

V. STINGO (\*), T. CAPRIGLIONE (\*)

## ASPETTI DELL'EVOLUZIONE GENOMICA NEI SELACI

**Riassunto** — Attualmente, i dati cariologici sui Selaci, ancora scarsamente studiati da questo punto di vista, riguardano i cariotipi di 25 specie, le dimensioni genomiche di circa 80 specie, la composizione del DNA di 6 specie e il bandeggio cromosomico di 3 specie.

I selaci hanno elevato numero cromosomico ( $2n = 50-100$ ) che decresce nelle specie più specializzate mediante la perdita degli acrocentrici e dei microcromosomi.

La quantità del DNA varia nelle specie studiate da 3 a 34 pg: i valori maggiori si ritrovano negli Squalomorfi, dove sono pure distribuiti in maniera eterogenea. Le differenze quantitative sembrano dovute a tutte le principali frazioni del genoma, suggerendo che fenomeni di poliploidia abbiano giocato un ruolo importante nella filogenesi di questa classe.

**Abstract** — *Aspects of genomic evolution in selachians.* The karyological data so far collected in cartilaginous fishes, still very scanty, are karyotypes of 25 species, DNA per cell amounts of about 80 species, DNA composition of 6 species, and chromosome banding of 3 species.

Selachians have high chromosome numbers ( $2n = 50-100$ ) which decrease in more specialized species through a loss of acrocentrics and microchromosomes. In the assayed species DNA amounts range from 3 to 34 pg/N: Squalomorphii show a large interspecific variability (13-34 pg). The differences in DNA amounts are due to variations in all the main DNA fractions and a hypothesis has been advanced that in the genomic evolution of selachians polyploidy has played an important role in the phylogeny of this class.

**Key words** — Selachians / Evolution / DNA / Chromosomes.

La filogenesi e la sistematica dei Pesci in generale e dei Selaci in particolare presentano molti punti ancora dibattuti, ciò essendo dovuto alla notevole eterogeneità di forme differenziate nel corso della millenaria storia evolutiva di questi organismi; inoltre, l'esi-

---

(\*) Dipartimento di Biologia evolutiva e comparata, Università di Napoli.

stenza di complessi meccanismi di speciazione, in relazione alla peculiarità dell'ambiente acquatico, pone ulteriori problemi nella definizione dei processi evolutivi; nei Selaci, infine, la scarsità dei reperti fossili rende maggiormente difficile lo studio paleontologico, che costituisce il maggior supporto dell'anatomia comparata (cf. SCHAEFFER, 1967, 1977; COMPAGNO, 1973, 1977; MAISEY, 1984).

In molti gruppi di Vertebrati gli studi sul differenziamento del cariotipo, della quantità del DNA nucleare e delle principali frazioni del DNA genomico sono stati spesso molto utili nel contribuire alla chiarificazione di vari problemi di carattere sia sistematico che evolutivo. I pesci cartilaginei sono forse i meno studiati da questo punto di vista. Ciò probabilmente è dovuto alla concomitanza di vari fattori limitanti, quali la taglia elevata, l'habitat poco accessibile o l'aggressività di molte specie.

#### CHROMOSOME NUMBER

Fino a pochi anni fa era noto il cariotipo di 5-6 specie di selaci studiate da Nygren nel '71 e da Donahue nel '74. Con la nostra ricerca iniziata da alcuni anni abbiamo potuto studiare il cariotipo di varie specie appartenenti a 3 dei 4 superordini della classe (STINGO, 1979), cosicché i dati oggi disponibili riguardano circa 20 specie, gran parte delle quali appartengono al superordine dei Batoidea.

Osservando la fig. 1, dove sono rappresentati i corredi diploidi più rappresentativi, si possono trarre alcune indicazioni sulle possibili linee di evoluzione cariologica seguite da questi pesci. La maggior parte dei cariotipi sono costituiti da un elevato numero cromosomico ( $2n = 70-100$ ), con elementi molto dissimili tra loro, frequentemente ricchi di acrocentrici e di microcromosomi. Per questa caratteristica questi corredi cromosomici appaiono molto diversi da quelli dei Teleostei, mentre risultano molto più simili a quelli dei più bassi Vertebrati (Ciclostomi, bassi Attinopterigi come Condrostei ed Olostei).

