
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

PAOLO MARIA BISOL, MARISA RENIER, EMANUELA
TOMBOLAN, VITTORIO VAROTTO

**Influenza della temperatura e della salinità su alcuni
parametri del ciclo biologico del copepode
arpacticoide *Tigriopus brevicornis***

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 66 (1979), n.3, p. 214–222.*
Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1979_8_66_3_214_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/>

Biologia. — *Influenza della temperatura e della salinità su alcuni parametri del ciclo biologico del copepode arcticcoide Tigriopus brevicornis* (*). Nota di PAOLO MARIA BISOL, MARISA RENIER, EMANUELA TOMBOLAN e VITTORIO VAROTTO, presentata (**) dal Corrisp. B. BATTAGLIA.

SUMMARY. — A study on the life cycle of the Copepod *Tigriopus brevicornis* has been carried out at three temperatures (9 °C, 10 °C, 27 °C) and two salinities (17 ‰, 34 ‰).

The results show that (a) temperature influences minimum generation time, duration of life and survival; (b) salinity affects *sex ratio* by a differential mortality of females at low concentrations; (c) both factors modify the fertility values. Moreover, the results indicate that this Copepod has a long life cycle and an exceptionally high adaptability to a very large range of environmental conditions.

Le pozze di scogliera rappresentano un ambiente marino marginale caratterizzato da un'elevata instabilità. Ciò è dovuto alla casualità della formazione delle pozze ed al successivo condizionamento da parte dell'ambiente subaereo. Le pozze infatti si formano in seguito al riempimento di bacini presenti nella scogliera litoranea ad opera di maree eccezionalmente alte o di mareggiate. La loro durata è funzione della distanza dai livelli di marea, delle dimensioni, delle condizioni d'irraggiamento. Il continuo variare dell'irraggiamento, non solo stagionalmente, ma anche nell'arco di una giornata, rende questo habitat particolarmente selettivo. Ne risulta un impoverimento della fauna e della flora marina.

I copepodi del genere *Tigriopus* sono gli unici animali marini che riescono a sopravvivere e a riprodursi in tale particolare ambiente (Issel 1914 [10]; Bošić, 1960 [5]).

Alcuni studi hanno messo in evidenza in *Tigriopus* particolari meccanismi fisiologici di adattamento e un'elevata resistenza alle condizioni ambientali più estreme (Issel, 1914 [10]; Fraser, 1936 [7]; Ranade, 1957 [12]). Scarse sono invece le notizie sul ciclo biologico e limitate alla descrizione degli stadi larvali (Itô, 1970 [11]; Takeda, 1950 [14]; Bošić, 1960 [5]).

Nell'ambito di una ricerca sui rapporti fra variabilità genetica e stabilità ambientale, si è ritenuto opportuno misurare alcuni parametri del ciclo biologico di questo organismo, visto l'importante ruolo che tale ciclo può svolgere nella definizione della strategia adattativa delle specie (Costa e Bisol, 1978 [6]).

In questa Nota sono riportati i dati relativi alle specie *Tigriopus brevicornis* Bošić.

(*) Lavoro eseguito negli Istituti di Biologia Animale dell'Università di Padova e di Biologia del Mare, C.N.R., Venezia.

(**) Nella seduta del 10 marzo 1979.

MATERIALE E METODI

Gli animali utilizzati per la ricerca provengono da ceppi di laboratorio formati con circa 350 femmine ovigere raccolte a Tavallich (costa occidentale della Scozia).

I metodi di allevamento seguiti sono quelli descritti da Battaglia (1970) [3] per i copepodi del genere *Tisbe*.

Prima di procedere all'esperimento vero e proprio 100 femmine ovigere sono state prelevate dalle popolazioni di laboratorio e poste singolarmente in coppe di vetro con 20 ml di acqua di mare. Le discendenze, prima di raggiungere il V stadio di copepodite, sono state trasferite in un unico recipiente con 2.000 ml di acqua di mare allo scopo di favorire l'esincrocio. Da questo recipiente sono state prelevate 300 femmine coetanee (emissione del primo sacco ovigero).

