Atti Accademia Nazionale dei Lincei

Classe Scienze Fisiche Matematiche Naturali

Rendiconti

Ivana Lazzaretto Colombera, Dario Colombera, Giovanna Pitacco

La cariologia della specie Tisbe biminiensis (Copepoda, Harpacticoida)

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. **60** (1976), n.3, p. 303–308.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1976_8_60_3_303_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

Articolo digitalizzato nel quadro del programma bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica) SIMAI & UMI
http://www.bdim.eu/

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Accademia Nazionale dei Lincei, 1976.

Citologia. — *La cariologia della specie* Tisbe biminiensis *(Copepoda, Harpacticoida)*. Nota di IVANA LAZZARETTO COLOMBERA, DARIO COLOMBERA e GIOVANNA PITACCO (*), presentata (**) dal Corrisp. B. BATTAGLIA.

SUMMARY. — The diploid chromosome number $2n = 16$ has been established in both sexes of the harpacticoid copepod *Tisbe biminiensis*. The chromosomes are metacentric or sub-metacentric, and differentiated sex chromosomes are not present. Chiasmatic metaphase bivalents occur in the male. In the female, after the diffuse stage the homologues separate but remain juxtaposed to each other till metaphase I.

The diploid chromosome numbers so far reported for species of the genus *Tisbe* are 24. The phylogenetic meaning of the different chromosome numbers in *Tisbe* is briefly discussed.

Le specie del genere *Tisbe*, come è stato più volte sottolineato, costituiscono un ottimo materiale per ricerche di genetica formale ed ecologica (Battaglia 1970 [2]); recentemente si è potuto constatare che esse si prestano altrettanto bene anche a ricerche sulla speciazione. Si è acquisita infatti una estesa serie di dati sulla morfologia e sulla biologia di numerose specie (Battaglia e Volkmann-Rocco, 1969 [3]; Volkmann-Rocco e Fava, 1969 [14]; Volkmann-Rocco e Battaglia, 1972 [15]; Volkmann-Rocco, 1972 [12]; Battaglia e Volkmann-Rocco, 1973 [4]; Volkmann-Rocco, 1973 [13]) dai quali risulta che in questo genere accanto a vari gradi di incompatibilità genetica intraspecifica tra razze geografiche diverse esistono numerosi gruppi di specie gemelle e di specie strettamente affini anche se non gemelle «sensu stricto». Tutte queste situazioni contribuiscono a rendere la tassonomia di questo gruppo di Copepodi particolarmente complessa.

Abbiamo intrapreso lo studio della cariologia delle specie del genere *Tisbe* con lo scopo di affrontarne i problemi sistematici ed evolutivi utilizzando un numero di parametri maggiore.

Le prime osservazioni citologiche hanno messo in evidenza una notevole uniformità nel numero (Colombera e Lazzaretto-Colombera, 1972 [6]; Lazzaretto-Colombera, 1976 [11]) e nel comportamento dei cromosomi delle specie esaminate; al contrario le dimensioni e la struttura dei cromosomi sembrano variare significativamente nelle diverse specie e pertanto pare che possano venire utilmente impiegati quali caratteri tassonomici.

Con questa ricerca si è iniziato lo studio del gruppo «gracilis» costituito da cinque specie le quali, benché non possano essere considerate «sibling» nel senso stretto, pur tuttavia sono tanto somiglianti tra loro da creare seri problemi di classificazione.

(*) Ricerca compiuta presso l'Istituto di Biologia Animale dell'Università di Padova, eseguita in parte nell'ambito di un sub-contratto CNR intestato al prof. Sabbadin tramite l'Istituto di Biologia del Mare di Venezia.

(**) Nella seduta del 13 marzo 1976.

Materiali e metodi

Gli esemplari di *Tisbe biminiensis* utilizzati nel presente lavoro provengono da colture di massa allevate in laboratorio con i metodi standard descritti da Battaglia (1970) [2]. La popolazione attuale deriva da numerosi esemplari catturati a Bimini, Bahamas, nel 1971 dalla Dr. Volkmann. I preparati cromosomici sono stati eseguiti sacrificando circa cinquanta femmine vergini, venti femmine ovigere ed una ventina di maschi all'ultimo stadio di copepodite. Le tecniche di schiacciamento e di allestimento dei preparati sono quelle già descritte da Colombera e Lazzaretto (1972) [6].

Le foto ed i disegni sono stati eseguiti con microscopio Zeiss a contrasto di fase e camera lucida. I conteggi sono stati effettuati sulle piastre che presentavano elementi ben distanziati e di agevole interpretazione.

