

FORMAZIONE DELLE UOVA DUREVOLI IN *PENILIA AVIROSTRIS* DANA (1).

par

N. Della Croce e S. Bettanin

Istituto di Zoologia della Università di Genova.

Résumé

Développement de l'œuf durable de *Penilia avirostris*.

Les auteurs ont étudié, du point de vue morphologique, le développement de l'œuf durable du Cladocère marin, *Penilia avirostris*. Des neuf stages décrits, six appartiennent à la phase d'organisation et trois à la formation réelle de l'œuf durable. Les auteurs, d'autre part, discutent du développement morphologique des Cladocères marins *Evadne nordmanni* et *Podon intermedius*.

I cladoceri marini producono uova partenogenetiche e uova durevoli. Le seconde, più grandi e meno numerose, sono ricche di sferule di deutoplasma e presentano una spessa parete chitinoso. La comparsa delle uova durevoli avviene di regola quando la riproduzione partenogenetica raggiunge nella fase depressiva i più bassi valori. L'individuo che si sviluppa dall'uovo durevole, dopo un periodo di quiescenza più o meno lungo, è invariabilmente partenogenetico.

La riproduzione partenogenetica e quella anfigonica sono state prese in esame, tra i cladoceri marini, solo in *Evadne nordmanni* Lovén (Jorgensen, 1933 ; Bainbridge, 1958) e in *Penilia avirostris* Dana (Sudler, 1899 ; Pavlova, 1959 ; Della Croce e Bettanin, 1964-65 ; Della Croce, 1966).

Il processo riproduttivo nei cladoceri d'acqua dolce, al contrario, è stato oggetto di ricerche classiche, e costituisce ancora oggi una eccellente tematica biologica (Zaffagnini, 1960 ; 1964 ; 1964a) ed ecologica (Stross, 1966 ; Stross e Hill, 1968).

Osservazioni dettagliate sul processo di formazione delle uova durevoli nei cladoceri marini concernono unicamente *E. nordmanni* (Jorgensen, 1933 ; Cheng, 1947) e *Podon intermedius* Lilljeborg (Cheng, 1947).

In *E. nordmanni* la formazione dell'uovo durevole ha inizio da quattro oociti in apparenza molto simili tra loro. Successivamente la

(1) Gli Autori ringraziano vivamente il Prof. G. Bacci, Direttore dell'Istituto di Zoologia della Università di Torino, per l'interessamento e il criticismo rivolti a questa indagine.

terza cellula di tale gruppo, a partire da quella anteriore, si accresce più delle altre sino a diventare il grande uovo durevole ricco di deutoplasma, mentre le altre tre, che si erano poco diversificate dall'inizio del processo, alla fine scompaiono probabilmente assorbite dall'uovo. L'uovo durevole poi migra nella camera incubatrice, la quale si presenta già ricca di cellule nutritive.

Secondo Jorgensen (1933), queste sono prodotte dalla proliferazione di cellule che rivestono la parete della camera incubatrice medesima; secondo Claus (1877), tali cellule nutritive erano in origine oociti formatisi contemporaneamente all'oocita che origina l'uovo durevole il quale, raggiunte le massime dimensioni, si riveste di una spessa parete chitinoso. Cheng (1947), sempre in *E. nordmanni*, ha osservato una sottile struttura tubulare contenente cellule di varie dimensioni in connessione con l'estremità posteriore dei quattro oociti raggruppati. Lo stesso A. ritiene che tale struttura passi facilmente inosservata perchè assai minuta; ed ancora che, per contenuto e posizione, rappresenti verosimilmente il germario, e le cellule in esso presenti gli oogoni. Altre osservazioni di Cheng (1947) consentono, inoltre, alla stesso A. di considerare il processo di formazione delle uova durevoli in *P. intermedius* essenzialmente simile a quello descritto per *E. nordmanni*, anche se in entrambi i casi ritenga necessarie ulteriori ricerche.

La presente indagine concerne la formazione delle uova durevoli in *P. avirostris*, sulla base di osservazioni condotte su esemplari raccolti nelle acque di Sandy Hook (New Jersey, USA), nell'autunno 1962, quando la fase anfigonica del ciclo doveva aver raggiunto il suo acme, a giudicare dall'abbondanza delle forme maschili e femminili presenti nei campioni.

