
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ILEANA PULCINELLI, VITTORIO GREMIGNI

**Sulla presenza nei blasfemi di planarie di cellule
provenienti dal territorio gonadico femminile**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 63 (1977), n.6, p. 588–592.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1977_8_63_6_588_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/>

Zoologia. — *Sulla presenza nei blastemi di planarie di cellule provenienti dal territorio gonadico femminile.* Nota (*) di ILEANA PUCCINELLI e VITTORIO GREMIGNI, presentata (**) dal Socio M. BENAZZI.

SUMMARY. — The problem of the origin and nature of blastema cells in planarians has been karyologically investigated in a population of *Dugesia lugubris* s.l. in which the somatic line is triploid (12 chromosomes), the female germ line is hexaploid (24 chromosomes) and the male germ line is diploid (8 chromosomes). Sexually mature specimens were transected at a cephalic level anterior to the ovaries: from each transected specimen two regenerants were obtained both of which formed a blastema. Forty-two hours after the transection most of the metaphasic cells of the posterior regenerant blastemata (p.r.b.) had 12 chromosomes. In some p.r.b. hexaploid cells, interphasic double-nucleated cells and cells with 8 chromosomes were also found. By contrast, in the blastemata of anterior regenerants (lacking gonads) only triploid cells were found.

The possible contribution of germ cells to the blastema formation in planarians is discussed.

INTRODUZIONE

Il problema della natura e origine delle cellule che formano il blastema rigenerativo nelle planarie è stato oggetto di numerose ricerche e di varie interpretazioni (cfr. Brøndsted, 1969; Gremigni, 1974; Chandebois, 1976). Nostre recenti ricerche kariologiche ed ultrastrutturali (Gremigni e Puccinelli, 1975; 1977) hanno messo in luce che, oltre alle cellule della linea somatica (cellule di riserva di tipo embrionale chiamate neoblasti, e/o cellule capaci di sdifferenziarsi), anche cellule immature della linea germinale maschile possono contribuire, seppure in minor misura, alla formazione del blastema. Siamo pervenuti a questo risultato usufruendo per le nostre ricerche di una popolazione di *Dugesia lugubris* s.l. del lago d'Iseo. Tale popolazione appartiene al biotipo B secondo la classificazione di Benazzi (1957) ⁽¹⁾ ed è risultata particolarmente idonea allo scopo, presentando le linee somatica e germinali kariologicamente distinguibili: si ha infatti un corredo $3n = 12$ nella linea somatica, $2n = 8$ nella linea germinale maschile, $6n = 24$ nella linea germinale femminile. Mediante esperimenti di rigenerazione abbiamo potuto dimostrare la presenza nei blastemi, ottenuti da rigeneranti cui era stata asportata l'estremità caudale, di cellule diploidi, interpretabili appunto come elementi provenienti dal territorio maschile.

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

(**) Nella seduta del 10 dicembre 1977.

(1) In base alle ricerche di Benazzi *et al.* (1970) e di Reynoldson e Bellamy (1970) tale biotipo deve essere ascritto a *D. polychroa* (O. Schmidt).

Il presente lavoro costituisce un ulteriore contributo al problema dell'origine del blastema. In esemplari della stessa popolazione di *D. lugubris* s.l. abbiamo studiato dal punto di vista carilogico blastemi ottenuti dopo taglio anteriore alla zona degli ovari per mettere in evidenza l'eventuale partecipazione di cellule della linea femminile alla formazione del blastema. È da tener presente a questo proposito che in una popolazione ex-scissipara di *D. biblica*, Banchetti e Gremigni (1973) hanno osservato la presenza di cordoni di cellule provenienti sia dai testicoli che dagli ovari in continuità con il blastema.

MATERIALE E METODO

Per questa ricerca sono state usate solamente planarie nate in laboratorio nell'inverno 1976-77 da coppie del ceppo originario raccolto nel lago d'Iseo. Subito dopo la nascita gli esemplari sono stati isolati e così allevati fino al raggiungimento della maturità sessuale e della loro utilizzazione per gli esperimenti.

In ciascun esemplare è stato effettuato un taglio anteriormente agli ovari secondo lo schema riportato nella fig. 1. Da ogni planaria così sezionata

