
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ILEANA PUCCINELLI, GIORGIO MANCINO

**Osservazioni cariologiche sul genere *Trocheta*
(Hirudinea, Erpobdellidae)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 45 (1968), n.6, p. 597–605.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_45_6_597_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/>

Citologia. — *Osservazioni cariologiche sul genere Trocheta (Hirudinea, Erpobdellidae)* (*). Nota di ILEANA PUCCINELLI e GIORGIO MANCINO, presentata (**) dal Corrisp. M. BENAZZI.

SUMMARY. — Karyological studies have been carried out on *Trocheta subviridis* and *T. bykowskii*, two related species of the family Erpobdellidae. The *subviridis* specimens used in this work were collected in Great Britain; those of *bykowskii* were collected in the Alpi Apuane (Tuscany): the presence of *T. bykowskii* in peninsular Italy was unknown before.

Spermatogenesis and oogenesis have been described. The chromosome number, ascertained in both species, is $n = 11$, $2n = 22$. However some differences regarding the morphology and the size of the single chromosomes and the mean chiasma frequency have been noticed between *subviridis* and *bykowskii*.

INTRODUZIONE.

Il genere *Trocheta* è rappresentato in Europa da due specie: *T. subviridis* Dutrochet, 1917 e *T. bykowskii* Gedroïc, 1913. La validità delle due specie è accettata dagli attuali sistematici. Mann (1959, 1962), infatti, conferma come importante carattere distintivo il numero degli anelli che separano i pori genitali, stabilito da $4\frac{1}{2}$ a 10 per *subviridis*, da 2 a 4 per *bykowskii*; inoltre ritiene che le due specie siano sufficientemente differenziate anche per la particolare disposizione degli ovisacchi. Non sembra quindi possa essere accolta l'opinione di Perret (1952 a, b), il quale era dell'avviso che il numero degli anelli fra i pori genitali presentasse una certa gradualità fra le due specie, e che, per questo motivo, in molte regioni esse fossero state confuse; egli prospettava anzi una loro possibile riunione nell'unica specie *T. subviridis* Dutrochet con due sottospecie: *T. subviridis subviridis* e *T. subviridis bykowskii*.

Continuando le nostre ricerche cariologiche nell'ambito degli Irudinei (Puccinelli e Mancino 1964, 1965, 1966), ci è parso interessante studiare parallelamente *T. subviridis* e *T. bykowskii*, anche nell'intento di rilevare eventuali differenze a livello cromosomico. In questo lavoro segnaliamo il numero cromosomico delle due specie e descriviamo alcuni aspetti della meiosi maschile e femminile.

DISTRIBUZIONE DEL GEN. *TROCHETA* IN EUROPA E DESCRIZIONE DEL MATERIALE ESAMINATO.

Trocheta subviridis è distribuita nell'ovest, sud e sud-est dell'Europa ed è presente in Italia (Autrum 1958; Soós 1966; Mann 1967). Gli esemplari da noi studiati tuttavia provengono dall'Inghilterra (dintorni di Hull) e ci

(*) Ricerche eseguite nell'Istituto di Zoologia e Anatomia Comparata dell'Università di Pisa, col contributo del C.N.R.

(**) Nella seduta del 14 dicembre 1968.

sono stati gentilmente inviati dal dott. N. Jones, che vivamente ringraziamo. In questi esemplari la distanza fra i pori genitali è di 5-6 anelli. Gli animali al momento della raccolta (maggio-giugno) si presentavano in maggioranza sessualmente maturi, con ovari ben sviluppati pieni di ovociti in fase di accrescimento e di maturazione, testicoli in spermioistogenesi, deferenti pieni di spermatozoi. Trattandosi di animali ermafroditi proterandri, l'attività spermatogenetica, che inizia nei mesi più freddi, si trova nelle ultime fasi quando gli ovari raggiungono il massimo sviluppo. Solo due esemplari di notevoli dimensioni, misuranti in distensione 23-25 cm di lunghezza, presentavano spermatozoi negli ovari e numerose uova fecondate. Alcuni individui di dimensioni inferiori, tenuti in laboratorio alla temperatura di 12-14°C per circa 1-2 mesi, ci hanno consentito di osservare le prime fasi della spermatogenesi.

