ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

STEFANO CATAUDELLA, MARIA VITTORIA CIVITELLI, NORA MARTINELLI, ERNESTO CAPANNA

Notizie preliminari sulla costituzione cariologica dell'ibrido intergenerico Salmo gairdneri X Salvelinus fontinalis (Pisces,Salmoniformes)

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. **58** (1975), n.2, p. 258–262. Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_58_2_258_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.

Biologia. — Notizie preliminari sulla costituzione cariologica dell'ibrido intergenerico Salmo gairdneri×Salvelinus fontinalis (Pisces, Salmoniformes). Nota (*) di Stefano Cataudella, Maria Vittoria Civitelli, Nora Martinelli e Ernesto Capanna, presentata (**) dal Socio A. Stefanelli.

SUMMARY. — The chromosome complement of an experimental hybrid Salmo gairdneri × Salvelinus fontinalis has been investigated in 21 specimens. The chromosomes number has been demonstrated to vary both intrerindividually as well as within the different tissues of the same subject. The chromosome number ranges from 92 to 106 and the Fundamental numbers vary from 133 to 159. The morphological analysis of the hybrid karyotypes evidences that each complement is made up by one haploid set of Salvelinus fontinalis plus a variable quasidiploid number of Salmo gairdneri chromosomes. This karyological peculiarity has been hypothized to be the consequence of a former allotriploid complement of a hybrid syncarion resulting from the fusion of a non-reduced female Salmo gairdneri pronucleus with the haploid spermatozoon of Salvelinus fontinalis. This allotriploid complement has been supposed to be transformed throughout Robertsonian changes following the peculiar character of the Salmo gairdneri chromosomal pattern. Nevertheless the chromosome variability of Salmo gairdneri differs from that of the hybrids since in Salmo gairdneri Robertsonian changes produce balanced genoma only, whereas in the hybrids the genome portion related to Salmo gairdneri is affected by large losses of genetic material. New experimental approaches are planned in order to explain the problem of the karyological constitution of the Salmonidae intergeneric hybrids.

Il nostro gruppo si è recentemente interessato alla cariologia degli ibridi sperimentali tra Salmonidi, nello intento di riconoscere nel cariotipo ibrido gli assetti cromosomici delle specie parentali e di ricavare informazioni utili alla discussione sui rapporti filetici tra i taxa. Nel caso di un ibrido tra trota di torrente ($Salmo\ trutta\ L.$) e salmerino di fonte ($Salvelinus\ fontinalis\ Mitch.$) alcuni di noi [1] hanno potuto dimostrare la perfetta integrazione dei due genomi parentali, sia nella loro espressione nel fenotipo dell'ibrido, sia nella composizione del suo cariotipo. Infatti nel cariotipo si riconoscevano chiararamente i due assetti aploidi parentali (n=40 di $Salmo\ trutta\ e\ n=42$ di $Salvelinus\ fontinalis$) e nel fenotipo comparivano caratteri intermedi tra materni, e paterni, quasi espressione di una codominanza di geni parentali.

Proseguendo in questa linea di ricerca abbiamo inteso accertare il comportamento di un genoma morfologicamente instabile, vale a dire cromosomicamente variabile, quale è quello di *Salmo gairdneri* Rich. qualora si trovasse ad agire in una cellula ibrida assieme ad un genoma, per contro, cromosomicamente invariabile, quale quello, ad esempio, di *Salvelinus fontinalis*.

^(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia Comparata «G.B. Grassi» della Università di Roma.

^(**) Nella seduta dell'8 febbraio 1975.

È infatti noto che non si verificano variazioni cromosomiche né intra-specifiche, né intra-individuali in *Salvelinus fontinalis* per il quale classici lavori [2] anche recentemente confermati [1, 3], attribuiscono un numero diploide 2 n = 84, NF. 100. Al contrario, nella trota iridea (*Salmo gairdneri* Rich.) Ohno e Collaboratori [4] hanno recentemente dimostrato un vistoso fenomeno di variazione intra- ed inter-individuale con numeri diploidi che variano tra 2 n = 58 e 2 n = 65; tuttavia questa variazione numerica sembra non alterare minimamente l'interezza del genoma poiché si attua attraverso meccanismi Robertsoniani di fusione-fissione centrica che risultano essere bilanciati, come la fissità del numero fondamentale (N.F. 104) tende a dimostrare.

Per quanto un risultato insolito era atteso, stando alle premesse di variabilità cariotipica di una delle specie parentali, l'esame del cariotipo degli ibridi *Salmo gairdneri* × *Salvelinus fontinalis* ci ha riservato delle osservazioni che meritano, a nostro giudizio, una notazione preliminare, in attesa di completare lo studio con un campionamento più vasto e statisticamente elaborato.

