
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

PAOLO DERI

**Incremento del numero cromosomico e comparsa di
B-cromosomi durante l'allevamento in laboratorio di
una popolazione diploide di *Dugesia benazzii*
(triclade paludicolo)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 68 (1980), n.4, p. 327–332.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1980_8_68_4_327_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. — *Incremento del numero cromosomico e comparsa di B-cromosomi durante l'allevamento in laboratorio di una popolazione diploide di Dugesia benazzii (triclade paludicolo).* Nota di PAOLO DERI (*), presentata (**) dal Socio M. BENAZZI.

SUMMARY. — This paper reports on the chromosome variations which occurred during a prolonged laboratory culture in specimens of the freshwater planarian *Dugesia benazzii* collected in the river Cavo (Corsica). In natural conditions, as well as in the first period of culture (1968–1970), all individuals were sexual and eudiploid in both somatic and germ cells. In 1971–1972, however, they became agamic and fissiparous. Their somatic cells showed a hyperdiploid complement of 19–26 chromosomes, which appeared homologous to the ones of the standard set of the species (A-chromosomes). More recently, B-chromosomes in a number of 1–3 and morphologically similar to those already described by the A. in other natural populations from Corsica, have been observed in 85% of the hyperdiploid somatic cells. The origin of polysomy and the mechanism of its transmission as well as the factors determining the appearance of the B-chromosomes in this strain are still unknown. The increase in chromosome number preceded the appearance of B-chromosomes, but a causal relationship between these two events is not ascertained. It is also worthy of attention that these karyological variations occurred after a long period of laboratory culture and at the time that fissioning was acquired. Aneuploidy has been frequently observed in fissiparous species of the “*D. gonocephala* group”; however, the correlation between these two phenomena is not constant and probably depends on specific genetic factors.

INTRODUZIONE

Tra le numerose specie appartenenti al «gruppo *Dugesia gonocephala*», *D. benazzii* Lepori appare la più differenziata dal punto di vista cariologico. L'evoluzione cromosomica in essa avvenuta, effetto di fenomeni di poliploidizzazione connessi a ginogenesi, ha permesso la identificazione di tre biotipi fondamentali (cfr. Benazzi, 1960):

- 1) diploide ($2n = 16$; $n = 8$) anfimittico e a gametogenesi normale;
- 2) triplo-esaploide, pseudogamico, con ovociti esaploidi, cellule somatiche triploidi e spermatogenesi diploide;
- 3) tetraploide, pseudogamico, con ovociti tetraploidi asinaptici (l'ovogenesi è ameiotica), linea somatica tetraploide e linea maschile in genere diploide, pur non mancando spermatociti polisomici o tetraploidi.

Il biotipo diploide, che interessa in modo particolare questo lavoro, è certamente quello primitivo di *D. benazzii* e risulta anche il più diffuso, essendo stato riscontrato in numerose popolazioni distribuite in tutto l'areale della

(*) Istituto di Istologia e Embriologia, Università di Pisa. Lavoro eseguito con il Contributo C.N.R. CT 76.01271.04/115.3822.

(**) Nella seduta del 12 aprile 1980.

specie (Corsica, Sardegna, Capraia). Alcune di queste presentano, nelle cellule sia somatiche che germinali, oscillazioni del numero cromosomico (polisomia) che, sebbene siano state descritte anche in popolazioni appartenenti agli altri biotipi, in quello diploide sono particolarmente frequenti e di rilevante entità (Benazzi Lentati, 1957, 1964; Benazzi Lentati *et al.*, 1951; Deri, 1971). Variazioni nel numero cromosomico possono inoltre insorgere in popolazioni diploidi nel corso di allevamenti in laboratorio. Infine, in popolazioni della Corsica da ritenersi esse pure appartenenti al biotipo diploide ma caratterizzate da incremento numerico dei cromosomi, sono stati descritti (Deri, 1975) cromosomi sovrannumerari (B-cromosomi).

Dal complesso delle ricerche precedenti risulta pertanto che il biotipo diploide di *D. benazzii* si presenta differenziato in varie forme che possiamo così elencare:

- a) popolazioni costantemente eudiploidi;
- b) popolazioni eudiploidi in natura divenute polisomiche durante l'allevamento in laboratorio;
- c) popolazioni con individui sia eudiploidi che polisomici già in natura;
- d) popolazioni polisomiche già in natura.

I B-cromosomi erano stati dapprima osservati solo in alcune delle popolazioni c) e d). Nel presente lavoro segnalò una popolazione con le caratteristiche b) nella quale in laboratorio, oltre alla insorgenza di polisomia, si è verificata anche la comparsa di B-cromosomi.

