

I CROMOSOMI DI *BARBASTELLA BARBASTELLUS* (MAMMALIA - CHIROPTERA)

ERNESTO CAPANNA, LAURA CONTI e GABRIELLA DE RENZIS

Istituto di Anatomia Comparata « G. B. Grassi » dell'Università di Roma

In Redazione: il 12 Luglio 1967

In precedenti note sulla cariologia di qualche Vespertilionide (CAPANNA e CIVITELLI 1965; 1966; 1967), erano emerse alcune evidenze di fusioni centriche nell'evoluzione del cariotipo nell'ambito di questo taxa. Infatti, erano state descritte per *Miniopterus schreibersi* 2 coppie di grandi cromosomi metacentrici, mentre in 2 specie del genere *Pipistrellus* erano state osservate tre coppie di grandi autosomi metacentrici. La coppia di grandi metacentrici in *Pipistrellus* sostituiva due coppie di cromosomi acrocentrici di *Miniopterus* che, infatti, aveva numero diploide maggiore di due unità rispetto a *Pipistrellus*.

Tuttavia i dati kariometrici avevano messo in evidenza che non solo la fusione centrica di due grandi cromosomi acrocentrici in un solo metacentrico doveva essere invocata per l'evoluzione del cariotipo, ma a queste dovevano essersi aggiunte altre mutazioni geniche o cromosomiche non identificabili morfologicamente, in quanto le lunghezze totali dei kariogrammi diversificavano nelle tre specie in maniera significativa.

Dalle citate osservazioni era anche apparsa l'interessante circostanza della presenza in tutte e tre le specie di un cromosoma metacentrico piccolo, morfologicamente identico.

Ci è sembrato quindi interessante ricercare in altri Vespertilionidi, sia nuovi indizi di fusioni centriche, sia la presenza dei cromosomi morfologicamente identici già riconosciuti in altre specie.

Dati questi presupposti si presentava interessante lo studio dei cromosomi del Barbastello (*Barbastella barbastellus*), poichè in questa specie osservazioni di MATTHEY e BOVEY (1948) e di BOVEY (1949), condotte su schiacciamenti testicolari, avevano messo in evidenza un numero diploide di gran lunga inferiore a quello di molti Vespertilionidi ($2n=32$) ed avevano sottolineato la presenza di numerosi cromosomi metacentrici.

La ricerca, dunque, di analogie morfologiche tra il kariogramma di questo *Vespertilionide* con basso numero diploide e quello di altri *Vespertilionidi* con elevato numero cromosomico, ci è parso un valido motivo di ricerca.

MATERIALE E METODO

Per il presente lavoro sono stati utilizzati tre esemplari di *Barbastella barbastellus* (Schreber), di sesso maschile, provenienti dalla grotta del Rio Martino (Crissolo - Cuneo). (*)

L'allestimento delle culture per lo studio dei cromosomi è stato effettuato con la tecnica di LEJEUNE et al. (1960) lievemente modificata (CAPANNA e CIVITELLI 1964). Sono stati espianati frammenti di milza e di rene.

L'analisi kariometrica è stata effettuata su ingrandimenti fotografici $5.000 \times$ di 34 metafasi ben disperse, provenienti dagli espianati di tutte e tre gli individui.

DESCRIZIONE E DISCUSSIONE DEI RISULTATI

Il numero diploide da noi verificato in metafasi somatiche da cellule in cultura di tessuti di *Barbastella barbastellus* conferma quello proposto da BOVEY (1949) in base ad osservazioni condotte su materiale gonadico: $2n = 32$.

Il kariogramma del Barbastello (Fig. 1) presenta nove coppie di grandi autosomi metacentrici, tutti più grandi dell'eterocromosoma X, anch'esso metacentrico. Nel kariogramma di questa specie si osserva anche una coppia di piccoli cromosomi metacentrici che ricordano per forma e dimensioni i cromosomi della coppia n. 14 del kariogramma di *Pipistrellus kubli* (CAPANNA e CIVITELLI 1966) e *P. savii* (CAPANNA e CIVITELLI 1967), ed il n. 3 di *Miniopterus schreibersi* (CAPANNA e CIVITELLI 1965). I rimanenti autosomi costituiscono tre coppie di piccoli cromosomi acrocentrici e due di cromosomi puntiformi; un quinto cromosoma puntiforme si interpreta come eterocromosoma Y.

