
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ERNESTO CAPANNA, MARIA GABRIELLA MANFREDI
ROMANINI

Contenuto in DNA nei nuclei postcinetici in due popolazioni cromosomicamente differenti di *Rattus rattus* (L.)

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 51 (1971), n.1-2, p.
105-110.*

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1971_8_51_1-2_105_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. — *Contenuto in DNA nei nuclei postcinetici in due popolazioni cromosomicamente differenti di Rattus rattus (L.).* Nota (*) di ERNESTO CAPANNA (**) e MARIA GABRIELLA MANFREDI ROMANINI (***) presentata dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — An histophotometrical evaluation of the DNA content in post-kinetic nuclei has been performed in the two karyological forms of *Rattus rattus* (L.), i.e. the Japanese one with 42 chromosomes complement and the European one with 38 chromosomes, and in *Rattus norvegicus* (Erxl.). Statistically significant differences have been demonstrated between the two chromosomal forms of *Rattus rattus* and this datum has been discussed in order to interpret the interrelationships between karyotypic transformation and DNA content variation. Hypotheses on the evolution of the karyotype within the subgenus *Rattus* Fisher and taxonomical speculations have also been proposed.

È ormai accertato, dopo le osservazioni di Bianchi *et al.* (1969) [1], Yosida *et al.* (1969) [2], Yong (1969) [3] e di uno di noi (Capanna *et al.*, 1969 [4] e 1970 [5]), che esistono due popolazioni cromosomicamente distinte nell'ambito della specie nominale *Rattus rattus* (L.). La prima popolazione è distribuita in una limitata area, che va dal sud-est asiatico al Giappone, ed è caratterizzata da un cariotipo a 42 cromosomi che può nel suo ambito variare per processi robertsoniani (Yong, 1971 [6]) inversioni pericentriche (Yosida, 1965 [7]; 1971 [8], Yong e Dhaliwal [9] (1970)) o polisomia (Gropp *et al.* 1970 [10]). Una seconda popolazione caratterizzata da un cariotipo a 38 cromosomi è presente in un vasto areale che va dal Sud-America (Bianchi *et al.*, 1969 [1]) all'Europa occidentale (Capanna *et al.*, 1970 [5], 1971 a [11]) all'Australia e la Nuova Guinea (Yosida *et al.* (1969) [2] ed all'Africa (Capanna *et al.*, 1971 b [12]). Il cariotipo di questa popolazione è rigorosamente costante dal punto di vista morfologico e differisce da quello a 42 cromosomi per la fusione centrica di 4 coppie di acrocentriche che hanno dato luogo a due coppie di grandi autosomi metacentriche; anche due inversioni pericentriche sono intervenute nella trasformazione del cariotipo a 42 cromosomi in quello a 38, vale a dire nel trasformare un grande ed un piccolo acrocentrico in submetacentriche di pari dimensioni che caratterizzano ulteriormente il cariogramma del ratto a 38 cromosomi (vedi fig. 1).

Ci è sembrato pertanto opportuno, nell'ambito di quegli studi che da qualche anno stiamo conducendo (Capanna e Manfredi Romanini, 1971 [13], Manfredi Romanini *et al.*, 1971 [14]) sulle variazioni del contenuto nucleare in DNA in rapporto ai meccanismi di evoluzione del cariotipo, confrontare

(*) Pervenuta all'Accademia il 30 luglio 1971.

(**) Istituto di Anatomia Comparata dell'Università di Roma.

(***) Istituto di Antropologia dell'Università di Pavia.

tale contenuto in DNA nei nuclei di due forme cariotologicamente differenti (38 e 42 cromosomi) ma appartenenti alla stessa specie nominale. Non solo, ma abbiamo voluto confrontare il contenuto in DNA anche in una altra specie del genere *Rattus*, vale a dire *Rattus norvegicus* (Erxl.) che pur possedendo un cariotipo a 42 cromosomi mostra numerose affinità morfologiche che lo fanno somigliare più a *Rattus rattus* a 38 cromosomi che non alla forma a 42 cromosomi (Grande e piccolo submetacentrico - vedi Takagi e Makino, 1966 [15]) (vedi fig.). Ciò al fine di poter effettuare una discussione che non fosse