MATERIALE E TECNICHE

Gli esemplari di *Dugesia benazzii* utilizzati in questa ricerca sono stati da me raccolti in Corsica, in due distinte escursioni (aprile 1968 e ottobre 1977), nel fiume Cavo, in prossimità del suo sbocco in mare sulla costa sud-orientale dell'isola.

Le planarie raccolte erano sessuate e sono state ripetutamente analizzate dal punto di vista cariologico.

Per l'esame del corredo cromosomico delle cellule somatiche sono stati utilizzati blastemi rigenerativi. A distanza di 2-3 giorni dalla divisione, gli individui in rigenerazione sono stati fatti soggiornare per 4-6 ore in colchicina 0.3 %. Il blastema è stato successivamente prelevato, fissato per 10 min in alcool etilico assoluto - acido acetico glaciale (3 : 1), dissociato in acido acetico 2 % e schiacciato tra copri- e portaoggetto secondo la tecnica di Conger e Fairchild (1953). Il preparato stabile così ottenuto è stato poi colorato per 15 min in Giemsa (soluzione stock Giemsa 5 % in tampone fosfato 0.01 M, pH 7.0) e montato in Euparal o Permount.

L'analisi del corredo della linea germinale femminile è stata condotta sugli ovociti non fecondati presenti in bozzoli prelevati dall'atrio genitale o appena deposti, il cui contenuto, dopo breve dissociazione in acqua distillata, è stato colorato con acetocarminio.

OSSERVAZIONI

Gli esemplari raccolti nel 1968 erano tutti sessuati ed eudiploidi. Ciò fu stabilito in base all'esame delle cellule somatiche (Tav. I *a*) e degli ovociti contenuti nei numerosi bozzoli deposti nei primi mesi di permanenza in laboratorio. Nell'insieme il quadro cariologico risultò quello tipico delle popolazioni appartenenti al biotipo diploide anfimittico (Deri, 1971) e tale si è mantenuto per parecchio tempo; solo il numero dei bozzoli diminuì progressivamente, fatto questo che, in certe popolazioni, si riscontra frequentemente nelle colture di laboratorio.

Nel 1971-1972, invece, alcuni individui si divisero spontaneamente per scissione. Esaminando i blastemi rigenerativi, osservai che il corredo delle cellule somatiche era iperdiploide (Tav. I *b*), mentre gli individui rimasti sessuati continuavano a risultare eudiploidi. In seguito tutti gli esemplari divennero agami e, in base alle numerose osservazioni compiute, fu possibile concludere che nelle cellule somatiche: *a*) l'assetto era costantemente iperdiploide con numeri cromosomici oscillanti tra 19 e 26; *b*) i cromosomi in eccesso, pur variabili come numero e tipo anche da cellula a cellula dello stesso esemplare, erano tutti omologhi a cromosomi del corredo base (A-cromosomi), quindi certamente non ascrivibili ai B-cromosomi (Tav. III).

Nonostante che la moltiplicazione agamica continuasse a rappresentare la modalità principale di riproduzione, alcuni degli esemplari riacquistarono la maturità sessuale. La loro sessualizzazione risultava però transitoria, in quanto non di rado questi « ex-scissipari » si scindevano e talvolta dopo un periodo di tempo variabile differenziavano un nuovo apparato riproduttore. Anche in essi il corredo somatico risultava costantemente iperdiploide.

Nel 1977, infine, nelle cellule somatiche iperdiploidi sono comparsi cromosomi sovrannumerari (Tav. II *a, b, c, d*; Tav. III): è da sottolineare che essi sono stati osservati in tutti gli individui della coltura, il che lascia presumere una loro origine simultanea. Le caratteristiche morfologiche di questi B-cromosomi sono in tutto simili a quelle descritte (Deri, 1975) in altre popolazioni di *D. benazzii*. Si tratta infatti, anche nella stirpe del fiume Cavo, di cromosomi piccoli, lunghi circa la metà degli elementi di taglia più ridotta dell'assetto standard, metacentrici e mitoticamente instabili, secondo la definizione di White (1973), in quanto presenti in numero variabile non solo in individui diversi ma anche in cellule diverse dello stesso esemplare. Sono risultati assenti in circa il 15 % delle cellule esaminate; quando sono presenti, il loro numero varia da 1 a 3 e, sebbene un'analisi statistica approfondita non sia stata elaborata, le cellule più numerose sono quelle contenenti 2 B-cromosomi. Non è stato possibile stabilire il loro comportamento nelle cellule germinali dei pochi individui che avevano riacquisito la sessualità (ex-scissipari). Da due dei rari bozzoli deposti da questi ultimi, sono nate complessivamente 4 planarie, le quali sono rimaste agame; le loro cellule somatiche sono iperdiploidi e contengono B-cromosomi.

