

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

LUCIANO BULLINI, ANNA PAOLA BIANCHI BULLINI

**Ricerche sulla riproduzione e sul corredo  
cromosomico del fasmide *Clonopsis gallica*  
(Cheleutoptera, Bacillidae)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 51 (1971), n.6, p. 563–568.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1971\\_8\\_51\\_6\\_563\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1971_8_51_6_563_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/>



**Genetica.** — *Ricerche sulla riproduzione e sul corredo cromosomico del fasmide Clonopsis gallica* (Cheleutoptera, Bacillidae) (\*). Nota di LUCIANO BULLINI (\*\*) e ANNA PAOLA BIANCHI BULLINI (\*\*), presentata (\*\*\*) dal Socio G. MONTALENTI.

SUMMARY. — The reproduction biology of Italian populations of the Phasmid *Clonopsis gallica* was studied. The reproduction always occurs by thelytokous parthenogenesis. No males were observed in nature or in the laboratory strains. The chromosome number was established to be 54–57 in embryonic cells and egg follicle epithelium. The number most frequently observed was 56 of which 34 appear subtelocentric and 22 metacentric or submetacentric. The longest chromosome, unequal and subtelocentric, shows a secondary constriction at the middle of the long arm. Only a part of chromosomes can be arranged in pairs on the basis of their length and centromere position. Following the Hughes-Schrader hypothesis on the ancestral Phasmid karyotype ( $2n \sim 36$  in the female) *Cl. gallica* would be considered as a triploid. However the comparison of this karyotype with that of the most closely related species so far studied cytologically, *Bacillus rossius*, does not support this hypothesis. The cytological study of *Cl. algerica*, the amphigonic form more closely related to *Cl. gallica*, is expected to help to answer this problem.

#### INTRODUZIONE

La presenza della partenogenesi nel fasmide *Clonopsis gallica* (Charp.) fu osservata alla fine dell'800 da H. e Th. Piel de Churchville (Dominique [1]; François [2]), ma solo nel 1935 Cappe de Baillon e de Vichet [3] poterono dimostrare che almeno in Francia questa specie si riproduce esclusivamente per partenogenesi e che i rari maschi non sono funzionali.

Per quanto riguarda le modalità riproduttive di *Cl. gallica* in Italia le uniche osservazioni esistenti in letteratura sono quelle compiute da Benazzi [4] su una popolazione rinvenuta nell'Orto Botanico di Siena. Questa popolazione si riproduceva, come quelle francesi, per partenogenesi costante ed i maschi, apparsi in piccolo numero tra i discendenti partenogenetici, non risultarono funzionali. Al contrario in Nord-Africa esiste un'entità molto affine a *Cl. gallica*, *Cl. algerica* (da Pantel [5] considerata semplice razza geografica della precedente), che sembra riprodursi per anfigonia (Chopard [6]). Ci è parso perciò utile compiere nuove ricerche sulle modalità riproduttive di questa specie in Italia. A questo scopo sono stati intrapresi fin dal 1963 allevamenti partendo da un centinaio di esemplari adulti, provenienti da varie regioni italiane (Emilia, Liguria, Toscana, Lazio). In questa nota sono descritte le caratteristiche biologiche della riproduzione delle popolazioni studiate. Viene, inoltre, descritto per la prima volta il corredo cromosomico di *Cl. gallica*.

(\*) Lavoro eseguito con il contributo finanziario del C.N.R.

(\*\*) Istituto di Genetica (Facoltà di Scienze) dell'Università di Roma.

(\*\*\*) Nella seduta dell'11 dicembre 1971.

## MATERIALE E METODI

Gli esemplari allevati provenienti dalle seguenti località:

Promontorio di Portofino (Genova);  
Tellarò (La Spezia);  
Granaglione (Bologna);  
Arno Vecchio (Pisa);  
Bolgheri (Livorno);  
Donoratico (Livorno);  
Manziana (Roma);  
Nazzano (Roma);  
Acilia (Roma);  
Ostia (Roma).