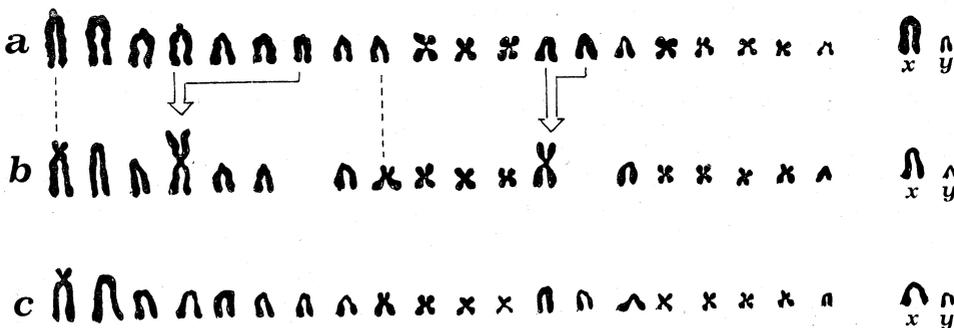


Fig. 1. - Confronto tra l'assetto autosomico aploide e gli eterocromosomi di *Rattus rattus*, popolazione giapponese a 42 cromosomi (a), *Rattus rattus*, popolazione europea a 38 cromosomi (b) e *Rattus norvegicus* (c). La freccia indica i cromosomi interessati nella fusione centrica, la linea tratteggiata i processi di inversione pericentrica.

limitata al ristretto ambito della trasformazione del cariotipo all'interno della specie nominale *Rattus rattus* ma estesa almeno all'evoluzione del cariotipo del sottogenere *Rattus* Fischer; infatti le due specie *R. rattus* e *R. norvegicus* pur appartenendo a due distinti gruppi di specie (*sensu* Ellerman, 1941 [16]), sono ritenute dallo stesso Ellerman molto affini.

* * *

Abbiamo esaminato 4 *Rattus rattus* (2 maschi e 2 femmine) provenienti da una popolazione inglese, già precedentemente studiata da uno di noi (Capanna *et al.*, 1971 [11]) e risultata con cariotipo a 38 cromosomi; 3 *Rattus rattus* (2 maschi ed 1 femmina) provenienti dagli allevamenti del National Institute of Genetics di Misima (Giappone)⁽¹⁾ studiati da Yosida *et al.* (1971) [8] e risultati a 42 cromosomi; 4 *Rattus norvegicus* (2 maschi e due femmine) di ceppo Wistar. Per ogni animale impiegato abbiamo controllato il cariotipo con il metodo del midollo rosso delle ossa.

Il metodo utilizzato per la valutazione del contenuto in DNA è stato quello istofotometrico; due strisci di sangue per individuo e strisci di sangue

(1) Gli Autori ringraziano il prof. Tosihide H. Yosida, del « National Institute of Genetics » di Misima (Giappone) che ha inviato loro i ratti a 42 cromosomi utilizzati per questo lavoro.

umano normale, utilizzato come parametro di controllo sono stati sottoposti contemporaneamente alle stesse modalità tecniche di fissazione (formalina al 10 % per 20') e di colorazione (Feulgen-reazione con idrolisi a temperatura ambiente per 1 h con HCl 5N e reattivo di Schiff classico); per ogni striscio sono stati rilevati i dati di contenuto in DNA e di area nucleare relativi a 25 linfociti. È stato utilizzato l'istofotometro di Zeiss in luce monocromata λ 550, con un diaframma di campo ed un sistema ottico tali da intercludere $1,02 \mu^2$ per ogni lettura. Su ogni nucleo sono state eseguite 2 o 3 letture ed è stato utilizzato il valore medio di queste. I valori di contenuto di DNA sono riferiti in unità arbitrarie (u.a.), mentre i valori delle aree sono stati dati in μ^2 , calcolati in base alla formula $A = D_1 D_2 \pi/4$ dove D_1 e D_2 sono le lunghezze dei due diametri ottenute mediante l'uso del micrometro filare di Baush e Lomb applicato ad uno degli oculari del dispositivo microscopico annesso al fotometro. Le aree nucleari sono ritenute proporzionali al volume nucleare in base all'effetto Korson (vedi Gerzeli, 1955 [17]). Sui dati ottenuti è stata condotta l'analisi statistica dell'errore standard (s.e.) ed il confronto tra le medie di diversi gruppi di osservazione con l'analisi del «*t*» di Student, sia per quanto riguarda i dati del valore del contenuto del DNA nucleare, sia per quelli delle aree nucleari.

I dati analitici ottenuti e le medie relative sono riportati nella Tabella I.