Allo scopo di verificare se anche in natura fossero avvenute variazioni carilogiche simili a quelle registrate in allevamento, alla fine del 1977 ho effettuato una nuova raccolta di esemplari nel fiume Cavo. Al momento del prelievo tutti gli individui erano sessuati ed eudiploidi e tali si sono finora mantenuti; essi sono oggetto di assiduo ed accurato controllo carilogico, tale da permettere di cogliere nella fase iniziale i cambiamenti che eventualmente insorgeranno.

DISCUSSIONE

In questo lavoro mi sono proposto di chiarire alcuni aspetti della insorgenza di corredi iperdiploidi in planarie originariamente eudiploidi. Si tratta di un problema difficile perché non si presenta con aspetti uniformi nei vari taxa in cui è stato messo in evidenza. Un primo esempio di variazione numerica dei cromosomi fu rilevato da Benazzi Lentati *et al.* (1951) in una popolazione diploide di *D. benazzii* della Sardegna, in cui risultarono iperdiploidi sia gli ovociti che gli spermatozoi (Benazzi Lentati, 1964) ed in cui quindi l'incremento numerico poteva avvenire con il contributo di entrambi i gameti raggiungendo valori molto elevati (fino a 30-35 cromosomi). Successivamente in due popolazioni di *D. etrusca*, altra specie del «gruppo *D. gonocephala*», fu constatata, in individui diploidi sessuati, la comparsa di polisomia, dovuta soprattutto ad alterata migrazione delle diadi e dei cromatidi durante la meiosi femminile, mentre quella maschile ne era indenne; in questo caso quindi la polisomia veniva trasmessa solo dall'uovo, anche se accompagnata, nella linea somatica, da ulteriori alterazioni nella migrazione anafasica durante la mitosi, per cui si raggiungevano numeri cromosomici molto alti e diversi nelle cellule di uno stesso individuo (Benazzi Lentati, 1964).

Circa la popolazione del fiume Cavo, da me studiata, non ho dati certi per stabilire l'origine della polisomia ed il meccanismo della sua trasmissione, perché non ho potuto studiare gli elementi germinali di quei pochissimi individui che, dopo essere stati scissipari, riacquistarono, seppur per breve periodo, la sessualità; posso solo ricordare che gli unici quattro nati dai loro bozzoli erano polisomici.

In questa popolazione il numero cromosomico non ha mai raggiunto valori molto elevati, stabilizzandosi su un assetto circa-triploide, sebbene non si tratti di tre serie aploidi, ma sia più probabile una condizione aneuploide. La stessa condizione cromosomica si osserva in altre popolazioni di *D. benazzii* della Corsica (Deri, 1975) ed in altre specie del «gruppo *D. gonocephala*» (Benazzi, 1960).

Nella popolazione del Cavo la variazione numerica dei cromosomi si è manifestata in concomitanza col declino della capacità di riproduzione sessuata e con l'insorgenza della moltiplicazione scissipara. Inoltre, successivamente alla comparsa della polisomia, si è avuta quella dei B-cromosomi. Si tenga presente che B-cromosomi sono presenti negli individui aneutriploidi di numerose popolazioni di *D. benazzii* della Corsica (Deri, 1971, 1975),

mentre mancano costantemente nelle forme eudiploidi dello stesso areale. I sovrannumerari mancano invece nel ceppo polisomico della Sardegna ed in *D. etrusca*, mentre sono presenti in altre razze a corredo aneutriploide raccolte in diverse località ed appartenenti a varie altre specie del «gruppo *D. gonocephala*»: *D. biblica* (Bromley, 1974), *D. japonica* (Kawakatsu *et al.*, 1976). Elementi riconducibili a B-cromosomi sono pure stati trovati negli ovociti a corredo aneutriploide di *D. cretica* (Benazzi, 1960) e delle popolazioni di Ponza e Marettimo, appartenenti a *D. gonocephala* s.l. (Benazzi, 1969).

Una particolarità che per il momento è stata rilevata soltanto in *D. benazzii* è la possibilità che i B-cromosomi compaiano dopo prolungato allevamento in laboratorio, sia in popolazioni inizialmente poliploidi (Benazzi Lentati e Deri, 1977) che diploidi (presente lavoro). In ogni caso, i sovrannumerari presenti già in natura o insorti in laboratorio risultano del tutto identici, sia come morfologia che come distribuzione e frequenza. Ciò può significare che i meccanismi che ad essi danno origine, peraltro ancora oscuri, siano gli stessi nei due casi.