L'allevamento è stato condotto in una stanza a temperatura e umidità costante (temperatura:  $20 \pm 1^\circ \text{C}$ .; umidità relativa:  $50 \pm 5\%$ ). Gli insetti, tenuti in gabbiette ben areate, erano nutriti con rametti di rovo (*Rubus fruticosus*)<sup>(1)</sup> cambiati due volte la settimana e tenuti immersi col gambo in vasetti pieni di acqua. Le uova, raccolte quotidianamente e poste in tubetti di vetro chiusi con un batuffolo di cotone idrofilo, erano mantenute fino al momento della schiusura all'aperto, in un luogo riparato dalla pioggia.

Lo studio citologico è stato condotto nelle uova embrionate su cellule del complesso gangliare esofageo-cerebrale, mentre nelle neanidi e negli adulti veniva utilizzato l'epitelio dell'ovariolo. In quest'ultimo caso un'ora prima della dissezione venivano iniettati nell'addome dell'individuo 0,02 ml di una soluzione acquosa di colchicina allo 0,25 %, allo scopo di mettere in evidenza la posizione dei centromeri.

I preparati, eseguiti per schiacciamento dopo colorazione e fissazione con carminio acetico oorceina acetica, venivano resi permanenti con la tecnica del ghiaccio secco (Conger e Fairchild [7]).

## CARATTERISTICHE BIOLOGICHE DELLA RIPRODUZIONE

a) *Ciclo vitale.*

Sia in natura che nelle condizioni di allevamento adottate le schiusure di *Cl. gallica* iniziano in marzo (eccezionalmente in febbraio) e terminano alla fine di aprile. La vita larvale dura in media due mesi e comprende quattro età, della durata di circa quindici giorni ciascuna. Le prime due età larvali sono un poco più lunghe (da 14 a 22 giorni), le ultime due più brevi (da 12 a 17 giorni). La deposizione delle uova comincia a 14-19 giorni dopo l'ultima

(1) *Clonopsis gallica* è specie polifaga e benché in natura sembri prediligere le specie dei gen. *Rosa*, *Rubus*, *Prunus*, *Crataegus*, accetta ugualmente un gran numero di altre piante.

muta e continua fino ad ottobre (eccezionalmente novembre), epoca in cui tutte le femmine muoiono. La durata della vita adulta, è quindi, di circa 4-6 mesi. Il ciclo vitale di questa specie è, perciò, strettamente stagionale, al contrario dell'affine *B. rossius*, il cui ciclo è in larga misura indipendente dalle stagioni, per cui si possono osservare larve a tutti gli stadi e adulti in qualsiasi periodo dell'anno (Bullini [8], Scali [9]).

b) *Fecondità.*

La fecondità media di *Cl. gallica* è di 80-100 uova per femmina (79 secondo Bérenquier [10]; 80-82 secondo Voy [11]). L'ovideposizione inizia, come abbiamo visto, circa 15 giorni dopo l'ultima muta e prosegue fin quasi alla morte della femmina. Le uova vengono deposte con ritmo abbastanza regolare, con intervalli di riposo ogni 3-4 giorni. La fecondità aumenta fino a luglio, mese in cui si ha il maggior numero di uova deposte, e decresce poi nei mesi successivi.

La più bassa fecondità di questa specie rispetto a *B. rossius* (che depone fino a 1000-1500 uova per femmina) sembra dipendere sia dalla minor longevità delle femmine, sia dal fatto che le uova di *Cl. gallica* hanno dimensioni nettamente maggiori di quelle di *B. rossius*, pur essendo le dimensioni medie dell'adulto nettamente inferiori.

c) *Durata dello sviluppo embrionale.*

È opportuno distinguere le uova deposte nella prima parte dell'estate (giugno-luglio) da quelle deposte nella seconda parte dell'estate e nella prima parte dell'autunno (agosto-ottobre). Delle uova del primo gruppo una parte schiude all'inizio della primavera successiva, mentre le altre schiudono solo nell'anno seguente o anche due anni dopo. Nessuna delle uova del secondo gruppo schiude, invece, nella primavera successiva; le schiusure avvengono tutte o nella primavera del secondo anno o in quella del terzo.

Considerando globalmente le uova deposte da una femmina, il 28-30% schiude 8-10 mesi dopo la deposizione, il 68-70% dopo 18-22 mesi, mentre circa il 2% schiude dopo 30-34 mesi.