Osservazioni

I cromosomi meiotici ovocitari sono stati messi in evidenza allo stadio di zigotene. I cromosomi omologhi, benché già strettamente appaiati, risultano ben distinti tra loro. In ogni cromosoma si alternano numerose zone eterocromatiche positive e negative: non si notano cromosomi eterociclici ed i vari elementi appaiono distribuiti a caso nel grande nucleo chiaro dell'oocita in via di maturazione, caratterizzato da citoplasma scuro e grosso nucleolo.

In una fase successiva (Tav. I, fig. 1) l'appaiamento dei cromosomi si fa più stretto per cui non è più possibile distinguere i due elementi di ogni coppia, nemmeno ricorrendo a schiacciamenti piuttosto energici.

In questo stadio, che abbiamo classificato come pachitene, il conteggio dei cromosomi risulta agevole in quanto si può disporre di piastre con elementi ben distanziati e di dimensioni relativamente cospicue. Si sono contate circa 50 piastre di cromosomi pachitenici e constantemente si sono trovate 8 paia di cromosomi; si sono disegnate trenta piastre e da queste sono stati ricavati altrettanti idiogrammi.

Le differenze tra i vari cromosomi non sono notevoli come risulta dai dati sulla lunghezza media e sulla varianza dei singoli elementi riportate nella Tabella I; l'elemento più lungo è circa due volte il più piccolo. Si è inoltre accertato che le dimensioni dei cromosomi variano gradualmente per cui non è possibile raggrupparli in classi di grandezza (Tav. I, fig. 6).

In uno stadio successivo i cromosomi appaiono notevolmente più distanziati tra loro e, rispetto alla fase precedente, maggiormente allungati; l'appaiamento degli omologhi è invece molto meno intimo. In ogni cromosoma si alternano zone eterocromatiche positive e negative ed i telomeri risultano costantemente più scuri ed ingrossati (Tav. I, fig. 2).

Nella tarda profase e metafase I si osserva che anche nella specie *Tisbe biminiensis* i cromosomi omologhi presentano il fenomeno dell'appaiamento

parallelo a distanza, già osservato in *Tisbe reluctans*, *Tisbe holothuriae* (Colombera e Lazzaretto-Colombera, 1972 [6]; 1975 [7]) ed in genere in tutti gli Harpacticoida finora studiati (Ar-Rushdi, 1963 [1]).

TABELLA I

Tisbe biminiensis: *distribuzione della lunghezza media e della deviazione standard nei cromosomi pachitenici della meiosi ovocitaria.*

Cromosomi	1	2	3	4	5	6	7	8
Lunghezza media	4,24	3,74	3,43	3,23	2,99	2,80	2,56	2,21
Deviazione standard	0,71	0,64	0,61	0,54	0,50	0,48	0,47	0,42

Alla metafase della I divisione meiotica (Tav. I, fig. 3) i cromosomi sono disposti con l'asse maggiore normale all'asse polare del fuso; i vari gruppi di omologhi non mostrano alcuna disposizione preferenziale, ma sono distribuiti a caso da entrambe le parti del piano equatoriale. In questo stadio non si notano, come del resto non si erano mai notati in precedenza, elementi differenziati per colorabilità e comportamento. La condensazione dei cromosomi è massima ed essi presentano estremità rotondeggianti intensamente colorate connesse da una zona eteropicnotica negativa.

I cromosomi omologhi sono ben distanziati e non sembrano connessi tra loro da alcuna struttura. Numerosi cromosomi appaiono ripiegati, come se in essi la zona del centromero fosse diretta verso i poli anche durante la metafase I. Il ripiegamento presentato da ogni cromosoma permette la localizzazione per lo più approssimativa del centromero nella zona mediana più chiara: si può dedurre così che tutti gli elementi sono metacentrici o submetacentrici.

Quando la posizione dei cromosomi sul piano dello schiacciamento lo permette, si può vedere come ogni cromosoma sia già diviso nei due cromatidi fratelli. Il distanziamento che si nota tra i cromatidi fratelli potrebbe indicare una precoce repulsione in corso tra i centromeri. I cromosomi si possono contare agevolmente anche in questa fase; il loro numero è risultato sempre uguale a 16 in tutte le venti piastre esaminate.