Nei Batoidea i più elevati valori diploidi si ritrovano nei Rajiformes, che annoverano le specie più generalizzate del superordine (SCHAEFFER, 1977; MAISEY, 1984); inoltre in queste specie l'elevato valore numerico è accompagnato da una netta prevalenza di cromosomi acrocentrici e di microcromosomi. Tra i Myliobatiformes, considerato l'ordine più specializzato dei Batoidea (SCHAEFFER, 1977; COM-

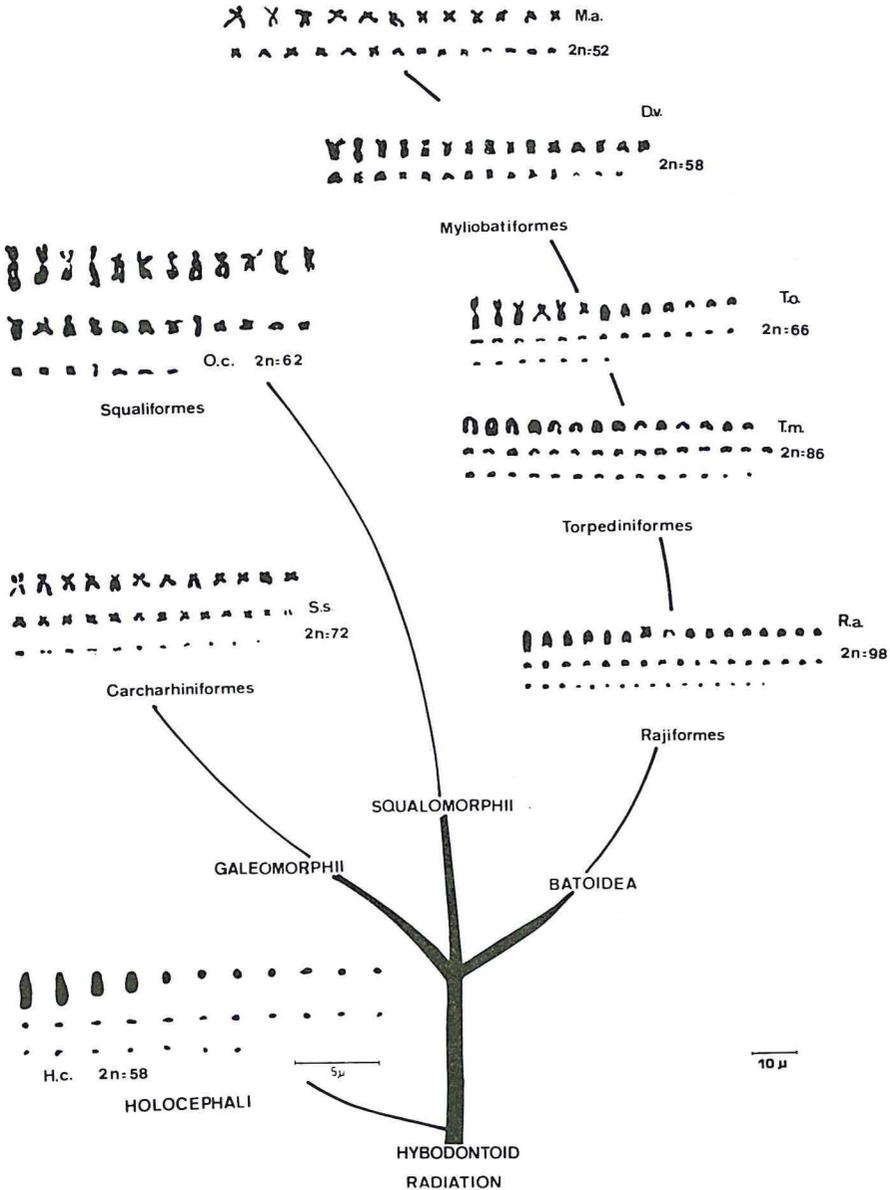


Fig. 1 - Cariotipi diploidi di rappresentanti dei 4 superordini dei Condroitti. H.c.: *Hydrolagus coliei*; S.s.: *Scyliorhinus stellaris*; O.c.: *Oxynotus centrina*; R.a.: *Raja asterias*; T.m.: *Torpedo marmorata*; T.o.: *Torpedo ocellata*; D.v.: *Dasyatis violacea*; M.a.: *Myliobatis aquila*.

PAGNO, 1977; MAISEY, 1984), si ritrovano invece specie con numeri cromosomici decisamente più bassi (48-56), netta prevalenza di cromosomi a due bracci e mancanza di microcromosomi.

