondono solo con EC e quelle del gruppo GG si fondono solo con FG.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.

È in programma l'incrocio di colonie sorelle omozigoti per lo stesso fattore di fusione. Dall'incrocio ci si attende una discendenza distribuita su un unico gruppo di colonie tutte in grado di fondersi fra loro, perché tutte omozigoti

per quello stesso fattore. Ma anche in assenza di quest'altra prova, appare sufficientemente dimostrata la validità dell'ipotesi di Oka e Watanabe: la capacità di fusione delle colonie dei botrilli, così in *B. primigenus* come in *B. schlosseri*, è regolata per via genetica da un sistema di alleli di uno stesso gene.

Contrariamente a quanto si verifica in *B. primigenus*, in *B. schlosseri* non sembrano esistere rapporti fra capacità di fusione o « affinità vegetativa » e capacità di fecondazione reciproca o « affinità sessuale ».

Su materiale della Laguna Veneta siamo giunti ad individuare 7 alleli del sistema che controlla la capacità di fusione nelle colonie di *B. schlosseri*. Lo stock di colonie a costituzione genetica nota, attualmente in nostro possesso, ci permetterà di completare l'analisi del sistema per la popolazione della Laguna Veneta e ci permetterà di ricercare se lo stesso sistema valga per altre popolazioni e quindi un confronto fra popolazioni naturali.

Il metodo di studio da noi utilizzato è assai laborioso. Infatti nei numerosissimi accoppiamenti di colonie eseguiti, l'esperienza ci ha dimostrato che se si ripete più volte la prova con le stesse coppie di colonie, accanto ai molti risultati netti di costante fusione o repulsione, vi sono non pochi casi nei quali le prove successive danno risultati non uniformi, per cui solo una fitta rete di osservazioni su più colonie ci permette di inquadrare con sicurezza una data colonia in un determinato gruppo genetico. Eccezionalmente si è anche verificata l'impossibilità di far fondere una colonia con altra colonia sicuramente appartenente a gruppo genetico affine. È pure avvenuto che per i risultati contraddittori cui davano luogo, un paio di colonie della prima serie di sorelle descritte non hanno trovato sistemazione in nessuno dei quattro gruppi della serie stessa.

La capacità di fusione cioè non sempre si esprime con una reazione del tipo « tutto o nulla ». La ragione di ciò non ci appare per ora chiara. La dimostrazione data da Oka e Watanabe in *B. primigenus* (applicabile, in base a nostre osservazioni qui non riferite, anche a *B. schlosseri*) che la capacità di fusione fra due colonie può essere influenzata fenotipicamente dai loro precedenti rapporti con altre colonie, sembra indicare che la fusione e la repulsione dipendono da sostanze trasmissibili, presenti nel circolo sanguigno, condizionate dal sistema genetico sopra descritto. Forse oltre al tipo delle sostanze ha importanza anche la loro concentrazione, che potrebbe essere legata al ciclo fisiologico della colonia e quindi al momento dell'esperienza. Verosimilmente poi il sistema genetico considerato condiziona solo un tipo di affinità, contrastata più o meno validamente da altre somiglianze o differenze biochimiche a diverso determinismo.