

Marianna D'Arienzo - Valeria Mezzetti Bambacioni

Sulla morfologia dei cromosomi di *Fritillaria persica* L.

INTRODUZIONE

La *Fritillaria persica* L., unica specie presente in Europa della sezione *Tozzettia*, sottogenere *Theresia* del genere *Fritillaria*, è originaria dell'Asia Occidentale e, in Italia, è stata trovata, inselvaticata, presso Bologna e in diverse località del Lazio: a Roma fu raccolta a Villa Pamphili (BÉGUINOT, 1895, 1897, 1899).

Nel 1924, nel Giardino annesso all'Istituto Botanico di Via Panisperna, vegetavano numerose piante di *F. persica*, delle quali, una di noi (BAMBACIONI, 1928) studiò l'embriologia e l'ecologia: alcuni bulbi, trasportati dapprima nel Giardino Botanico della Città Universitaria di Roma e in seguito nell'Orto Botanico di Portici, hanno dato piante rigogliose che ci hanno fornito il materiale per le presenti ricerche, ritenute opportune per le scarse conoscenze sulla cariologia della specie in questione, limitate, per quanto ci consta, alle osservazioni di STRASBURGER (1882) e della BAMBACIONI (1928).

STRASBURGER (1882), nella prima divisione delle cellule madri del polline, osservò quasi sempre 12 filamenti (Fäden) a forma di Y o di X, talora anche 10 e 11, e, nella seconda divisione, il più delle volte, 12 filamenti: BAMBACIONI (1928), nella divisione eterotipica dei micro e macrosporangi, confermò il numero $n = 12$, dato che non risulta nelle due edizioni del « Chromosoma Atlas » di DARLINGTON,

La morfologia dei cromosomi delle Fritillarie sia alla mitosi che alla meiosi è stata molto studiata (TISCHLER, 1951) perchè essi costituiscono un materiale ideale per le grandi dimensioni e per il numero relativamente piccolo che è quasi costante. Infatti delle 44 specie studiate da questo punto di vista (MEZZETTI BAMBACIONI, 1928, 1947; DARLINGTON e WYLIE, 1955; SHARMA A. K., e A. SHARMA, 1961; NODA, 1964), 40 hanno $x = 12$, due, *F. nigra* e *F. ruthenica*, hanno $x = 9$, una, *F. pudica*, ha $x = 13$; recentemente NODA nella giapponese *F. amabilis* ha calcolato $2n = 22 + 0 - 6B$. I numeri 9 e 13 si ritengono derivati da fenomeni di fusione e frammentazione di cromosomi; noi riteniamo, pur non avendo potuto vedere il lavoro di NODA, che anche il numero $x = 11$ sia dovuto a fusione o a frammentazione, come potrebbe indicare la presenza di cromosomi B osservati anche in altre specie (DARLINGTON e WYLIE, 1955).

La poliploidia non è molto diffusa nel genere *Fritillaria*. Sono noti, in alcune specie, biotipi triploidi e in *F. lanceolata* un biotipo triploide ed uno tetraploide: non si conoscono ibridi culturali ed è ritenuto ibrido naturale (LA COUR, 1951) la californiana *F. phaeanthera* (*F. parviflora* x *F. recurva*) con $2n = 24$ e 36 .

Il corredo cromosomico diploide, in tutte le specie studiate, risulta (LA COUR in BECK, 1953; GORI, 1958) di due coppie di cromosomi lunghi con costrizione primaria submediana, spesso a forma di V e dieci coppie di cromosomi più corti, a bastoncino, con costrizione primaria subterminale. Non molto chiaro risulta l'idiogramma della imalaiana *F. roylei* dalla descrizione di A. K. SHARMA e A. SHARMA (1961) che raggruppano i 24 cromosomi in otto tipi nei quali la costrizione primaria sarebbe submediana in 5 coppie e subterminale in 4; altre 3 coppie di cromosomi avrebbero due costrizioni, una submediana e una subterminale ma non è detto quale delle due sia la primaria: una costrizione secondaria si avrebbe anche in una delle coppie a centromero submediano.