La ricostruzione in coppie del kariogramma presenta qualche difficoltà, poichè le lunghezze medie dei cromosomi metacentrici si presentano con valori scalari tra 7μ e $4,5 \mu$. Tuttavia due coppie di cromosomi mostrano la caratteristica morfologica di un centromero submediano (indice centromerico 34,5), e tra loro una lunghezza media diversa in modo significativo.

In tal modo è possibile separare un primo gruppo di quattro coppie di autosomi metacentrici grandi, tutti più grandi della coppia di cromosomi di dimensioni maggiori con centromero submediano; una coppia di cromosomi

* Desidero ringraziare gli amici Giovanni Dinale e Nino Martinotti, che mi hanno procurato il difficile materiale utilizzato per questo lavoro ed altro attualmente ancora in studio.
Ernesto Capanna.

con centromero mediano ha dimensioni intermedie tra le due dei cromosomi submetacentrici; le due coppie di cromosomi metacentrici che hanno dimensioni inferiori del minore cromosoma submetacentrico completano la serie delle nove coppie di autosomi grandi metacentrici e submetacentrici.

La valutazione kariometrica è in grado di individuare nel gruppo di coppie 1-4 e 8-9 le singole coppie autosomiche.

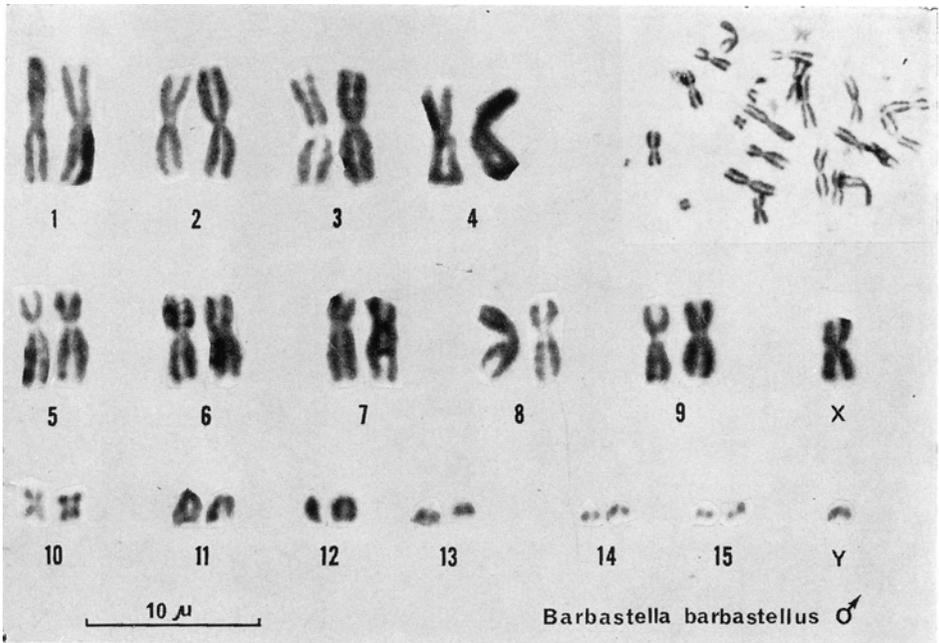


Fig. 1. — Piastra metafisica e ricostruzione in coppie dei cromosomi di *Barbastella barbastellus*.

Il kariogramma che proponiamo per *Barbastella barbastellus* distingue pertanto un gruppo di cromosomi (4 coppie, dal n. 1 al n. 4) con centromero mediano (indice centromerico compreso tra 46 e 48), di lunghezza media compresa tra $7,0 \mu$ e $5,8 \mu$, una coppia (n. 5) con centromero submediano (indice centromerico = 34,5) e lunghezza media $5,5 \mu$, una coppia di cromosomi (n. 6) con centromero mediano (indice centromerico = 45) e lunghezza media di $5,3 \mu$, una coppia (n. 7) di cromosomi submetacentrici (indice centromerico = 34,5) e lunghezza media $5,1 \mu$; un gruppo di cromosomi comprendente 2 coppie (n. 8 e 9) di autosomi con centromero mediano (indice centromerico 41 e 43) e lunghezza media compresa tra $4,9$ e $4,5 \mu$.

