

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

LORETO ROSSI, ALESSANDRA MANASSERO, GIOVANNA  
VITAGLIANO TADINI

**Cure parentali «marsupiali» in *Asellus aquaticus* (L.)  
(Crust. Isop.)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 58 (1975), n.3, p. 433–440.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1975\\_8\\_58\\_3\\_433\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_58_3_433_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/>



**Ecologia.** — *Cure parentali «marsupiali» in Asellus aquaticus (L.) (Crust. Isop.)* (\*). Nota di LORETO ROSSI, ALESSANDRA MANASERO e GIOVANNA VITAGLIANO TADINI, presentata (\*\*) dal Socio G. MONTALENTI.

SUMMARY. — A certain percentage (34%) of the females in wild populations of the fresh water Isopod *Asellus aquaticus* (L.) open their marsupia, and about 40% of their embryos are lost in the water.

Such an ejection is due to the presence of dead embryos in the marsupium, and this presence is 'perceived' by the mother, who gets rid of them operating a true counter-selection.

It is possible to interpret the phenomenon as a kind of parental care, in that the female avoids to lose the whole progeny by the removal of the dead.

The causes of mortality in embryos have been valued by *in vitro* culture of the embryos themselves.

In seguito a controlli periodici del numero <sup>(1)</sup> delle uova partorite nel marsupio da femmine di *Asellus* [1], controlli protratti fino alla deposizione delle larve nell'acqua, abbiamo riscontrato una diminuzione del loro numero. Accurate osservazioni ci hanno consentito di stabilire che la presenza di embrioni morti nel marsupio, stimola la femmina ad aprirlo permettendo così la fuoriuscita degli stessi.

Il fenomeno è stato sottoposto ad indagine sperimentale allo scopo di stabilire con certezza statistica la presenza in questi Isopodi di una forma di cura parentale che consente mediante l'espulsione selettiva dei morti la sopravvivenza delle uova normali.

#### METODO

Sono stati seguiti dal parto alla deposizione nell'acquario 1429 embrioni, ottenuti da 175 femmine di cui 35 (provenienti da 7 famiglie) incrociate con maschi selvatici ed altre 40 (provenienti da 8 famiglie) con maschi fratelli. Altre 882 uova partorite da 42 femmine (incrociate con maschi selvatici) sono state prelevate dal marsupio appena fecondate e poste in coltura (fino allo stadio larvale) in capsule di vetro sterili contenenti una soluzione fisiologica da noi sperimentata <sup>(2)</sup>, la cui concentrazione ionica è riportata in Tabella I. Il liquido nelle capsule era mantenuto in movimento da un agitatore elettrico con un periodo di 1,2 sec. Per impedire che il motore dell'agitatore riscaldasse la soluzione fisiologica, è stato necessario allevare le uova in camera termostatica a temperatura leggermente più bassa (15 °C) di quella abituale.

(\*) Il lavoro è stato eseguito presso il Centro di Genetica Evoluzionistica, presso l'Istituto di Genetica dell'Università di Roma, diretto dal prof. G. Montalenti.

(\*\*) Nella seduta dell'8 marzo 1975.

(1) Il conteggio delle uova fecondate non presenta grosse difficoltà perché il marsupio è trasparente.

(2) Partendo da notizie prese da «The Physiology of Crustacea» [2].

TABELLA I.

*Concentrazione in gr % degli ioni presenti nel mezzo di coltura.*

Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Cl <sup>-</sup>	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
3,43	0,104	0,072	0,012	5,10	0,053	0,726

Gli ioni H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> e HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> sono presenti come sali di Na.

La soluzione fisiologica veniva sostituita ogni due giorni. I controlli al microscopio venivano effettuati giornalmente, gli eventuali morti erano tolti sterilmente.

In ogni capsula da 10 cm di  $\varnothing$  con 20 cc di soluzione fisiologica venivano coltivati non più di 6 embrioni. Le uova di un singolo marsupio venivano suddivise in 4-5 o 6 capsule, a seconda del loro numero totale <sup>(3)</sup>. Nei calcoli statistici sulla mortalità abbiamo sempre tenuto conto della distribuzione dei morti per capsula. Infatti se in ogni capsula muore lo stesso numero di embrioni si può pensare ad una mortalità legata a fattori genetici, se invece in cinque capsule nessun embrione muore, mentre nella sesta muoiono tutti, è chiaro che la morte nella sesta capsula è dovuta a cause traumatiche o infettive essendo gli embrioni delle sei capsule tutti fratelli; in questo caso l'esperimento viene ripetuto.