Osservando però i disegni della metafase e del rispettivo idiogramma, si ha l'impressione che anche in questa specie il

centromero sia submediano in due coppie e subterminale nelle altre 10 di cui una sembra satellifera: costrizioni secondarie si presenterebbero in altre tre coppie. Tali costrizioni non sono rare in *Fritillaria* specialmente nei cromosomi a bastoncino dove furono trovate in un solo cromosoma in *F. meleagris* (NEWTON e DARLINGTON, 1930), in una coppia di cromosomi, ma non costantemente, in *F. messanensis* (GORI, 1958), in due coppie di cromosomi in *F. imperialis* (TAYLOR, 1926), in *F. cirrhosa* (MEHRA e KACHROO, 1951) e in *F. biflora* (DYER, 1963), in due coppie (BECK, 1953, fig. 7), o in tre coppie (DYER, 1963), in *F. recurva*, in tre coppie in *F. lanceolata* e *F. falcata* (DYER, 1963).

Più rare sono le costrizioni secondarie nei cromosomi a centromero submediano; esse infatti sono state osservate solo in *F. ruthenica* in due dei cromosomi a V del corredo aploide ($n = 9$) derivati dalla fusione di quelli a bastoncino (BECK, 1953, fig. 9) e in una coppia e talora in due coppie del corredo diploide di *F. messanensis* (GORI, 1958).

I cromosomi con costrizioni secondarie si dicono anche *nucleolari* perchè, in corrispondenza di tali costrizioni, si formano, per lo più, i nucleoli che però, più raramente, si organizzano alle estremità di cromosomi SAT. Non abbiamo trovato nessuna indicazione sulla presenza di satelliti nei cromosomi a centromero submediano; cromosomi satelliferi con centromero subterminale sono stati invece osservati in *F. karadaghensis* (BECK, 1953, fig. 8) e in *F. messanensis* (GORI, 1958).

DARLINGTON e LA COUR per la considerazione che nell'evoluzione del genere *Fritillaria* pochissima importanza avevano avuto i più diffusi fattori evolutivi, poliploidia ed ibridismo, furono indotti a studiare l'importanza che, in tale processo, potesse avere avuto l'eterocromatina (LA COUR, 1951).

Con la tecnica del freddo, DARLINGTON e LA COUR nel 1941 avevano notato, nelle metafasi di un biotipo triploide di *F. pudica*, dopo 8 giorni di permanenza a 0°C, tre cromosomi eucromatici e 36 cromosomi con complessivi 83 segmenti eterocromatici; di questi cromosomi, quattro erano nucleolari, ma di due tipi diversi. Nelle metafasi di granelli di polline di un biotipo diploide della stessa specie, tenuti per più di tre settimane

a 0°C, gli stessi Autori osservarono due cromosomi eucromatici e 11 cromosomi nel cui complesso si potevano contare da 16 a 18 segmenti eterocromatici. In seguito LA COUR (1947), dall'evidenza dei cromocentri, dedusse che, delle 14 specie esaminate del Continente Antico, solo tre presentavano eterocromatina che invece era presente, e in quantità maggiore, in quattro specie su sei del Continente Nuovo.

Per estendere lo studio della posizione dell'eterocromatina nei cromosomi, sempre con la tecnica del freddo, lo stesso Autore (LA COUR, 1951), osservò abbondante eterocromatina in cinque specie su sette del Continente Nuovo ed eterocromatina più scarsa in dodici specie su ventisette del Continente Antico: ciò l'indusse a considerare il contenuto diverso di eterocromatina come carattere differenziale tra le specie dei due Continenti e tale distinzione seguirono DARLINGTON e WYLIE nella seconda edizione del « Chromosome Atlas ».

Favorevole a tale suddivisione è considerata da SHARMA A. K. e A. SHARMA (1961), l'assenza di segmenti eterocromatici nei cromosomi di *F. roylei* dell'Himalaia da loro studiata.