La coppia n. 10 è una coppia di piccoli cromosomi metacentrici a morfologia identica a quelli descritti in altri Vespertilionidi (indice centromerico

48 e lunghezza media = $2,0 \mu$); le coppie 11, 12 e 13 costituiscono il gruppo dei piccoli cromosomi acrocentrici (lunghezza media compresa tra $1,9$ e $1,3 \mu$), mentre le coppie 14 e 15 costituiscono il gruppo dei piccoli cromosomi puntiformi.

L'eterocromosoma X è un grande cromosoma metacentrico (indice centromerico = 46 , lunghezza media $3,2 \mu$), mentre l'eterocromosoma Y è un puntiforme.

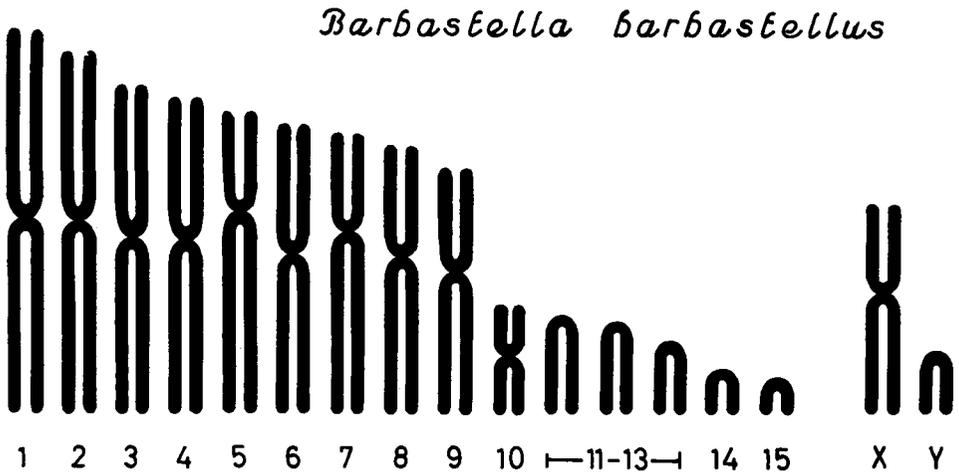


Fig. 2. — Cariogramma di *Barbastella barbastellus*.

Uno schema delle caratteristiche morfologiche dell'assetto aploide autosomiale e dei due eterocromosomi è rappresentato nella Fig. 3, ove i cromosomi sono rappresentati riferendo in scala la posizione del centromero, la lunghezza media ed i limiti fiduciali di quest'ultima. Nella tabella sono riportati i valori numerici della lunghezza media, della lunghezza media relativa all'assetto aploide femminile, l'indice centromerico, e il rapporto tra le braccia cromosomiche.

Il confronto del cariotipo di *Barbastella barbastellus* con quello di altri Vespertilionidi porta ad interessanti considerazioni; la presenza di un cromosoma morfologicamente identico è, come già accennato nell'esposizione dei risultati, confermata dal cromosoma n. 10 del cariogramma di questa specie; meno facile per altro ritrovare tra i numerosi metacentrici di grandi dimensioni di *Barbastella*, le tre grandi coppie di cromosomi metacentrici di *Pipistrellus* e le due di *Miniopterus*; le dimensioni relative che avviano, nel confronto, all'inconveniente di differente spiralizzazione o coartazione artificialmente provocata dalla colchicina sui cromosomi, indicherebbero nelle tre

TABELLA 1

Valori delle lunghezze medie, delle lunghezze medie relative, degli indici centromerici e del rapporto fra le braccia cromosomiche del kariogramma di « *Barbastella barbastellus* ».