Trocheta bykowskii è distribuita pressoché in tutta l'Europa, eccettuato il nord (Soós 1966; Mann 1967). Per l'Italia Mann (1967) dà come unica località la regione alpina, ma i nostri esemplari, tuttavia, sono stati raccolti in acque correnti calcaree di varie località delle Alpi Apuane (Toscana): Levigliani, Oneta, Cardoso, Arni (prov. Lucca). Questa risulta perciò la prima segnalazione di *T. bykowskii* nell'Italia peninsulare. La nostra diagnosi è stata confermata dal prof. K. H. Mann, che ringraziamo vivamente: egli fa altresì notare che questi esemplari italiani non sono identici a quelli britannici, poiché presentano un numero di anelli tra i pori genitali variabile da 2 ad un massimo di 3 1/2 e ritiene perciò che appartengano ad una forma geografica di *T. bykowskii*. A questo proposito rileviamo che Perret (1952 a) descrisse come appartenenti a *T. subviridis* alcuni esemplari conservati nel museo di Storia Naturale di Genova, 6 dei quali, raccolti a Camaiore (prov. Lucca), presentavano da 3 a 3 1/2 anelli fra i pori genitali: con molta probabilità trattasi invece della stessa forma di *T. bykowskii* da noi osservata. I nostri esemplari sono stati raccolti nel periodo ottobre-giugno, e si presentavano in vari stadi di maturazione: abbiamo così potuto studiare diverse fasi della gametogenesi. Alcuni hanno raggiunto la maturità sessuale in laboratorio, ma nessuno è stato fecondato; le loro dimensioni sono risultate inferiori a quelle di *T. subviridis*.

CENNI SULLA BIOLOGIA RIPRODUTTIVA.

La biologia della riproduzione in *Trocheta* è poco nota: la deposizione avverrebbe nel terreno umido, come segnalò Moquin-Tandon (1846), che dette anche una descrizione dei bozzoli. Le nostre osservazioni confermano i dati precedenti circa il comportamento degli animali in cattività (Brumpt 1901; Pawlowski 1936; Perret 1952 a; Bouvet 1967): infatti gli esemplari più grandi di *T. subviridis*, che, come abbiamo già detto, presentavano spermatozoi negli ovari, non hanno mai deponso bozzoli, pur avendo uova fecondate. Queste, tuttavia, iniziavano la segmentazione dentro gli ovisacchi, dove abbiamo osservato fino ad uno stadio di 4 blastomeri. Gli altri più piccoli,

come pure tutti gli esemplari di *T. bykowskii*, che al momento della raccolta si trovavano in fasi più precoci della maturazione e non erano fecondati, sono stati allevati in laboratorio fino al raggiungimento della piena maturità sessuale: tuttavia non abbiamo mai notato accoppiamenti e deposizioni, né presenza di spermatozoi negli ovari.

REPERTI CARIOLOGICI.

A) *Trocheta subviridis*.

Il corredo cromosomico di *T. subviridis* è $n = 11$, $2n = 22$.

La spermatogenesi presenta gli aspetti già descritti in altri Irudinei (cfr. Harant e Grassé 1959). Le nostre osservazioni si riferiscono essenzialmente alla metafase I: negli spermatociti sono presenti 11 bivalenti, in genere ad anello con 2 chiasmi o con un solo chiasma (fig. 1). Questi ultimi possono

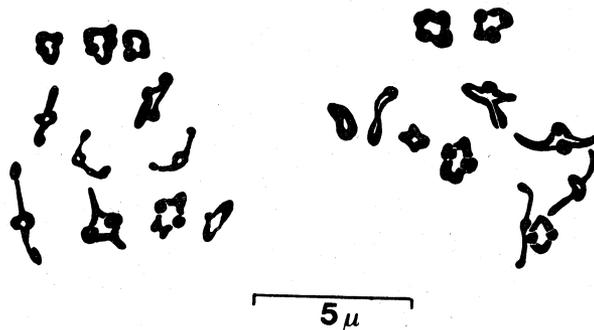


Fig. 1. — *Trocheta subviridis*. Due spermatociti I a 11 bivalenti, con 18 e 20 chiasmi.