DYER nel 1963 in radici di due piante di *F. recurva* messe in un comune frigorifero a $1^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{ C}$ per 48-96 ore ha osservato segmenti eterocromatici, indicati da DARLINGTON e LA COUR anche col nome di *segmenti H*; precisamente nelle metafasi mitotiche, dopo esposizioni per quattro giorni a 2° C , ha notato che dieci delle dodici paia di cromosomi mostravano almeno un segmento *H* vicino al centromero. Tali segmenti, in posizione diversa nelle diverse paia di cromosomi, potevano presentare posizione diversa anche nei cromosomi omologhi, causando una *structural heterozygosity*, cioè una eterogeneità nei cromosomi omologhi; delle due piante studiate, una presentò sette paia e l'altra otto paia di cromosomi eterozigoti per i segmenti *H*.

Il DYER nella fig. 3 del suo lavoro, riunisce gli idiogrammi coi segmenti *H* osservati da LA COUR (1951) nelle specie californiane *F. recurva*, *F. lanceolata*, *F. falcata* e *F. biflora*, nota il polimorfismo esistente nei segmenti e osserva che tale polimorfismo è parallelo nelle prime tre specie nelle quali l'etero-

cromatina aumenta dalla prima alla terza, mentre in *F. biflora* i segmenti eterocromatici sono molto più scarsi; la diversa quantità di eterocromatina nelle quattro specie è messa dal DYER in rapporto all'affinità tassonomica che è maggiore tra le prime tre specie e minore tra queste e la *F. biflora*.

Per quanto riguarda i cromosomi meiotici, oltre alle osservazioni già citate dello STRASBURGER in *F. persica*, ricordiamo le ricerche di NEWTON e DARLINGTON e DARLINGTON sul numero e localizzazione dei chiasmi nella prima divisione delle cellule madri del polline. In *F. meleagris* DARLINGTON e NEWTON (1930), nello stadio di diplotene, osservarono diversi chiasmi in vari punti dei cromosomi appaiati ma specialmente in prossimità del centromero in contrasto con la precedente affermazione del NEWTON che nel genere *Fritillaria* si formava un solo chiasma e quindi si osservavano solo figure a croce. In seguito DARLINGTON (1936) studiava la meiosi in 25 specie di *Fritillaria* e precisava che il numero dei chiasmi sembrava proporzionale alla lunghezza dei cromosomi e che essi erano distribuiti solo in prossimità del centromero in alcune specie (*F. meleagris*, *F. ruthenica* ecc.) ed a caso, per tutta la lunghezza dei cromosomi, in altre specie (*F. imperialis*, *F. libanotica*, *F. pallidiflora*) del Continente Antico ed altre dell'America (*F. recurva*, *F. lanceolata* e *F. pudica*). L'appaiamento a caso determina una maggiore capacità di ricombinazione. Secondo le osservazioni di BARBER (In TISCHLER, 1951, p. 751) in *Fritillaria* anche l'appaiamento di norma localizzato avviene a caso per l'azione della colchicina che causa un forte *Rückgang* dei chiasmi.

PARTE SPERIMENTALE

MATERIALE E METODO.

Per l'osservazione dei cromosomi mitotici di *Fritillaria persica* abbiamo usato gli apici di radici di bulbi tenuti sia alla temperatura ambiente sia in frigorifero a 2° C per 24, 48, 96 ore fino ad un massimo di nove giorni.

Dopo pretrattamento con colchicina allo 0.1 % per 45'-60' e fissazione in Carnoy (acido acetico: 1 parte; alcool etilico assoluto: 3 parti) gli apici erano colorati con la tecnica dello striscio al *Feulgen*. Gli stadi della meiosi sono stati osservati in giovanissime antere semplicemente schiacciate in una goccia di carminio acetico oppure fissate in Karpetschenko, imparaffinate e sezionate: le sezioni erano colorate con ematossilina Heidenhain.

OSSERVAZIONI.