Indipendentemente dall'epoca della deposizione tutte le uova presentano diapausa. Le uova a sviluppo rapido (8-10 mesi) cominciano a segmentarsi subito dopo essere state deposte ed entrano in diapausa alla fine di novembre, quando l'embrione è già completamente sviluppato (diapausa pre-natale). Nelle uova a sviluppo lento (18-22 mesi) i periodi di diapausa sono due. Il primo inizia in autunno, quando l'uovo non presenta ancora alcuna traccia di segmentazione superficiale (diapausa pre-blastodermica), il secondo nell'autunno dell'anno seguente, quando l'embrione è già completamente formato (diapausa pre-natale). Perciò il calore primaverile da una parte determina la schiusura delle uova a sviluppo rapido, dall'altra provoca l'inizio della segmentazione nelle uova a sviluppo lento; queste ultime schiuderanno solo nella primavera successiva, dopo aver subito la seconda diapausa. Nelle

uova che schiudono 30-34 mesi dopo la deposizione i periodi di diapausa sono tre.

Se le uova di *Cl. gallica* vengono incubate a temperatura costante, non si ottiene mai alcuna schiusura. Perché le uova schiudano è indispensabile che la diapausa sia interrotta sia naturalmente dalle variazioni stagionali della temperatura, sia artificialmente, usando vari procedimenti (Voy [11]).

d) *Percentuale delle schiure.*

Tra le uova che si sviluppano all'aperto la percentuale delle schiure è molto elevata, superando in genere il 90%. Più bassa, è invece, la percentuale delle schiure tra le uova incubate in laboratorio, indipendentemente dalla tecnica usata per fare iniziare e per interrompere la diapausa.

e) *Sesso dei discendenti.*

Nei nostri allevamenti di *Cl. gallica* non abbiamo mai osservato la nascita di alcun maschio. Due esemplari di sesso maschile, sono stati, invece, ottenuti da de Vichet (Cappe de Baillon e de Vichet [3]; Cappe de Baillon, Favrelle e de Vichet [12]) e due da Benazzi [4]. Nessuno di questi maschi è risultato capace di fecondazione.

f) *Presenza di maschi in natura.*

Le ricerche da noi condotte nelle stazioni sopra citate e in varie altre località italiane non hanno portato al rinvenimento di alcun maschio, nonostante siano stati esaminati più di diecimila individui. Sembra, perciò, confermato che anche in Italia *Cl. gallica* si riproduce esclusivamente per partenogenesi telitoca.

#### CORREDO CROMOSOMICO DI *CLONOPSIS GALLICA*

Il corredo cromosomico risulta costituito da 54-57 elementi. Tale variabilità esiste anche nell'ambito di uno stesso individuo e non sembra imputabile ad errori di conta. Essa è stata osservata sia nelle cellule embrionali che in quelle dell'epitelio dell'ovariolo, come mostra la Tabella I. Il numero cromosomico più frequentemente osservato è stato 56. 34 cromosomi appaiono subtelocentrici e 22 metacentrici o submetacentrici. La Tavola I mostra due cariogrammi rispettivamente con numero cromosomico 56 e 57. Come si vede solo una parte dei cromosomi risulta appaiabile in base alle dimensioni ed alla posizione del centromero. Non è stato possibile giungere all'identificazione di cromosomi sessuali. È da notare che il cromosoma di maggiori dimensioni è un elemento impari e subtelocentrico, che presenta a metà del braccio più lungo un evidente costrizione secondaria.

TABELLA I.