(Tutti i preparati sono stati allestiti mediante schiacciamento in carminio acetico. I disegni sono stati eseguiti alla camera lucida).

variare di numero da una cellula all'altra; il numero dei chiasmi per nucleo è intorno a 20.

Per quanto riguarda la linea femminile, ricordiamo che negli Irudinei la maturazione dell'uovo può completarsi solo dopo la penetrazione dello spermio nell'ovocita; in caso contrario si ha il blocco alla metafase I e successivamente l'invecchiamento e la degenerazione dell'ovocita. Per il nostro esame ci siamo essenzialmente avvalsi degli ovociti metafasici non fecondati in quanto questo stadio è l'unico che si presta per un'indagine cromosomica; tuttavia, il numero diploide della specie è stato stabilito in alcune metafasi ovogoniali; date le piccole dimensioni dei cromosomi ed il grado di contrazione non abbiamo potuto ricostruire il cariotipo.

Gli ovociti sono assai grandi, avendo già compiuto la vitellogenesi e presentano verso il centro una zona citoplasmatica più chiara, occupata dal fuso ben evidente e sempre bipolare. Gli 11 bivalenti appaiono in fasi precoci sparsi lungo il fuso; successivamente si portano in prossimità del piano equa-

toriale. Essi presentano generalmente 1 o 2 chiasmi, raramente 3; abbiamo osservato ovociti con 20-22 chiasmi (fig. 2 a) nei quali sono pochi o assenti i bivalenti a chiasma unico, altri invece che presentano un elevato numero