I nuclei interfasici presentano chiari cromocentri (Tav. I, fig. 1) il cui numero però non è computabile. Nelle numerose metafasi osservate abbiamo sempre contato 24 cromosomi (Tav. I, fig. 2): il centromero è sub-mediano nei quattro cromosomi più lunghi (Tav. I, fig. 3, M e M') e sub-terminale negli altri; un cromosoma M' è satellifero (Tav. I, figg. 3 e 4); bene evidente è la spiralizzazione dei cromatidi. La fig. 5 della Tav. I mostra un inizio di anafase: i centromeri sono già divisi in tutti i cromosomi e la divisione interessa anche i bracci corti di alcuni cromosomi a bastoncino. Abbiamo osservato questo stadio in radici di bulbi tenuti a temperatura ordinaria ma molto più spesso nelle radici dei bulbi tenuti in frigorifero a

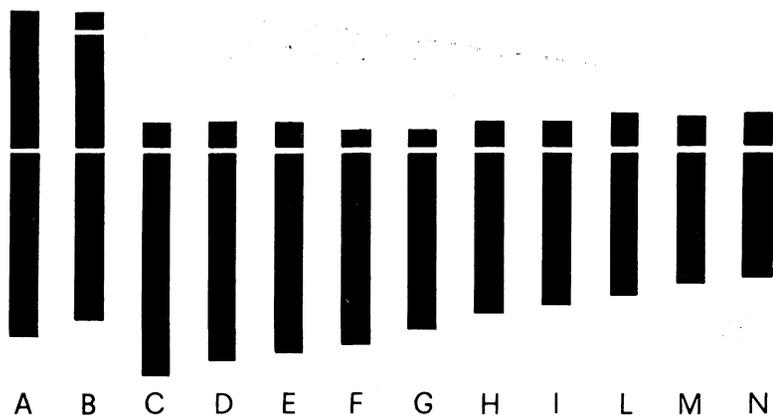


Fig. 1. — Idiogramma dal cariotipo somatico di *Fritillaria persica* L. I cromosomi sono disposti in ordine di lunghezza decrescente.

2° C per 24 ore: nelle metafasi del materiale tenuto a bassa temperatura non siamo mai riuscite a mettere in evidenza segmenti eterocromatici. La lunghezza dei cromosomi è di μ 20 - 10.

	Braccio lungo	Braccio corto	Totale	
A	11.5	8.5	20	} I Gruppo
B	10.5	7 + 1	18.5	
C	14	1.5	15.5	} II Gruppo
D	13	1.5	14.5	
E	12.5	1.5	14	
F	12	1	13	
G	11	1	12	} III Gruppo
H	10	1.5	11.5	
I	9.5	1.5	11	
L	9	2	11	
M	8.25	1.75	10.5	
N	8	2	10	

Tabella I — Lunghezza in μ dei cromosomi di *Fritillaria persica* L.

Nella tabella I è indicata la lunghezza media ottenuta dalla misura dei cromosomi di numerose metafasi, per ogni coppia e per i relativi bracci, nell'idiogramma della fig. 1 i cromosomi sono disposti in ordine di lunghezza decrescente. Per tale carattere i 24 cromosomi di *F. persica* possono distinguersi in tre gruppi comprendenti: il primo gruppo i cromosomi A e B (μ 20 e 18,5), il secondo i cromosomi C, D, E, F (μ 15,5 - 13) e il terzo i cromosomi G, H, I, L, M, N, (μ 12 - 10).

Per quanto riguarda la meiosi dei microsporangii, ci siamo limitate alla osservazione dei cromosomi alla profase: la fig. 1, Tav. II si riferisce allo stadio di pachitene: sono ben visibili i tratti eterocromatici colorati in nero dall'ematossilina Heidenhain e i tratti eucromatici non colorati.

Questo stadio è molto simile a quello indicato da DARLINGTON e LA COUR (1960) nella Tav. XII per *F. imperialis*. Nella diacinesi (Tav. II, fig. 4) i gemini, fortemente contratti, non mostrano la loro struttura: nella Tav. II figg. 2 e 3 sono indicati gli aspetti diversi che i gemini assumono in rapporto al nu-

mero e alla posizione dei chiasmi: si hanno figure a croce quando si ha un solo chiasma quasi al centro dei cromosomi; ad anello o ad 8 se i chiasmi sono due disposti o alla estremità dei cromosomi o in vicinanza del centromero, a spirale, specie nei cromosomi più lunghi, se i chiasmi sono più di due.