Lo studio è stato condotto, fino al momento attuale, su 12 salmerini (Salvelinus fontinalis Mitch.) 10 trote iridee (Salmo gairdneri Rich.) di un ceppo Kamloops e 21 ibridi. Gli ibridi sono stati ottenuti negli allevamenti del Vetoio del Consorzio per la tutela della pesca negli Abruzzi, le Marche ed il Molise dal dott. R. Volpe, fecondando uova di Salmo gairdneri con seme di Salvelinus fontinalis. La percentuale di schiusa è stata alta, ma al momento del riassorbimento del sacco del tuorlo la mortalità è stata elevatissima, così che il numero degli individui vitali si stima attorno al 10 % delle uova fecondate. Le caratteristiche morfologiche dell'ibrido ed i dati ittiogenici dell'esperienza di ibridazione saranno riferite in un lavoro specialistico attualmente in preparazione [5].

La tecnica per la preparazione cromosomica è quella da noi modificata [6] a partire dal_| procedimento proposto da Hitotsumachi e coll. [7] consistente in un processo air-drying di cellule somatiche colchicinizzate *in vivo*.

Tutti gli ibridi esaminati in questa preliminare fase del nostro studio cariologico hanno manifestato un numero diploide variabile sia tra esemplare ed esemplare esaminato, sia nello stesso ambito intra-individuale. I numeri diploidi osservati nei 21 ibridi variano da 2 n=92 a 2 n=106: questo stesso ambito di variazione è quello osservato per la variabilità numerica intraindividuale. A differenza di quanto si osserva nella specie parentale *Salmo gairdneri*, ove alla variabilità del numero diploide si contrappone l'evidenza della conservazione dell'intero genoma (N.F. 104 in tutte le cellule), negli ibridi anche il numero fondamentale è variabile in un arco piuttosto vasto che va da 133 braccia cromosomiche a 159.

Una facile deduzione emerge considerando che i numeri riscontrati sia per il complemento diploide che per il numero fondamentale degli ibridi sono molto vicini a quelli calcolati sommando al numero aploide del salmerino di

1	assetto aploide del salmerino n $42,NF50$
99	RXXXXXXX
2 n NF	A A AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
IBRIDO 177	**************************************
BRII	VAUVUVOVOVV~
11	cromosomi di trota iridea ≅2n57,NF99
[2]	assetto aploide del salmerino n 42 , $NF50$
102	AXXXXX ono
N N	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
IBRIDO 137	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
RI	メメメメメメ りゅうりゅうしゃ メメメメメメ
IB	cromosomi di trota iridea 2n60, NF104
3	assetto aploide del salmerino n 42. NF 50
96	AAK KXXXXXX
2. RF	~ PADDA A A A A A A A A A A A A A A A A A
IBRIDO 107	×××××××××××××××××××××××××××××××××××××××
BRI	ΛΛΛ ΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛΛ
I	
4	assetto aploide del salmerino n42,NF50
92 135	KAXXXXXX
2n NF	Αννησοσοσονουνοσοσοσοσοσοσο
00 131	XKXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
IBRIDO 131	∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩∩

Fig. 1. – Cariogrammi di quattro cellule appartenenti a quattro differenti ibridi Salmo gairdneri×Salvelinus fontinalis. Notare che solo nel caso dell'ibrido 137 (cariogramma n. 2) la porzione di genoma spettante alla trota iridea si è mantenuta diploide.

fonte $(n=42, {\rm NF. 50})$ i numeri diploidi dell'arco di variabilità della trota iridea $(58 \le 2 \ n \le 65, {\rm N.F. 104})$. Tuttavia stando ad una ipotesi che voglia il genoma dell'ibrido allotriploide (un assetto aploide di *Salvelinus fontinalis* e due di *Salmo gairdneri*) i numeri attesi sarebbero $2\ n$ 100–106 e N.F. 154. Per quanto riguarda il numero diploide, il dato atteso concorda abbastanza con il dato osservato che risulta però molto più estesamente variabile nell'ambito della minus-varianza; questa variazione *in meno* della dimensione del genoma dell'ibrido rispetto a quanto atteso teoricamente trova però conferma nell'andamento della variabilità del numero fondamentale che solo raramente è superiore all'atteso, mentre è frequentemente ed abbondantemente variabile per valori inferiori, fino a scendere sino a 133, vale a dire oltre 20 unità sotto il valore atteso.

Dobbiamo per il momento proporre due ipotesi di lavoro attorno alle quali agire nel nostro procedere nella ricerca, una prima relativa ai meccanismi che portano all'instaurarsi della situazione allotriploide di partenza ed una seconda sulle cause che determinano la variazione cariotipica attorno a tale valore di partenza, con una diminuzione considerevole delle dimensioni del genoma.

Per quanto riguarda il primo punto, è lecito pensare che la penetrazione dello spermatozoo di *Salvelinus fontinalis* nell'uovo di *Salmo gairdneri* non comporti il completamento del processo meiotico con la metafase seconda e la conseguente espulsione del II polocita, così che il pronucleo femminile resterebbe diploide e, di conseguenza, il sincarion allotriploide.