I Torpediniformi, un ordine la cui posizione sistematica è ancora dibattuta (MAISEY, 1984), mostrano cariotipi con caratteri di transizione tra quelli tipici dei Rajiformes e quelli dei Myliobatiformes.

Alla luce di questi dati, si può supporre che nei Selaci, o almeno nei Batoidea, l'evoluzione cariologica si sia realizzata secondo modalità non molto diverse da quelle riscontrate in classi di Vertebrati più evoluti, come Teleostei ed Anfibi, mediante la riduzione del numero diploide attraverso fusioni centriche e perdita dei microcromosomi.

#### GENOME SIZE

Per quanto riguarda la grandezza del genoma, disponiamo oggi di un numero di dati più cospicuo rispetto ai dati cromosomici. Alle quantità di DNA di 5 specie note fino a pochi anni fa si sono aggiunte quelle di 30 specie studiate da Hinegardner nel '76, di 23 specie studiate da noi nell'80 e di altre 15 specie studiate recentemente e che vengono qui presentate per la prima volta. I nostri dati, che si riferiscono perciò alla maggior parte delle specie studiate finora, sono stati ricavati mediante indagini istofotometriche fatte su strisci di sangue in gran parte inviatici da ricercatori di vari paesi (M.H. Du Buit, J. Seret, B. Dingerkus) ai quali siamo vivamente grati.

L'istogramma relativo all'intera classe dei Condroitti (Fig. 3) mostra che le quantità di DNA variano in un range molto ampio, compreso tra 3 e 34 pg/N; le quantità più frequenti sono tuttavia concentrate in un ambito più ristretto (5-20 pg) con due picchi principali intorno a 8 e 14 pg/N.

Per la loro grande variabilità interspecifica e per le dimensioni del loro genoma, i Condroitti sembrano occupare una posizione peculiare fra i Vertebrati acquatici. Il valore modale di circa 10 pg trovato finora è 4-5 volte più alto di quello dei Teleostei ed è inferiore soltanto a quello di Urodeli e Dipnoi, che hanno quantità di DNA eccezionalmente elevate (30-200 pg) (OLMO, 1983) (Fig. 2).

Nella fig. 4 sono riportati i diagrammi di frequenza relativi ai 4 superordini della classe. Si può osservare che, mentre la maggior parte dei Batoidea hanno valori piuttosto omogenei, concentrati fra

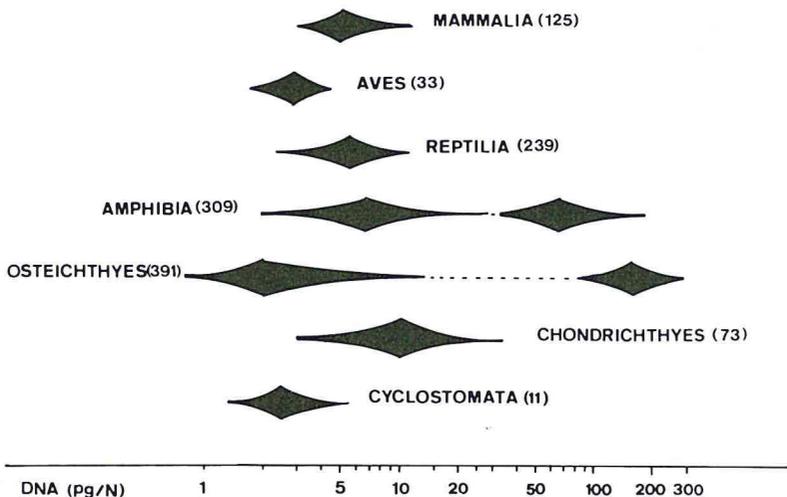


Fig. 2 - Quantità di DNA nucleare nelle varie classi di Vertebrati. Gli estremi orizzontali di ciascuna figura indicano i valori minimi e massimi; gli estremi verticali corrispondono al valore modale in ciascuna classe. L'ascissa è in scala logaritmica.

