

P. DERI (*)

NUOVE OSSERVAZIONI CARIOLOGICHE E DI BIOLOGIA
RIPRODUTTIVA SU POPOLAZIONI DI *DUGESIA BENAZZII*
(TRICLADE PALUDICOLO) DELLA CORSICA

Riassunto — La presente nota, estesa a nuove popolazioni raccolte nel 1977, rappresenta un ulteriore contributo alla conoscenza degli aspetti cariologici e bioriproduttivi della planaria *Dugesia benazzii* in Corsica. I risultati confermano l'ampia diffusione di forme diploidi polisomiche e provviste di B-cromosomi, a riproduzione prevalentemente o esclusivamente scissipara. La correlazione tra scissiparità, incremento numerico dei cromosomi e presenza di B-cromosomi non è tuttavia costante e probabilmente dipende da una specifica costituzione genetica.

Abstract — Further karyological and bioreproductive observations on strains of the planarian *Dugesia benazzii* from Corsica. The present paper reports on the analysis of the karyological and reproductive characteristics of the planarian *Dugesia benazzii* from Corsica. The observations, extended to new strains collected during 1977, confirm previous data about the wide diffusion of diploid polysomic races in which B-chromosomes also occur. These populations reproduce mainly or exclusively by fission. The correlation among fissioning, numerical increase of the chromosomes and presence of B-chromosomes, however, is not constant and probably depends on a specific genetic constitution.

Key words — Planarians - *Dugesia benazzii* - Corsica populations.

Tra le numerose specie gemelle originatesi da *Dugesia gonocephala sensu lato* (cfr., per una rassegna sull'argomento, BENAZZI e BENAZZI LENTATI, 1976), *D. benazzii* presenta probabilmente gli aspetti citogenetici più complessi, in relazione al differenziamento in essa avvenuto di tre biotipi cariologici fondamentali: a) diploide ($2n = 16$; $n = 8$), con gametogenesi normale e sviluppo anfimittico; b) triplo-esaploide, con linea somatica triploide, linea femmi-

(*) Istituto di Istologia e Embriologia, Università di Pisa.
Ricerca effettuata con il contributo del C.N.R.

nile esaploide sinaptica, linea maschile diploide sinaptica e sviluppo pseudogamico; c) tetraploide, ameiotico e asinaptico nella linea femminile, che è tetraploide come quella somatica, mentre la linea maschile, meiotica, è tetraploide, subtetraploide o diploide; lo sviluppo è pseudogamico. Mentre il biotipo diploide è diffuso in tutto l'areale della specie (Corsica, Sardegna, Capraia) e il triplo-esaploide è stato rinvenuto in varie località della Corsica e della Sardegna, il biotipo tetraploide è conosciuto solo in una ristretta zona della Sardegna (dintorni di Sassari).

In alcune popolazioni naturali dei biotipi diploide e triplo-esaploide sono stati messi in evidenza fenomeni di polisomia, particolarmente frequenti nelle stirpi in cui la scissiparità predomina o costituisce la sola modalità di propagazione (BENAZZI LENTATI, 1964). Oltre a variazioni numeriche del genoma, è stata in certi casi rilevata la presenza, in associazione alla polisomia, di B-cromosomi (DERI, 1975, 1981). Polisomia e B-cromosomi sono inoltre insorti, separatamente o in concomitanza, durante l'allevamento in laboratorio di varie popolazioni, sia diploidi (BENAZZI LENTATI e DERI, 1980; DERI, 1980) che triplo-esaploidi (BENAZZI LENTATI e DERI, 1977).

Una notevole parte dei dati suesposti è stata ottenuta dallo studio di popolazioni della Corsica la quale, delle tre isole tirreniche che costituiscono l'areale della specie, è stata oggetto di più numerose e capillari campagne di raccolta. Esse hanno consentito già da tempo di tracciare un quadro abbastanza completo della distribuzione di *D. benazzii* nell'isola (DERI, 1971).