#### RISULTATI

Nella Tabella II vengono riportati il numero e la percentuale di femmine che espellono embrioni dal marsupio.

In 12 femmine su 35 (di quelle incrociate con maschi selvatici) sono state riscontrate numerose uova morte che sono state in seguito espulse <sup>(4)</sup>. La totalità delle femmine incrociate con maschi fratelli ha partorito molte uova che in seguito sono morte e sono state espulse. Il numero delle uova partorite e l'entità dell'espulsione vengono descritte nella Tabella III.

In questa Tabella si vede che la percentuale di uova espulse dalle 12 femmine incrociate con maschi selvatici è molto elevata (42 %). Nell'incrocio con maschi consanguinei l'entità delle uova espulse è altissima (60 %).

Il calcolo del  $\chi^2$  tra i due esperimenti è stato fatto solo sulle femmine che hanno espulso le uova dal marsupio. Come si vede il valore è molto elevato e significativo; questo ci fa pensare che fra le coppie consanguinee molti morti sono dovuti ad omozigosi di letali recessivi [3, 4].

(3) Denominate per famiglia A, A', A'', A'''... B, B', B'', B'''...

(4) Vedi p. 2 «METODO».

TABELLA II.

*Numero e percentuale di femmine che espellono dal marsupio.*

♀♀ \ ♂♂	SELVATICI		CONSANGUINEI	
	N.	%	N.	%
Con espulsione . . . . .	12	34	40	100
Senza espulsione . . . . .	23	66	0	0
TOTALE . . . . .	35	—	40	—

TABELLA III.

*Numero e percentuale di embrioni espulsi dal marsupio.*

	N. ♀♀	EMBRIONI				
		Partoriti (*)		Espulsi		
		N.	N.	%		
♀♀ × ♂♂ non consanguinei . . . . .	23	471	0	—	$\chi^2 = 21,44$ $n = 1$	
	12	214	90	42		
♀♀ × ♂♂ consanguinei . . . . .	40	744	446	60	P < 0,0001	

(\*) Con «partoriti» si intende l'immissione di embrioni nel marsupio.

Dopo aver accertato l'omogeneità all'interno di ogni famiglia (4), nella Tabella IV sono confrontate statisticamente le tre famiglie le cui femmine sono state incrociate con maschi selvatici e nella Tabella V le otto famiglie (4) le cui femmine sono state incrociate con ♂♂ fratelli; in ambedue i casi l'analisi statistica denuncia omogeneità nell'espulsione (nell'incrocio ♀♀ × ♂♂ selvatici  $42 \pm 3,3$  %; nell'incrocio ♀♀ × ♂♂ consanguinei  $60 \pm 1,8$  %).

Essendoci parsa impressionantemente elevata tanto la percentuale di femmine che espelle i figli dal marsupio, quanto l'entità dell'espulsione, abbiamo ripetuto l'esperimento allo scopo di eliminare ogni possibile trauma da parte degli sperimentatori, sono state cioè poste in coltura (4) sterili uova appena fecondate dopo averle disinfettate. Queste uova erano state partorite da un altro lotto di 42 femmine fecondate da maschi selvatici.

Come si vede nella Tabella VI una certa percentuale (33 %) di femmine hanno partorito 294 uova delle quali il 29 % sono morte in coltura. Le restanti 28 femmine hanno partorito 588 uova tra le quali - *in vitro* - c'è stata una bassissima mortalità.

TABELLA IV.

*Test di eterogeneità nell'espulsione tra 12 ♀♀ (appartenenti a 3 famiglie) incrociate con ♂♂ selvatici*

FAMIGLIA	EMBRIONI			
	Sopravvissuti	Morti	Totali	
A	69	48	117	$n = 2$
B	34	30	64	$\chi^2 = 1,0996$
C	21	12	33	n.s.
TOTALI . . . . .	124	90	214	

TABELLA V.