	lunghezza media	lunghezza media relativa all'assetto aploide femminile (lungh. cromosoma/lungh. assetto aploide)		Indice centromerico		Rapporto tra le braccia cromosomiche (lungh. braccio lungo/braccio corto)
		μ int. fid. prob. 0,01	% int. fid. prob. 0,01	% int. fid. prob. 0,01		
Intero kariogramma maschile	122,7 + 11,5					
Assetto aploide femminile	62,9 + 3,7					
Cromosoma N° 1	7,0 ± 0,4	11,1 ± 0,3	48,5 ± 0,5	1,0		
» » 2	6,6 ± 0,4	10,4 ± 0,3	47 ± 1,0	1,12		
» » 3	6,0 ± 0,3	9,5 ± 0,2	47 ± 3	1,14		
» » 4	5,8 ± 0,4	9,1 ± 0,2	46 ± 1,5	1,2		
» » 5	5,5 ± 0,3	8,6 ± 0,2	34,5 ± 1,5	1,8		
» » 6	5,3 ± 0,3	8,3 ± 0,3	45 ± 1,5	1,3		
» » 7	5,1 ± 0,3	7,9 ± 0,2	34,5 ± 2	2,0		
» » 8	4,9 ± 0,4	7,8 ± 0,3	41 ± 2	1,4		
» » 9	4,5 ± 0,4	7,1 ± 0,3	43 ± 2	1,3		
» » 10	2,0 ± 0,1	3,2 ± 0,2	48 ± 2	1,2		
» » 11	1,9 ± 0,1	2,9 ± 0,1	—	—		
» » 12	1,6 ± 0,1	2,5 ± 0,4	—	—		
» » 13	1,3 ± 0,1	2,0 ± 0,4	—	—		
» » 14	0,9 ± 0,1	1,4 ± 0,4	—	—		
» » 15	0,7 ± 0,1	1,1 ± 0,2	—	—		
Eterocromosoma X	3,8 ± 0,2	5,9 ± 0,5	41,0 ± 3	1,3		
» Y	1,1 ± 0,2	1,8 ± 0,3	—	—		

prime coppie di cromosomi di *Barbastella*, i cromosomi morfologicamente identici ai grandi metacentrici delle due specie di *Pipistrellus* da noi esaminate, e nelle prime due quelle identiche morfologicamente ai grandi cromosomi metacentrici di *Miniopterus*.

La possibilità di una evoluzione cromosomica, nell'ambito del cariotipo dei Vespertilionidi per fusione centrica, o per altra mutazione cromosomica, quale ad esempio la traslocazione reciproca dell'intero braccio lungo di un cromosoma acrocentrico su di un altro acrocentrico, che comunque dia lo stesso risultato morfologico, cioè una coppia di grandi cromosomi metacentrici che sostituisca due coppie di acrocentrici, appare dallo studio di questo Ve-