192 femmine sono state isolate in coppe da 20 ml di acqua di mare, metà alla salinità del 17 ‰ e metà alla salinità del 34 ‰. I recipienti sono stati poi ripartiti, a caso, alle tre temperature d'esperimento (9 °C, 18 °C, 27 °C), in stanze termostatiche. Per ognuna delle sei combinazioni ambientali sono state pertanto isolate 32 femmine. Quotidianamente si controllava al binocolare se il sacco ovigero era stato deposto. Si provvedeva allora al trasferimento della femmina in un nuovo recipiente ed al conteggio dei naupli. In questo modo sono stati ottenuti i dati relativi alla longevità ed alla fertilità.

Le altre 108 femmine sono state isolate in recipienti con 20 ml di acqua di mare alla salinità del 34 ‰ e poste in una stanza termostatica a 18 °C fino alla schiusa dei sacchi ovigeri. Con i naupli coetanei così ottenuti, sono stati allestiti 120 recipienti contenuti 30 naupli ciascuno. Le condizioni ambientali saggiate sono quelle sopra descritte e pertanto ogni gruppo era costituito da 20 recipienti. Per avere un campione casuale solo pochi naupli di ogni femmina sono stati utilizzati e ripartiti in più coppe. Casuale è stata anche la ripartizione dei recipienti alle tre temperature. È stato così possibile misurare i rimanenti parametri: intervallo minimo di generazione, sopravvivenza, rapporto sessi.

RISULTATI

I valori medi sono riportati in Tabella I.

a) L'intervallo minimo di generazione è stato calcolato come il tempo, in giorni, che intercorre dalla nascita dei naupli alla comparsa della prima femmina ovigera nella coppetta.

La temperatura svolge un ruolo molto importante nella definizione di questo parametro. È evidente la correlazione fra temperatura e tempi di raggiungimento dello stadio adulto. L'azione della salinità è minore e la sua efficacia aumenta col diminuire della temperatura. Il test di Student applicato ai valori ottenuti per le due salinità nell'ambito della stessa temperatura, dà un t non significativo per l'alta temperatura ($t = 0,39$, $p > 0,60$; g.l. 38), ai limiti della significatività per quella media ($t = 1,91$, $p > 0,05$; g.l. 38), altamente significativo per la bassa ($t = 2,83$, $p < 0,01$, g.l. 38).

Dal confronto di questi dati con quelli ottenuti per altre specie di copepodi arpacticoidi si ricava che l'intervallo minimo di generazione di *Tigriopus brevicornis* è da considerarsi molto lungo: ad esempio per *Tisbe clodiensis* il valore medio, a 18 °C e salinità 34 ‰, è di 16,97 giorni e per *Tisbe dobzhanskyi* è di 13,02 giorni (Volkman-Rocco e Battaglia, 1972 [16]).

TABELLA I.

Parametri di popolazione in Tigriopus brevicornis, stimati in sei diverse condizioni ambientali.

Per la spiegazione vedere il testo.

Temperatura	9 °C		18 °C		27 °C	
	17	34	17	34	17	34
Salinità (‰)						
Intervallo minimo di generazione	74,40 ± 0,87	69,75 ± 1,40	20,70 ± 0,79	23,45 ± 1,20	14,55 ± 0,64	14,20 ± 0,64
Sopravvivenza	88,83 ± 1,94	88,33 ± 2,17	96,33 ± 1,02	95,00 ± 1,12	95,17 ± 1,10	93,50 ± 1,52
Rapporto sessi	53,54 ± 2,46	64,72 ± 2,46	61,23 ± 3,24	69,25 ± 3,16	64,94 ± 3,08	69,94 ± 3,69
Durata della vita	300,92 ± 26,25	296,22 ± 25,77	186,00 ± 8,11	162,47 ± 5,99	82,86 ± 2,95	97,97 ± 2,48
Numero totale di naupli	9.310	13.498	14.080	12.512	7.733	14.966
Numero medio di naupli per femmina	290,94 ± 30,10	421,81 ± 34,25	440,00 ± 35,43	391,00 ± 27,69	241,66 ± 18,21	467,69 ± 19,43