Per quanto riguarda i volumi nucleari è da notare, almeno in via preliminare, che tali valori sono sempre molto variabili e appaiono generalmente correlati ai valori di contenuto in DNA nucleare nel confronto tra le due forme di *Rattus rattus* a 38 e 42 cromosomi. Una correlazione non è invece dimostrabile nel confronto tra *Rattus rattus* e *Rattus norvegicus*.

Il dato più interessante che emerge dalle presenti osservazioni è la presenza di una differenza, significativa statisticamente, tra il contenuto in DNA nei nuclei postcinetici delle due forme cromosomiche della stessa specie nominale *Rattus rattus*, contenuto che è maggiore nella forma a 42 cromosomi ed inferiore in quella a 38, per un valore del 5,60 % del valore totale del contenuto in DNA del cariotipo a 42 cromosomi.

Sembrirebbe dunque una facile deduzione pensare che il processo di fusione centrica comporti una perdita di materiale ereditario se tuttavia il confronto *Rattus norvegicus*-*Rattus rattus* a 42 cromosomi non dimostrasse il contrario. Infatti un decremento, parimenti significativo e della stessa entità, si osserva tra *Rattus rattus* a 42 cromosomi e *Rattus norvegicus* in assenza di fusioni centriche. Non solo, ma *Rattus rattus* a 38 cromosomi e *Rattus norvegicus* mostrano gli stessi valori del contenuto in DNA nucleare. Se pertanto dobbiamo escludere che il processo robertsoniano sia la causa di tale perdita, come già riteniamo di aver dimostrato servendoci di osservazioni su altri Roditori (*Mus musculus* e *Mus poschiavinus*: Manfredi Romanini *et al.*, 1971 [14]), non rimane che indiziare come responsabili del decremento in DNA le trasformazioni non robertsoniane che, per l'appunto, fanno diversificare il kariogramma a 42 cromosomi di *Rattus rattus* tanto da quello a 38 cromosomi della stessa specie nominale, quanto da quello di *Rattus norvegicus*,

vale a dire le inversioni pericentriche responsabili della formazione dei quattro submetacentrici.

Si potrebbe però anche logicamente ipotizzare che la perdita di DNA rilevata istofotometricamente sia da ritenersi dovuta o ad eterocromatinizzazione di DNA autosomico (Noescke, 1971 [18]) ovvero alla presenza di minime delezioni e trasformazioni puntiformi, non rilevabili morfologicamente, differenti nelle due forme carilogiche della stessa specie nominale, indici entrambi di una diversità considerevole a livello di geni tra tali forme carilogiche. Riemerge dunque, alla luce di diverse considerazioni la opportunità, già proposta sulla base di evidenze morfologiche e zoogeografiche da uno di noi (Capanna *et al.*, 1971 b [12]) di considerare solo provvisoriamente le due forme cromosomiche (specie cromosomiche?) come appartenenti alla stessa specie nominale, in attesa di una definizione meramente tassonomica del problema.

Rimane tuttavia cromosomicamente polimorfa la popolazione sud-est Asiatica di *Rattus rattus* con cariotipo a 42 (o più) cromosomi e va rilevato a questo riguardo l'interessante situazione di una popolazione cromosomicamente polimorfa che sovrappone il suo areale di distribuzione su quello che è ritenuto l'areale di origine del genere *Rattus* e che in tale areale questa specie è polimorfa anche dal punto di vista morfologico, tale che Ellerman (1941 [16]) vi può riconoscere ben 143 «forme». Polimorfismo cromosomico e morfologico si accompagnano nel caso della popolazione asiatica di *Rattus rattus* proprio come Chalin e Matthey (1971 [19]) ritengono debba avvenire nella fase che precede la differenziazione cladogenetica in una evoluzione simpatica. Questa situazione è ora caratterizzata, a seguito delle presenti ricerche da un contenuto in DNA maggiore di quanto non si osservi in specie che è lecito ritenere diversificate a partire dallo stesso pool di forme carilogicamente e morfologicamente polimorfe, come verosimilmente è avvenuto per *Rattus rattus* a 38 cromosomi, *Rattus norvegicus* ed altre specie del subgenere *Rattus*. Quasi che il processo di diversificazione cladogenetica comporti la eliminazione od il mascheramento per eterocromatinizzazione dei geni non più operanti in seguito alla specializzazione in una determinata nicchia.

