

M. BENAZZI (\*), I. PUCCINELLI (\*)

NUOVO CONTRIBUTO ALLA CARIOLOGIA ED ALLA BIOLOGIA  
RIPRODUTTIVA DI *DUGESIA DOROTOCEPHALA* (WOODWORTH)  
TRICLADE PALUDICOLO DEL NORD AMERICA (\*\*)

**Riassunto** — Il corredo cromosomico della planaria nord-americana *Dugesia dorotocephala* è  $2n=16$ ,  $n=8$ ; esso si manifesta nelle popolazioni sessuate e nella grande maggioranza di quelle scissipare. In due di queste tuttavia, provenienti dalle località Brandywine (West Virginia) e Blacksburg (Virginia), si riscontra una maggioranza di mitosi triploidi. In alcuni degli esemplari di Blacksburg ha luogo nei mesi primaverili una fase sessuale, che appare tuttavia transitoria ed anomala poiché non si ha deposizione di bozzoli, o questi sono totalmente sterili. Essi contengono infatti, oltre alle cellule vitelline, ovociti non fecondati con quadro cromosomico abnorme. Tali fatti sono discussi in base alle attuali conoscenze sulla carilogia e biologia riproduttiva dei Tricladi d'acqua dolce.

**Abstract** — *A new contribution to the karyology and reproductive biology of Dugesia dorotocephala (Woodworth) a fresh-water planarian from North America.*

The chromosome set of *Dugesia dorotocephala* is  $2n=16$ ,  $n=8$ . This complement occurs in all sexual and almost all fissiparous populations; however, most cells were triploid in two fissiparous populations from Blacksburg (Virginia) and Brandywine (West Virginia).

Some specimens of the Blacksburg population underwent a transient and anomalous sexual stage in the spring where some sterile cocoons were laid. These findings are discussed on the basis of current concepts on the karyology and reproductive biology of triclads.

**Key words** — Planarians, diplo-triploidy, reproduction.

INTRODUZIONE

*Dugesia dorotocephala* è una planaria d'acqua dolce largamente diffusa negli Stati Uniti e nel Sud del Canada, ben nota anche come

(\*) Istituto di Zoologia e Anatomia Comparata dell'Università, Pisa.

(\*\*) Ricerca eseguita col contributo del C.N.R.

animale di laboratorio, in quanto usata nei corsi pratici di Zoologia e per ricerche sperimentali.

Essa si riproduce sia sessualmente, sia per scissione, con notevoli differenze, a questo riguardo, tra le diverse popolazioni.

Il primo contributo alla cariologia di questa specie fu portato da BENAZZI (1966) il quale poté studiare quattro popolazioni provenienti da differenti località degli Stati Uniti, gentilmente fornite dalla Dr. Mary M. Jenkins del Madison College of Harrisonburg (Virginia). Benazzi riscontrò in tutte le popolazioni, sia sessuate sia scissipare, un corredo somatico di 16 cromosomi; negli individui sessuati la meiosi risultò normale in entrambe le linee germinali, con 8 bivalenti. Tali risultati permisero di stabilire che il corredo cromosomico della specie è  $2n=16$ ,  $n=8$ .

Negli anni successivi la Dr. Jenkins fornì nuovi esemplari viventi raccolti in numerose altre località degli Stati Uniti, che nella quasi totalità confermarono il predetto corredo cromosomico. In due popolazioni tuttavia, provenienti da Brandywine (West Virginia) e da Blacksburg (Virginia), entrambe scissipare, il corredo risultò triploide (24 cromosomi) nella maggioranza delle mitosi. Gli esemplari di queste due popolazioni furono allevati in laboratorio al fine di precisarne meglio il corredo cromosomico e stabilire se la riproduzione fosse costantemente scissipara o se potesse insorgere qualche individuo sessuato, come si riscontra in certe popolazioni. Gli esemplari di Brandywine non mostrarono alcuna variazione nel loro comportamento e dopo qualche anno, per cause imprecise, si estinsero. Gli esemplari di Blacksburg, tuttora in cultura, hanno fornito invece alcuni risultati interessanti, in quanto in alcuni di essi si sono avute fasi di anomala e transitoria sessualità.

Queste ricerche sono state protratte per lunghi anni, poiché la rarità con cui i fatti si manifestano non ha ancora permesso di chiarirne tutti gli aspetti; riteniamo tuttavia opportuno darne ora notizia.

