

A T T I
DELLA
SOCIETÀ TOSCANA
DI
SCIENZE NATURALI
RESIDENTE IN PISA

MEMORIE - SERIE B

VOL. LXXXI - ANNO 1974

I N D I C E

ARRIGONI P. V. - La flora del Monte Ferrato	Pag. 1
BARDAZZI S. - Il Monteferrato e l'agglomerato urbano pratese; aspetti paesistici ed ecologici	» 11
CONEDERA C. - Variazioni fisico-morfologiche del Monte Ferrato per cause naturali e artificiali avvenute negli ultimi vent'anni	» 21
CORTI R. - Caratteristiche generali della vegetazione del Monteferrato (Prato)	» 32
CORTINI PEDROTTI C. - La vegetazione pioniera del Monte Ferrato (Prato)	» 39
GAMBASSINI P. - La stazione paleolitica di Galceti (Prato)	» 45
GUERRIERI F. - Il marmo verde di Prato nel policromismo architettonico	» 52
NICOSIA F. - Aspetti archeologici del Monte Ferrato (Prato)	» 77
PEDROTTI F. - Difesa e conservazione del Monteferrato (Prato)	» 87
SARTI MARTINI L. - Materiale fittile dell'età del bronzo sul Monte Ferrato, presso Prato (Firenze)	» 94
VINCIGUERRA G. - Situazione del vincolo idrogeologico sul Monte Ferrato (Prato)	» 109
NAVARI IZZO F., LOTTI G., SOLDATINI G. - Distribuzione dello zinco nelle frazioni proteiche e subcellulari delle foglie di <i>Medicago sativa</i>	» 120
PAOLI G., MALLEGNI F., PARENTI S. - Rapporti quantitativi fra L-Fucosio N-acetilesosamine e reazione IEA in estratti di ossa egiziane dinastiche	» 136
BENAZZI LENTATI G. - Sulla eliminazione cromosomica nelle linee maschile e somatica delle planarie poliploidi	» 154
PARDINI E., BASSI P. - Gli Etruschi. (Studio craniologico)	» 161
MONTI G., TOMEI P. E. - Macromiceti della lucchesia - Primo contributo	» 197
MAZZA M. - Variabilità ed anomalie negli scorpioni d'acqua euromediterranei (<i>Heteroptera Nepidae</i>)	» 211
GIUSTI F. - Notulae Malacologicae XIX. (I generi <i>Paladilhioipsis</i> e <i>Sadleriana</i> (<i>Prosobranchia</i> , <i>Hydrobioidea</i>) nell'Italia appenninica)	» 248
<i>Elenco dei Soci per l'anno 1974</i>	» 259

G. BENAZZI LENTATI (*)

SULLA ELIMINAZIONE CROMOSOMICA NELLE LINEE MASCHILE E SOMATICA DELLE PLANARIE POLIPLIIDI (**)

Summary — A great number of investigations carried out in our laboratory showed that in the fresh-water planarian *Dugesia lugubris* s.l. polyploidy occurs only in the somatic and female lines, whereas the male line is always diploid due to the elimination of one or more haploid chromosome sets. Such an elimination occurs in the natural polyploids as well as in the polyploid hybrids originated from the crosses between the diploid biotype, acting as female, and the polyploid biotypes.

It was not established if the elimination concerns either a particular haploid set or single elements of the various chromosome sets. The present research, based on the colour differences in the offspring of crosses between light diploid individuals and dark F_1 individuals (the latter arised from crosses between a light diploid individual and a dark polyploid one) suggests that chromosome elimination in the male line concerns single elements of the karyotype. As a matter of fact, the offspring show colour differences, from the light-yellow to the marron-grey dark.

In the polyploid hybrids chromosome elimination can occur also in the somatic line, and also in this case the eliminated chromosomes may concern both parental sets. This conclusion is supported by the colour variations in the offspring of successive generations from a specimen of 1st generation (originated by crossing a light diploid individual with a dark polyploid individual) backcrossed with dark specimens.