b) La sopravvivenza è stata calcolata contando gli individui presenti in ogni coppetta alla comparsa della prima femmina ovigera. Essa viene espressa come percentuale del rapporto fra individui vivi ed i 30 naupli iniziali.

In generale si è ottenuta un'ottima percentuale di sopravvivenza. I risultati nel complesso non sono omogenei a causa dei dati ottenuti per la temperatura di 9 °C: F infatti vale 4,97, $p < 0,01$; g.l. 5, 114. L'analisi della varianza condotta sulle altre 4 condizioni invece mostra un valore di F non significativo ($F = 1,07$, $p > 0,05$; g.l. 3-76). Per verificare l'eventuale interazione della salinità e della temperatura si è proceduto anche al calcolo di un'analisi bifattoriale della varianza (Sokal e Rohlf, 1969 [13]): F per la temperatura è uguale a 11,90 $p < 0,01$; g.l. 2-114; per la salinità 0,05 $p > 0,05$ g.l. 1-114; per la interazione 0,48 $p > 0,05$ g.l. 2-114. Si può affermare, anche in questo caso, che la temperatura è il fattore condizionante.

c) Pure il rapporto sessi è stato misurato sugli stessi campioni che hanno permesso di stimare i due parametri sopradescritti; esso viene dato come percentuale media di femmine per coppa. La classificazione del sesso negli adulti di *Tigriopus* è molto facilitata grazie al netto dimorfismo sessuale. L'analisi bifattoriale della varianza indica che in questo caso è la salinità a svolgere un ruolo predominante ($F = 11,31$, $p < 0,01$; g.l. 1-114), avendo ottenuto per la temperatura e l'interazione degli F non significativi, rispettivamente $F = 2,22$ ed $F = 2,35$, g.l. 2-114.

In tutte e sei le condizioni d'esperimento il rapporto sessi è a favore delle femmine con scostamenti significativi; i χ^2 hanno valori tali per cui la p è sempre inferiore a 0,01, ad eccezione del gruppo tenuto a 9 °C e 17 ‰ di salinità ($\chi^2 = 2,85$ $p > 0,05$ g.l. 1).

Takeda (1950) [14] aveva avanzato l'ipotesi che il sesso nella specie *Tigriopus japonicus* fosse determinato dall'ambiente: tutti i fattori che aumentano la velocità di sviluppo aumentano la frequenza dei maschi. I nostri dati non sono in accordo con questa ipotesi: la più alta percentuale di femmine è stata trovata proprio nel gruppo che ha il più breve intervallo minimo di generazione e la minore in quello che ha l'intervallo minimo più lungo. Riteniamo quindi più probabile che la disomogeneità dei risultati sia dovuta ad una mortalità differenziale delle femmine alla bassa salinità. Lo scostamento del rapporto sessi osservato da quello atteso di 1 : 1, per l'alto numero di femmine, potrebbe infine essere spiegato ammettendo che in questa specie come nei copepodi del genere *Tisbe*, il sesso sia determinato geneticamente da un sistema poligenico che dà maschi quando si ha un maggiore livello di omozigosi (Battaglia, 1961 [2]). L'eccesso di femmine potrebbe essere dovuto al successo dell'esincrocio che ha ridotto il grado di omozigosi. Quest'ipotesi è suffragata anche dal fatto che in *Tigriopus brevicornis* non sono stati evidenziati eterocromosomi né differenze nel complemento cromosomico nei gameti dei due sessi (Ar-Rushdi, 1963 [1]).

d) La longevità o durata media della vita, espressa in giorni è stata calcolata sulle femmine utilizzate anche per la stima della fertilità.