#### TECNICHE USATE

La tecnica citologica è quella usata correntemente nel nostro Istituto e riferita in numerosi precedenti lavori. L'esame cariologico viene eseguito su blastemi rigenerativi di 3-4 giorni, pretrattati con colchicina allo 0.3% per alcune ore e posti quindi per 5 mi-

nuti circa in una goccia di acido acetico 2% e per 1/2 ora circa colorati in orceina lattico-acetica. I preparati vengono eseguiti per schiacciamento tra porta- e coprioggetto e conservati per qualche settimana mediante vari tipi di luto.

Sono stati esaminati anche piccoli frammenti del corpo usando la stessa tecnica ma senza pretrattamento in colchicina.

Alcuni dei bozzoli ottenuti sono stati studiati al momento della deposizione dopo dissociazione del contenuto in una goccia di carminio-acetico.

## RISULTATI

Per quanto riguarda il corredo cromosomico, l'esame delle cellule presenti nei blastemi rigenerativi ha dimostrato una alta percentuale di mitosi sicuramente triploidi, pur essendo presenti anche mitosi diploidi (Fig. 1 a, b).

Un dato sicuro circa il rapporto numerico tra i due tipi di corredo richiederebbe un numero molto elevato di osservazioni, possiamo tuttavia affermare la netta prevalenza di quello triploide, che in alcuni individui è quasi esclusivo.

Il mosaico cromosomico degli individui di Brandywine e Blacksburg trova corrispondenza in quanto noto per popolazioni scissipare di *Dugesia tigrina* (Girard), altra comune specie americana diffusasi per trasporto passivo anche in Europa ed Asia.

Ricordiamo che precedenti ricerche di BENAZZI, PUCCINELLI e GIANNINI (1970) (cfr. pure BENAZZI 1974 b) hanno dimostrato che gli 8 cromosomi dell'assetto aploide di *D. dorotocephala* sono di diversa lunghezza, il più lungo essendo circa il doppio di quello più corto; tuttavia la lunghezza diminuisce gradualmente, per cui è ben difficile classificare i cromosomi in gruppi distinti. L'indice centromerico varia poco negli 8 cromosomi: essi sono metacentrici, salvo i 3 più piccoli che sono al limite tra metacentrici e submetacentrici (sec. la terminologia introdotta da LEVAN *et al.* 1964).

L'aspetto più significativo del nostro studio si riferisce tuttavia, come già detto, alla periodica comparsa di individui sessuati nella popolazione di Blacksburg. Essi si sono sviluppati con frequenze assai diverse nei vari anni, ed in ogni caso si è trattato di un fenomeno di breve durata, poiché seguito sempre dalla regressione dell'apparato sessuale e dalla ripresa delle scissioni. La ses-

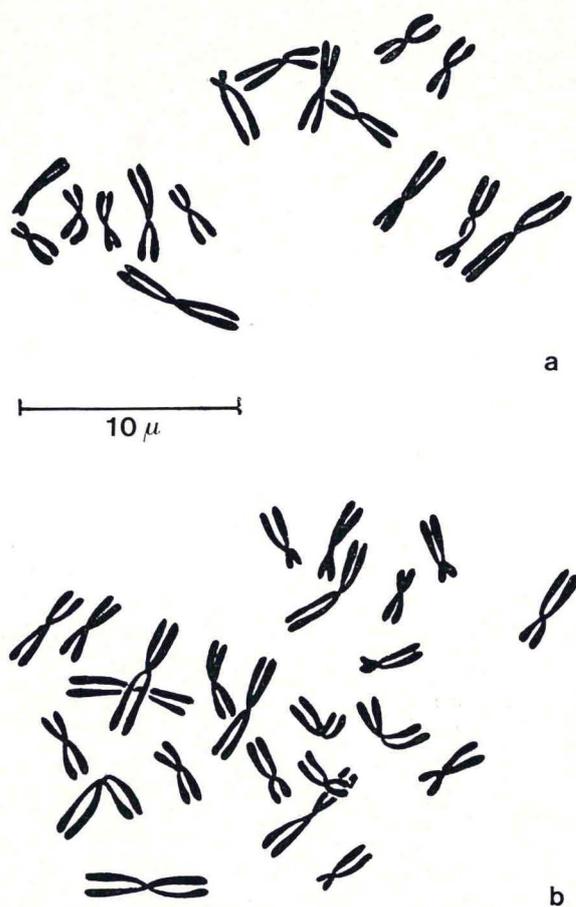


Fig. 1 - c-mitosi di blastema rigenerativo: a) diploide,  $2n=16$ ; b) triploide,  $3n=24$ .