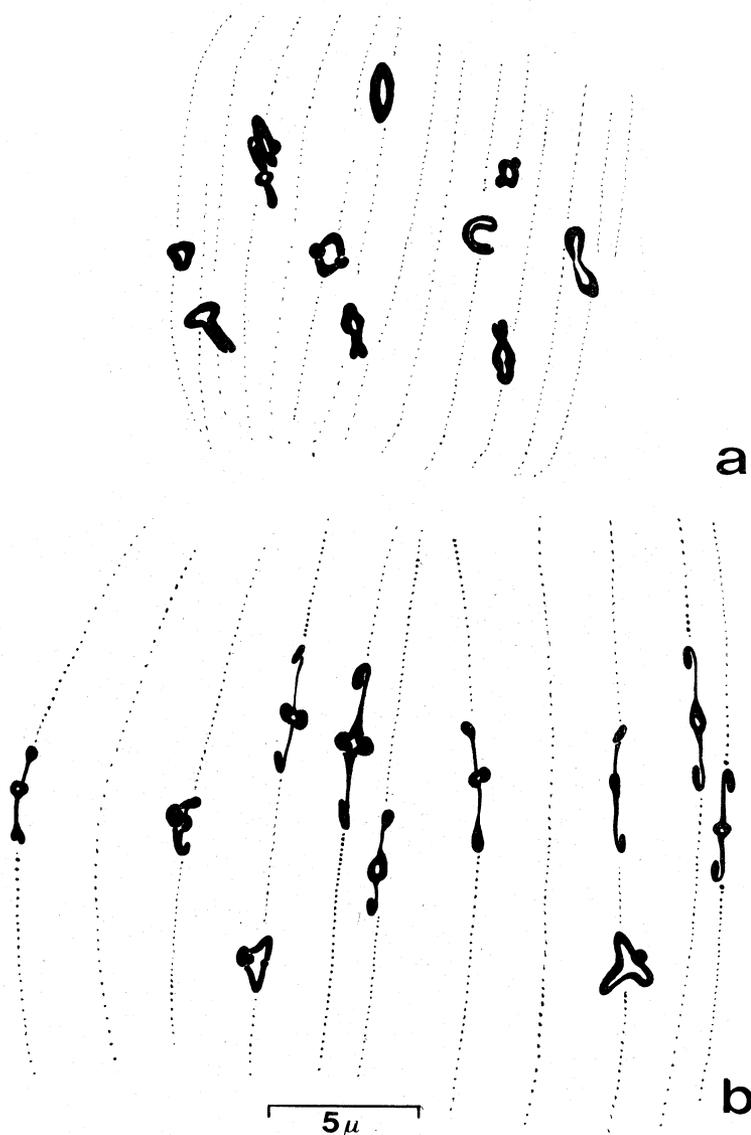


Fig. 2. - *Trocheta subviridis*. a) Ovocita I non fecondato: gli 11 bivalenti sono sparsi lungo il fuso. Il numero dei chiasmi è 21. b) Ovocita I non fecondato: sono presenti 8 bivalenti a chiasma unico. Il numero dei chiasmi è 14.

di tali bivalenti e 14-16 chiasmi: questo valore è un po' inferiore a quello osservato negli spermatociti, dove pure possono essere presenti alcuni bivalenti a chiasma unico. In un ovocita abbiamo contato fino a 8 bivalenti a chiasma unico, molto allungati e stirati, costituiti tutti da cromosomi netta-

mente eterobrachiali (fig. 2 *b*). Tale aspetto dei bivalenti femminili, tuttavia, non sarebbe sempre primitivo, ma piuttosto dovuto a precoce separazione dei chiasmi ed a tentativo di divisione, conseguenti al blocco della meiosi: si avrebbe quindi un aumento dei bivalenti a chiasma unico soprattutto negli ovociti metafasici più avanzati e in quelli già in corso di invecchiamento. In questi ultimi abbiamo poi osservato un enorme allungamento del fuso, che assume la forma di ferro di cavallo con i poli ravvicinati. I bivalenti presentano segni di degenerazione; quelli a chiasma unico sono molti stirati e possono essere costituiti da omologhi semplicemente adiacenti agli estremi; alcuni bivalenti tuttavia mantengono più chiasmi. La loro posizione appare alterata, spostandosi essi lungo il fuso, fino anche in prossimità dei poli, senza però dar luogo a divisione (fig. 3).