Questa indagine venne condotta eseguendo dissezioni sugli organismi *in toto*, senza ricorrere a tecniche istologiche con uso di microtomo e successiva colorazione. Il metodo impiegato permette una osservazione completa degli organi interessati nel corso dello sviluppo e, sebbene non giunga al dettaglio istologico, permette tuttavia una visione d'insieme sufficientemente chiara.

Nel processo di formazione dell'uovo durevole si sono distinte due fasi. Di queste, la prima è di organizzazione ed ha luogo nello ovario; la seconda, di formazione vera e propria, nella camera incubatrice dove l'uovo migra al termine della prima fase.

Gli stadi della fase organizzativa risultano essere sei (Fig. 1).

I Stadio. — I quattro oociti appaiono più o meno simili tra loro, disposti l'uno dopo l'altro, e più o meno sovrapposti. Presentano una zona centrale opaca e depressa, più evidente nel primo e quarto oocita. Questo gruppo di quattro oociti si differenzia da quello che origina l'uovo partenogenetico (Sudler, 1899) per la marcata colorazione e l'aspetto finemente granulare del citoplasma. Dal primo al sesto stadio si è accertata la presenza del germario, il quale risulta localizzato all'estremità anteriore dei quattro oociti raggruppati (Pl. 1).

II Stadio. — Dei quattro oociti, il terzo a partire dalla estremità anteriore si allunga e si presenta di forma varia (Fig. 1; Fig. 2, A e B; Pl. 1, B). Il citoplasma conserva l'aspetto finemente granulare

periodo di tempo relativamente più lungo di quello necessario agli altri stadi perchè espletino i processi morfologici a loro tipici. Inoltre, lo stadio II risulta caratterizzato da un accrescimento notevole : mentre