sualità si manifesta all'inizio della primavera e scompare prima dell'estate. In alcuni anni si è avuta pure la deposizione di bozzoli, che hanno tuttavia messo in evidenza il carattere atipico di questa fase sessuale, poiché nessuno di quelli conservati per un tempo sufficientemente lungo è schiuso. Quando sono stati aperti presentavano una massa di cellule vitelline non usufuite, il che dimostra l'assenza di zigoti vitali. Ciò è stato confermato dall'esame di alcuni bozzoli compiuto al momento della loro deposizione, in cui abbiamo trovato ovociti non fecondati con un quadro cromosomico assai complesso, per la presenza di qualche bivalente apparentemente

normale, di bivalenti a chiasma unico terminalizzato, di catene e associazioni multiple e di univalenti (Fig. 2 a, b). Ciò rende difficile anche la precisa determinazione del numero cromosomico.

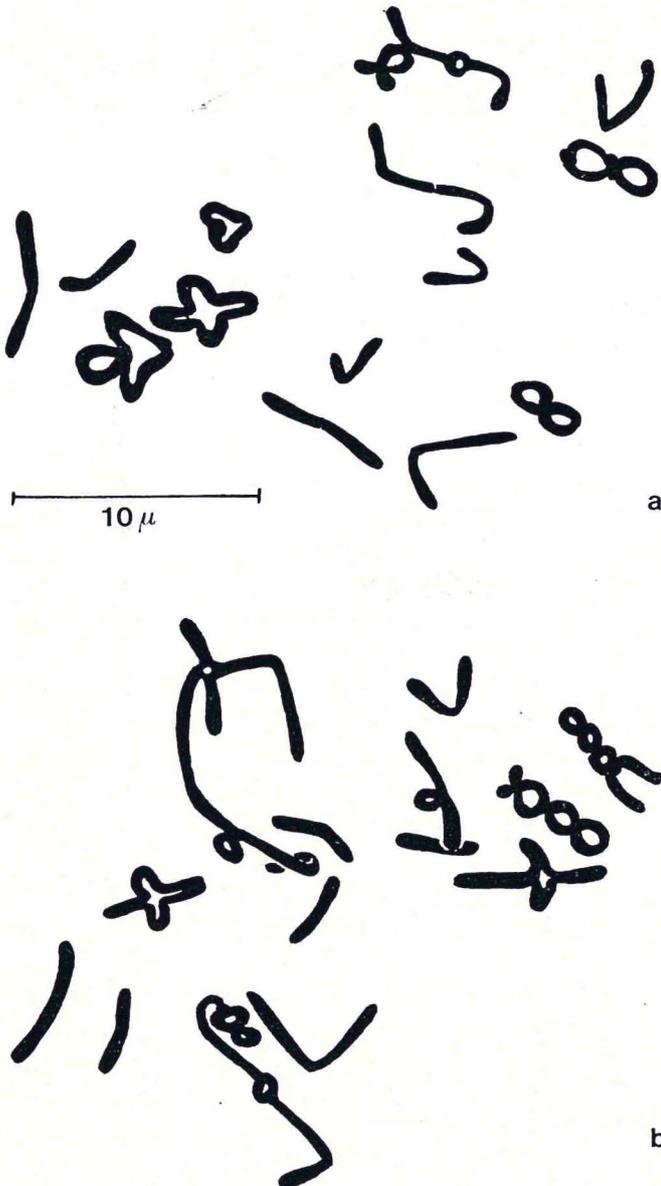


Fig. 2 - a, b) Ovociti non fecondati con corredi e configurazioni cromosomiche anomali.

Circa le caratteristiche della linea maschile il nostro studio è stato finora infruttuoso non avendo trovato figure di spermatogenesi chiaramente interpretabili, anzi nella maggior parte dei casi sicuramente anomale.

#### DISCUSSIONE

I fatti riscontrati nella popolazione di Blacksburg meritano di essere messi a confronto con dati da tempo noti in *Dugesia gonocephala* s.l..

