
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

VALERIO SCALI, PAOLO MOSTI

**Riarrangiamenti cromosomici in *Bacillus rossius*
(Insecta, Cheleutoptera) dell'Isola del Giglio**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 59 (1975), n.5, p. 493–498.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_59_5_493_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. — *Riarrangiamenti cromosomici in Bacillus rossius* (Insecta, Cheleutoptera) dell'Isola del Giglio (*). Nota di VALERIO SCALI e PAOLO MOSTI, presentata (**) dal Socio M. BENAZZI.

SUMMARY. — Seven males of the stick insect *B. rossius* (out of the twenty collected on the Isola del Giglio in July 1974) have shown a chromosomal rearrangement of a definite kind in all the spermatogonia and spermatocytes I which could be analysed in spite of extensive stickiness. Five of them had a pericentric inversion affecting one of the medium sized autosomes (4 heterozygotes and 1 homozygote); this chromosomal rearrangement appears to be the same in the 5 specimens. For one of the heterozygotes it has been possible to investigate two spermatocytes I at metaphase and a corresponding heteromorphic bivalent has been observed in both.

The remaining two males have shown to possess in their spermatocytes I a small bivalent with partners of unequal size; it has not been possible to decide whether this structural change is the same in the two specimens; for one of them it is likely that the condition arises from a translocation of a part of the large metacentric chromosome to an autosome of a small acrocentric pair. Furthermore several instances of structural and numerical changes have been observed in single cells. All these findings are in agreement with a widespread occurrence of chromosomal breakages in *B. rossius* as has been already found in other stick insect species.

Stickiness could also be due not to technical faults but to cytological features of the *Cheleutoptera*.

INTRODUZIONE

B. rossius presenta una notevole gamma di modalità riproduttive, dalla anfigonia alla partenogenesi obbligatoria [2, 9]. Nel suo areale di distribuzione, le popolazioni partenogenetiche sono soprattutto a nord e quelle anfigoniche a sud; nell'Italia centrale sono frammiste [1] ed inoltre, alcune femmine sia di popolazioni bisessuate che unisessuate risultano partenogenetiche obbligatorie perché, anche se accoppiate, danno solo prole femminile [8].

L'incrocio di un maschio algerino con cinque femmine francesi, partenogenetiche, ha dato prole bisessuata [3]; si è concluso quindi che non esiste barriera riproduttiva e differenziazione cromosomica fra i due tipi di popolazione [3, 1].

D'altra parte nel corso di ricerche citologiche, che ci hanno permesso di caratterizzare, anche se parzialmente, il corredo cromosomico di popolazioni sicuramente anfigoniche, abbiamo notato che a livello di divisioni goniali e, in grado minore, di metafasi I^e spermatocitarie esiste una notevole variabilità numerica e strutturale dei cromosomi [5]. Questo reperto, oltre a fornire la base per l'interpretazione dei fenomeni di mosaicismismo cromosomico riscontrati

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Pisa col contributo del C.N.R.

(**) Nella seduta del 15 novembre 1975.

nel corso dello sviluppo embrionale [6, 7, 9], ha anche suggerito di continuare le indagini per una verifica della ipotizzata assenza di differenziazione cromosomica nelle diverse popolazioni di questa specie.

MATERIALE E TECNICA

I 7 maschi utilizzati per questa ricerca sono stati raccolti, insieme a quelli di cui abbiamo già riferito [5], all'Isola del Giglio nel luglio 1974. Gli animali, allevati in laboratorio solo per il tempo necessario al raggiungimento dello sviluppo desiderato (3° e 4° stadio larvale), sono stati nutriti con rovo in gabbie entomologiche di $28 \times 24 \times 26$ cm, a temperatura ambiente, ed hanno avuto un fotoperiodo naturale.

I testicoli sono stati prelevati dopo addormentamento degli animali in CO₂, e gli schiacciamenti, ottenuti dopo fissazione in 3 : 1 alcool etilico assoluto: acido acetico glaciale per 60' e dissociazione in acido acetico al 45 % su vetrino siliconato, sono stati congelati per 5' su ghiaccio secco. Dopo un'idrolisi di 6' in HCl 1 N a 60 °C, i preparati sono stati colorati con Giemsa per 25' e montati in euparal.