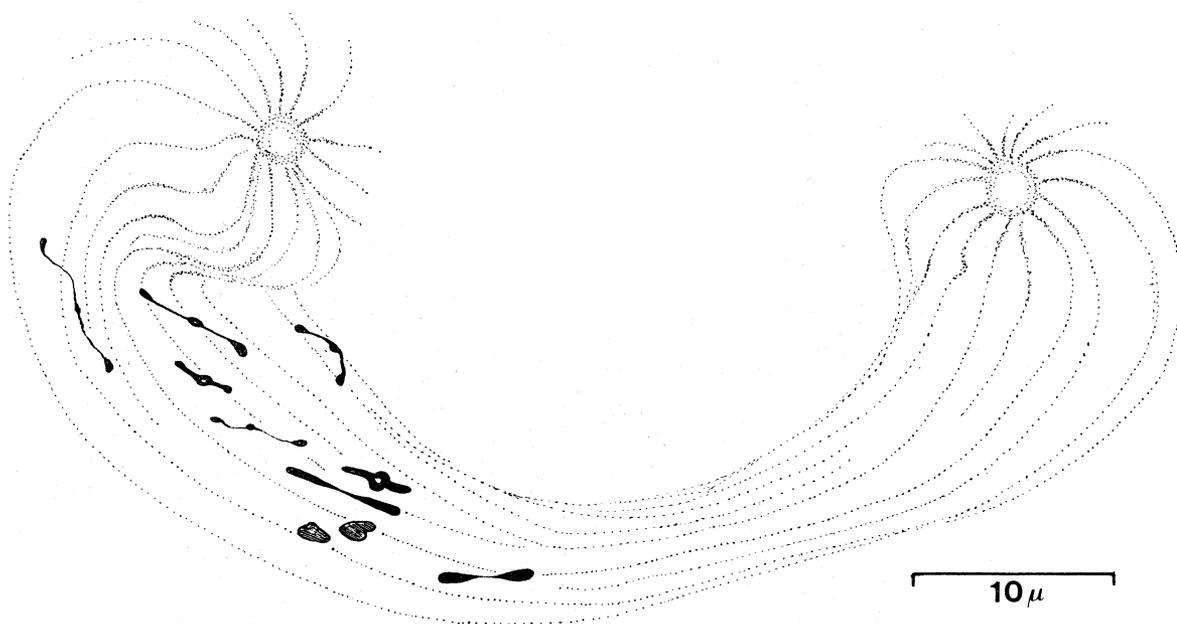


Fig. 3. — *Trocheta subviridis*. Ovocita I non fecondato in corso di invecchiamento: il fuso è allungato e ripiegato a U. Sono visibili solo 10 bivalenti spostati verso un polo; due di essi appaiono come masse picnotiche.

Negli ovociti in tali condizioni non è sempre possibile contare tutti gli 11 bivalenti, in quanto alcuni degenerano precocemente, e spesso si osservano fusi completamente vuoti o con frammenti e masserelle picnotiche.

B) *Trocheta bykowskii*.

Anche in questa specie il corredo cromosomico è $n = 11$, $2n = 22$.

Lo svolgimento della spermatogenesi è riconducibile a quanto già detto per *T. subviridis*. I bivalenti maschili presentano però dimensioni leggermente maggiori ed una morfologia diversa: infatti prevalgono i bivalenti

ad anello con 2 chiasmi più o meno terminali, e nei più grandi si possono avere anche 4 chiasmi; non abbiamo osservato bivalenti a chiasma unico (fig. 4). Il numero totale dei chiasmi, compreso fra 22 e 25, è maggiore che in *T. subviridis*.

Per quanto riguarda la linea femminile, in alcune mitosi ovogoniali abbiamo confermato il numero diploide della specie, senza peraltro poter chiarire la morfologia dei singoli cromosomi, molto piccoli e contratti. Abbiamo anche osservato alcuni ovogoni polinucleati ed altri altamente poliploidi, talora con fusi tripolari, che vanno presumibilmente incontro a dege-



Fig. 4. - *Trocheta bykowskii*. Due spermatociti I a 11 bivalenti, con 25 chiasmi.

nerazione (1). Circa gli ovociti, anche in questa specie gli 11 bivalenti si orientano secondo un fuso bipolare: dapprima sparsi lungo questo, assumono poi una posizione quasi equatoriale, dalla quale tendono ad allontanarsi man mano che invecchiano, pur mantenendosi sempre orientati. I bivalenti si differenziano da quelli della linea maschile in quanto possono essere anche a chiasma unico (ne sono stati osservati fino a 5 per cellula). Il numero dei chiasmi risulta quindi inferiore, variando da 17 a 24 (figg. 5 a, b). Come già osservato per i bivalenti maschili, anche quelli femminili risultano un po' più grandi dei corrispondenti di *T. subviridis*. I bivalenti a chiasma unico sono pure formati da cromosomi fortemente eterobrachiali, che però sembrano presenti in numero inferiore a quello osservato in *T. subviridis*. Tenendo conto che nella linea maschile di *T. bykowskii* non si hanno bivalenti a chiasma unico appare per questa specie maggiormente fondata l'ipotesi che tale aspetto dei bivalenti femminili sia legato ai processi di invecchiamento dell'ovocita bloccato.

(1) Questi aspetti anomali della linea femminile sono comuni anche ad altri Irudinei (Puccinelli e Mancino 1966).