Allo scopo di meglio inquadrare i dati che esporrò nella presente nota, credo opportuno elencare in sintesi le modalità di riproduzione ed i caratteri citobiologici di tutte le popolazioni in precedenza studiate (BENAZZI, 1950, 1968, 1974; BENAZZI LENTATI e DERI, 1977, 1980; DERI, 1971, 1975, 1980). Per ciascuna stirpe farò riferimento alla numerazione che compare nella mappa in Fig. 1:

- *Castello Pino* (1): in natura, sessuata e scissipara; corredo costantemente eudiploide; in allevamento esemplari solo scissipari, alcuni dei quali si sono mantenuti eudiploidi, mentre in altri si è manifestata la polisomia. Assenti i B-cromosomi
- *San Martino* (2): sessuata e scissipara; corredo eudiploide
- *Paradojo* (3): esclusivamente sessuata; eudiploide
- *Patrimonio* (4)

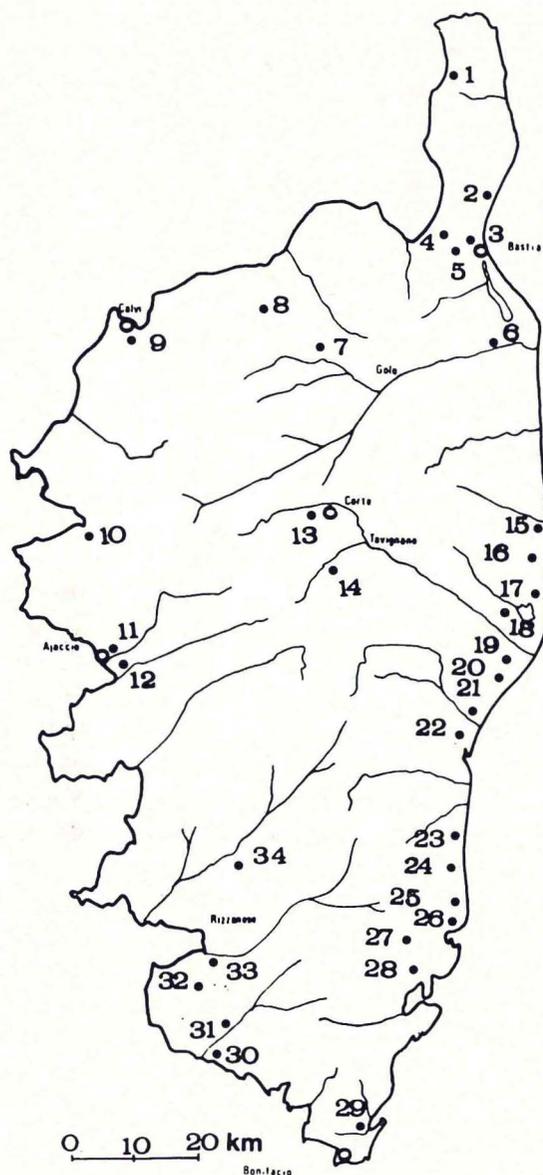


Fig. 1 - Stazioni di *Dugesia benazzii* della Corsica:

- 1 - Castello Pino; 2 - San Martino; 3 - Paradojo; 4 - Patrimonio (A e B); 5 - Suerte; 6 - Golo; 7 - Navaccia; 8 - Belgodere (A e B); 9 - Calvi; 10 - Porto; 11 - Gravone; 12 - Prunelli; 13 - Corte; 14 - Tavignano; 15 - Faro d'Alistro; 16 - Linguizzetta; 17 - Bravone; 18 - Terrenzana; 19 - Fiumorbo; 20 - Abatesco; 21 - Travo; 22 - Solaro; 23 - Solenzara; 24 - Favone; 25 - Conca; 26 - Cavo; 27 - S. Lucia; 28 - Oso; 29 - Canalli; 30 - Roccapina; 31 - Loreto; 32 - Arbolì; 33 - Rizzanese; 34 - Bicchisano.

Stazione A: esclusivamente sessuata; popolazione diploide con esemplari eudiploidi ed iperdiploidi; solo in questi ultimi compaiono B-cromosomi.