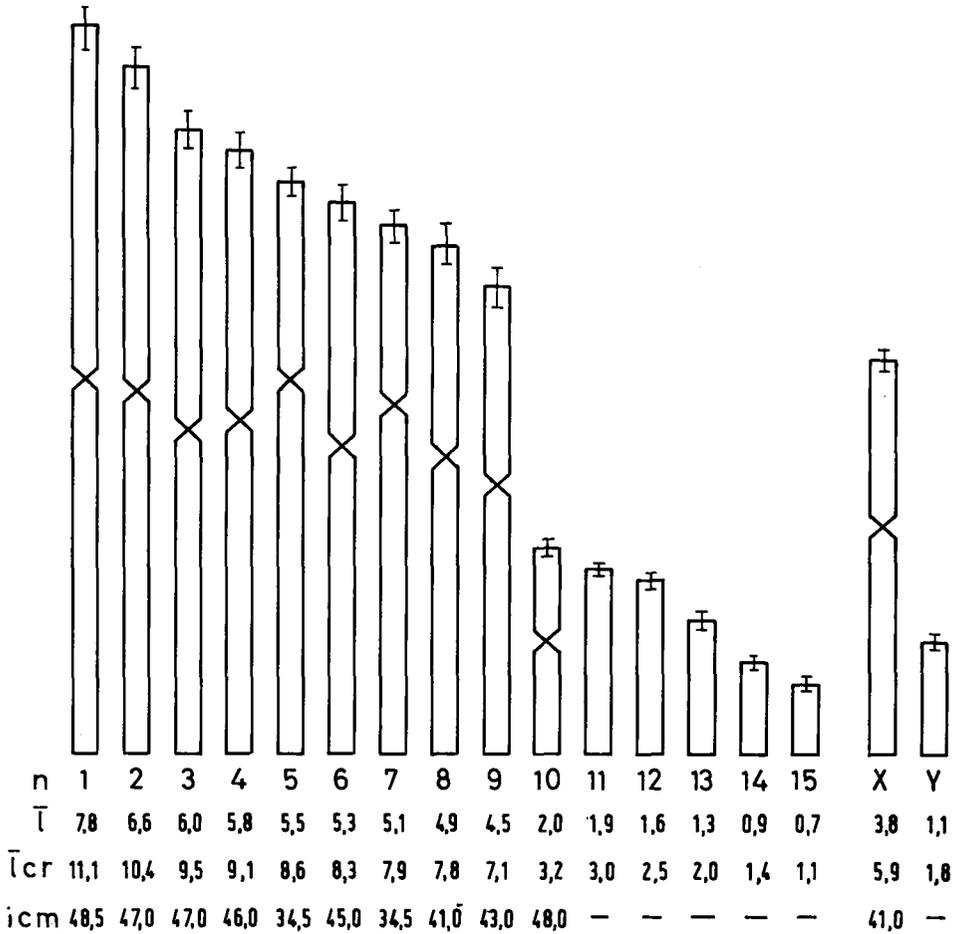


Fig. 3. — Rappresentazione grafica del cariotipo di *Barbastella barbastellus*; il tratto al di sopra di ogni cromosoma indica l'intervallo di fiducia (prob. 1%); sotto ciascun cromosoma è riportato il numero (n), la lunghezza media (\bar{l}), la lunghezza media relativa all'assetto aploide femminile (\bar{l}_{cr}), e, per i metacentrici, l'indice centromerico (icm).

spertilionide ancora più probabile. Infatti il numero di braccia autosomiche (*) è uguale a 50 in tutte e quattro le specie delle quali disponiamo di personali dati morfologici e cariometrici (*Miniopterus schreibersi*, *Pipistrellus kubli*, *P. savii* e *Barbastella barbastellus*); a rendere maggiormente fondata l'ipotesi robertsoniana (ROBERTSON 1916) nell'evoluzione del cariotipo dei

* Preferiamo effettuare il computo ed il confronto delle sole braccia autosomiche e non di tutti i cromosomi, come nel *numero fondamentale* (MATTHEY 1945), poichè lavorando su cromosomi somatici, e non su materiale testicolare, avremmo l'inconveniente di numeri fondamentali differenti se computati su linee cellulari maschili o femminili della stessa specie.