INTRODUZIONE

L'eliminazione di interi assetti aploidi o di gruppi di cromosomi o di cromosomi singoli è un evento ben noto in organismi animali e vegetali. Può riscontrarsi in determinate specie diploidi oppure in biotipi cariologici poliploidi dove costituisce un aspetto del differenziamento di linee somatiche o germinali. Può infine mani-

(*) Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Pisa.

(**) Lavoro eseguito col contributo del C.N.R.

festarsi in modo accidentale in certi poliploidi, in genere ibridi, ben studiati soprattutto nel regno vegetale.

Il determinismo di questo fenomeno è ovviamente diverso nei vari casi e diverse sono anche le modalità con cui la eliminazione si compie.

Oggetto di questa nota è un particolare problema riguardante la eliminazione cromosomica in ibridi della planaria *Dugesia lugubris* s.l.⁽¹⁾. E' necessario introdurre sinteticamente alcune nozioni sui cicli cromosomici dei biotipi poliploidi naturali di questa planaria (per più ampi riferimenti su questi biotipi e sugli ibridi di cui tratterò in seguito, si veda BENAZZI LENTATI [1966, 1970]). In *D. lugubris* s.l., sono stati messi in evidenza (BENAZZI [1957, 1960]) oltre al biotipo diploide sinaptico e meiotico ($n = 4$, $2n = 8$) tre biotipi poliploidi; al presente scopo interessa conoscere il ciclo dei due biotipi asinaptici nella linea femminile: 1) triploide nel soma e nella linea femminile e diploide in quella maschile, 2) tetraploide nel soma e nella linea femminile e diploide in quella maschile.

Il biotipo diploide si presenta, nelle varie popolazioni, con diverso colore dal giallo chiarissimo al marrone molto scuro, talvolta con granuli grigi scuri; gli altri due biotipi hanno colorazione marrone scura diffusa, con fitti granuli grigio scuro, che formano inoltre due linee longitudinali nella regione ventrale. Questi dati sono utili ai fini di quanto esporrò in seguito.

Le caratteristiche citologiche interessanti questi poliploidi naturali sono: 1) la asinapsi nella linea femminile, per cui la maturazione dell'uovo si compie con una sola divisione di tipo equazionale; 2) la sinapsi con normale meiosi nella linea maschile; 3) la eliminazione cromosomica che avviene al momento della formazione degli spermatogoni e che interessa 1 o 2 assetti aploidi, a seconda del corredo originario del biotipo.

Negli ibridi ottenuti dall'incrocio fra il biotipo diploide sinaptico, funzionante da femmina, e questi poliploidi può instaurarsi sia la sinapsi femminile che la poliploidia e si può avere eliminazione di assetti aploidi non solo nella linea maschile (dove questa eliminazione è costante) ma anche in quella somatica. Si ha

(1) Nei nostri precedenti lavori, anteriori alla definitiva soluzione del problema tassonomico riguardante le due specie *lugubris* e *polychroa*, tutte queste planarie furono riferite a *D. lugubris* s.l. Occorre tuttavia tener presente che i biotipi usati in queste ricerche appartengono a *D. polychroa*.

cioè la trasmissione, in una parte della F_1 , dei caratteri sopraelencati; ciò si spiega col fatto che, per quanto lo sviluppo dei poliploidi naturali sia pseudogamico, nell'incrocio con individui del biotipo anfimittico lo spermio del biotipo pseudogamico evolve in pronucleo e dà anfigamici.