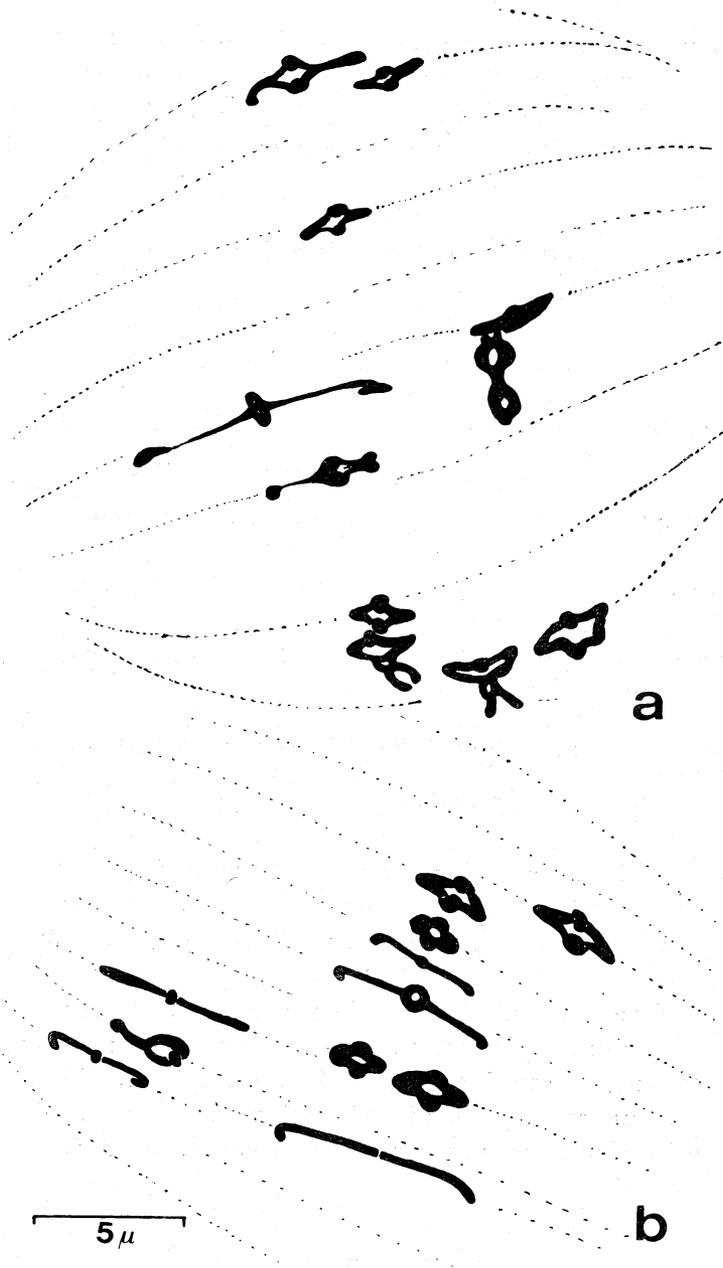


Fig. 5. — *Trocheta bykowskii*. a) Ovocita I non fecondato: gli 11 bivalenti si trovano in prossimità del piano equatoriale, 2 sono a chiasma unico. Il numero dei chiasmi è 23. b) Ovocita I non fecondato: alcuni bivalenti si stanno allontanando dal piano equatoriale, 5 di essi sono a chiasma unico. Il numero dei chiasmi è 17.

CONCLUSIONI.

I risultati già illustrati ampliano le conoscenze cariologiche sul gruppo degli Irudinei, ancora relativamente scarse (Jørgensen 1908, 1913; Wendrowsky 1928; Puccinelli e Mancino 1964, 1965, 1966). Nella famiglia Erpobdellidae è ora conosciuto il numero cromosomico di 5 specie (Tabella I).

TABELLA I.

Numeri cromosomici degli Erpobdellidi.