L'aspetto dei gemini di *F. persica* ricorda molto da vicino quello osservato in *F. pallidiflora* (DARLINGTON e LA COUR, 1960, Tav. XIII).

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.

L'idiogramma somatico di *Fritillaria persica* con $2n = 24$ risulta, come in tutte le numerose specie studiate, di due coppie di cromosomi più lunghi (μ 20 - 18,5) a centromero sub-mediano e di 10 coppie di cromosomi più corti (μ 15,5 - 10) a centromero sub-terminale. Uno dei cromosomi a centromero sub-mediano della seconda coppia (μ 18,5) è satellifero; è questa una differenza tra l'idiogramma della *F. persica* e quelli delle altre specie (*F. karadaghensis* e *F. messanensis*) in cui i cromosomi SAT sono stati osservati solo nei cromosomi col centromero in posizione sub-terminale. L'organizzazione nucleolare nella specie in questione è quindi terminale.

Non abbiamo mai osservato le costrizioni secondarie descritte frequentemente in altre specie e per quanto riguarda l'eterocromatina, essa è evidente nei nuclei interfasici a cromocentri delle cellule degli apici radicali e nello stadio di pachitene dei microsporangi; non abbiamo notato segmenti eterocromatici nelle metafasi neppure nelle radici dei bulbi tenuti in frigorifero a 2° C per 24-96 ore fino a nove giorni. Anche SHARMA A. K. e A. SHARMA (1961) non hanno visto segmenti eterocromatici nei cromosomi di *F. roylei* dell'Himalaia e pensano che questa loro osservazione sia una conferma della ipotesi di LA COUR (1951) che le specie del Continente Antico si differenzino da quelle del Continente Nuovo per la scarsità di eterocromatina. La mancanza di segmenti eterocromatici in *F. persica*, specie del Continente Antico, potrebbe mettersi in relazione con una scarsa quantità di eterocromatina nella specie, ma riteniamo

opportuno ripetere in proposito le osservazioni per escludere eventuali errori di tecnica.

Per quanto riguarda i cromosomi meiotici, le nostre osservazioni, limitate alla profase della meiosi dei microsporangii, hanno messo in evidenza, nello stadio di pachitene, nel materiale colorato con ematossilina Heidenhain, i tratti eterocromatici da quelli eucromatici: tale stadio di *F. persica* ricorda molto da vicino quello di *F. imperialis* (DARLINGTON e LA COUR, 1960, Tav. XII).

In uno stadio più adulto precedente la diacinesi nella quale i cromosomi, raggiunto il massimo accorciamento e il massimo spessore, non mostrano la loro struttura, abbiamo potuto notare che nei gemini di *F. persica* i chiasmi, in numero vario proporzionale alla lunghezza dei cromosomi, non sono distribuiti solo in prossimità del centromero come avviene, per esempio, in *F. meleagris* e *F. ruthenica*, ma a caso, per tutta la lunghezza dei cromosomi, come in *F. imperialis*, *F. libanotica*, ed altre specie; i diversi aspetti da loro assunti, a croce, ad anello, ad 8, a spirale, ricordano gli aspetti dei gemini di *F. pallidiflora* (DARLINGTON e LA COUR, 1960, Tav. XIII).

RIASSUNTO

Nel kariogramma del corredo diploide di *Fritillaria persica*, come in quello di altre numerose specie studiate, si hanno 24 cromosomi in cui si distinguono due coppie più lunghe (μ 20-18,5) a centromero sub-mediano e 10 coppie più corte (da μ 15,5 a μ 10) a centromero sub-terminale. Uno dei cromosomi a centromero sub-mediano è satellifero: non si sono osservate costrizioni secondarie nè a temperatura ambiente nè a 2° C. L'eterocromatina è evidente nei nuclei interfascici a cromocentri e nello stadio di pachitene dei microsporangii. In questi, poco prima della diacinesi, i gemini mostrano i chiasmi distribuiti a caso per tutta la lunghezza dei cromosomi a cui è proporzionato il loro numero.