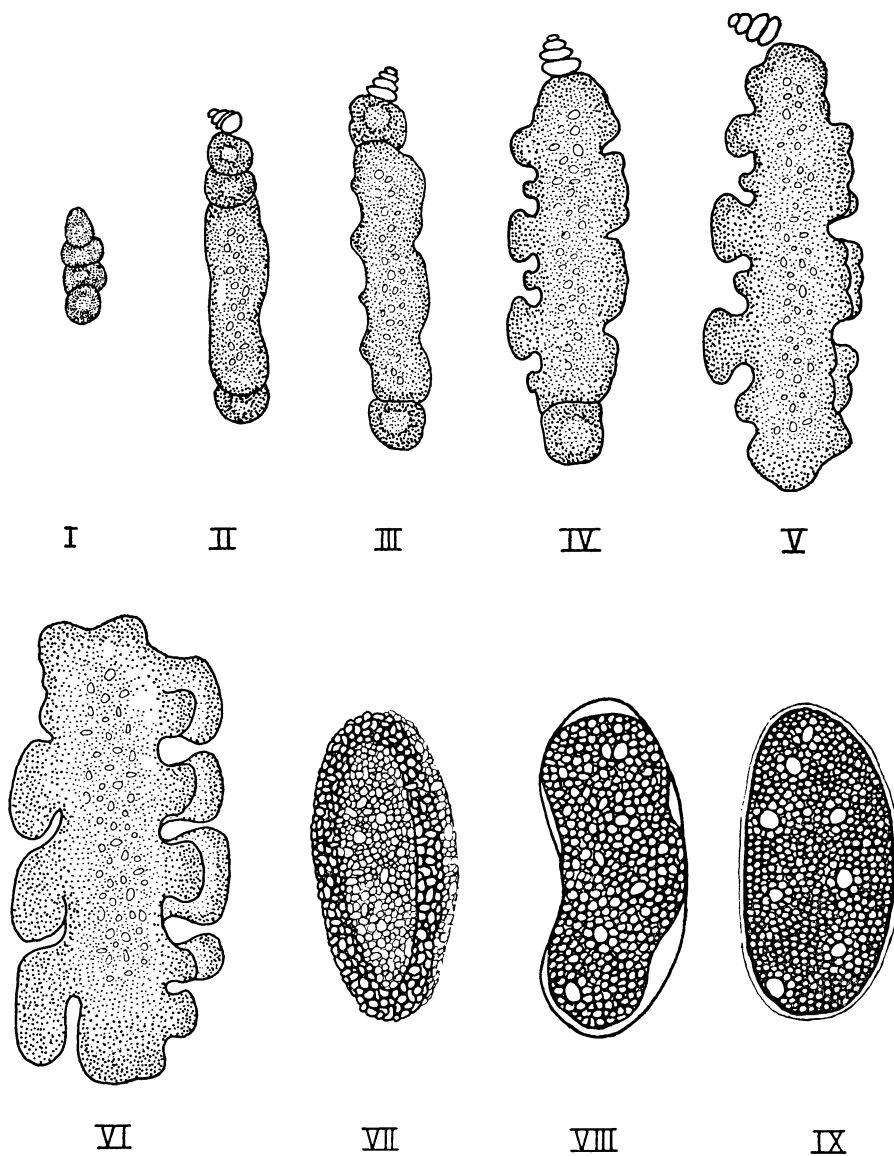


FIG. 1

Stadi del processo di formazione delle uova durevoli in *Penilia avirostris* Dana. Negli stadi II, III, IV e V è rappresentato anche il germario.

in tutti gli oociti, ma non nel terzo che risulta caratterizzato da numerosi e grossi granuli di vitello, e più intensamente colorati.

Poichè questo stadio appare essere il più frequente, non è da escludere che le modificazioni in esso osservate abbiano luogo in un

la lunghezza media dello stadio I era di 149 μ , lo stadio II misura, sempre in valore medio, 341 μ .

III Stadio. — L'uovo in via di organizzazione si presenta costituito di tre cellule per la scomparsa del secondo oocita, a partire dall'estremità anteriore, e probabilmente riassorbito. Il primo e il quarto oocita conservano citoplasma finemente granulare, mentre l'altra cellula — la cellula uovo — appare ricca di granuli di deutoplasma.

Il fatto che il terzo oocita possa presentare un grado di differenziazione minore in questo stadio, rispetto al secondo (Fig. 1), indica che tale differenziazione non è condizionata dal riassorbimento o scomparsa degli altri oociti.

IV Stadio. — L'organizzazione dell'uovo prosegue con la scomparsa del primo oocita probabilmente riassorbito, mentre sussiste ancora il quarto. L'arricchimento in deutoplasma della cellula uovo conferisce alla medesima un aspetto più voluminoso. I contorni di questa cellula, come nello stadio precedente, risultano irregolari e caratterizzati da gemme e da masse citoplasmatiche più o meno definite. Nella osservazione orientata, come nella figura 1, le prime, spesso con depressione al loro apice, sono localizzate sulla parte volta verso l'intestino; le seconde, sul lato opposto e verso l'esterno.

V Stadio. — A questo stadio si giunge per riassorbimento del quarto oocita, contemporaneamente ad un ulteriore differenziamento morfologico. Lo stadio V risulta caratterizzato sul lato di adesione alla parete intestinale da tre gemme alternate con altre tre più piccole e ben distinte; sul lato opposto le tre masse citoplasmatiche presentano aspetto trilobato e sdoppiato, e hanno assunto una posizione specifica rispetto alle gemme del lato interno (Fig. 1; Pl. 1, C e D).

A tale stadio, che contempla la scomparsa del quarto oocita, la cellula uovo può giungere presentando un aspetto morfologico diverso (Fig. 2, C); ovvero aderisce alla parete esterna dell'intestino soprattutto per mezzo di tre gemme, mentre sul lato opposto presenta, appena definite, tre più grandi masse citoplasmatiche. In questo caso la scomparsa degli oociti non è accompagnata da quei gradualì processi morfologici messi in evidenza nei primi quattro stadi, e la fase di organizzazione dell'uovo sembra pertanto ritardata. Il differenziamento morfologico raggiunto dall'uovo al V stadio deve allora realizzarsi in seno allo stadio medesimo (1). Anche in questo caso la differenziazione della cellula uovo non è condizionata dalla scomparsa degli altri oociti.

VI Stadio. — In questo ultimo stadio della prima fase si assiste ad una nuova riorganizzazione morfologica che prelude alla migrazione della cellula uovo nella camera incubatrice. Che non si tratti di un aspetto intermedio degli stadi precedenti è avvalorato dalla priorità e diversità delle caratteristiche morfologiche osservate negli stadi già descritti.

Nella seconda fase, quella di formazione vera e propria, si possono riconoscere tre stadi, per cui tutto il processo si compirebbe attraverso nove stadi (Fig. 1).

(1) Questo fatto è stato osservato in pochi esemplari, e pertanto si può ritenere che si verifichi in situazioni particolari.