SPECIE	n	$2n$	Autori
<i>Erpobdella octoculata</i> . . .	8 ♀ (I)	16 (ov.)	JØRGENSEN (1908)
<i>Dina lineata</i>	9 ♂ (II)	18 (sperm.)	WENDROWSKY (1928)
<i>Erpobdella testacea</i> . . .	11 ♂ (I), ♀ (I)	22 (ov., embr.)	PUCCINELLI e MANCINO (1965, 1966)
<i>Trocheta subviridis</i> . . .	11 ♂ (I), ♀ (I)	22 (ov.)	PUCCINELLI e MANCINO (presente lavoro)
<i>Trocheta bykowskii</i> . . .	11 ♂ (I), ♀ (I)	22 (ov.)	PUCCINELLI e MANCINO (presente lavoro)

♂ (I) = spermatoцитi I; ♂ (II) = spermatoцитi II; ♀ (I) = ovociti I; sperm. = spermatoцитi; ov. = ovociti; embr. = cellule embrionali.

Da questa Tabella si può rilevare che il corredo $n = 11$, $2n = 22$ si presenta, oltre che nelle due specie europee di *Trocheta*, anche in *Erpobdella testacea*: è probabile perciò che abbia una diffusione più ampia nell'ambito della famiglia.

Alcune differenze cromosomiche rilevate fra le due specie, riguardanti le dimensioni, il numero dei chiasmi e la presenza di un maggior numero di cromosomi fortemente eterobrachiali in *T. subviridis*, mostrerebbero anche a questo livello un certo grado di differenziamento. Tuttavia l'impossibilità di ricostruire i cariogrammi non consente di trarre sicure deduzioni a questo proposito.

BIBLIOGRAFIA.

- AUTRUM H., *Hirudinea (Brohmer, Ehrmann e Ulmer)*, « Die Tierwelt Mitteleuropas », 1 (7 b), 30 Leipzig 1968.
- BOUVET J., « Trav. Lab. Hydrobiol. », 57-58, 105, Grenoble 1967.
- BRUMPT E., *Reproduction des Hirudinées*, « Le Bigot Frères Imp. Edit. », 156, Lille 1901.
- HARANT H. e GRASSÉ P., *In Grassé P.*, « Traité de Zoologie », Masson et C.ie Édité., 5 (1), 470, Paris 1959.
- JØRGENSEN M., « Arch. Zellforsch. Leipzig », 2, 279 (1908).

- JÖRGENSEN M., « Arch. Zellforsch. Leipzig », 10, 1 (1913).
- MANCINO G. e PUCCINELLI I., « Boll. Zool. », 31, 1312 (1964).
- MANN K. H., « Proc. Zool. Soc. London », 132 (3), 369 (1959).
- MANN K. H., *Leeches (Hirudinea)*, « Intern. Ser. Monogr. Pure and Applied Biology, Zool., Pergamon Press », 11, 201 (1962).
- MANN K. H., *Hirudinea*, in « Limnofauna europea », Dir. J. Illies, Gustav Fischer Verlag, 118, Stuttgart (1967).
- MOQUIN-TANDON A., *Monographie de la Famille des Hirudinées*, « J. B. Baillièrre Édité., 2me éd. », 448, Paris 1846.
- PAWLOWSKI L. K., « Ann. Mus. Zool. Polon. », 11 (19), 347 (1936).
- PERRET J. L., « Bull. Soc. neuchâtel. Sci. nat. », 75, 89 (1952 a).
- PERRET J. L., « Rev. Suisse Zool. », 59, 579 (1952 b).
- PUCCINELLI I. e MANCINO G., « Boll. Zool. », 32 (2), 579 (1965).
- PUCCINELLI I. e MANCINO G., « Atti Soc. Tosc. Sc. Nat., Mem. », ser. B, 73, 1 (1966).
- SOÓS A., « Acta Zool. Hung. », 12 (3-4), 371 (1966).
- WENDROWSKY V., « Z. Zellforsch. », 8, 153 (1928).