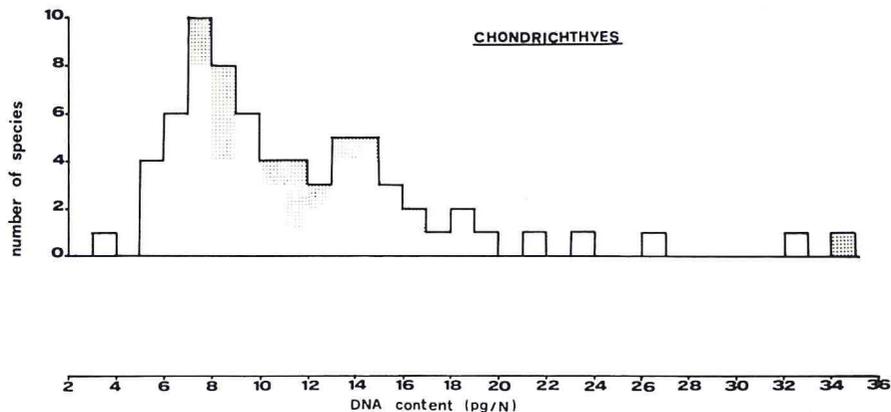


Fig. 3 - Diagramma di frequenza della distribuzione della quantità di DNA nelle specie di Condrotti finora studiate. Ascissa: valori del DNA espressi in picogrammi per nucleo (pg/N) e suddivisi in classi di frequenza di 1 pg; ordinata: numero delle specie per ciascuna classe di frequenza. Gli spazi punteggiati si riferiscono alle specie ultimamente studiate.

5 e 13 pg, i Galeomorphii mostrano un diagramma bimodale, in cui Carcharhinidi e Triakidi hanno valori che si distribuiscono fra 5 e 10 pg, mentre gli Scyliorhinidi posseggono quantità più elevate, di-

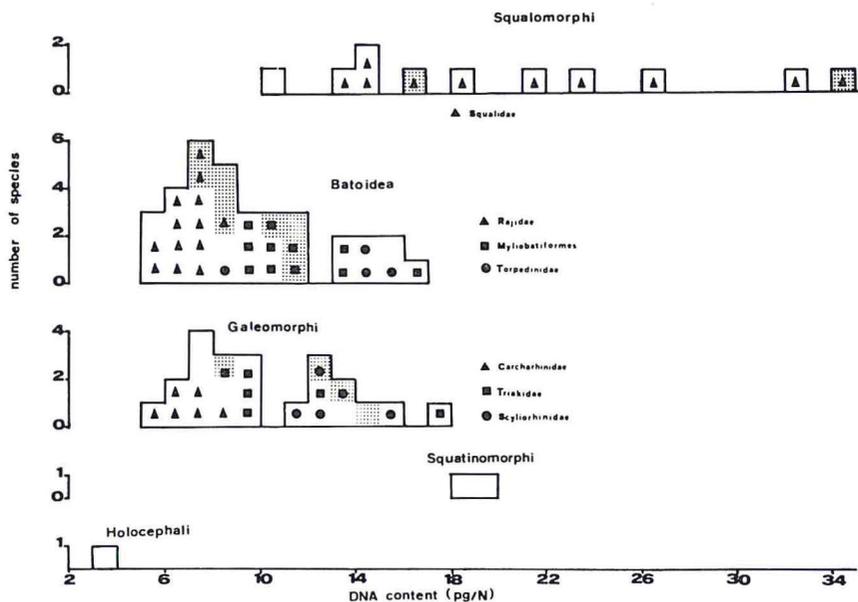


Fig. 4 - Istogrammi dei 4 superordini della sottoclasse degli Elasmobranchii; solo una specie è stata studiata nella sottoclasse degli Olocefali. Altri parametri come in fig. 3.

tribuite intorno a 14 pg. Il diagramma di frequenza degli Squalomorphi mostra un'ampia variabilità interspecifica a livello intrafamiliare con valori che da 13 vanno fino a 34 pg/N, il valore massimo finora trovato nei Condriotti. Gli Squatinomorphi, infine, presentano solo 2 specie a contenuto in DNA noto, il cui valore si aggira intorno a 20 pg/N.