I bivalenti spermatocitari di questa specie (Tav. I, figg. 4, 5) appaiono fortemente contratti e di forma rotondeggiante. La loro struttura, anche a causa della colorazione intensa ed omogenea, risulta di difficile interpretazione; inoltre le piccole dimensioni non consentono di evidenziare l'eventuale formazione di chiasmi. Soltanto in una piastra alcuni elementi presentano una forma che potrebbe indicare la presenza in ognuno di essi di due chiasmi terminali.

Il numero dei bivalenti nelle trenta piastre contate è sempre risultato uguale a 8. La loro disposizione non mostra alcuna particolare simmetria ma piuttosto risulta perfettamente casuale. Le loro dimensioni sono comprese tra 2 e 4 μ.

Cromosomi mitotici.

Il conteggio dei cromosomi mitotici (Tav. I, figg. 7, 8) osservati nelle uova in via di segmentazione ha permesso di accertare in tutte le piastre esaminate il numero diploide $2n = 16$. L'analisi dei cromosomi delle metafasi embrionali ha dimostrato definitivamente che essi sono o metacentrici o submetacentrici. Non si è mai riscontrata la presenza di elementi eteropicnotici né a comportamento eterociclico.

Discussione

Le osservazioni condotte sulla cariologia di *Tisbe biminiensis* se, da un lato, confermano la notevole uniformità di comportamento dei cromosomi presenti nelle varie specie del genere *Tisbe*, rivelano altresì la presenza di un numero cromosomico ($2n = 16$) diverso dal valore $2n = 24$ osservato in *Tisbe reluctans*, *T. persimilis*, *T. clodiensis*, *T. dobzhanskii*, *T. holothuriae*, *T. reticulata*, *T. furcata* finora studiate (Bocquet, 1951 [5]; Lazzaretto-Colombera, 1976 [11]).

L'uniformità di comportamento viene confermata innanzitutto dalla messa in evidenza di un appaiamento a distanza dei cromosomi omologhi nella tarda profase e nella metafase I ovocitaria. È da ricordare che questo fenomeno se è molto insolito in altri *phyla*, risulta, negli Artropodi, abbastanza comune tra i Copepodi ed addirittura regolarmente ricorrente negli Harpacticoida. Anche in *Tisbe biminiensis* il microscopio ottico non ha permesso il rilevamento di alcuna struttura ponte tra gli omologhi vicini.

L'analisi dei cromosomi meiotici maschili sembra confermare l'esistenza in *Tisbe* di meiosi spermatocitarie chiasmatiche: nella meiosi femminile invece questo punto rimane ancora in discussione in quanto alcuni dati di recente acquisizione fanno sorgere delle perplessità sull'ipotesi di Heberer (1938) [10] secondo la quale, per la presenza dell'appaiamento a distanza degli omologhi alla I metafase ovocitaria, viene esclusa la possibilità della formazione di chiasmi. L'intimo appaiamento degli omologhi durante lo zigotene ed il pachitene possono invece, a nostro giudizio, consentire la realizzazione di interscambio genetico in momenti diversi della profase. Una prova morfologica di tale evento potrebbe essere fornita dalle configurazioni chiasma-simili osservate in uno stadio di profase avanzata (Colombera e Lazzaretto-Colombera, 1972 [6]). Per quanto riguarda la morfologia dei cromosomi, dalle nostre osservazioni risulta che essi sono tutti metacentrici o submetacentrici anche nella specie *Tisbe biminiensis*.

Qualche considerazione va ora rivolta al numero di cromosomi che, come abbiamo già sottolineato, in questa specie è invece diverso da quello riscontrato finora nelle altre studiate. Questo dato assume particolare rilievo perché il corredo diploide $2n = 24$ è caratteristico non soltanto delle sette specie del genere *Tisbe* che abbiamo prima elencato, ma anche di specie appartenenti ad altri due generi dell'ordine Harpacticoida, *Tigriopus* (Ar-Rushdi,

1963 [1]) e *Canthocamptus* (Krüger, 1911 [8]). La presenza del numero 2 $n = 24$ in tre generi diversi fa supporre che esso sia indice di primitività fra gli Harpacticoida in quanto è più facile ammettere che, nel corso dell'evoluzione, esso si sia mantenuto invariato in più generi, piuttosto che supporre che esso sia comparso indipendentemente in tre generi diversi. Si sarebbe quindi per la prima volta messo in luce un carattere, numero di cromosomi, che sembrerebbe dare un'indicazione sulla relativa primitività delle varie specie del genere *Tisbe*. Alla luce di queste considerazioni infatti, la specie *Tisbe biminiensis*, qui esaminata, risulterebbe essere più recente rispetto alle altre dello stesso genere. Questa ipotesi concorda con le conclusioni di Harding (1950) [9] secondo cui l'evoluzione nei Copepodi sarebbe accompagnata da riduzione nel numero di cromosomi.