*Numero cromosomico in cellule somatiche di Clonopsis gallica (Charp.).*

TIPO DI CELLULE	N. metafasi esaminate	NUMERO CROMOSOMICO					
		53	54	55	56	57	58
Epitelio dell'ovario . . . . .	60	—	10	18	25	7	—
Cellule embrionali . . . . .	70	—	10	21	27	12	—
TOTALE . . . . .	130	—	20	39	52	19	—

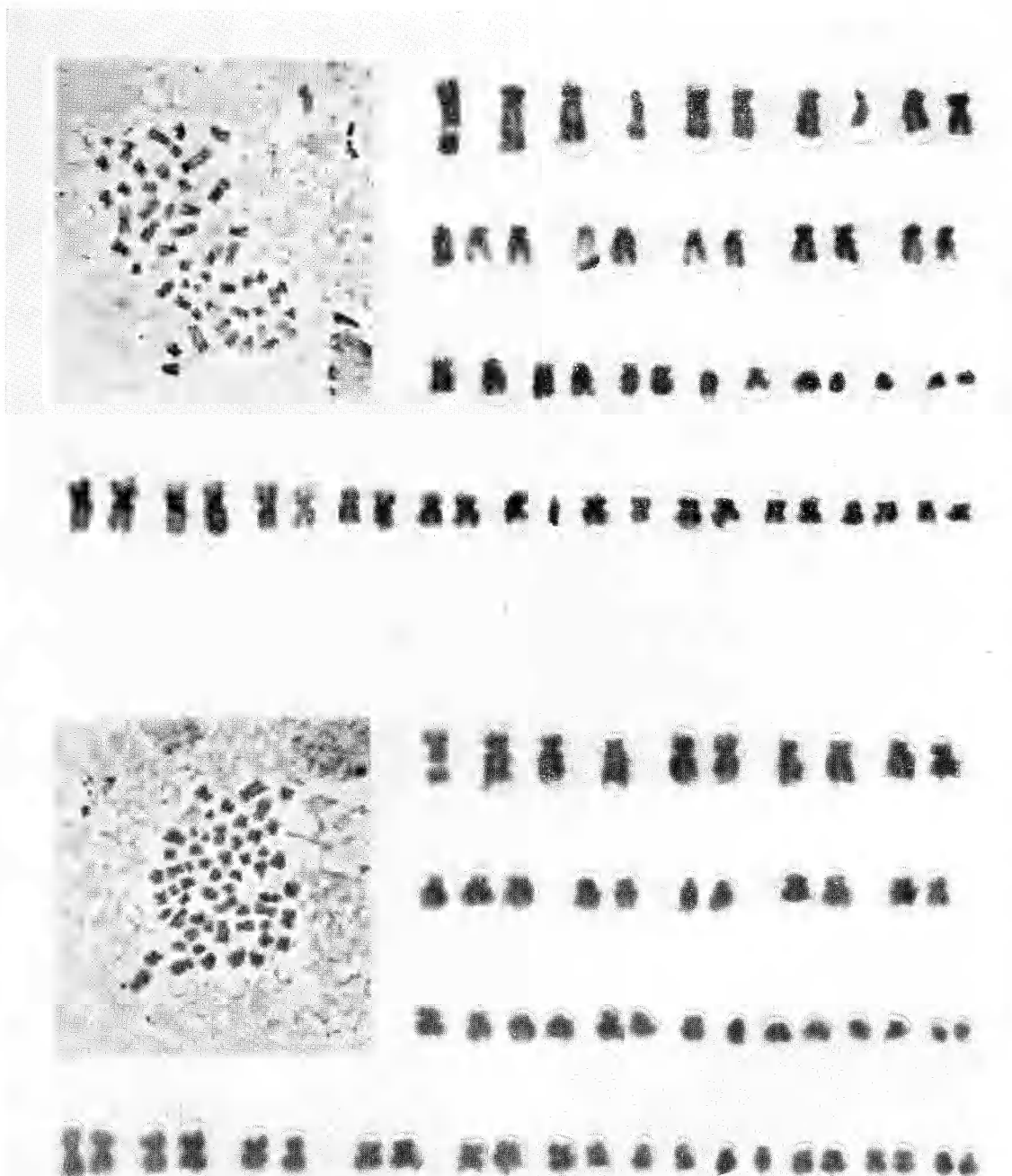
In base alla ipotesi di Hughes-Schrader [13], secondo cui il cariotipo ancestrale dei Fasmidi è approssimativamente  $2n = 35$  nel ♂,  $2n = 36$  nella ♀, *Cl. gallica* dovrebbe essere considerata triploide. Tuttavia il confronto con il cariotipo della specie più affine fino ad ora nota dal punto di vista citologico, *Bacillus rossius* ( $2n \text{ ♂} = 35$ ,  $2n \text{ ♀} = 36$ : Cappe de Baillon, Favrelle e de Vichet [14]; Montalenti e Fratini [15]) sembra escludere la possibilità di una simile interpretazione. Il problema, tuttavia, potrà essere affrontato solo quando sarà noto il corredo cromosomico dell'entità anfigonica più affine a *Cl. gallica*, *Cl. algerica*.