Stazione B: sessuata e scissipara; i sessuati sono eudiploidi o iperdiploidi; i B-cromosomi sono presenti solo negli iperdiploidi

- *Suerte* (5): sessuata e scissipara; i sessuati sono eudiploidi
- *Golo* (6): sessuata e scissipara; gli esemplari sessuati sono eudiploidi; gli scissipari sono iperdiploidi e posseggono B-cromosomi
- *Navaccia* (7): sessuata e scissipara; i sessuati sono eudiploidi
- *Belgodere* (8)
 - Stazione A*: esclusivamente sessuata; eudiploide
 - Stazione B*: scissipara
- *Calvi* (9): sessuata; eudiploide
- *Porto* (10): sessuata e scissipara; sessuati triplo-esaploidi
- *Gravone* (11): sessuata e scissipara; sessuati triplo-esaploidi. Frequenti i casi di polisomia
- *Prunelli* (12): sessuata e scissipara; sessuati triplo-esaploidi
- *Corte* (13): sessuata; triplo-esaploide
- *Tavignano* (14): sessuata e scissipara; i sessuati sono diploidi o poliploidi
- *Faro d'Alistro* (15): scissipara. La coltura si è da tempo estinta
- *Bravone* (17): inizialmente scissipara, con successiva comparsa di sessuati (ex-scissipari); corredo iperdiploide nelle linee somatica e germinali. Sono presenti B-cromosomi
- *Solenzara* (23): sessuata e scissipara; sessuati eudiploidi. La coltura si è estinta
- *Favone* (24): sessuata e scissipara; sessuati eudiploidi. La coltura si è estinta
- *Conca* (25): inizialmente scissipara, con successive modificazioni simili a quelle riscontrate nella popolazione di Bravone
- *Cavo* (26): in natura solo sessuata; corredo eudiploide. In allevamento insorgenza di polisomia seguita da comparsa di B-cromosomi
- *Oso* (28):
 - esemplari chiari*: sessuata e scissipara; sessuati eudiploidi
 - esemplari scuri*: sessuata e scissipara. Ovociti asinaptici con oltre 24 cromosomi, dei quali tuttavia non è stato possibile

studiare la maturazione; cellule somatiche iperdiploidi. Presenti B-cromosomi

- *Canalli* (29): esclusivamente sessuata; eudiploide
- *Roccapina* (30): in natura e nel primo periodo di permanenza in laboratorio, esclusivamente sessuata. Ovociti di due tipi: esaploidi e triploidi; linea somatica triploide. Dopo prolungato allevamento è comparsa la scissiparità e contemporaneamente sono stati rilevati B-cromosomi nelle cellule sia somatiche che germinali
- *Loreto* (31): esclusivamente sessuata. Ovociti di due tipi: esaploidi e triploidi; linea somatica triploide
- *Rizzanese* (33): caratteri iniziali e successive modificazioni come nella popolazione di Roccapina
- *Bicchisano* (34): esclusivamente sessuata; due tipi di ovociti: esaploidi e triploidi. La coltura si è estinta

Nel corso della presente nota, oltre alla esposizione dei dati cariologici e bioriproduttivi di altre popolazioni raccolte recentemente e al completamento delle analisi cromosomiche su alcune delle stirpi che compaiono nel precedente elenco, verranno anche messi in evidenza casi in cui, durante l'allevamento in laboratorio, il corredo cromosomico ha subito variazioni rispetto a quello osservato al momento del prelievo in natura.

MATERIALE E TECNICA

Le seguenti nuove popolazioni, studiate in questo lavoro, sono state da me raccolte in Corsica nell'ottobre 1977: Linguizzetta (16), Terrenzana (18), Fiumorbo (19), Abatesco (20), Travo (21), Solaro (22), S. Lucia (27), Arboli (32).

Nella stessa campagna ho raccolto esemplari anche in alcune località già precedentemente visitate, allo scopo di controllare eventuali variazioni avvenute in natura dopo il precedente prelievo: Bravone (17), Cavo (26), Oso (28), Rizzanese (33). Poiché tuttavia i caratteri delle popolazioni di Bravone, Cavo e Rizzanese sono risultati identici a quelli precedentemente descritti, mi limiterò ad esporre i dati relativi alla popolazione di Oso.

Nel lavoro compaiono inoltre dati cariologici aggiuntivi per le seguenti popolazioni già da tempo in allevamento: Patrimonio - stazione B (4), Navaccia (7), Belgodere - stazione B (8).

La ricerca è stata compiuta su cellule somatiche di blastemi rigenerativi prodottisi in seguito a divisione spontanea o sperimentale. Gli individui in rigenerazione sono stati trattati, a distanza di 3-4 giorni dalla divisione, con colchicina (Sigma) 0.3% per 4-6 ore; il blastema è stato poi prelevato e fissato in etanolo assoluto-acido acetico glaciale (3:1) per 10 min. E' stato quindi allestito un preparato per schiacciamento, colorato con orceina lattico-acetica per 1-2 ore.