SUMMARY

Fritillaria persica, as well as several other species of this genus so far investigated, shows a diploid set of 24 chromosomes, among which can be distinguished two longer pairs (μ 20-18,5) with sub-median

centromere, and ten shorter pairs (from 15,5 to 10 μ) with sub-terminal centromere. One of the sub-median centromere chromosomes is satelliferous. No secondary constrictions have been observed either in ambient temperature or at 2° C; heterochromatine is evident in the interphase nuclei showing chromocentres and during the pachynema stage of the microsporangia. A little before the diakinesis of the microsporangia, the gemini have the chiasmata arranged at random all over the chromosomes length and their number is in proportion to this.

Portici, Istituto di Botanica, Dicembre 1968

BIBLIOGRAFIA

- BAMBACIONI V., 1928. *Ricerche sull'ecologia e sulla embriologia di Fritillaria persica L.* Annali di Botanica, **18**: 14-26.
- BECK CH., 1953. *Fritillaries*. London.
- BÉGUINOT A., 1895. *La Fritillaria persica nella flora romana*. Bull. Soc. Bot. It., 101-103.
- , 1897. *Nuove specie e nuove località per la flora romana*. Bull. Soc. Bot. It., 118.
- , 1899. *Ulteriori notizie intorno alla Fritillaria persica L. ed alla Oxalis violacea L. nella flora italiana*. Bull. Soc. Bot. It., 301-309.
- DARLINGTON C. D., 1936. *The external mechanics of chromosomes*. Proceedings Roy. Soc. London, Ser. B, **121**: 264-319.
- DARLINGTON C. D. & L. LA COUR, 1941. *The detection of inert genes*. Journ. of Her., **32**: 115-121.
- , —, 1960. *The handling of chromosomes*. III ediz., London.
- DARLINGTON C. D. & A. P. WYLIE, 1955. *Chromosome Atlas of flowering plants*. London, 358-359.
- DYER A. F., 1963. *Allocyclic segments of chromosomes and the structural heterozygosity that they reveal*. Chromosoma, **13**: 545-551.
- GORI C., 1958. *Sul kariogramma di Fritillaria messanensis Raf.* Caryologia, **11**: 28-33.
- LA COUR L. F., 1947. *Chromosome numbers in Fritillaria*. The Lily Year Book, London.
- , 1951. *Heterochromatin and the organization of nucleoli in plants*. Heredity, **5**: 37-50.
- MEHRA P. N. & P. KACHROO, 1951. *Chromosome morphology of some species of Lilium and Fritillaria*. Phytomorphology, **1**: 64-66.

- MEZZETTI BAMBACIONI V., 1947. *Sull'embriologia della Fritillaria messanensis Raf. e sulla opportunità di distinguere una serie « Fritillaria » nel tipo « Euphorbia dulcis »*. Annali di Botanica, **23**: 116-138.
- NEWTON W. C. F. & C. DARLINGTON, 1930. *Fritillaria meleagris: chiasma-formation and distribution*. Journ. of Gen., **22**: 1-14.
- NODA S., 1964. *Cytology in the genus Fritillaria. I. Variations in kariotipes and B chromosoma in Fritillaria amabilis*. Bull. Osaka Gakuin Univ., **2**: 125-132. In: Index to plant Chromosome Numbers, **2**: 9-402.
- SHARMA A. K. & A. SHARMA, 1961. *An investigation of the cytology of some species of Liliaceae*. Genetica Iberica, **13**: 25-42.
- STRASBURGER E., 1882. *Ueber den Theilungsvorgang der Zellkerne und das Verhältniss der Kerntheilung zur Zelltheilung*. Bonn, 5-18.
- TAYLOR W. R., 1926. *Chromosome morphology in Fritillaria, Alstroemeria, Silphium and other genera*. Am. Journ. of Bot., **13**: 179-193.
- TISCHLER G., 1951. *Allgemeine Pflanzenkaryologie, 2 H. Kerntheilung und Kernverschmelzung*. In: Handbuch der Pflanzenanatomie, **2**: II ed., 751.