Le ricerche finora compiute sui processi di eliminazione hanno permesso di illustrare le modalità con cui tale eliminazione si compie (PUCCINELLI 1961). Invece non è stato possibile affrontare il problema del tipo di cromosomi eliminati; vale a dire se si tratta sempre degli stessi assetti aploidi o se l'eliminazione, pur interessando assetti aploidi completi, è casuale nei riguardi dei vari omologhi. Lo studio della F_1 , ottenuta da incrocio fra individui di colore chiaro del biotipo diploide (usato come ♀) ed individui dei biotipi poliploidi (che sono scuri) avrebbe forse permesso, attraverso ad una sorta di marcatura dei cromosomi, di individuarne il tipo di eliminazione, qualora i poliploidi fossero eterozigoti per il colore. Ma i pur numerosi F_1 ottenuti, anche se non del tutto identici per colorazione, si sono dimostrati non idonei allo scopo, essendo troppo tenui ed estremamente variabili le differenze fra loro. Nelle planarie non si riscontrano altre caratteristiche esterne che possano essere usate a tale scopo, ed in quanto ai caratteri che contraddistinguono i cicli (cioè asinapsi, poliploidia, pseudogamia) il loro meccanismo ereditario risulta così complesso da non offrire alcun utile approccio ai nostri fini. Invece alcuni ibridi di generazioni successive alla 1^a, provenienti da un incrocio iniziale fra biotipo diploide chiaro e biotipo triploide scuro, mi hanno fornito alcuni dati utili per questo tipo di ricerca.

Ibridi usati per lo studio della eliminazione nella linea maschile.

1) Il primo ibrido è nato da due individui di 1^a generazione provenienti dall'incrocio fra un individuo della popolazione diploide giallo-chiaro del lago di Toblino ed un individuo triploide della popolazione di Roma. I due individui di 1^a generazione erano diploidi sinaptici e meiotici in entrambe le linee germinali e presentavano un colore intermedio fra quelli dei due partners; l'individuo di 2^a generazione che ci interessa presenta invece corredo duplicato, quindi tetraploide nel soma e nella linea femminile e diploide in quella maschile, ricostituendo in tal modo il biotipo tetraploide na-

turale. La tetraploidia deve essere insorta fin dalla 1^a divisione di segmentazione⁽²⁾ poiché le mitosi osservate nei blastemi rigenerativi sono tutte tetraploidi. Non vi sono quindi due linee somatiche, una diploide ed una tetraploide; la diploidia insorge solo al momento della formazione degli spermatogoni. In questo ibrido F₂ si sono ovviamente raddoppiati i corredi ricevuti dalla F₁ e siccome è molto scuro, bisogna dedurre che dopo la meiosi della F₁ siano rimasti in prevalenza fattori per il colore scuro del biotipo poliploide⁽³⁾.

2) Diversa è l'origine del secondo ibrido. Dall'incrocio fra un individuo diploide giallo chiarissimo (popolazione del lago di Garda) ed uno del biotipo triploide è nato un individuo F₁ a tinta abbastanza chiara, diploide ma asinaptico negli ovociti, la cui maturazione avviene quindi mediante una sola divisione di tipo equazionale (Benazzi 1960 l.c.). Fecondato da un individuo del biotipo triploide paterno ha dato un discendente molto scuro, che all'esame citologico si è rivelato triploide; quindi un assetto del biotipo diploide chiaro contro due assetti del biotipo triploide scuro. La linea maschile si è mostrata come al solito diploide.

Questi due ibridi di 2^a generazione sono stati incrociati con individui diploidi di colorito molto chiaro (popolazione di Garda) nell'intento di poter ottenere qualche indicazione, in base al colore dei nati, sul tipo di cromosomi eliminati nella linea maschile (se cioè di origine materna o paterna). Ho allestito, per ognuno degli ibridi, una prima coppia e dopo aver accertato che l'individuo chiaro fosse fecondato, l'ho separato dal partner, il quale è stato unito ad un secondo individuo chiaro e così per 4 volte ogni ibrido. Gli individui chiari hanno quindi depresso in isolamento; i loro nati furono esaminati quando ebbero raggiunto la maturità sessuale, poiché i giovani presentano sempre colore più chiaro degli adulti ed in genere con minori differenze fra loro.