Trattandosi di popolazioni prevalentemente o esclusivamente scissipare, non è stato possibile analizzare la cariologia delle cellule germinali.

RISULTATI

a) Nuove popolazioni

Linguizzetta (16)

Torrente ciottoloso, che sbocca in mare sulla costa orientale della Corsica, alcuni km a nord del Bravone. Tra gli esemplari raccolti in natura, tutti agami, alcuni erano in rigenerazione. In laboratorio la coltura ha per il momento mantenuto le caratteristiche iniziali di elevata capacità scissipara; le scissioni sono di frequente prefaringee. Nelle cellule somatiche il corredo è costantemente iperdiploide (fino a 30 A-cromosomi); in oltre i 2/3 delle cellule esaminate sono presenti 1-2 B-cromosomi metacentrici o leggermente eterobrachiali.

Terrenzana (18)

Torrente a corrente debole, alcuni km a sud del Bravone. La raccolta è stata effettuata presso lo sbocco in mare, sulla costa orientale. Stirpe intensamente scissipara; già al momento del prelievo in natura alcuni esemplari erano in rigenerazione. In laboratorio le scissioni, spesso prefaringee, sono continuate e per il momento non sono stati individuati esemplari sessuati (ex-scissipari). Le cellule somatiche sono iperdiploidi, con 18-28 A-cromosomi e 1-2 B-cromosomi in oltre l'80% delle cellule esaminate.

Fiumorbo (19)

Torrente ciottoloso a corrente forte e pozze con acqua stagnante, nelle quali sono stati raccolti 15 esemplari tutti agami, tre

dei quali in rigenerazione. La coltura ha mantenuto le sue caratteristiche in allevamento. Le cellule somatiche sono costantemente iperdiploidi (sono stati contati da 19 a 29 A-cromosomi) e possono essere presenti 1-3 B-cromosomi.

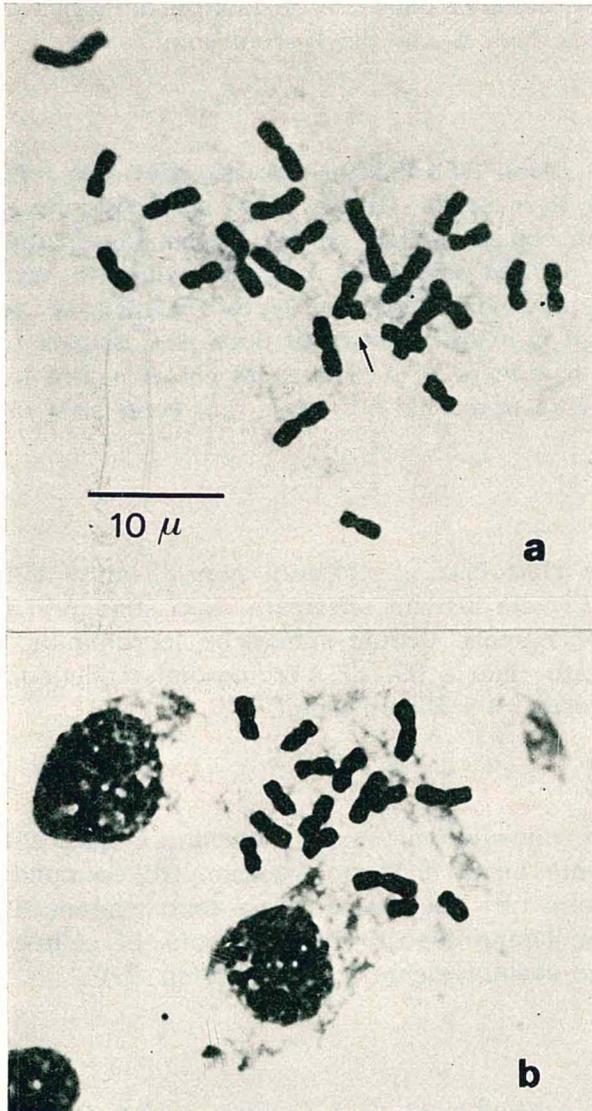


Fig. 2 - *a*) Popolazione di Abatesco: mitosi somatica iperdiploide, con 24 A-cromosomi e 1 B-cromosoma (freccia);
b) Popolazione di S. Lucia: mitosi somatica a corredo eudiploide (16 cromosomi).