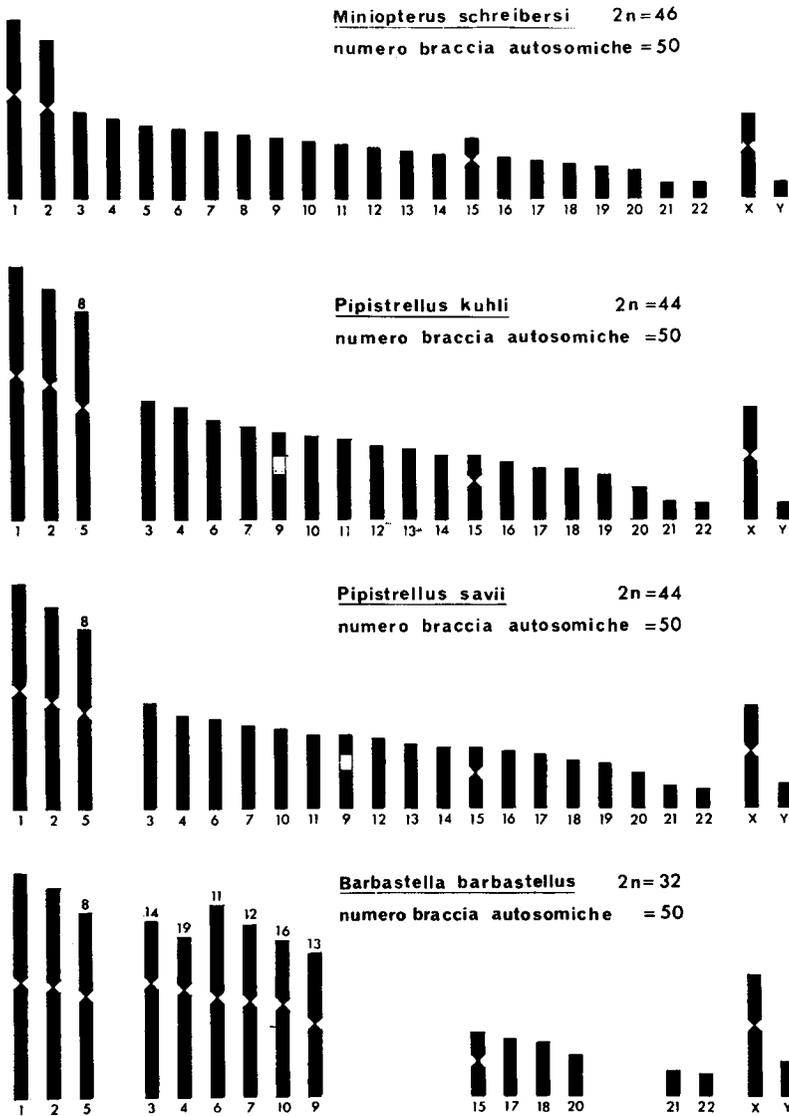


Fig. 4. — Raffronto dei kariogrammi di quattro Vespertilionidi: *Miniopterus schreibersi*, *Pipistrellus kuhli*, *P. savii* e *Barbastella barbastellus*. Sono indicate le possibili fusioni di braccia cromosomiche, supposte per l'evoluzione cromosomica del gruppo. La numerazione tiene conto di queste e pertanto non corrisponde a quella attribuita nella descrizione dei kariogrammi.

Vespertilionidi, stanno le osservazioni di BOVEY (1949) che in *Pipistrellus pipistrellus* descrive 4 coppie di grandi autosomi metacentrici ed un numero diploide $2n=42$; anche PATTON e BAKER (1966) in numerosi Vespertilionidi neartici descrivono numeri diploidi relativamente bassi ($2n=20$; $=28$;

=30; =32) e similmente TAKAYAMA (1959) in *Pipistrellus tralatus abramus*, riferisce un numero diploide $2n=26$ al quale fa riscontro un gran numero di cromosomi grandi metacentrici.

Tuttavia l'identificazione nelle braccia autosomiche dei grandi cromosomi metacentrici di *Barbastella barbastellus*, dei cromosomi acrocentrici delle due specie del genere *Pipistrellus* e di *Miniopterus* si può tentare solo in linea puramente ipotetica, basandosi sui soli dati cariometrici. Nella Fig. 4 è tentata tale identificazione.

Ci sembra opportuno sottolineare, prima di concludere questa discussione, che quanto le nostre osservazioni cariometriche hanno messo in evidenza nella tribù *Pipistrellini* si intravede come possibilmente occorra parallelamente in una altra tribù di Vespertilionidi, cioè nei *Myotini* (TATE 1942). Infatti come al genere *Pipistrellus*, poco specializzato, con 44 cromosomi e solo 3 coppie di grandi metacentrici, fa contrasto *Barbastella* con 32 cromosomi e numerosi metacentrici, così, da quanto riferito da BOVEY (1949), su schiacciamenti testicolari, al genere *Myotis* con 44 cromosomi e tre coppie di grandi metacentrici, si contrappone in *Plecotus*, specie molto specializzata, un cariogramma caratterizzato da un numero diploide basso ($2n=32$) ed un gran numero di cromosomi metacentrici. Dai numeri diploidi riferiti nella lista di PATTON e BAKER (1966) il dato di MATTHEY e BOVEY (1948) e di BOVEY (1949) sembrerebbe confermato anche per specie neartiche.