BIBLIOGRAFIA

- [1] N. O. BIANCHI, J. PAULETE-VANRELL e L. A. DE VIDAL RIOJA, *Complement with 38 chromosomes in two South-American population of Rattus rattus*, «Experientia», 25, 1111-1112 (1969).
- [2] T. H. YOSIDA, K. TSUCHIYA, H. IMAI e K. MORIWAKI, *New chromosome types of the black rat, Rattus rattus, collected in Oceania and F₁ hybrids between Japanese and Australian Rats*, «Jap. J. Genetics», 44, 89-91 (1969).
- [3] H. S. YONG, *Karyotypes of Malayan Rats*, «Chromosoma», 27, 245-267 (1969).
- [4] E. CAPANNA e M. V. CIVITELLI, *An endemic population of Rattus rattus (L.) with a 38 chromosomes complement*, «Mamm. Chrom. Newsletter», 10, 220-222 (1969).
- [5] E. CAPANNA, M. V. CIVITELLI e R. NEZER, *The Karyotype of the Black Rat (Rattus rattus L.). Another population with a 38 - Chromosomes complement*, «Experientia», 26, 422-425 (1970).

- [6] H. S. YONG, *Centric fusion in the Malayan house rat Rattus rattus diardii*, «Experientia», 27, 467-468 (1971).
- [7] T. H. YOSIDA, A. NAKAMURA e T. FUKAYA, *Chromosomal polymorphism in Rattus rattus (L.) collected in Kusudomari and Misima*, «Chomosoma», 16, 70-78 (1965).
- [8] T. H. YOSIDA, K. TSUCHIYA e K. MORIWAKI, *Frequency of Chromosome Polymorphism in Rattus rattus Collected in Japan*, «Chromosoma», 33, 30-40 (1971).
- [9] H. S. YONG e S. S. DHALIWAL, *Chromosomal polymorphism in the Malayan house rat, Rattus (rattus) diardii (Jentik)*, «Mamm. chrom. Newsletter», 11, 30-33 (1970).
- [10] A. GROPP, J. MARSHALL, G. FLATZ, M. OLBRICH, K. MANYANONDHA e A. SANTADUSIT, *Chromosomen-polymorphismus durch überzählige Autosomen. Beobachtungen an der Hausratte (Rattus rattus)*, «Z. f. Säugetierkunde», 35, 363-371 (1970).
- [11] E. CAPANNA e M. V. CIVITELLI, *On the Chromosomic Polymorphism of Rattus rattus L. A study on West-European Population*, «Experientia», 27, 383-384 (1971).
- [12] E. CAPANNA e V. CIVITELLI, *Karyological analysis of four African populationsof Rattus rattus (L.); a statment of the problem of chromosomal polymorphism in the black rat*, «Boll. Zool», 28, in stampa (1971).
- [13] E. CAPANNA e M. G. MANFREDI ROMANINI, *Nuclear DNA Content and Morphology of the Karyotype in certain palearctic Microchiroptera*, «Caryologia», 24, in stampa (1971); E. CAPANNA, G. SAVOIA e M. G. MANFREDI ROMANINI, *Contenuto in DNA e area nucleare dei linfociti di alcune specie di Microchiroterteri*, «Boll. Zool.», 37 (1970).
- [14] M. G. MANFREDI ROMANINI, M. MINAZZA e E. CAPANNA, *DNA Nuclear Content in Lymphocytes from Mus musculus L. e Mus poschiavinus Fatio*, «Boll. Zool», 38. In stampa (1971).
- [15] N. TAKAGI e S. MAKINO, *An autoradiographic study of the chromosomes of the with special regard to the sex chromosomes*, «Chromosoma», 18, 359-370 (1966).
- [16] J. R. ELLERMAN, *The families and genera of living rodents. Vol. II Family Muridae* (London 1941).
- [17] G. GERZELI, *Fondamenti per l'impiego dei preparati allestiti per apposizione e striscio in ricerche di citomorfologia e citochimica*, «Studia Ghisleriana», ser. III, 2, 103 (1955).
- [18] K. NOESKE, *Discrepancies between cytomorphometric Feulgen values and deoxyribonucleic acid content*, «J. Histochem. Cytochem.», 19, 169-174 (1971).
- [19] J. CHALINE e R. MATTHEY, *Hypothèses relatives à la formule chromosomique d'Allophaiomys pliocaenicus (Rodentia-Arcicolidae) et à la diversification de cette espèce*, «C. R. Acad. Sc. Paris», 272, 1071-1074 (1971).