Alcune ricerche sulla quantità di DNA e sul bandeggiamento dei cromosomi, attualmente in corso, hanno lo scopo di portare ulteriori contributi allo studio delle modalità di evoluzione nel genere *Tisbe*.

BIBLIOGRAFIA

[1] A. H. AR-RUSHDI (1963) – *The cytology of achiasmatic meiosis in the female* Trigriopus (*Copepoda*), « Chromosoma », *13*, 526–539.

[2] B. BATTAGLIA (1970) – *Cultivation of marine copepods for genetic and evolutionary research*, « Helgoländer wiss. Meeresunters », *20*, 385–392.

[3] G. BATTAGLIA e B. VOLKMANN-ROCCO (1969) – *Gradienti di isolamento riproduttivo in popolazioni geografiche del copepode* Tisbe clodiensis « Atti Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti », *127*, 371–381.

[4] B. BATTAGLIA e B. VOLKMANN-ROCCO (1973) – *Geographic and reproductive isolation in the marine Harpacticoid Copepod* Tisbe, « Marine Biology », *19*, 156–160.

[5] C. BOCQUET (1951) – *Recherches sur* Tisbe reticulata, « Arch. de Zool., exp. gén. », *87*, 335–416.

[6] D. COLOMBERA e I. LAZZARETTO-COLOMBERA (1972) – *The karyology of* Tisbe reluctans (*Copepoda, Harpacticoida*), « Caryologia », *25*, 525–529.

[7] D. COLOMBERA e I. LAZZARETTO-COLOMBERA (1975) – *Ultrastructure of distant paired homologues in oocyte of* Tisbe holothuriae (*Copepoda*), « Experientia », *31*, 225–227.

[8] P. KRÜGER (1911) – *Beitrage zur Kenntnis der Oogenese bei Harpacticiden, nebst biologischen Beobachtungen*, « Arch. f. Zellforschung », *6*, 165–189.

[9] J. P. HARDING (1950) – *Cytology, genetics and classification*, « Nature », *166*, 769–771.

[10] G. HEBERER (1938) – *Analyse der Gemini von* Heterocope weismanni IMHOF (= *H.* borealis FISCHER), « Biol. Zbl. », *58*, 343–356.

[11] I. LAZZARETTO-COLOMBERA (1976) – *Chromosome number in ten species of the genus* Tisbe. Marine biology (in stampa).

[12] B. VOLKMANN-ROCCO (1972) – *Species of* Tisbe (*Copepoda, Harpacticoida*), *from* Beaufort, North Carolina, « Archo Oceanogr. Limnol. », *17*, 223–258.

[13] B. VOLKMANN-ROCCO (1973) – *Etude de quatre espèces jumelles du groupe* Tisbe reticulata *Bocquet* (*Copepoda, Harpacticoida*), « Arch. Zool. exp. gén. », *114*, 317–348.

[14] B. VOLKMANN-ROCCO e G. FAVA (1969) – *Two sibling species of* Tisbe (*Copepoda, Harpacticoida*): Tisbe reluctans *and* T. persimilis *n. sp. Research on their morphology and population dynamics*, « Marine Biology », *3*, 159–164.

[15] B. VOLKMANN-ROCCO e B. BATTAGLIA (1972) – *A new case of ibling species in the genus* Tisbe (*Copepoda, Harpacticoida*), « Proc. V. E.M.B.S. », Piccin, Padova, 68–80.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

Fig. 1. – Cromosomi pachitenici in oocita.

Fig. 2. – Cromosomi post-pachitenici in oocita.

Fig. 3. – Cromosomi ovocitari in metafase I.

Fig. 4. – Bivalenti spermatocitari in diacinesi. Dalla morfologia di alcuni elementi sembra poter dedurre la presenza di chiasmi.

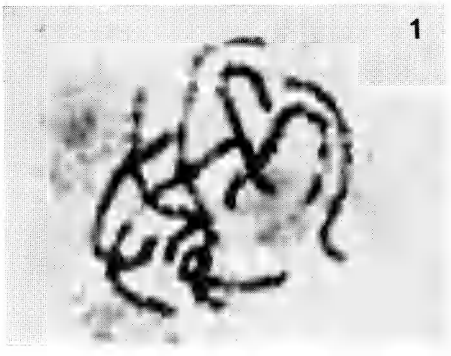
Fig. 5. – Bivalenti spermatocitari.