I risultati sono correlabili alla temperatura: la longevità aumenta con il diminuire della temperatura. L'effetto della salinità è molto basso ed è condizionato dalla temperatura. A 27 °C infatti la bassa salinità riduce la durata della vita, mentre alle temperature medio-basse la allunga. In ogni caso questo parametro

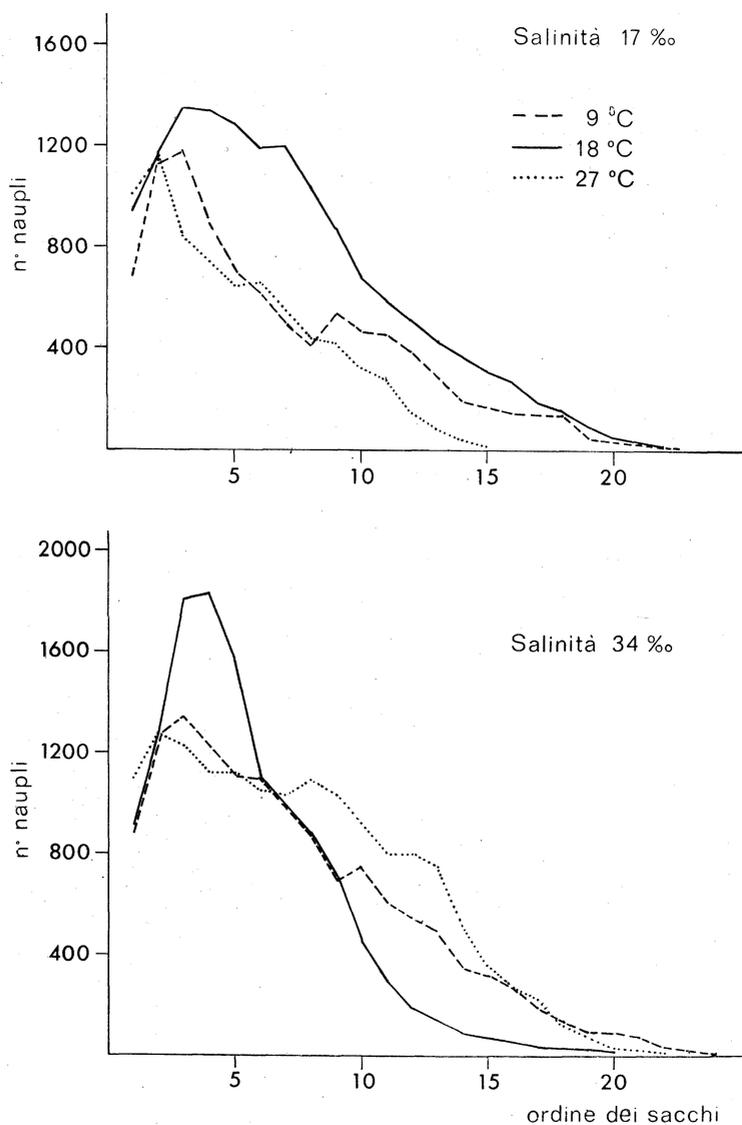


Fig. 1. - Distribuzione dei naupli secondo l'ordine di deposizione dei sacchi alle tre temperature d'esperimento: a) alla salinità del 17 ‰; b) alla salinità del 34 ‰.

raggiunge valori del tutto imprevedibili per animali di questo tipo come si può vedere dal confronto con i valori medi ottenuti per alcune specie di copepodi del genere *Tisbe*: a 18 °C e a salinità vicine a quella del 34 ‰ la longevità di *Tisbe reluctantans* è di 81,4 giorni, di *T. persimilis* di 62,5 (Volkmann-