VII Stadio. — La migrazione nella camera incubatrice deve avvenire in un tempo molto breve, come assai breve deve essere il tempo impiegato dalla cellula uovo per assumere la forma che si considera tipica di questo stadio. Infatti, non si sono trovati aspetti intermedi nonostante il notevole numero di forme esaminate.

La cellula uovo si presenta pressochè elissoidale di forma e bordata, e di superficie concava nella parte rivolta verso la cavità addominale. Tale forma e quella degli stadi successivi suggeriscono che l'uovo viene avvolto da una parete chitinoso subito dopo aver raggiunto la camera incubatrice.

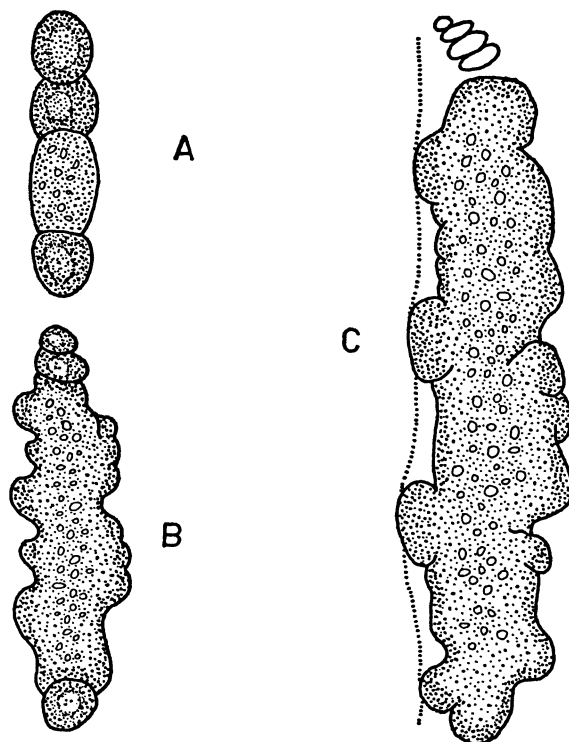


FIG. 2

Processo di formazione delle uova durevoli in *Penilia avirostris* Dana. A e B : fasi di sviluppo del II stadio ; C : altro aspetto del V stadio.

VIII Stadio. — Nell'uovo elissoidale la parte concava è ancora rivolta verso la cavità addominale, e l'uovo non occupa ancora tutto lo spazio delimitato dalla parete chitinoso (2).

IX Stadio. — Scompare la concavità, e il materiale cellulare occupa tutto lo spazio delimitato dall'involucro chitinoso. Tra uovo e parete chitinoso si forma un interstizio. Come gli stadi della prima fase, quelli della seconda sono viepiù caratterizzati dall'aspetto granulare del deutoplasma. L'involucro chitinoso risulta trasparente e molto resistente.

(2) Sono state osservate anche uova durevoli di forma rotondeggiante.

L'accrescimento dell'uovo durevole, che era particolarmente notevole nella prima fase (da 149 a 507 μ), si arresta e apparentemente regredisce nella seconda (279-356 μ) ; questa apparente regressione nella dimensione dovrebbe essere compensata dall'aumentato volume della cellula uovo.

Braiko (1964) ha trovato nel contenuto stomacale di alici delle uova durevoli di *P. avirostris*, e afferma che le medesime sono provviste di una doppia membrana. La più esterna, finemente granulosa, leggermente calcificata, e di notevole consistenza, faciliterebbe la caduta dell'uovo verso il fondo (3).

Nella formazione dell'uovo durevole dei cladoceri marini, le differenze sostanziali emerse riguardano prevalentemente due fatti.

Uno concerne gli oociti in gruppi di quattro elementi : mentre in *P. intermedius* ed *E. nordmanni* il primo, il secondo e il quarto oocita persistono sino a quando il terzo ha assunto il tipico aspetto della cellula uovo e scompaiono senza che sia stata osservata una certa sequenza, in *P. avirostris* questa sequenza appare ben delineata e precede la comparsa nel terzo oocita del tipico aspetto della cellula uovo. L'altro interessa le differenziazioni che si osservano nel terzo oocita : mentre in *P. intermedius* ed *E. nordmanni* questo assume precocemente il tipico aspetto dell'uovo durevole, in *P. avirostris* si assiste ad un riassetto morfologico del materiale. In tutte e tre le specie, la migrazione nella camera incubatrice avviene tuttavia dopo che gli oociti sono scomparsi o sono stati riassorbiti, e solo nella camera incubatrice si assiste alla formazione del rivestimento chitinoso.