ESPOSIZIONE DEI REPERTI

La diffusa stickiness cromosomica presente sia nelle divisioni goniali che in quelle meiotiche, ha ridotto moltissimo il numero delle cellule che si prestano ad un sicuro conteggio dei cromosomi, tuttavia, poiché esiste una notevole variazione nel grado di « appiccicosità » fra i cromosomi in piastre diverse, è stato possibile analizzare svariate cellule (da 3 a 23) in ciascun individuo.

Cinque maschi presentano, quale riarrangiamento cromosomico costante, la ristrutturazione della stessa coppia autosomica e cioè quella degli acrocentrici medi [5]: quattro individui sono risultati eterozigoti ed uno omozigote per una inversione pericentrica che ha prodotto un cromosoma meta-centrico da quello standard acrocentrico, di cui peraltro mantiene la lunghezza totale. (Tab. I e Tav. I, figg. 1-5). Come si può vedere dal confronto delle Tav. I, figg. 1, 2, 5, la ristrutturazione è molto simile nei diversi individui ed è assai probabile che rappresenti lo stesso rimaneggiamento. Di un maschio eterozigote per l'inversione abbiamo potuto ottenere anche due metafasi I° studiabili: ambedue hanno rivelato che il bivalente dato dagli autosomi medi è chiaramente eteromorfo (Tav. I, figg. 3, 4).

Negli altri due maschi è stata riscontrata un'altra ristrutturazione cromosomica a carico di una coppia di piccoli acrocentrici [5]; per questi due esemplari è stato possibile studiare metafasi I° soltanto (23 nel primo e 5 nel secondo); tutte hanno mostrato insieme all'atteso numero cromosomico di 35 elementi, una coppia eteromorfa di piccoli autosomi poiché in essa un partner

TABELLA I

Numero e corredo cromosomico di 25 cellule di Bacillus rossius.

Individuo	Stadio	N. cellula	Tipo di divisione	N. comosom.	Classificazione dei cromosomi		
					Grandi	Medi	Piccoli
1	III	1	Mitosi	36	2 m	1 t, 1 m; 1 t	31 t
		2	Mitosi	35	2 m	1 t, 1 m; 1 t	30 t
		3	Mitosi	35	2 m	1 (t), 1 (m); 1 (t)	30 (t)
		4	Mitosi	36	2 m	1 (t), 1 (m); 1 (t)	31 (t)
		5	Mitosi	35	2 m	1 (t), 1 (m); 1 (t)	30 (t)
		6	Mitosi	35	2 m	1 (t), 1 (m); 1 (t)	30 (t)
		7	Mitosi	35	2 m	1 (t), 1 (m); 1 (t)	30 (t)
		8	Mitosi	34	2 m	1 t, 1 m; 1 t	29 t
2	III	9	Mitosi	35	2 m	1 t, 1 m; 1 t	30 t
		10	Mitosi	35	2 m	1 t, 1 m; 1 t	30 t
		11	Mitosi	35	2 m	1 t, 1 m; 1 t	30 t
		12	Mitosi	32	2 m	1 t, —; 1 t	28 t
		13	Mitosi	35	2 m	1 t, 1 m; 1 t	30 t
3	IV	14	Mitosi	36	2 m	1 t, 1 m; 1 t	31 t
		15	Mitosi	35	2 m	1 t, 1 m; 1 t	30 t
		16	Mitosi	35	2 m	1 t, 1 m; 1 t	29 t + 1 (st)
4	IV	17	Mitosi	35	2 m	1 t, 1 m; 1 t	30 t
		18	Mitosi	35	2 m	1 (t), 1 (m); 1 (t)	30 (t)
		19	Metafase I ^a	35	2 m	1 t + 1 m; X	30 t
		20	Metafase I ^a	35	2 m	1 t + 1 m; X	30 t ^o
		21	Mitosi	35	2 m	2 (m); 1 t	30 (t)
5	IV	22	Mitosi	35	2 m	2 m; 1 t	30 t
		23	Mitosi	35	2 m	2 (m); 1 (t)	30 t
		24	Mitosi	32	1 m	2 m; 1 t	26 t; 2 (t)
		25	Mitosi	35	2 m	2 (m); 1 t	30 t

Il criterio adottato per la suddivisione dei cromosomi secondo la taglia è quello esposto in (5). *m* = cromosomi metacentrici; *t* = cromosomi telocentrici; *st* = cromosomi subtelocentrici. Fra parentesi i casi in cui la classificazione di uno o più cromosomi è stata fatta in base alla sola morfologia o taglia senza effettiva localizzazione del centromero; (°) = bivalente eteromorfo.