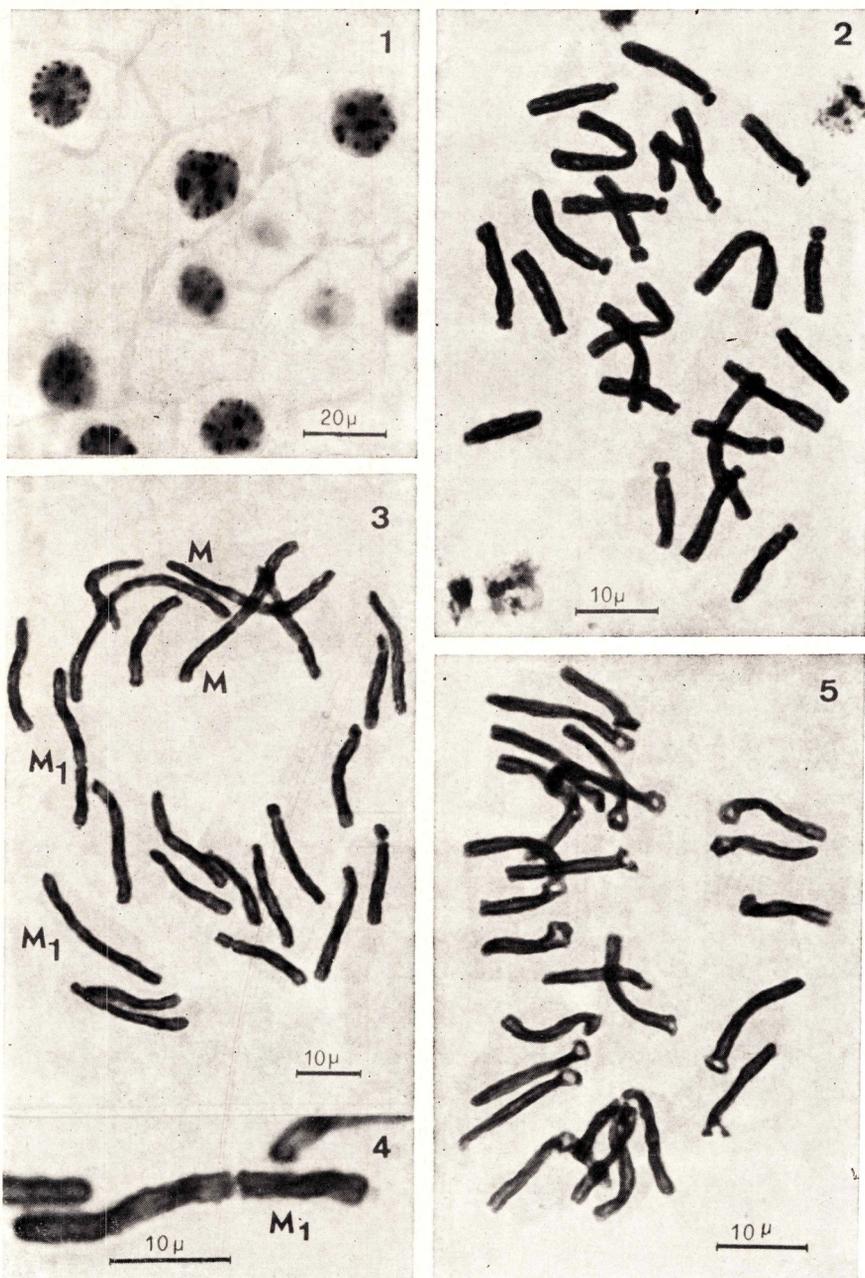


Tavola I

Fig. 1. — Nuclei interfaseici a cromocentri in cellule di apici radicali di *Fritillaria persica*.