Sudler (1899) riteneva che l'uovo partenogenetico rappresentasse « the surviving cell of four homologous cells », ma non era stato in grado di osservare quale delle quattro fosse la cellula uovo e quali le cellule nutrici. Nella forma sessuata il terzo oocita, a partire dall'estremità anteriore del gruppo di quattro elementi, può considerarsi l'oocita generatore dell'uovo durevole, in quanto in un solo esemplare tra quelli esaminati tale prerogativa era assunta dal secondo oocita. Certo è che in entrambi i processi riproduttivi si ricorre ad un gruppo di quattro oociti che evolve, a seconda dei diversi momenti del ciclo, in uovo partenogenetico o uovo durevole.

Secondo recenti indagini su *Daphnia magna* le tre cellule nutrici del gruppo hanno lo stesso significato funzionale nella formazione delle uova partenogenetiche e durevoli, e la quasi specifica elezione del terzo oocita a divenire uovo partenogenetico è di natura eminentemente topografica (Zaffagnini, 1961 ; 1964).

Verosimilmente il significato funzionale delle cellule nutrici è lo stesso nei cladoceri marini, e non si ha motivo per escludere che il terzo oocita conservi la sua specificità anche nella fase partenogenetica del ciclo.

Nel corso della ricerca si sono spesso osservate forme con embrioni partenogenetici, ma con ovari in cui era evidente nei quattro elementi

(3) Secondo Braiko (1964), all'inizio del ciclo dell'anno successivo, questa membrana più esterna si accresce, si separa da quella più interna, e tra le due si viene a formare un « cuscino d'aria » che permette la risalita ed il galleggiamento delle uova durevoli sino alla loro schiusa.

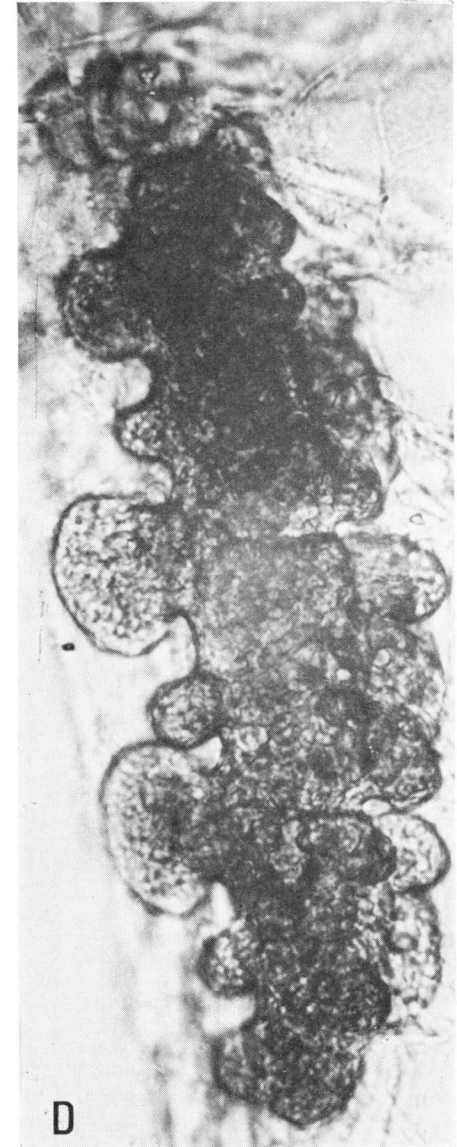
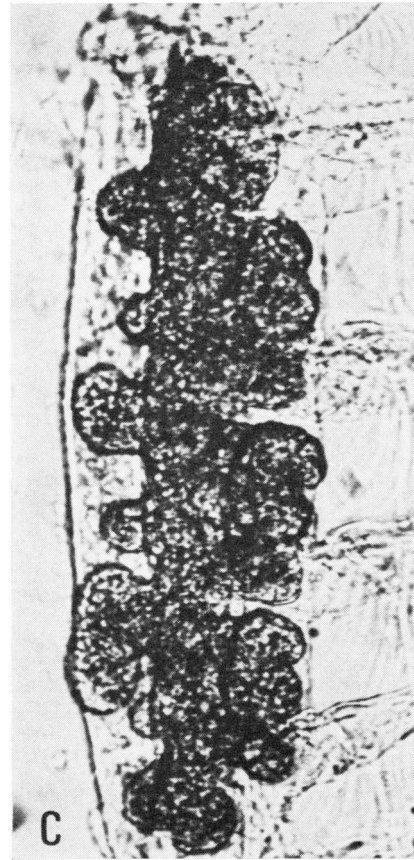
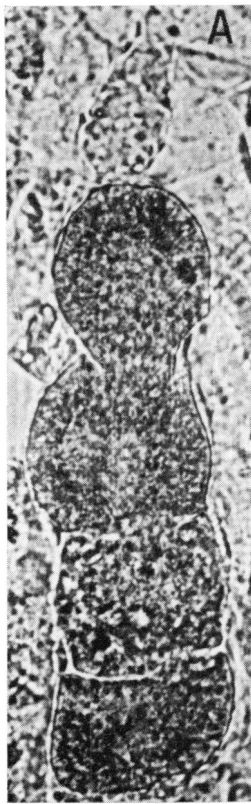