(2) Ricerche precedenti hanno dimostrato infatti che la duplicazione del corredo può verificarsi già nello zigote od anche durante lo sviluppo ed in questo ultimo caso dà origine a mosaici cromosomici irregolari, poiché rimangono cellule diploidi accanto alle cellule duplicate. Il raddoppiamento del corredo si realizza mediante una divisione mitotica non seguita da citodieresi.

(3) BENAZZI (1962), studiando la segregazione del colore in incroci fra individui chiari e scuri di due diverse popolazioni diploidi (di Garda e di Pisa) ha ammesso la presenza di almeno due coppie di alleli ad azione additiva.

Ibridi usati per lo studio della eliminazione nella linea somatica.

Provengono dall'ibrido di 1^a generazione nato dall'individuo di Garda incrociato con un individuo del biotipo triploide. Come detto or ora, questo F₁ è diploide, asinaptico negli ovociti ed anfimitico; esso fu reincrociato con individuo diploide sinaptico e la sua progenie, diventata triploide, fu nuovamente reincrociata, in modo che si ottennero tre generazioni successive, la 1^a triploide, la 2^a tetraploide, la 3^a pentaploide. Tutti questi nati si presentarono molto scuri, perché il biotipo diploide (popolazioni di Pisa e dell'Elba) che aveva funzionato da padre è marrone scuro. Da notare però che questi ibridi non avevano corredo cromosomico stabilizzato ma eliminavano sporadicamente assetti aploidi nella linea somatica.

Questi ibridi furono usati per studiare l'eredità dalla asinapsi (BENAZZI LENTATI e MAGAGNINI 1963) e, terminata tale indagine, furono riuniti in cultura comune. Essi erano tutti scurissimi, come già detto. Con sorpresa, dopo prolungato allevamento in laboratorio constatai la presenza di individui chiarissimi e di tinta intermedia; volli riprendere lo studio del corredo cromosomico degli ovociti e dei neoblasti di uno stock di questi esemplari. L'ultima parte di questa nota è dedicata appunto a tale argomento.

OSSERVAZIONI

Eliminazione nella linea germinale maschile. - Ricordo che queste ricerche sono state compiute esclusivamente a fini citologici e che le differenze di colore hanno servito solo come indicatori. Infatti non ho dati sufficienti per proporre qualche ipotesi sul determinismo genetico del colore, il cui studio bisognerebbe di ampio sviluppo; i primi risultati rilevati sui nati si sono mostrati infatti, da questo punto di vista, assai complessi e di non facile interpretazione. Mi pare però che ai fini propostimi possano portare qualche contributo.

Ho trovato varie gradazioni di colore e varia distribuzione del pigmento; è impossibile delimitare gruppi precisi, perché esistono stadi di passaggio soprattutto fra gli individui più scuri. Credo di poter tuttavia definire, in linea di massima, quattro fenotipi ad intensità crescente di colore:

1° incrocio): 4 nati giallo chiarissimo sul dorso e sul ventre, simili al biotipo diploide; 19 nati a tinta marrone sul dorso (di intensità variabile) ma con ventre ancora molto chiaro; 17 nati marrone scuro sul dorso e solo di poco più chiari sul ventre, con granulazioni grigie diffuse; 23 nati marrone scuro diffuso sul dorso e sul ventre, con numerose granulazioni grigie ed in più due strisce grigio scuro sul ventre, del tutto simili a quelle del biotipo triploide.

2° incrocio): 4 nati del primo tipo; 10 nati del secondo tipo; 14 nati del terzo tipo; 13 nati del quarto tipo.

A parte la sommaria ed imprecisa valutazione della colorazione, appare dimostrato in modo inequivocabile che nel genotipo degli ibridi di 2^a generazione, che hanno funzionato da padre negli incroci in questione, sono presenti cromosomi del biotipo a tinta chiara, usato come femmina nell'incrocio iniziale, e che questi cromosomi vengono variamente distribuiti agli spermatogoni. Lo scarso numero di discendenti di colore chiaro dipende dal limitato numero di alleli, provenienti dal biotipo a tinta chiara, presenti negli ibridi di 2^a generazione.