Secondo HINEGARDNER (1968, 1977) vi sarebbe nei Pesci una correlazione inversa fra quantità di DNA e grado di specializzazione. In base ai dati finora disponibili, non sembra esserci nei Selaci una simile correlazione; appare invece che nell'ambito di un grande raggruppamento (superordine) le famiglie ritenute più generalizzate posseggono quantità di DNA marcatamente più basse rispetto ad altre con forme più specializzate. Infatti, Rajidae e Carcharhinidae, che sono ritenute le famiglie più generalizzate nei loro rispettivi superordini (SCHAEFFER, 1967; COMPAGNO, 73), posseggono le più basse quantità di DNA dei loro gruppi, mentre le altre famiglie più specializzate nei due gruppi mostrano valori significativamente superiori. All'interno degli Squalomorphi, gli Squalidae sembrano aver avuto

un'evoluzione genomica peculiare, che li ha portati ad acquisire grandi quantità di DNA in misura diversa nelle varie specie; comunque *Hexanchus griseus*, appartenente ad una famiglia più antica degli Squalidae (SCHAEFFER, 1967), possiede la quantità più bassa fra tutti gli Squalomorphii finora studiati.

Per una migliore interpretazione del significato delle variazioni quantitative del DNA nei pesci cartilaginei, sono comunque da tenere in considerazione i dati emersi dalle nostre precedenti ricerche sul frazionamento del DNA in varie specie di Selaci appartenenti ai tre superordini più studiati (OLMO et al., 1980, 1982). In base a questi dati risulta che più del 50% del genoma delle specie indagate è costituito da DNA ripetitivo e che l'incremento del «genome size» è dovuto sia all'aumento delle frazioni altamente e mediamente ripetute sia alla frazione «singola copia». Quest'ultima caratteristica, insieme alla valutazione di altri parametri di cinetica di riassociazione, ha fatto ipotizzare la presenza di fenomeni di poliploidia, che si sarebbero verificati indipendentemente nei vari superordini della classe.

In effetti, i dati quantitativi sembrano deporre a favore di questa ipotesi: nei Batoidea, le torpedini (circa 14 pg) hanno un genoma doppio rispetto alle razze (circa 7 pg), mentre nei Galeomorphii, gli sciliorinidi (circa 12 pg) potrebbero essere derivati da antenati dei carcarinidi, che hanno un genoma grande intorno a 6 pg/N. Negli Squalomorphii, dove i dati sulla composizione genomica sono limitati a una sola specie, è più difficile trarre indicazioni sulle relativamente grandi quantità di DNA e sulle ampie variazioni interspecifiche di questo gruppo. È comunque verosimile pensare a un significato adattativo di queste variazioni quantitative, in relazione all'eterogeneità dell'habitat degli squali rispetto alla relativa omogeneità dei valori trovati negli altri due superordini, di cui molte specie vivono in ambienti più stabili. D'altra parte, ci sono prove che la quantità di DNA nucleare, variabile fra le specie soprattutto grazie alla componente altamente ripetuta, costituisce un importante fattore adattativo in numerosi gruppi pluricellulari (SZARSKI, 1974). In particolare, negli Anamni l'aumento del DNA implicherebbe un aumento del volume cellulare e una conseguente diminuzione del tasso del metabolismo ossidativo (GOIN e GOIN, 1968). Quest'ultimo sarebbe stato un prerequisito essenziale per la colonizzazione del loro ambiente in quegli organismi come gli Urodela e i Dipnoi, che posseggono enormi quantità di DNA e vivono in condizioni ambientali

estreme (MORESCALCHI, 1975, 1977; OLMO, 1983). È verosimile che fenomeni di questo tipo si siano verificati anche negli squali, gran parte dei quali sono specie di profondità viventi in condizioni estreme di temperatura, di luce e di pressione. Un simile significato è stato anche attribuito all'incremento del DNA nucleare osservato in alcuni teleostei di profondità (EBELING, 1971).

#### BANDING PATTERN

Come accennato poc'anzi, la frazione di DNA con significati adattativi come quello appena descritto (DNA «nucleotipico») sarebbe quella altamente ripetuta. A differenza delle altre frazioni, che si trovano sparse lungo tutto il genoma, il DNA altamente ripetuto tende invece a concentrarsi in determinate regioni cromosomiche, come i centromeri e spesso anche i telomeri, dove forma ammassi di eterocromatina (YUNIS, 1971). Questo si evidenzia in gran parte nelle cosiddette bande C evidenziabili mediante varie tecniche oggi largamente in uso (SUMNER, 1972; SCHNEDL, 1974).