Rocco e Fava, 1969 [15]), di *T. clodiensis* di 38,25, di *T. dobzhanskyi* di 37,92 (Volkman-Rocco e Battaglia, 1972 [16]).

e) La fertilità è data come numero totale di naupli e come numero medio di naupli per femmina. Le femmine di questo esperimento sono state poste nelle condizioni sperimentali dopo la fecondazione, per cui non si tiene conto di eventuali effetti della temperatura e della salinità durante lo sviluppo del genitore. Non si è voluto effettuare nessun acclimatemento per evitare di operare con individui in qualche modo selezionati per quelle condizioni ambientali e quindi avere dei risultati artificialmente omogenei.

L'effetto della salinità e delle temperatura sulle modalità di distribuzione dei naupli è illustrato in fig. 1. In ascissa è riportato l'ordine dei sacchi ovigeri per cui la figura non rende conto del tempo. In generale il numero totale di naupli per sacco è più elevato nei primi sacchi deposti, e col procedere delle deposizioni si nota una diminuzione più o meno rapida. La bassa salinità provoca una diluizione nel tempo della frequenza di deposizione e valori più bassi nel numero di naupli per sacco.

La temperatura e la salinità inoltre agiscono sulla produttività intesa come numero di naupli totale. I sei valori valutati nel loro insieme non sono omogenei per la vistosa caduta del numero di figli prodotti nei due gruppi tenuti a bassa salinità a 9 °C e 27 °C ($F = 8,76$, $p < 0,01$, g.l. 5-186). I risultati d'una analisi bifattoriale della varianza indicano che la disomogeneità è dovuta soprattutto alla interazione dei due fattori ($F = 1.408,71$, $p \ll 0,01$, g.l. 2-186). Il più basso numero di naupli a 27 °C è imputabile alla minore durata della vita delle femmine e quindi al minore numero di sacchi deposti. Per 9 °C la diminuzione può essere spiegata con l'avanzata età delle femmine. La caduta netta di produttività è infatti cominciata dopo otto mesi dallo inizio dell'esperimento e non era accompagnata dalla morte delle femmine. Si è notato in alcune femmine una particolare risposta alle condizioni avverse ovvero un blocco nella emissione e deposizione dei sacchi. Tre di queste femmine sono state portate alla temperatura di 18 °C dopo 50 giorni che non emettevano più sacchi: in tutti e tre i casi si sono ottenuti nuovamente dei naupli vivi. Per non falsare l'esperimento non è stato possibile estendere ad altre femmine questa verifica, per cui non possiamo valutare l'ampiezza del fenomeno e la sua incidenza sul risultato finale.

Considerando i quattro gruppi con produttività maggiore, si ottiene un valore di $F = 1,40$ ($p > 0,05$, g.l. 5-128). Le differenze, in questo caso, possono essere pertanto considerate del tutto casuali.

DISCUSSIONE

L'azione della salinità e della temperatura sugli organismi marini è ben nota e sono stati descritti molti meccanismi di adattamento sia fisiologici sia genetici alle variazioni di questi due parametri fisici dell'ambiente (per un'ampia rassegna si veda Kinne, 1970 [8]; 1971 [9]).

I risultati sopra descritti mostrano come la temperatura e la salinità condizionino alcuni aspetti del ciclo biologico in *Tigriopus brevicornis*. In particolare la temperatura ha un ruolo preponderante sulla definizione dell'intervallo minimo di generazione, sulla longevità, sulla sopravvivenza. La salinità interessa maggiormente il rapporto sessi o meglio determina una sopravvivenza differenziale di un sesso rispetto all'altro. L'interazione dei due fattori influisce sulla fertilità.

Occorre sottolineare la lunghezza del ciclo biologico di questo copepode e l'eccezionale longevità: i valori massimi riscontrati alla salinità del 34 ‰ sono di 500 giorni a 9 °C, 228 giorni a 18 °C, 122 giorni a 27 °C.