Abatesco (20)

Corso d'acqua a corrente piuttosto debole, con rive ciottolose o sabbiose. Sono state raccolte 3 planarie, tutte sessuate, che tuttavia ancora non hanno deposto bozzoli. Le cellule somatiche sono iperdiploidi e presentano B-cromosomi (Fig. 2 a). E' stato possibile rilevare, come di consueto, instabilità numerica anche intra-individuale sia degli A- che dei B-cromosomi.

Travo (21)

Fiume a grossi ciottoli, con corrente piuttosto forte e sacche dove l'acqua si raccoglie. In esse sono state raccolte piccole planarie di tinta chiara, agame, che in allevamento hanno mostrato una intensa attività scissipara. Sono comparsi in seguito alcuni sessuati, che però non hanno mai deposto bozzoli. Le cellule somatiche sia degli individui agami che degli ex-scissipari sono iperdiploidi, con un numero di A-cromosomi che si aggira in genere su 24. Di frequente (circa nel 60% dei casi) sono stati osservati 1-3 B-cromosomi.

Solaro (22)

Torrente ciottoloso e sabbioso, non distante dalla stazione precedente. Elevata attività scissipara. Non sono per il momento comparsi ex-scissipari. Cellule somatiche iperdiploidi, talora con numero elevato (fino a 30) di A-cromosomi, nelle quali sono di frequente presenti 1-3 B-cromosomi.

S. Lucia (27)

Torrente, affluente del Cavo. La raccolta è stata effettuata nei pressi di Santa Lucia di Porto Vecchio. Gli esemplari prelevati in natura erano tutti sessuati e tali si sono mantenuti in laboratorio, ma non hanno deposto alcun bozzolo. Le cellule somatiche sono risultate costantemente eudiploidi (Fig. 2 b).

Arboli (32)

Torrente nel sud-ovest della Corsica, 10 km circa a sud-ovest di Sartene. La popolazione, al momento della raccolta, era composta, eccetto un solo individuo agamo, da soli sessuati. Questi,

che non hanno per il momento depresso bozzoli, hanno cellule somatiche triploidi, prive di B-cromosomi (Fig. 3 *a*). Nel clone scissiparo derivato dall'esemplare agamo raccolto, le cellule somatiche hanno corredo iperdiploide (18-29 A-cromosomi) e 1-3 B-cromosomi in circa il 70% dei casi.