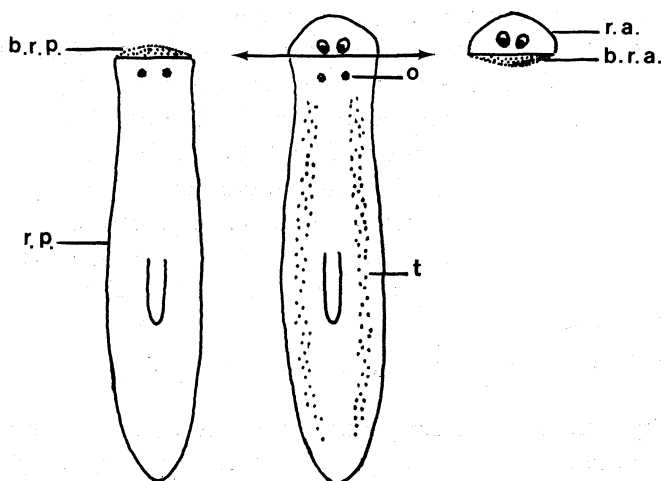


Fig. 1. - Schema degli esperimenti di taglio: al centro è raffigurato l'animale intero e il livello al quale è stata effettuata la sezione. A sinistra il rigenerante posteriore (r.p.) con il suo blastema (b.r.p.); a destra il rigenerante anteriore (r.a.) con il suo blastema (b.r.a.). *t* = testicoli; *o* = ovari.

sono stati ottenuti due rigeneranti: anteriore (r.a.) e posteriore (r.p.) i cui blastemi (b.r.a. e b.r.p.) sono stati esaminati carilogicamente. Dopo circa 42 ore dal taglio, gli esemplari che mostravano blastemi ben sviluppati sono stati posti in una soluzione acquosa 0.3 % di colchicina per circa 6 ore; quindi i blastemi sono stati asportati, colorati per 30 minuti in orceina aceto-lattica ed infine preparati mediante schiacciamento.

OSSERVAZIONI

L'indagine cariologica è stata compiuta sia sui blastemi dei rigeneranti posteriori, per individuarvi la eventuale presenza di cellule $6n$ provenienti dal territorio gonadico femminile (solo a questo livello avviene infatti il raddoppiamento cromosomico delle cellule che si differenziano in ovogoni), sia, per controllo, sui blastemi dei rigeneranti anteriori; questi ultimi contengono infatti solo cellule somatiche ed era quindi prevedibile di trovare in essi solo cellule $3n$.

A) Osservazioni sui blastemi dei rigeneranti posteriori (b.r.p.).

Dei numerosi esemplari tagliati sono stati studiati con particolare attenzione i venti che presentavano blastemi più ricchi di mitosi. In tutti la grande maggioranza delle cellule in metafase possedeva il corredo $3n$ tipico della linea embrionale e somatica; in dieci casi tuttavia sono state osservate in numero variabile da 1 a 5 per ciascun blastema, anche cellule con corredo $6n$ (Tav. I, fig. 2). Negli altri blastemi non sono state osservate cellule $6n$ in metafase, tuttavia sono state notate spesso cellule interfasiche chiaramente binucleate e di volume maggiore rispetto a quelle $3n$ (Tav. I, fig. 3).

Si sono inoltre osservate alcune cellule con configurazioni particolari (ad esempio cromosomi disposti in due gruppi distinti nella stessa cellula) (Tav. I, fig. 4); queste cellule presentavano un alto grado di ploidia, anche se non è stato possibile accertare il numero cromosomico esatto, a causa dello stadio di contrazione e dell'ammassamento dei cromosomi.

In quasi tutti i blastemi sono infine state osservate cellule diploidi (Tav. I, fig. 5) o ipotriploidi o con figure di eliminazione.

B) Osservazioni sui blastemi dei rigeneranti anteriori (b.r.a.).

Nei blastemi di controllo sono state osservate costantemente solo cellule $3n$; mai sono state riscontrate cellule $6n$ o $2n$ o con numero di cromosomi ipotriploide, né cellule con figure di eliminazione.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il problema di base della rigenerazione nelle planarie, quello cioè della natura delle cellule che costituiscono il blastema, pur essendo stato molto studiato non è tuttora risolto. Una mole crescente di dati sembra ora orientare buona parte degli studiosi di questo problema verso l'interpretazione che il blastema possa essere costituito non esclusivamente da cellule di riserva di tipo embrionale (i cosiddetti neoblasti), ma anche da cellule capaci di sdifferenziarsi e di tornare pluripotenti.

La presente indagine kariologica sembra portare un nuovo contributo in favore di questo punto di vista. Le cellule in mitosi con corredo $6n$ evidenziate nei blastemi dei rigeneranti posteriori provvisti di ovari sono infatti a nostro avviso interpretabili come elementi germinali femminili migrati nel blastema dal territorio gonadico, dove avevano subito il differenziamento kariologico (raddoppiamento del corredo) necessario per la trasformazione di cellule di tipo embrionale in ovogoni.

La percentuale di cellule metafasiche con corredo chiaramente $6n$ presenti nei blastemi è risultata piuttosto bassa (circa 1 %), inferiore cioè a quella da noi rilevata nel precedente lavoro per le cellule provenienti dai territori maschili (2-3 %). Ciò a nostro avviso non deve stupire e rientra anzi nelle aspettative, in quanto le gonadi femminili sono costituite da due soli ovari (mentre i testicoli sono numerosissimi) nei quali gli ovogoni, distribuiti alla periferia, sono in numero assai limitato.