Una volta comparsi, i B-cromosomi rappresentano un reperto costante ed infatti sono stati rinvenuti anche negli individui della generazione successiva. Resta tuttavia da stabilire se entrambe le linee germinali sono in grado di assicurarne la trasmissione; esperimenti di incrocio attualmente in corso spero possano portare utili chiarimenti sull'argomento.

Per il momento, tentare un'interpretazione della coesistenza di polisomia e B-cromosomi, ipotizzando un rapporto causale tra i due eventi, appare prematuro. Come ho detto, aneuploidia e B-cromosomi nella stirpe da me esaminata sono comparsi dopo prolungato allevamento in laboratorio ed in apparente concomitanza con la insorgenza della scissiparità che ha sostituito la riproduzione sessuata. Un effetto diretto delle condizioni di allevamento sull'incremento del numero cromosomico e sulla comparsa di sovrannumerari sembra improbabile. Sono note infatti sia stirpi di *D. benazzii* che si sono mantenute eudiploidi anche dopo un soggiorno trentennale in laboratorio, sia stirpi, tanto di *D. benazzii* che di altre specie affini, in cui l'incremento avviene, non accompagnato tuttavia dalla comparsa di B-cromosomi; tali razze secondo Benazzi Lentati (1964) sono «geneticamente polisomiche» e pertanto è probabile che le condizioni di laboratorio solo favoriscano l'espressione di una caratteristica intrinseca.

BIBLIOGRAFIA

- BENAZZI M. (1960) - «Acc. Naz. Lincei: Evoluzione e Genetica», Quaderno 47, 273-296.
BENAZZI M. (1969) - «Rend. Acc. Naz. Lincei», ser. VIII, 46, 605-609.
BENAZZI LENTATI G. (1957) - «Caryologia», 10, 352-387.
BENAZZI LENTATI G. (1964) - «Atti Soc. Tosc. Sci. Nat.», Mem., ser. B, 71, 44-51.
BENAZZI LENTATI G., CURINI A. e PIEGAJA M. I. (1951) - «Atti Soc. Tosc. Sci. Nat.», Mem., ser. B, 58, 85-93.
BENAZZI LENTATI G. e DERI P. (1977) - «Rend. Acc. Naz. Lincei», ser. VIII, 62, 847-851.
BROMLEY H. J. (1974) - «Zool. Scripta», 3, 239-242.

- CONGER A. D. e FAIRCHILD L. M. (1953) - « Stain Technol. », 28, 281-283.
DERI P. (1971) - « Atti Soc. Tosc. Sci. Nat. », Mem., ser. B, 78, 55-74.
DERI P. (1975) - « Atti Soc. Tosc. Sci. Nat. », Mem., ser. B, 82, 25-38.
KAWAKATSU M., OKI I., TAMURA S. e SUGINO M. (1976) - « Bull. Fuji Women's Coll. », 14, 81-126.
WHITE M. J. D. (1973) - *Animal Cytology and Evolution*. 3rd Edition. Cambridge University Press.

SPIEGAZIONI DELLE TAVOLE I-III

TAVOLA I

- a) Fase eudiploide: mitosi con 16 cromosomi.
- b) Insorgenza della polisomia: mitosi con 19 cromosomi.