Su questa situazione genomica, già di per sé anomala, verrebbe poi a sovrapporsi il processo di trasformazione Robertsoniana, peculiare di *Salmo gairdneri* e che, a nostro giudizio, verrebbe a coinvolgere solo la frazione di genoma dell'ibrido relativa a questa specie parentale. Infatti in tutte le cellule dell'ibrido che abbiamo analizzato in dettaglio è possibile riconoscere invariato, almeno per quanto riguarda i markers cromosomici, l'assetto aploide del salmerino di fonte.

È però estremamente interessante sottolineare il fatto che nell'ibrido le trasformazioni Robertsoniane non rimangono bilanciate come in Salmo gairdneri, ma vengono perdute cospicue parti di patrimonio ereditario, fino a oltre 20 braccia cromosomiche, senza incidere sulla vitalità cellulare, quasi che essa sia garantita dalla riserva di informazione genetica rappresentata dall'invariabile assetto aploide del salmerino. Verosimilmente nel corso dei primi stadi dello sviluppo embrionale dell'ibrido i processi di trasformazione Robertsoniana debbono dar luogo a linee cellulari cromosomicamente sbilanciate al punto di rendere l'embrione non vitale dopo la fase dell'esaurimento delle riserve nutritive embrionali; non si dimentichi infatti che l'alta mortalità degli ibridi avviene solo al momento del completo riassorbimento del sacco vitellino.

Tuttavia si può anche supporre che parte degli embrioni che non superano la citata crisi alimentare del passaggio alla alimentazione autonoma, siano dei diploidi, vale a dire originati da zigoti il cui sincarion sia formato dai due semplici assetti aploidi delle due specie parentali, e che tale genoma ibrido, a causa della distanza sistematica dei due taxa, non sia vitale. Così solo un occasionale, o indotto errore meiotico verrebbe a rendere possibile una situazione allotriploide compatibile con l'esistenza.

Queste considerazioni che propongono ipotesi esplicative alternative rendono più che mai evidente la necessità di un approfondimento e di una estensione della presente indagine con approcci sperimentali ancora differenti. Ad esempio la presenza di embrioni altamente sbilanciati, ovvero diploidi, tra gli stadi più precoci dello sviluppo e la loro scomparsa dopo il riassorbimento del sacco del tuorlo, potrebbe chiarire il punto del problema sopra esposto. Ed ancora una analisi statisticamente vagliata della variabilità cariotipica dell'ibrido, condotta su di un campione ancora più vasto e tenente conto dei differenti tessuti utilizzati per l'allestimento dei preparati citologici potrebbe dare un quadro più preciso di tale variabilità.

Inoltre lo studio dell'ibrido reciproco (Salvelinus fontinalis $\mathcal{L} \times S$ almo gairdneri \mathcal{L}) e quello di un ibrido ottenuto tra Salmo gairdneri ed un altro Salmonide differente dal salmerino di fonte potranno chiarire diversi aspetti del comportamento del genoma di trota iridea qualora si trovi a partecipare in situazione aploide o quasi-diploide alla costituzione di un complemento cromosomico ibrido.

Tutti gli approcci sperimentali sopra accennati sono già in corso o già realizzati ed in esame da parte di alcuni del nostro gruppo.

BIBLIOGRAFIA

- [1] E. CAPANNA, S. CATAUDELLA e T. GENTILE DE FRONZA (1973) Some remarks on the karyotype of an intergeneric hybrid, Salmo trutta × Salvelinus fontinalis (Pisces: Salmoniformes), « Genetica », 44, 194–206.
- [2] G. SVÄRDSON (1945) Chromosome study on Salmonidae, «Rep. Inst. Freshwat. Res. Drottningholm», 23, 1–125.
- [3] L. MAYERS (1971) In M. L. BECAK et al. (Editors), «Cromosome Atlas: Fish, Amphibians, Reptiles and Birds», Vol. I, Folio P-6 e P-7. Springer Verlag, New York.
- [4] S. Ohno, C. Stenius, E. Faisst e M. T. Zenzes (1965) Post-zygotic chromosomal rearrangements in Rainbow Trout (Salmo irideus Gibbons), «Cytogenetics», 4, 117-129.
- [5] E. CAPANNA, S. CATAUDELLA e R. VOLPE (1975) Su di un ibrido intergenerico Salmo gairdneri×Salvelinus fontinalis (*Pisces, Salmoniformes*), « Boll. Pesca Piscic. Idrobiol » in preparazione.
- [6] E. CAPANNA, S. CATAUDELLA e R. VOLPE (1971) Osservazioni morfologiche e cariologiche su di un ibrido Salmo trutta×Salvelinus fontinalis, « Boll. Pesca Piscic. Idrobiol. », 26, 245–257.
- [7] S. HITOTSUMACHI, M. SASAKI e Y. OJIMA (1969) Comparative karyotype study in several species of Japanese loaches (Pisces: Cobitidae), «Jap. J. Genetics», 44, 157–161.