A ciò si accompagna una sostanziale omogeneità nelle risposte per quanto riguarda la sopravvivenza.

Le differenze, statisticamente significative, della sopravvivenza dipendono, a nostro avviso, dalle modalità seguite per il calcolo di questo parametro. L'aver contato gli individui alla comparsa della prima femmina ovigera senza tener conto del tempo ha sfavorito, a priori, gli animali che impiegavano un tempo più lungo per raggiungere lo stadio adulto ovvero quelli allevati alle basse temperature. Se si considera il valore in sé, molto vicino al 90 ‰, si vede che l'azione selettiva della bassa temperatura è relativamente piccola.

Per quanto riguarda la fertilità, quattro delle sei condizioni saggiate presentano valori statisticamente omogenei e solo due hanno valori significativamente diversi. Questo dato, di per sé, sottolinea l'elevata capacità di adattamento di *T. brevicornis*, tuttavia esso non rende conto della complessità dei meccanismi che la specie è in grado di attivare per adeguarsi anche alle situazioni ambientali più estreme. Indicativo è il fatto che i valori più elevati della fertilità siano stati trovati nel gruppo tenuto a 27 °C ad alta salinità. Ciò è stato possibile grazie all'accorciamento degli intervalli nell'emissione dei sacchi, e, soprattutto, al numero di naupli per sacco relativamente alto ma mantenuto costante per un tempo piuttosto lungo. Questo risultato, da attendersi per un organismo che vive in ambienti tropicali, sembrerebbe « anomalo » per la specie da noi considerata, proveniente da latitudini nelle quali di solito non si raggiungono temperature così alte. Per il gruppo tenuto a bassa salinità a 9 °C sono stati messi in evidenza meccanismi di resistenza con blocco di emissione dei sacchi, in parte analoghi ai casi di anabiosi descritti da Issel (1914) [10]. Non si può sostenere che questa combinazione di temperatura e salinità sia selettiva in quanto le femmine sono in grado di tornare a produrre naupli una volta che le condizioni ambientali siano cambiate, anche a distanza di mesi dall'inizio del blocco. Viceversa, l'effetto selettivo dell'interazione fra temperatura e salinità è notevole a 27 °C e bassa salinità. Tale fenomeno può dipendere dal fatto che è estremamente improbabile che in natura si realizzi una simile combinazione ambientale, soprattutto nelle zone in cui sono stati pescati gli animali. Tuttavia nei tempi brevi si ha una risposta notevolmente buona anche per una situazione così critica; essa riguarda sia la fertilità che la sopravvivenza. Il numero di naupli del I sacco è molto simile a quello ottenuto per le altre due temperature a bassa salinità (fig. 1),

e la sopravvivenza, dopo quindici giorni, è del 95 %. In definitiva la diversificazione nelle risposte in laboratorio avviene dopo un certo tempo dal momento in cui si è reso costante l'ambiente eliminando così la variabilità delle pozze di scogliera che ne è l'aspetto ecologico più caratteristico. Questo fatto diventa ancor più rilevante se si considera la conformazione delle pozze di Tavvallich. Esse sono piccole e su rocce degradanti sul mare per cui la loro formazione e durata sono regolate in pratica dalle variazioni di marea. La continuità con l'ambiente marino vero e proprio è ripristinata, nella maggior parte dei casi, dall'alta marea e, quindi, il condizionamento dell'ambiente subaereo è limitato ad alcune ore al giorno.

In un altro lavoro (Battaglia *et al.*, 1978) [4]) questi risultati vengono correlati al basso livello di polimorfismo genetico riscontrato in questa specie.

Ringraziamenti.

Siamo molto grati al Sig. Paolo Battaglia per averci fornito gli esemplari di *Tigriopus brevicornis* utilizzati in questa ricerca ed al Sig. Angelo Alfini per la collaborazione nel mantenimento dei ceppi. Ringraziamo inoltre il Prof. Bruno Battaglia per i consigli datici durante la preparazione del manoscritto.