Anche in questo gruppo di specie largamente diffuse nella regione Palearctica esistono popolazioni esclusivamente sessuate od esclusivamente scissipare, come pure popolazioni in cui coesistono o si alternano individui sessuati e scissipari. BENAZZI (1974a) ha sottolineato l'importanza dei fattori interni nel determinismo della scissiparità, la quale pur essendo influenzata nella sua estrinsecazione da fattori ambientali (temperatura in particolare) ha anzitutto un controllo genico. Nelle stirpi scissipare tuttavia un certo numero di individui può raggiungere la sessualità, perdendo, spesso definitivamente, la capacità scissipara. Ma tale evento si manifesta in modo assai diverso nelle varie stirpi. In alcune infatti gli individui sessuati appaiono con frequenza e sono normali, poiché depongono bozzoli almeno in parte fecondi. In altre popolazioni invece gli individui ex-scissipari sono più rari e non depongono affatto o solo bozzoli sterili (salvo rarissime eccezioni); questi ex-scissipari mostrano infatti gravi alterazioni gonadiche. Benazzi ha suggerito l'ipotesi che il diverso comportamento degli ex-scissipari possa dipendere da differenze nel numero, o nella penetranza od espressività dei fattori della scissiparità. E' logico comunque ritenere che le anomalie della sessualità dipendano dall'azione dei fattori di scissiparità, tuttora presenti, se pur repressi, negli ex-scissipari.

Tali concetti possono applicarsi alla popolazione di Blacksburg, in cui la sessualità è un evento sporadico, anomalo e transitorio, che non contribuisce affatto alla propagazione della stirpe.

Si può porre il quesito se la triploidia abbia qualche influenza sul determinismo di tali manifestazioni. Certamente essa può spiegare il quadro cromosomico anomalo riscontrato negli ovociti, ma non sembrano ammissibili influenze di altro tipo. L'unica sicura

relazione tra corredo cromosomico e scissiparità è la frequente presenza nelle stirpi scissipare di corredi variamente aneuploidi. Ciò si può spiegare tenendo presente che la moltiplicazione agamica permette la conservazione e la trasmissione ai discendenti di mutazioni genomiche le quali sarebbero invece eliminate dalla sessualità. Non si tratta quindi di un rapporto causale tra corredo cromosomico ed insorgenza della scissiparità, poiché questa si manifesta, in *D. dorotocephala* come in altre specie, anche in stirpi diploidi.

Un ultimo quesito si riferisce all'origine del corredo diplo-triploide. Non siamo in grado di fornire qualche interpretazione sicura, desideriamo tuttavia ricordare i risultati di una ricerca di BENAZZI LENTATI e DERI (1980 e in corso) su *D. benazzii*, specie del « gruppo *gonocephala* ». In una popolazione originariamente a corredo somatico triploide, a riproduzione sessuata con spermatozoni diploidi, è insorta dopo un lungo periodo di allevamento in laboratorio la scissiparità, ed in alcuni individui è stato possibile constatare l'arresto della spermatogenesi ma la persistenza degli spermatozoni diploidi. Di conseguenza questi esemplari divenuti esclusivamente scissipari hanno presentato corredo diplo-triploide. Poiché nelle planarie la scissiparità è certamente insorta in stirpi originariamente sessuate, le osservazioni di Benazzi Lentati e Deri potrebbero offrire una plausibile spiegazione dei corredi diplo-triploidi che si riscontrano in certe popolazioni scissipare di *D. tigrina* e *D. dorotocephala*.

#### BIBLIOGRAFIA

- BENAZZI M. (1966) - Cariologia della planaria americana *Dugesia dorotocephala*. *Rend. Acc. Naz. Lincei*, Ser. VIII, 40, 399-405.
- BENAZZI M. (1974a) - Fissioning in planarian from a genetic stand point. In *Biology of the Turbellaria*. L.H. Hyman Memorial Volume, 476-492, McGraw-Hill Book Company, New York.
- BENAZZI M. (1974b) - A new karyotype found in the American fresh-water planarian *Dugesia dorotocephala*. *System. Zool.*, 23, 490-492.
- BENAZZI M., GIANNINI E., PUCCINELLI I. (1970) - Karyological research on the american planarians *Dugesia dorotocephala* and *Dugesia tigrina*. *J. Biol. Psychol.*, 12, 81-82.
- BENAZZI LENTATI G., DERI P. (1980) - On the origin of heterogeneous chromosome sets in some fissiparous planarians. *Rend. Acc. Naz. Lincei*, Ser. VIII, 68, 318-326.
- LEVAN A., FREDGA K., SANDBERG A. A. (1964) - Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52, 202-220.

(ms. pres. il 28 dicembre 1981; ult. bozze il 26 aprile 1982)