Queste considerazioni ci propongono come valido motivo di ricerca, per altro in parte già iniziata, lo studio, a mezzo di una precisa analisi cariologica e cariometrica, dell'evoluzione cromosomica dei *Myotini*.

BIBLIOGRAFIA

- BOVEY R., 1949. — *Les chromosomes des Chiroptères et des Insectivores*. Rev. Suisse Zool., **56**: 371-460.
- CAPANNA E. e CIVITELLI M. V., 1960. — *Contributo alla conoscenza della caryologia dei Rino-
lofidi (Mammalia-Chiroptera)*. Caryologia, **17**: 361-371.
- , 1965. — *Caryologia e cariometria del Miniottero (Mammalia-Chiroptera)*. Caryologia, **18**: 541-546.
- , 1966. — *I cromosomi del Pipistrello albolimbato*. Caryologia, **19**: 231-240.
- , 1967. — *I cromosomi di Pipistrellus savii*. Caryologia, **20**: 265-272.
- LEJEUNE J., TURPIN R. e GAUTIER M., 1960. — *Etude des chromosomes somatiques humains. Technique de culture de fibroblastes in vitro*. Rev. Francais Etudes Clin. Biol., **4**: 406-408.
- MATTHEY R., 1945. — *L'evolution de la formule chromosomiale chez les Vertébrés*. Exp., **1**: 50-56, 78-86.
- , 1949. — *Les chromosomes des Vertébrés*. Rouge, Lausanne.
- MATTHEY R. e BOVEY R., 1948. — *La formule chromosomiale chez cinq espèces de chiroptères*. Experientia, **4**: 26-27.
- PATTON J. e BAKER R. J., 1966. — *Somatic chromosomes numbers of 31 species of North American Chiroptera*. Mammalian chromosomes. Newsletter, **20**: 66-67.
- ROBERTSON W. R. B., 1916. — *Chromosomes studies. II. Taxonomic relationships shown in the*

chromosomes of Tettigidae and Acrididae: V-shaped chromosomes and their significance in Acrididae, Locustidae, and Gryllidae: Chromosomes and variation. Journ. Morph., **27**: 179-297.

TAKAYAMA S., 1959. — *The chromosomes of a bat, Pipistrellus tralaitus abramus.* Jap. Journ. Gen., **34**: 107-110.

TATE G. H. H., 1942. — *Review of the vespertilioninae bats.* Bull. Amer. Mus. Nat. Ist., **80**: 221-297.

SUMMARY

The karyogram of a bat, *Barbastella barbastellus*, has been defined on the basis of a karyometric analysis. There are 15 pairs of autosomes and one pair of heterochromosomes; among 15 autosomal pairs, 9 are large metacentric. There is one pair of small metacentrics that is morphologically identical to similars pairs described in other Vespertilionides. Three pairs are little acrocentric chromosomes, and 2 pairs are very small chromosomes. The X chromosome is a large metacentric chromosome and the Y is a very small one. The interpretation of chromosomal evolution has been attempted with regard to four species of Vespertilionidae.

RIASSUNTO

Sono stati studiati i cromosomi di *Barbastella barbastellus* ed è stata eseguita l'analisi cariométrica. Il numero diploide è risultato, su cellule somatiche in cultura $2n = 32$. Il cariotipo è costituito da 9 coppie di grandi cromosomi metacentrici, 1 coppia di cromosomi metacentrici di piccole dimensioni ritenuti morfologicamente identici a cromosomi ritrovati in altri Vespertilionidi, 3 coppie di piccoli cromosomi acrocentrici e 2 coppie di cromosomi puntiformi. L'eterocromosoma X è un grande metacentrico e l'Y è un cromosoma puntiforme. È stata tentata una interpretazione dell'evoluzione cromosomica nell'ambito di 4 specie di Vespertilionidi per le quali gli autori hanno effettuato una precisa analisi cariométrica.