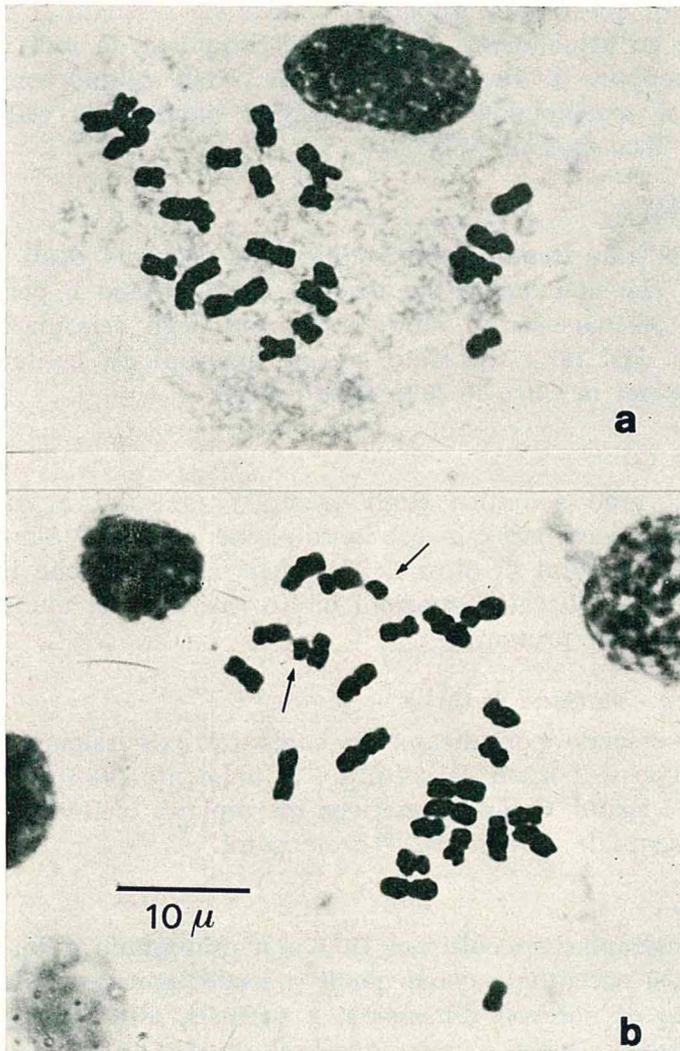


Fig. 3 - *a*) Popolazione di Arboli: mitosi somatica di esemplare sessuato. Il corredo è triploide (24 cromosomi);
b) Popolazione di Patrimonio, stazione B: mitosi somatica a corredo iperdiploide, con 25 A-cromosomi e 2 B-cromosomi (freccie).

b) Popolazioni già presenti in allevamento

Patrimonio - stazione B (4)

Sono stati studiati i discendenti dell'unico esemplare scissiparo raccolto in natura il quale, dividendosi ripetutamente, ha dato origine ad un clone, pure scissiparo. In seguito sono stati identificati alcuni sessuati, che tuttavia non hanno mai deposto bozzoli. In questi ex-scissipari la condizione sessuata si è rivelata instabile ed attualmente la coltura è composta da individui tutti agami, seppure di dimensioni cospicue. Nelle cellule somatiche il corredo è iperdiploide e nella maggior parte delle cellule sono presenti B-cromosomi (Fig. 3 b).

Suerte (5)

Sono state esaminate le cellule somatiche sia degli individui sessuati, che non hanno più deposto bozzoli dopo il periodo iniziale di permanenza in allevamento, sia degli scissipari. In entrambi i casi ho riscontrato corredi iperdiploidi contenenti 1-2 B-cromosomi in oltre il 70% delle cellule.

Navaccia (7)

Il corredo somatico degli esemplari sessuati è eudiploide; quello degli scissipari è invece iperdiploide, con 19-29 A-cromosomi e 1-2 B-cromosomi in oltre il 70% delle cellule; anche in questa stirpe si sono rilevate situazioni molto variabili nel numero di A- e B-cromosomi presenti.

Belgodere - stazione B (8)

Pur essendo periodicamente comparsi ex-scissipari, che non hanno deposto bozzoli, la coltura è attualmente costituita solo da esemplari agami. Cellule somatiche iperdiploidi contenenti, in una alta percentuale di casi, 1-2 B-cromosomi.

Oso (28)

Gli esemplari raccolti nel 1977 non presentano differenze tintoriali così accentuate come quelli precedentemente prelevati. Alcuni sono di notevoli dimensioni e sessuati, altri agami. La frequenza delle scissioni è comunque limitata. Sia gli individui agami che i sessuati hanno cellule somatiche iperdiploidi (18-27 A-cromosomi) comprendenti, in circa il 70% dei casi, 1-2 B-cromosomi.

DISCUSSIONE

I risultati esposti in questa nota indicano, a conferma di quanto riportato in miei precedenti lavori (DERI, 1971, 1975), che tra le forme in cui può presentarsi il biotipo diploide, quella costituita da individui a corredo polisomico (iperdiploide) e provvisti di B-cromosomi è, almeno in Corsica, la più largamente diffusa. In tali esemplari il corredo somatico più frequente è intorno a 24 cromosomi, il che, in linea teorica, potrebbe far sorgere il dubbio che non si tratti in realtà di stirpi triplo-esaploidi nelle quali si è instaurata una condizione aneutriploide. Ci sono peraltro due considerazioni in base alle quali ciò sembrerebbe da escludersi. Anzitutto, i cromosomi presenti sono spesso in numero inferiore a 24, fatto non riscontrato nei veri triplo-esaploidi. Inoltre, precedenti ricerche su popolazioni inizialmente eudiploidi che hanno presentato incremento numerico solo dopo una prolungata permanenza in laboratorio (DERI, 1980) indicano che con tutta probabilità questo stesso processo è avvenuto anche in natura.