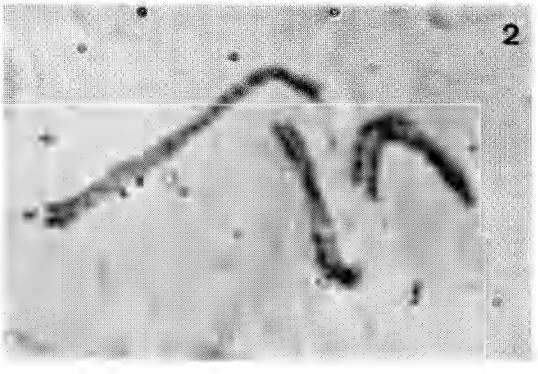
Fig. 6. – Idiogramma ricavato dai dati riportati nella Tabella I.

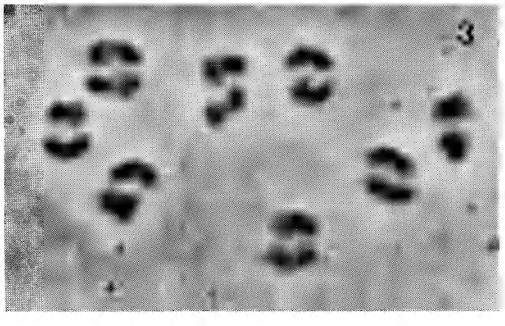
Fig. 7. – Profase in mitosi embrionali.

Fig. 8. – Metafase in mitosi embrionali.

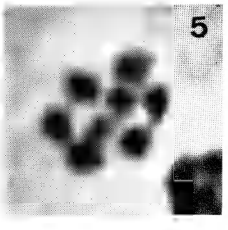
Fig. 9. – Anafase in mitosi embrionali.

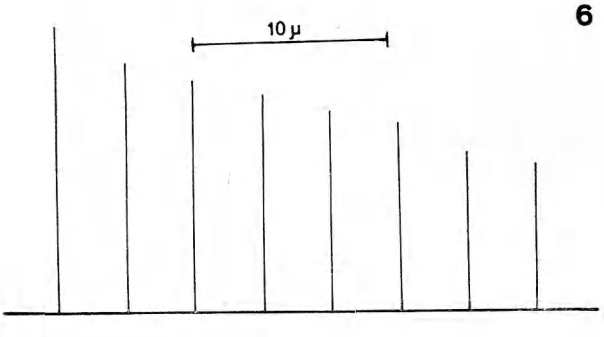

1

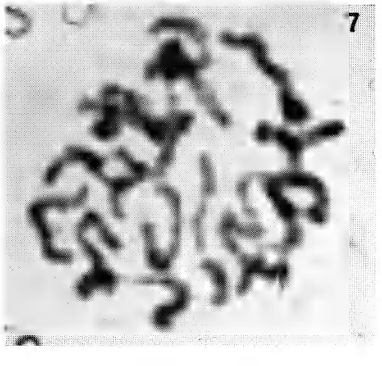

2

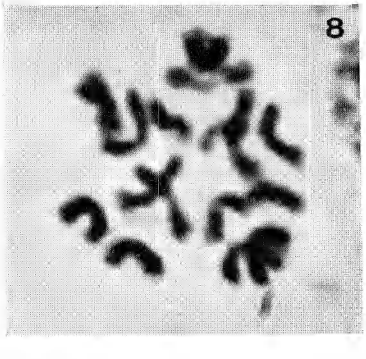

3

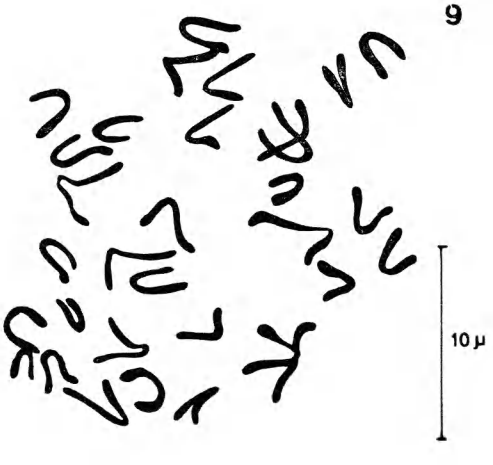
4


5


10 µ
6


7


8


9
10 µ