Va poi tenuto presente che nei b.r.p. oltre alle cellule esaploidi metafasiche ne abbiamo riscontrate varie in interfase ma binucleate ed altre con configurazioni particolari e grado di ploidia certamente superiore a $3n$ le quali pure potrebbero provenire dal territorio ovarico. È bene ricordare infatti che il raddoppiamento del corredo cromosomico delle cellule germinali femminili si realizza (in quelle popolazioni che presentano tale fenomeno) mediante una divisione nucleare non seguita da citodieresi. Si possono pertanto formare cellule con due nuclei distinti che solo in una fase successiva subiranno la fusione nucleare (cfr. Benazzi Lentati, 1970). Si può quindi pensare che sia le cellule binucleate sia quelle con elevato grado di ploidia e configurazioni cromosomiche particolari, provengano dal territorio ovarico dove hanno subito l'induzione al raddoppiamento del corredo che può ancora manifestarsi a livello del blastema.

L'assenza di cellule esaploidi o binucleate nei blastemi dei rigeneranti anteriori (sprovvisti di ovari) sembra inoltre confermare che il processo di raddoppiamento cromosomico avviene negli esemplari studiati specificamente a livello del territorio gonadico femminile, il che conforta ulteriormente la nostra interpretazione.

Le presenti osservazioni ci permettono anche di confermare i dati del precedente lavoro (Gremigni e Puccinelli, 1977) riguardo alla partecipazione di giovani elementi maschili alla formazione del blastema. Infatti nei b.r.p. sono state osservate varie cellule diploidi, ipotriploidi o mostranti figure di eliminazione, assenti invece nei b.r.a. Queste cellule sono a nostro avviso interpretabili come elementi germinali migrati nel blastema dal territorio gonadico maschile. Tali osservazioni risultano logiche e attendibili alla luce della nostra interpretazione se si considera che nei rigeneranti posteriori sono presenti numerosi testicoli distribuiti subito dietro agli ovari.

BIBLIOGRAFIA

- BANCHETTI R. e GREMIGNI V. (1973) - *Indirect evidence for neoblast migration and for gametogonia dedifferentiation in ex-fissiparous specimens of Dugesia gonocephala s.l.*, « Accad. Naz. Lincei », 55, 107-115.
- BENAZZI M. (1957) - *Cariologia di Dugesia lugubris (O. Schmidt) (Tricladida Paludicola)*, « Caryologia », 10, 276-303.
- BENAZZI M., PUCCINELLI I. e DEL PAPA R. (1970) - *The planarians of the Dugesia lugubris-polychroa group: taxonomic inferences based on cytogenetic and morphological data*, « Accad. Naz. Lincei », 48, 369-376.
- BENAZZI LENTATI G. (1970) - *Gametogenesis and egg fertilization in Planarians*, « Intern. Rev. Cytol. », 27, 101-179.
- BRØNSTED H. V. (1969) - *Planarian Regeneration*. Pergamon Press, Oxford.
- CHANDEBOIS R. (1976) - *Histogenesis and morphogenesis in Planarian Regeneration*. Wol-sky A. ed. S. Karger, Basel.
- GREMIGNI V. (1974) - *The origin and cytodifferentiation of germ cells in the Planarians*, « Boll. Zool. », 41, 359-377.
- GREMIGNI V. e PUCCINELLI I. (1975) - *Approccio cariologico alla identificazione dell'origine delle cellule del blastema rigenerativo nelle planarie*, « Boll. Zool. », 42, 465-466.
- GREMIGNI V. e PUCCINELLI I. (1977) - *A contribution to the problem of the origin of the blastema cells in Planarians: a karyological and ultrastructural investigation*, « J. Exp. Zool. », 199, 57-72.
- REYNOLDSON T. B. e BELLAMY L. S. (1970) - *The status of Dugesia lugubris and D. polychroa (Turbellaria, Tricladida) in Britain*, « J. Zool. Lond. », 162, 157-177.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

- Figg. 2-5. - Fotografie di cellule di b.r.p. a 42 ore dal taglio e dopo trattamento con colchicina (1300×).
- Fig. 2. - Due piastre metafasiche, in alto triploide (12 cromosomi) in basso esaploide (24 cromosomi). Le frecce indicano i cromosomi metacentrici, 1 per ogni assetto aploide.
- Fig. 3. - Due cellule interfasiche: quella binucleata appare di volume maggiore rispetto all'altra monucleata.
- Fig. 4. - Cellula metafasica con grado di ploidia superiore a $3n$ e con i cromosomi disposti in due gruppi.
- Fig. 5. - Piastra metafasica diploide (8 cromosomi).