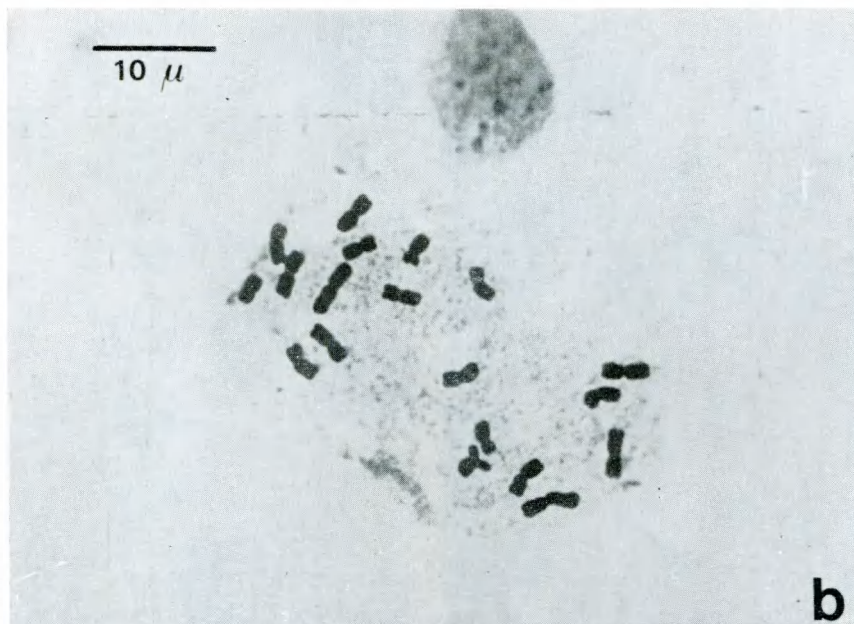
TAVOLA II

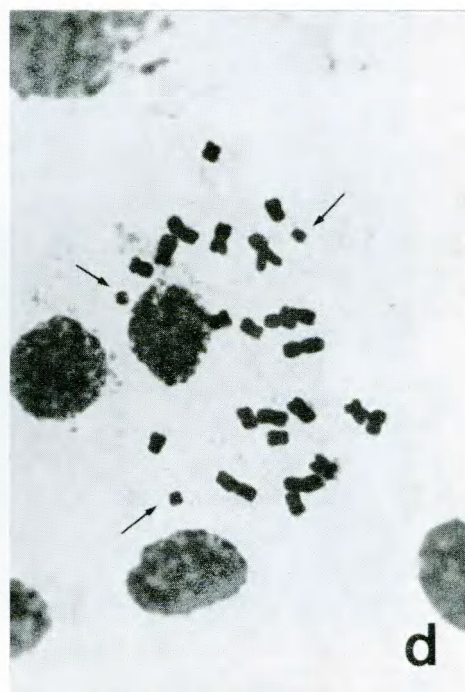
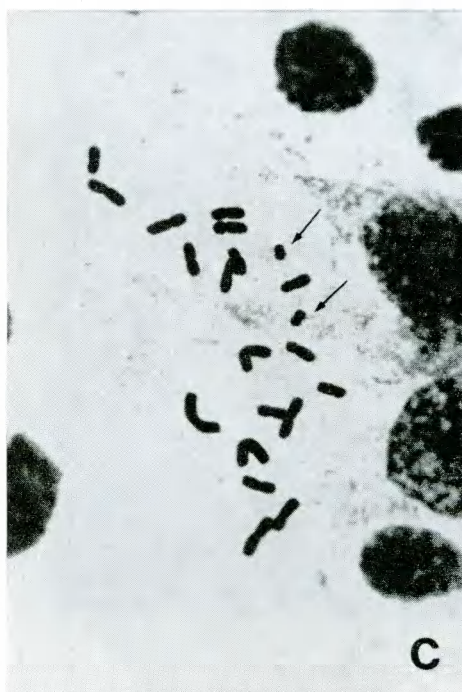
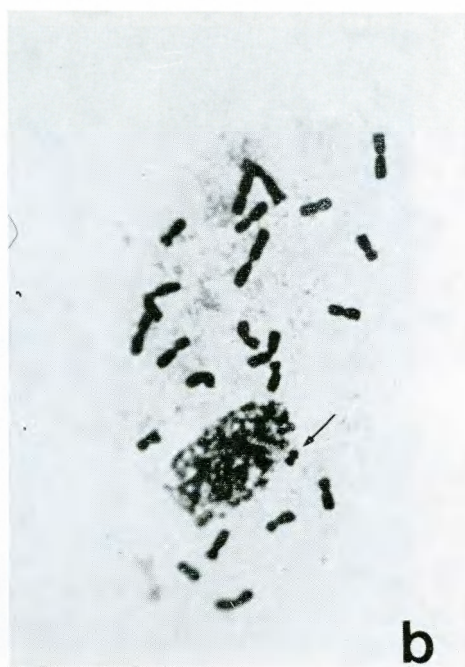
Comparsa di B-cromosomi:

- a) Mitosi con 21 A-cromosomi e nessun B-cromosoma.
- b) Mitosi con 22 A-cromosomi + 1 B-cromosoma (freccia).
- c) Mitosi con 19 A-cromosomi + 2 B-cromosomi (frecce).
- d) Mitosi con 23 A-cromosomi + 3 B-cromosomi (frecce).

TAVOLA III

Cariogramma delle mitosi presentate nelle Tavv. I e II.





	cromosomi										B-cr
	1	2	3	4	5	6	7	8			
a											
b											
c											
d										,	
e										..	
f										...	

piastre metafasiche

10μ