è più grande dell'altro (Tav. I, fig. 6). Dato che non è possibile distinguere le coppie dei piccoli autosomi (cfr. [5]), non si può decidere se la ristrutturazione interessa la stessa coppia nei due individui e, tanto meno, se il riarrangiamento è lo stesso.

Oltre alle ristrutturazioni sopradescritte, che appaiono costanti per tutte le cellule di un dato individuo, sono state riscontrate anche variazioni accidentali del numero e della struttura cromosomica simili a quelle già descritte nel corso dell'analisi del corredo standard di *B. rossius* [5], sia nelle mitosi goniali, sia negli spermatociti I¹ (Tab. I, cellule 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24 e Tav. I, figg. 1, 2, 4). In particolare nella cellula 1 (Tav. I, fig. 1) i piccoli acrocentrici sono 31 anziché 30 ed uno di questi presenta una forma insolita; nella cellula 16 (Tav. I, fig. 2) uno dei 30 autosomi piccoli è chiaramente subacrocentrico anziché acrocentrico; nella cellula 20 (Tav. I, fig. 4) è presente un bivalente piccolo con partners di taglia marcatamente diversa (oltre all'eteromorfo medio già descritto). La Tav. I, fig. 7 illustra infine una metafase I^a, appartenente allo stesso individuo da cui è tratta la Tav. I, fig. 6, che presenta alcune caratteristiche insolite. Il suo numero cromosomico complessivo è quello atteso di 35, ma, oltre a mostrare svariate zone di stickiness, presenta le seguenti anomalie: formazione di un trivalente fra un acrocentrico piccolo ed il bivalente dei grandi metacentrici, la presenza di un univalente (oltre all'X) ed infine, la formazione di un bivalente piccolo eteromorfo dato da un partner acrocentrico e dall'altro metacentrico, non riscontrato nelle altre cellule.

DISCUSSIONE DEI RISULTATI

Il ritrovamento di sette individui con un riarrangiamento cromosomico comune a tutte le cellule, sia in eterozigosi sia in omozigosi, rappresenta un significativo reperto sulla effettiva possibilità di differenziazione cromosomica in *B. rossius*. Inoltre, se, come sembra assai probabile, per cinque di essi si tratta della stessa ristrutturazione, tale dato acquista importanza circa la diffusione di riarrangiamenti cromosomici a livello popolazionistico, considerato anche il fatto che sono stati esaminati complessivamente solo 20 individui (cfr. [5]). Questi primi risultati indicano chiaramente che può essere interessante il confronto di cariotipi di popolazioni diverse.

La ristrutturazione riscontrata per la coppia dei medi in cinque individui è di immediata spiegazione da un punto di vista cromosomico, trattandosi chiaramente di una inversione pericentrica; la situazione del bivalente piccolo con partners di taglia diversa, dato che non è possibile la completa caratterizzazione della coppia interessata, potrebbe essere invece spiegata in vario modo e cioè sia con una delezione eterozigote sia con l'acquisto di un pezzo per traslocazione o duplicazione eterozigote. È impossibile decidere con certezza per una di queste alternative, ma l'analisi della Tav. I, fig. 7 offre, almeno per uno dei due casi, una indicazione interpretativa. In questa cellula è assente

il bivalente eteromorfo comune a tutte le altre e sono invece presenti un univalente di taglia assai simile al partner più piccolo del bivalente eteromorfo presente nelle altre metafasi I^e ed un trivalente che potrebbe essere formato dalla sinapsi del partner più grande con la coppia dei grandi metacentrici. Se questa interpretazione è corretta si può pensare che si è avuta una traslocazione da un grande metacentrico ad un piccolo acrocentrico, traslocazione che ha aumentato la taglia di quest'ultimo.

Alla situazione di rimaneggiamenti costanti si sovrappone poi, in numerose cellule una variabilità strutturale accidentale: ne risulta un quadro citologico che deve avere alla base un'alta frequenza di rotture cromosomiche, le quali, unitamente alla ineguale ripartizione anafasica, sono responsabili anche delle frequenti variazioni numeriche.