Le tecniche di bandeggiamento applicate ai cromosomi dei Selaci ci hanno recentemente consentito di localizzare sul cariotipo di due torpedini e di uno sciliorino caratteristici patterns di distribuzione dell'eterocromatina. Ciò rappresenta la prima evidenza di bande C nei pesci cartilaginei. In *Torpedo marmorata* il C-banding è positivo a livello telomerico, centromerico e interstiziale di gran parte dei cromosomi (Fig. 5). *Torpedo ocellata* mostra molta parte del cariotipo (poco meno del 50%) marcato positivamente; l'eterocromatina è distribuita soprattutto ai telomeri o lungo i bracci cromosomici in maniera ininterrotta e quasi mai è localizzata al centromero (Fig. 6). Infine, in *Scyliorhinus stellaris* l'eterocromatina è presente in misura più ridotta e si trovano quasi esclusivamente bande telomeriche (Fig. 7).

Questi risultati iniziali necessitano di essere arricchiti da un più vasto campionamento, sia per sfruttare la possibilità che offre il bandeggiamento cromosomico di discriminare fra cariotipi apparentemente simili tra loro, sia per dare una corretta interpretazione del significato di questo particolare modello di C-banding, in cui l'eterocromatina sembra localizzarsi preferibilmente ai telomeri piuttosto che a livello centromerico come più spesso si verifica in altri organismi. Per quanto riguarda l'elevata percentuale di eterocroma-

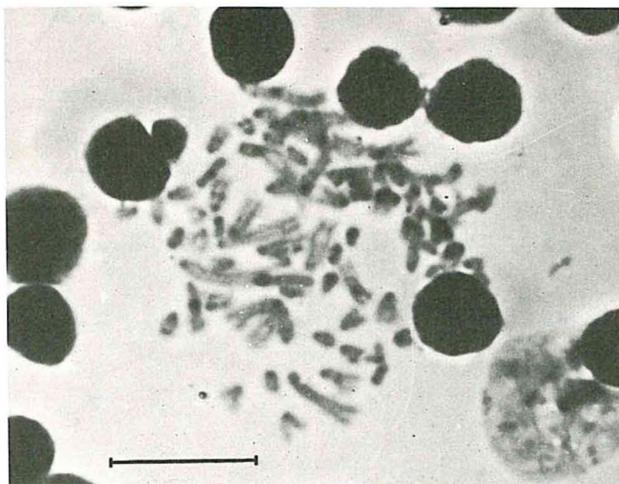


Fig. 5 - C-banding in cromosomi di *Torpedo marmorata*. La barra vale 10 micron.



Fig. 6 - Cariotipo diploide di *Torpedo ocellata* ( $2n = 66$ ). Le zone eterocromatiche sono evidenti in quasi tutti i cromosomi. La barra vale 10 micron.

tina trovata sul corredo cromosomico di *T. ocellata*, si potrebbe osservare che, essendo le zone eterocromatiche dei cromosomi maggiormente soggette a riarrangiamenti ed a variazioni quantitative, un simile cariotipo denuncia una sorta di «plasticità», in grado cioè di dar luogo a frequenti mutazioni cromosomiche con formazione di nuovi cariotipi e di nuovi assetti genetici, che sono alla base dei processi evolutivi (JOHN e MIKLOS, 1979).

Concludendo, le evidenze citogenetiche finora disponibili sui Selaci sono ancora scarse e frammentarie e consentono solo di intrav-

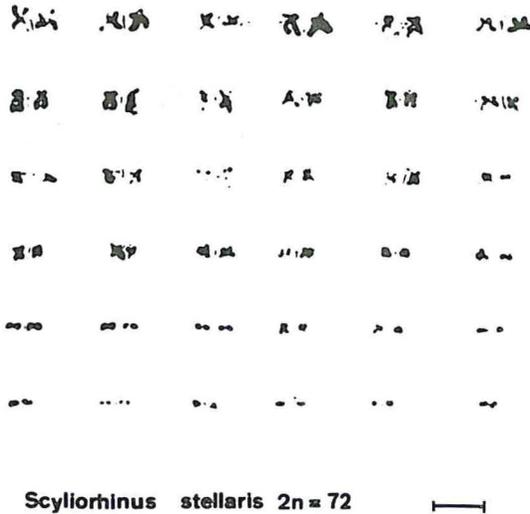


Fig. 7 - Corredo diploide di *Scyliorhinus stellaris*. La maggior parte del C-banding è presente a livello telomerico. La barra vale 10 micron.

vedere le linee di evoluzione cariologica seguite da questi antichi organismi. Tuttavia esse sono molto stimolanti ed è auspicabile che in futuro un maggior numero di ricercatori si rivolga a questo campo di studio.