## LAVORI CITATI

- [1] J. DOMINIQUE, *Notes Orthoptérologiques I. La Parthénogénèse chez le Bacillus gallicus Charp.*, « Bull. Soc. Sc. Nat. Ouest France », 6, 67 (1896).
- [2] M. P. FRANÇOIS, *Faits relatifs à la parthénogénèse des Bacilles*, « Bull. Soc. Ent. France », 398 (1899).
- [3] P. CAPPE DE BAILLON e G. DE VICHET, *Le mâle du Clonopsis gallica (Orthopt. Phasmidae)*, « Ann. Soc. Ent. France », 104, 259 (1935).
- [4] M. BENAZZI, *Qualche osservazione sul fasmide Clonopsis gallica Charp.*, « Atti Acc. Fisiocr., Sez. Agraria », 10, 20 (1945).
- [5] J. PANTEL, *Sur le genre Clonopsis, nov. gen. (Orth. Phasmidae)*, « Bull. Soc. Ent. France », 95 (1915).
- [6] L. CHOPARD, *Faune de l'Empire Français. I Orthoptéroïdes de l'Afrique du Nord*, Paris, Larose (1943).
- [7] A. D. CONGER e L. M. FAIRCHILD, *A quick-freeze method for making smear slides permanent*, « Stain Tech. », 28, 281 (1953).
- [8] L. BULLINI, *Ricerche sulle caratteristiche biologiche dell'anfigonia e della partenogenesi in una popolazione bisessuata di Bacillus rossius (Rossi) (Cheleutoptera = Phasmoidea)*, « Riv. Biologia », 58, 189 (1965).
- [9] V. SCALI, *Biologia riproduttiva del Bacillus rossius (Rossi) nei dintorni di Pisa con particolare riferimento all'influenza del fotoperiodo*, « Atti Soc. Tosc. Sc. Nat. Mem. », Ser. B, 75, 108 (1968).
- [10] P. BÈRENGUIER, *Notes Orthoptérologiques IX, Bacillus gallicus Charp.*, « Bull. Soc. Ent. Sci. Nat. Nîmes », 38, 76 (1910).

- [11] A. VOY, *Biologie et croissance chez le phasme femelle (Clonopsis gallica Charp.)*, « Bull. Biol. Fr. Belg. », 88, 101 (1954).
- [12] P. CAPPE DE BAILLON, M. FAVRELLE e G. DE VICHET, *Parthénogénèse et variation chez les Phasmes. IV Discussion des faits. Conclusions.*, « Bull. Biol. Fr. Belg. », 72, 1 (1938).
- [13] S. HUGHES-SCHRADER, *On the cytotaxonomy of phasmids (Phasmatodea)*, « Chromosoma (Berl.) », 10, 268 (1959).
- [14] P. CAPPE DE BAILLON, M. FAVRELLE e G. DE VICHET, *Parthénogénèse et variation chez les Phasmes. III – Bacillus rossii Rossi, Epibacillus lobipes Luc., Phobaeticus simetyi Br., Parasosibia parva Redt., Carausius rotundato-lobatus Br.*, « Bull. Biol. Fr. Belg. », 71, 129 (1937).
- [15] G. MONTALENTI e L. FRATINI, *Observations on the spermatogenesis of Bacillus rossius (Phasmoidea)*, « Proc. XV th. Intern. Congr. Zool. London, 1958 », 749 (1959).





*Sopra:* metafase mitotica colchicinizzata con 56 cromosomi (epitelio dell'ovariolo).  
Il cariotipo è ingrandito 2850 volte.

*Sotto:* metafase mitotica colchicinizzata con 57 cromosomi (epitelio dell'ovariolo).  
Il cariotipo è ingrandito 2850 volte.