Vorremmo infine far notare che la grande variabilità del grado di stickness nelle varie cellule dello stesso individuo ed in individui diversi, ben difficilmente può essere spiegata con difetti di fissazione; più probabile sembra, invece, vista la sua diffusione in tutte le specie di fasmidi finora studiate cromosomicamente, che essa sia in relazione alle caratteristiche citologiche dei *Cheleutoptera* [4].

BIBLIOGRAFIA

- [1] L. BULLINI (1968) - *Osservazioni su alcune popolazioni partenogenetiche italiane del fasmide Bacillus rossius (Rossi)*, « La Ric. Sci. », 12, 1270-1272.
- [2] L. BULLINI (1972) - *Evoluzione della partenogenesi nel fasmide Bacillus rossius*, « Boll. Zool. », 39, 565.
- [3] M. FAVRELLE e G. DE VICHET (1937) - *Résultats de la fécondation, par un mâle d'Algérie, de femelles parthénogénétiques françaises du Bacillus rossius (Phasmidae)*, « C.R. Ac. Sci. », 204, 1899-1900.
- [4] I. KLÁSTERSKÁ e A. T. NATARAJAN (1975) - *Stickiness in Rosa meiosis induced by hybridisation*, « Caryologia », 28, 81-88.
- [5] P. MOSTI e V. SCALI (1975) - *Osservazioni sul corredo cromosomico di Bacillus rossius (Insecta, Cheleutoptera)*, « Acc. Naz. Lincei, Rend. Sc. fis. mat. e nat. », 59, 537-545.
- [6] V. SCALI (1968) - *Biologia riproduttiva del Bacillus rossius (Rossi) nei dintorni di Pisa con particolare riferimento all'influenza del fotoperiodo*, « Atti Soc. Tosc. Sci. nat. Mem. Ser. B », 75, 108-139.
- [7] V. SCALI (1969) - *Osservazioni citologiche sullo sviluppo embrionale di Bacillus rossius (Insecta Phasmoidea)*, « Acc. Naz. Lincei, Rend. Sc. fis. mat. e nat. », 46, 110-116.
- [8] V. SCALI (1970) - *Obligatory parthenogenesis in the stick insect Bacillus rossius (Rossi)*, « Acc. Naz. Lincei, Rend. Sc. fis. mat. e nat. », 49, 307-314.
- [9] V. SCALI (1972) - *La citologia della partenogenesi di Bacillus rossius*, « Boll. Zool. », 39, 567-573.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

- Fig. 1. - Cellula 1 della Tabella I, con 36 cromosomi. Sono ben evidenti i due grandi metacentrici, l'X (asterisco) e la coppia eterozigote degli altri due cromosomi medi (freccie grandi). Gli acrocentrici piccoli sono 31 anziché 30 ed uno si presenta di forma insolita (freccia piccola). ($\times 1300$).
- Fig. 2. - Cellula 16 della Tabella I, con 35 cromosomi. Stesse osservazioni generali della fig. 1. I cromosomi piccoli sono 30 ed uno (freccia piccola) è subacrocentrico anziché acrocentrico. ($\times 1300$).
- Figg. 3 e 4. - Cellule 19 e 20 della Tabella I. Nonostante le numerose stickinesses (freccie piccole) sono individuabili i 17 bivalenti ed il cromosoma X (freccia grande). Un asterisco segna il bivalente eteromorfo dato dalla coppia eterozigote degli autosomi medi. Nella fig. 4 la doppia freccia indica un bivalente eteromorfo piccolo. ($\times 1300$).
- Fig. 5. - Cellula 21 della Tabella I, con 35 cromosomi. Gli autosomi medi sono ambedue metacentrici (freccie grandi); una freccia piccola indica l'X. ($\times 1300$).
- Fig. 6. - Spermatocita I° metafasico a 35 cromosomi con un piccolo bivalente eteromorfo (freccie grandi). Sono ben riconoscibili la coppia dei metacentrici (anello grande) e degli acrocentrici medi (bastoncino a destra del bivalente eteromorfo); l'asterisco segna l'X e la freccia piccola un gruppo di tre bivalenti con appiccicosità. ($\times 1650$).
- Fig. 7. - Spermatocita I° metafasico con 35 cromosomi, dello stesso individuo della fig. 6. Sono indicati il trivalente (freccia grande), l'univalente (freccia piccola), il cromosoma X (asterisco) ed il bivalente eteromorfo (doppia freccia). ($\times 1650$).