#### BIBLIOGRAFIA

- COMPAGNO L.J.V. (1973) - Interrelationships of living elasmobranchs. In: Interrelationships of fishes. Greenwood P.H., Miles R.S. e Patterson C. eds. Academic Press, New York, 15-61.
- COMPAGNO L.J.V. (1977) - Phyletic relationships of living sharks and rays. *American Zoologist*, **17**, 303-322.
- DONAHUE W.H. (1974) - A karyotypic study of three species of Rajiformes (Chondrichthyes, Pisces). *Can. J. Genet. Cytol.*, **16**, 203-211.
- EBELING A.W., ATKIN N.B., SETZER P.Y. (1971) - Genome sizes of teleostean fishes: increase in some deep-sea species. *Amer. Nat.*, **105**, 549-562.
- GOIN O.B., GOIN C.J. (1968) - DNA and the evolution of Vertebrates. *Am. Midl. Nat.*, **80**, 289-298.
- HINEGARDNER R.T. (1968) - Evolution of cellular DNA content in teleost fishes. *Amer. Nat.*, **102**, 517-523.
- HINEGARDNER R.T. (1976) - The cellular DNA content of sharks, rays and some other fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, **55 B**, 367-370.

- HINEGARDNER R.T. (1977) - Evolution of genome size. In: Molecular evolution. Ayala F.J. ed., Associates Inc. Sunderland Massachusetts, 179-199.
- JOHN B., MIKLOS G.L.G. (1979) - Functional aspects of satellite DNA and heterochromatin. *Int. Rev. Cytol.*, **58**, 1-114.
- MAISEY J.G. (1984 a) - Chondrichthyan phylogeny: a look at the evidence. *J. Vert. Pal.*, **4**, 359-371.
- MAISEY J.G. (1984 b) - Higher elasmobranch phylogeny and biostratigraphy. *Zool. J. Lin. Soc.*, **82**, 33-54.
- MORESCALCHI A. (1975) - Chromosome evolution in the Caudate Amphibia. *Evol. Biol.*, **8**, 339-388.
- MORESCALCHI A. (1977) - Phylogenetic aspects of karyological evidence. In: Major pattern in Vertebrate evolution. Hecht M.K., Goody P.C., Hecht B.M. eds. Pl. Publ. Corp., New York, 149-167.
- NYGREN A., NILSSON B., JAHNKE M. (1971) - Cytological study in Hypotremata and Pleurotremata (Pisces). *Hereditas*, **67**, 275-282.
- OLMO E. (1983) - Nucleotype and cell size in vertebrates: a review. *Bas. Appl. Histochem.*, **27**, 227-256.
- OLMO E., STINGO V., ODIERNA G., CAPRIGLIONE T. (1980) - Cryptic polyploidy in sharks and rays as revealed by DNA renaturation kinetics. *Atti Accad. Naz. Lincei*, **48**, 555-560.
- OLMO E., STINGO V., COBROR O., CAPRIGLIONE T., ODIERNA G. (1982) - Repetitive DNA and polyploidy in selachians. *Comp. Biochem. Physiol.*, **73 B**, 739-745.
- SCHAEFFER B. (1967) - Comments on elasmobranch evolution. In: Sharks, skates and rays. Gilbert P.W., Mathewson R.F., Rall D.P. eds. Johns Hopkins Press, Baltimore, 3-35.
- SCHAEFFER B., WILLIAMS M. (1977) - Relationships of fossil and living elasmobranchs. *Am. Zool.*, **17**, 293-302.
- SCHNEIDL W. (1974) - Banding pattern in chromosomes. *Int. Rev. Cytol. suppl.*, **4**, 237-272.
- STINGO V. (1979) - New developments in Vertebrate cytotaxonomy. II. The chromosomes of the cartilaginous fishes. *Genetica*, **50**, 227-239.
- STINGO V., DU BUIT M.H., ODIERNA G. (1980) - Genome size of some selachian fishes. *Boll. Zool.*, **47**, 129-137.
- SUMNER A.T. (1972) - A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell. Res.*, **75**, 304-306.
- SZARSKI H. (1974) - Cell size and nuclear DNA content in Vertebrates. *Int. Rev. Cytol.*, **44**, 93-111.
- YUNIS J.J., YASMINEH W.G. (1971) - Heterochromatin, satellite DNA and cell function. *Science*, **174**, 1200-1209.

(ms. pres. il 29 maggio 1985; ult. bozze il 30 dicembre 1985)