Il fatto che i cromosomi in eccesso rispetto al valore diploide possano avere varia provenienza suggerisce che anche nei poliploidi naturali i corredi aploidi eliminati possano essere costituiti da cromosomi provenienti in modo sporadico da tutti gli assetti presenti nei neoblasti. Questo fatto è molto importante nel caso di eterozigosi e potrebbe essere preso in considerazione per elaborare il complesso dei dati raccolti sulla eredità degli altri caratteri che i biotipi poliploidi trasmettono ai figli nati da madre diploide.

Eliminazione nella linea somatica. - Come ho già accennato gli ibridi usati per queste osservazioni hanno in linea di massima alla 1^a generazione da reincrocio corredo triploide, alla 2^a corredo tetraploide, alla 3^a corredo pentaploide. Dopo prolungato allevamento in laboratorio ho constatato che su 30 ibridi esaminati 6 presentavano ovociti con corredo vario (14, 16, 18 cromosomi) gli altri invece avevano ovociti tutti diploidi (4 bivalenti). L'esame dei blastemi rigenerativi ha dimostrato nei neoblasti corredo molto variabile, dal diploide al triploide al tetraploide, rarissimamente pentaploide. E' dunque avvenuta una eliminazione somatica che spiega la presenza di corredi diploidi anche negli ovociti. Tale eli-

minazione ha interessato sporadicamente cromosomi di varia provenienza in quanto è possibile trovare segreganti per il colore chiaro in una serie inizialmente poliploide scura, che aveva un solo assetto del parente chiaro contro vari assetti del parente scuro. Quindi queste osservazioni collimano con quelle prima esposte.

Purtroppo mi sarà molto difficile estendere questi studi, ed analizzare con maggior precisione la eredità del colore, a causa di una mortalità che ha colpito sia questo ultimo gruppo di ibridi sia quelli dei due incroci precedenti: sono rimasti ancora in vita 8 esemplari dei primi due gruppi, di cui 5 di tinta intermedia e 3 scuri, e 5 esemplari dell'ultimo, di cui 1 a tinta intermedia e 4 scuri.

OPERE CITATE

- BENAZZI M. (1957) - Cariologia di *Dugesia lugubris* (O. Schmidt) (Tricladida Paludicola). *Caryologia*, **10**, 276-303.
- BENAZZI M. (1960) - Ulteriori ricerche sui poliploidi sperimentali della planaria *Dugesia lugubris* (O. Schmidt). *Caryologia*, **12**, 414-438.
- BENAZZI M. (1962) - L'eredità dalla pigmentazione nella planaria *Dugesia lugubris*. *Atti Ass. Genet. Ital.*, **7**, 213-218.
- BENAZZI LENTATI G. (1966) - Amphimixis and pseudogamy in fresh-water triclads: experimental reconstruction of polyploid pseudogamic biotypes. *Chromosoma*, **20**, 1-14.
- BENAZZI LENTATI G. (1970) - Gametogenesis and egg fertilization in planarians. *Inter. Rev. Cytol.*, **27**, 101-179.
- BENAZZI LENTATI G. & MAGAGNINI M. (1963) - Sulla manifestazione della asinapsi femminile in ibridi interrazziali di *Dugesia lugubris*. *Atti Ass. Genet. Ital.*, **8**, 150-160.
- PUCINELLI I. (1961) - Variazione del numero cromosomico e meccanismi di eliminazione cromosomica in poliploidi sperimentali della planaria *Dugesia lugubris* (O. Schmidt). *Acta Embryol. Morphol. Exptl.*, **4**, 1-17.

(ms. pres. il 24 febbraio 1975; ult. bozze il 9 maggio 1975).