PLANCHE 1

Processo di formazione delle uova durevoli in *Penilia avirostris* Dana.

A : I stadio con germario ; B : II stadio con terzo oocita assai sviluppato e con germario ; C : V stadio in fase iniziale con germario ; D : V stadio in fase avanzata con germario. Nella C e nella D sono visibili i rapporti delle gemme della cellula uovo con l'intestino.

ovocitari il formarsi di abbondante deutoplasma (4). Questa condizione prelude alla formazione dell'uovo durevole, e i due processi riproduttivi non sembrano ostacolarsi a vicenda ; resta da vedere sotto quale spinta la gonade passa dalla produzione di uova partenogenetiche a quella di uova durevoli.

Tale spinta non sembra agire necessariamente allo stesso momento su entrambi gli ovari, in quanto si sono osservate Penilie con un uovo durevole allo stadio I e con l'altro allo stadio IX. Inoltre, *P. avirostris* depone sicuramente non meno di quattro uova durevoli, in quanto si sono ritrovati di frequente individui con due uova allo stadio IX nella camera incubatrice, e due allo stadio I nell'ovario.

Il passaggio, nello stesso individuo, dalla ovogenesi partenogenetica a quella anfigonica è stato osservato oltre che in *P. avirostris*, in *E. nordmanni*, tra i cladoceri marini, e in *Daphnia magna*, *D. pulex*, *D. longispina* e *Simocephalus vetulus*, tra quelli di acqua dolce (5).

Poichè nei cicli partenogenetici la produzione delle uova durevoli coincide con la capacità di generare individui maschili, se lo stesso individuo è capace di produrre uova subitane e uova durevoli, le modalità riproduttive appaiono di grande interesse.

L'evento induce a supporre che le uova subitane da cui si sviluppano gli embrioni nella camera incubatrice sono quelle che daranno origine a maschi. Pertanto le forme parentali potrebbero considerarsi femmine mitiche, cioè capaci di dare origine a maschi, oltre che a uova durevoli, generatrici a loro volta di femmine fondatrici. Un'altra ipotesi è che gli embrioni derivati dalle uova subitane diano origine a individui di sesso femminile ; nel qual caso tali individui potrebbero essere femmine partenogenetiche, oppure altre femmine che daranno uova durevoli. Non è da escludere una terza ipotesi, secondo la quale la produzione delle uova durevoli in *P. avirostris* potrebbe essere limitata solo a pochi stock genetici (Lochhead, 1954).

Le risposte ai problemi posti da queste osservazioni possono implicare conseguenze di notevole interesse per la biologia di *P. avirostris*, specialmente laddove questo cladocero presenta ciclo annuale, poichè nelle zone nelle quali detto ciclo è stagionale, la partenogenesi è deuterotoca e di tipo monociclico.

Riassunto

Gli A.A. descrivono dal punto di vista morfologico la formazione dell'uovo durevole nel cladocero marino *Penilia avirostris* Dana. Dei nove stadi descritti, sei appartengono alla fase di organizzazione e tre a quella di formazione vera e propria dell'uovo durevole. Gli A.A., inoltre, prendono in esame la formazione dell'uovo durevole nei cladoceri marini *Evadne nordmanni* e *Podon intermedius*.