Per quanto riguarda i B-cromosomi, per il momento è ancora da determinare la causa della loro insorgenza. In varie popolazioni essi compaiono durante l'allevamento in laboratorio, ma non sembra che tale ambiente incida in maniera determinante, dato che essi sono stati segnalati anche in numerose popolazioni naturali. Dai dati esposti risulta inoltre che nelle popolazioni diploidi essi sono costantemente concomitanti con la polisomia, ma questa correlazione non si rileva in popolazioni triplo-esaploidi quali quelle di Roccapina e Rizzanese che, pur presentando sovrannumerari, non subiscono un incremento numerico degli A-cromosomi. Vale anche notare che non tutte le popolazioni diploidi polisomiche posseggono B-cromosomi: la stirpe di Castello Pino costituisce un esempio al riguardo. Si conferma tuttavia che i B-cromosomi sono costantemente assenti negli esemplari eudiploidi.

Una situazione particolare è stata riscontrata nella popolazione di Arboli, in cui esemplari sessuati triplo-esaploidi privi di B-cromosomi coesistono con individui scissipari che presentano caratteristiche identiche a quelle delle popolazioni diploidi polisomiche con B-cromosomi. L'interpretazione di questo reperto è per il momento incerta e si rendono necessarie ulteriori indagini.

Per quanto concerne la modalità di riproduzione, in genere le forme diploidi polisomiche sono prevalentemente od esclusiva-

mente scissipare. Tuttavia, neppure il rapporto tra questi due eventi è costante, dato che in popolazioni quali quelle di Abatesco e Patrimonio (stazione A), pur esclusivamente sessuate, la polisomia si è instaurata già in natura. Le stesse conclusioni possono essere tratte a proposito di un eventuale nesso tra presenza di B-cromosomi e scissiparità. E' dunque probabile che tutte le variazioni del genoma siano determinate da fattori genetici specifici e non siano strettamente correlate né alla modalità di riproduzione né all'ambiente.

Infine, dal punto di vista della distribuzione geografica, non è stato rilevato alcun rapporto tra questa e i caratteri cariologici e bioriproduttivi delle singole popolazioni.

LAVORI CITATI

- BENAZZI M. (1950) - Ricerche genetico-sistematiche sulla planaria della Corsica attribuita a *Dugesia gonocephala* (Dugès). *La Ricerca Scient.*, **20**, 1275-1277.
- BENAZZI M. (1968) - Popolazioni di *Dugesia benazzii* della Sardegna e della Corsica di probabile origine ibrida. *Atti Ass. Genet. Ital.*, **13**, 117-124.
- BENAZZI M. (1974) - Fissioning in planarians from a genetic standpoint. In: *Biology of the Turbellaria*. L.H. Hyman Memorial Volume (N.W. Riser, M.P. Morse, Eds.). McGraw-Hill Book Co., New York, 475-492.
- BENAZZI M., BENAZZI LENTATI G. (1976) - Platyhelminthes. In: *Animal Cytogenetics*. Vol. 1 (B. John, Ed.). Gebrüder Borntraeger, Berlin-Stuttgart, 1-182.
- BENAZZI LENTATI G. (1964) - La polisomia nelle planarie. *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat., Mem.*, ser. B, **71**, 44-51.
- BENAZZI LENTATI G., DERI P. (1977) - Insorgenza di B-cromosomi in individui poliploidi di *Dugesia benazzii* (triclade paludicolo) allevati in laboratorio. *Rend. Acc. Naz. Lincei*, ser. VIII, **62**, 847-851.
- 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.
- DERI P. (1971) - Ricerche cariologiche e di biologia della riproduzione in popolazioni di *Dugesia benazzii* della Corsica. *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat., Mem.*, ser. B, **78**, 55-74.
- DERI P. (1975) - B-cromosomi in popolazioni polisomiche di *Dugesia benazzii* (Tricladida paludicola) della Corsica. *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat., Mem.*, ser. B, **82**, 25-38.
- DERI P. (1980) - Incremento del numero cromosomico e comparsa di B-cromosomi durante l'allevamento in laboratorio di una popolazione diploide di *Dugesia benazzii* (triclade paludicolo). *Rend. Acc. Naz. Lincei*, ser. VIII, **68**, 327-332.
- DERI P. (1981) - Cariologia di una popolazione di *Dugesia benazzii* (triclade paludicolo) con B-cromosomi. *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat., Mem.*, ser. B, **88**, 49-60.

(ms. pres. il 10 marzo 1981; ult. bozze il 25 novembre 1981)