Fig. 2. — Piastra metafasica con 24 cromosomi.

Fig. 3. — Piastra metafasica in cui è più evidente la spiralizzazione dei cromatidi: M e M₁ sono i cromosomi più lunghi a centromero sub-mediano. Uno degli M₁ presenta un satellite.

Fig. 4. — Cromosoma satellifero M₁ a maggiore ingrandimento.

Fig. 5. — Inizio dell'anafase: si presentano divisi i centromeri ed i bracci corti dei cromosomi a centromero subterminale.

M. D'ARIENZO - V. MEZZETTI BAMBACIONI: *Sulla morfologia dei cromosomi ecc.*

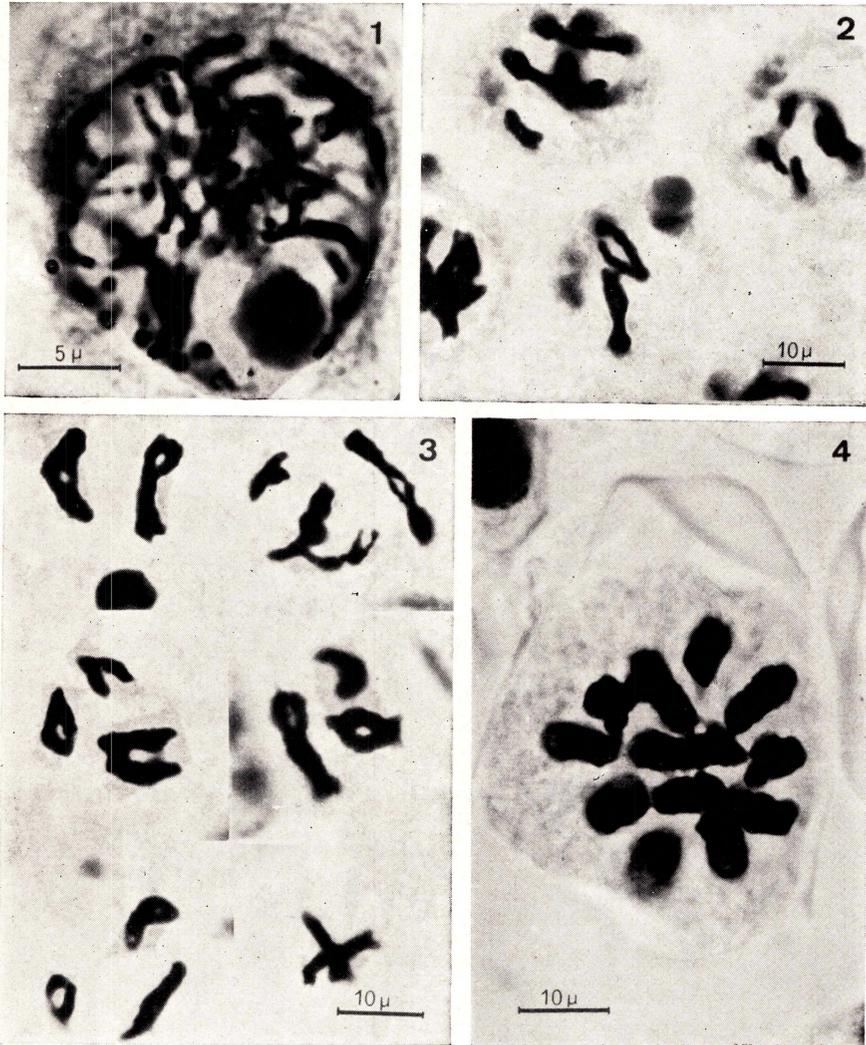


Tavola II

Fig. 1. — Microsporangio nello stadio di pachitene. Sono evidenti i tratti eu- ed eterocromatici.

Fig. 2. — Microsporangii mostrandoti i gemini.

Fig. 3. — Aspetti diversi dei gemini in conseguenza del numero e posizione dei chiasmi.

Fig. 4. — Microsporangio in diacinesi con 12 gemini.