BIBLIOGRAFIA

- [1] A. H. AR-RUSHDI (1963) - *The cytology of achiasmatic meiosis in the female Tigriopus* (Copepoda), «Chromosoma», 13, 526-539.
- [2] B. BATTAGLIA (1958) - *Balanced polymorphism in Tisbe reticulata, a marine Copepod*, «Evolution», 12, 358-364.
- [3] B. BATTAGLIA (1969) - *Il polimorfismo adattativo e i fattori della selezione nel Copepode Tisbe reticulata Bocquet*, «Archo Oceanogr. Limnol.», 11, 19-69.
- [4] B. BATTAGLIA (1961) - *Rapporti tra geni per la pigmentazione e la sessualità in Tisbe reticulata Bocquet*, «Atti A.G.I.», 6, 439-447.
- [5] B. BATTAGLIA, P. M. BISOL e G. FAVA (1978) - *Genetic variability in relation to the environment in some marine invertebrates*, «Marine Organisms. Genetics, Ecology and Evolution», 53-70, B. Battaglia and J. A. Beardmore, Editors, Plenum Press, New York and London.
- [6] B. BOŠIĆ (1960) - *Le genre Tigriopus Norman (Copépodes, Harpacticoides) et ses formes européennes, recherches morphologiques et expérimentales*, «Arch. Zool. exp. gén.», 98, 167-269.
- [7] R. COSTA e P. M. BISOL (1978) - *Genetic variability in deep-sea organisms*, «Biol. Bull.», 155, 125-133.
- [8] J. H. FRASER (1936) - *The occurrence, ecology and life history of Tigriopus fulvus (Fischer)*, «Jour. mar. biol. Ass. U.K.», 20, 523-536.
- [9] O. KINNE (1970) - *Environmental Factors - Temperature*, «Marine Ecology. A comprehensive, integrated treatise on life in Oceans and Coastal waters», 1, 321-346, O. Kinne, Editor, J. Wiley and Sons Ltd., London.
- [10] O. KINNE (1971) - *Environmental Factors - Salinity, Animals, Invertebrates*, «Marine Ecology. A comprehensive, integrated treatise on life in Oceans and Coastal waters», 2, 820-995, O. Kinne, Editors, J. Wiley and Sons Ltd., London.
- [11] R. ISSEL (1914) - *Vita latente per concentrazione dell'acqua e biologia delle pozze di scogliera*, «Mit. a.d. Zool. Sta. zu Neapel», Bd 22, 191-255.

- [12] T. ITÔ (1970) - *The biology of a harpacticoid Copepod*, *Tigriopus japonicus Mori*, « Journ. Fasc. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI, Zool. », 17, 474-500.
- [13] M. R. RANADE (1959) - *Observations on the resistance of Tigriopus fulvus (Fischer) to changes in temperature and salinity*, « Jour. mar. biol. Ass. U.K. », 36, 115-119.
- [14] R. R. SOKAL e F. J. ROHLF (1969) - *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*, pp. 776, Freeman and Company.
- [15] N. TAKEDA (1950) - *Experimental studies on the effect of external agencies on the sexuality of a marine copepod*, « Physiological Zoology », 23, 283-301.
- [16] B. VOLKMANN-ROCCO e G. FAVA (1969) - *Two sibling species of Tisbe (Copepoda, Harpacticoida): Tisbe reluctantans and T. persimilis n. sp. Research on their morphology and population dynamics*, « Mar. Biol. », 3, 159-164.
- [17] B. VOLKMANN-ROCCO e B. BATTAGLIA (1972) - *A new case of sibling species in the genus Tisbe (Copepoda, Harpacticoida)*. « Proc. Eur. mar. Biol. Symp. », 67-80, B. Battaglia, Editor, Piccin Padova.