(4) Sudler (1899) aveva osservato che le uova partenogenetiche di *Penilia* contengono assai scarso deutoplasma. Lo stesso A. non aveva avuto modo di osservare uova durevoli. La differenza in deutoplasma nei gruppi di quattro oociti che evolveranno in uova partenogenetiche e durevoli è così notevole che risulta molto agevole distinguerle.

(5) Zaffagnini (comunicazione personale) ritiene che in tutti i cladoceri la stessa femmina possa produrre uova partenogenetiche e anfigoniche, ed ancora che la stessa femmina possa produrre partenogeneticamente sia maschi che femmine anche nella medesima generazione.

Summary

Development of the resting egg of *Penilia avirostris*.

The A.A. have studied the morphological development of the resting egg of the marine cladoceran *Penilia avirostris* Dana. Nine stages have been described; six stages belong to the organization process, and three stages to the real formation of the resting egg. The morphological development of the resting eggs in the marine cladocerans *Evadne nordmanni* and *Podon intermedius* has been discussed.

BIBLIOGRAFIA

- BAINBRIDGE, V., 1958. — Some observations on *Evadne nordmanni* Lovén. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 37, pp. 349-370.
- BRAIKO, V.D., 1965. — Biology of the winter eggs of *Penilia avirostris*. *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, 164, pp. 1187-1189 (traduzione inglese dal russo).
- CHENG, C., 1947. — On the fertility of marine cladocera with a note on the formation of the resting eggs in *Evadne nordmanni* Lovén and *Podon intermedius* Lilljeborg. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 26, pp. 551-561.
- CLAUS, C., 1877. — Zur Kenntnis des Baues und der Organisation des Polyphemiden. *Denkschr. K. Akad. Wiss. Wien, Math.-Naturw. Kl.*, 37, pp. 137-160.
- DELLA CROCE, N., 1966. — Observations on the marine cladoceran *Penilia avirostris* in northwestern atlantic waters. *Tech. Pap. Bur. Sport Fish. Wildl., U.S.*, 3, pp. 1-13.
- DELLA CROCE, N. e BETTANIN, S., 1964-65. — Osservazioni sul ciclo biologico di *Penilia avirostris* Dana nel Golfo di Napoli. *Boll. Mus. Ist. biol. Univ. Genova*, 33, pp. 49-68.
- JORGENSEN, O.M., 1933. — On the marine Cladocera from the Northumbrian plankton. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 19, pp. 177-226.
- LOCHHEAD, J.H., 1954. — On the distribution of a marine cladoceran, *Penilia avirostris* Dana (Crustacea, Branchiopoda), with a note on its reported bioluminescence. *Biol. Bull.*, 107, pp. 92-105.
- PAVLOVA, E.V., 1959. — Ciclo biologico e alcuni dati sull'accrescimento di *Penilia avirostris* Dana della Baia di Sebastopoli. *Tr. Sevastopol' sk Biol. Stat. Akad. Nauk SSSR*, 11, pp. 54-62 (traduzione italiana dal russo).
- STROSS, R.G., 1966. — Light and temperature requirements for diapause development and release in *Daphnia*. *Ecology*, 47, pp. 368-374.
- STROSS, R.G. and HILL, J.C., 1968. — Photoperiod control of winter diapause in the fresh-water crustacean, *Daphnia*. *Biol. Bull.*, 134, pp. 176-198.
- SUDLER, M.T., 1899. — The development of *Penilia schmackeri* Richard. *Proc. Boston Soc. Nat. Hist.*, 29, pp. 109-132.
- ZAFFAGNINI, F., 1960. — Osservazioni morfologiche e citometriche sulla genesi delle uova partenogenetiche in *Daphnia magna*. I parte. *Arch. Zool. Ital.*, 45, pp. 125-158.
- ZAFFAGNINI, F., 1961. — Formazione di un follicolo ovarico e sua funzione nella genesi delle uova partenogenetiche in *Daphnia magna*. *Caryologia*, 14, pp. 231-243.
- ZAFFAGNINI, F., 1964. — Genesi delle uova anfigoniche e formazione dell'efippio in *Daphnia magna*. *Boll. Zool.*, 31, pp. 697-716.
- ZAFFAGNINI, F., 1964a. — Prime indagini sul controllo endocrino della muta e della riproduzione in *Daphnia magna* (Crustacea:Cladocera). *Arch. Zool. Ital.*, 49, pp. 157-176.