*Test di eterogeneità nell'espulsione di 40 ♀♀ (appartenenti a 8 famiglie) incrociate con ♂♂ consanguinei*

FAMIGLIA	EMBRIONI			
	Sopravvissuti	Morti	Totali	
A	73	122	195	$n = 7$ $\chi^2 = 8,1284$ n.s.
B	32	70	102	
C	28	49	77	
D	22	32	54	
E	26	34	60	
F	42	48	90	
G	37	48	85	
H	38	43	81	
TOTALI . . . . .	298	446	744	

Nel confronto con la Tabella II si vede che la percentuale di femmine che espellono e quella delle femmine le cui uova muoiono in cultura sono del tutto simili (34 e 33 %).

Una volta controllata statisticamente l'omogeneità all'interno di ogni gruppo <sup>(5)</sup> di embrioni, i gruppi sono confrontati fra di loro in Tabella VII; come si può facilmente osservare dai risultati dell'analisi statistica, il loro comportamento è assolutamente omogeneo (mortalità  $29 \pm 2,6$  %).

(5) Sono stati confrontati solo i gruppi di embrioni fratelli all'interno dei quali la mortalità è stata superiore al 5%.

TABELLA VI.

*Mortalità embrionale in Asellus aquaticus (♀ × ♂ selvatici) nella coltura in vitro*

	♀♀		EMBRIONI		
	N.	%	Posti in coltura	Morti	
				N.	%
	28	67	588	31	5
	14	33	294	85	29
TOTALE . . . . .	42	—	882	116	13

TABELLA VII.

*Test di eterogeneità fra 14 gruppi di embrioni fratelli (partoriti da 14 ♀♀ × ♂♂ selvatici) coltivati in vitro.*

FAMIGLIA	EMBRIONI			
	Sopravvissuti	Morti	Totali	
A	12	5	17	$n = 13$ $\chi^2 = 2,5791$ n.s.
B	10	5	15	
C	10	5	15	
D	13	5	18	
E	12	3	15	
F	35	13	48	
G	15	7	22	
H	15	5	20	
I	21	9	30	
L	17	7	24	
M	14	5	19	
N	14	4	18	
P	10	6	16	
Q	11	6	17	
TOTALI . . . . .	209	85	294	

TABELLA VIII.

*Confronto statistico tra il numero di embrioni sopravvissuti nel marsupio e nella coltura in vitro.*

	Sopravvissuti	Morti	Totali	$\chi^2 = 9,63$ $n = 1$ $p < 0,002$
Embrioni allevati <i>in vitro</i> . . .	209	85	294	
Embrioni sviluppati nel marsupio	124	90	214	

Nella Tabella VIII è segnato il valore del  $\chi^2$  e la probabilità ad esso associata, nel calcolo comparato dei due esperimenti (embrioni coltivati *in vitro* ed embrioni sviluppati nel marsupio materno). Come si vede il basso valore della probabilità suggerisce la significatività della differenza esistente tra i valori di mortalità; infatti si nota che la differenza è altamente significativa in quanto la mortalità *in vitro* è molto inferiore al numero delle uova espulse.

#### DISCUSSIONE E CONCLUSIONE

Il fenomeno da noi osservato (e cioè della diminuzione del numero degli embrioni nel sacco marsupiale materno entro il quale si sviluppano fino alla deposizione nell'acqua i piccoli dell'Isopode *Asellus aquaticus*) può essere spiegato, ipotizzando che la diminuzione numerica sia dovuta ad una espulsione attiva da parte della madre quando alcuni degli embrioni muoiono.

Tutto il fenomeno si può schematizzare in una sequenza di eventi:

- 1) Manifestazione della morte di alcuni embrioni.
- 2) Generazione e percezione di un segnale.
- 3) Espulsione.

Il segnale la cui natura non ci è ancora nota, ma che a nostro avviso può essere chimica o tattile, viene percepito dalla madre e la induce rapidamente a creare entro il sacco marsupiale dei vortici d'acqua <sup>(6)</sup> che fanno ruotare tutti gli embrioni; in seguito a questa rotazione il morto (o i morti) vengono portati ad occupare una posizione tale che la loro caduta nell'acqua è inevitabile se il marsupio viene leggermente aperto.

Ricerche sperimentali e calcoli statistici ci hanno consentito di stabilire che la madre:

- 1) opera una vera e propria selezione contro i morti;
- 2) commette però alcuni errori nell'espellere i figli morti, in quanto ne perde alcuni vitali.

(6) Anche in condizioni normali la femmina di questi Isopodi provvede ad uno scambio idrico con l'esterno creando delle vere e proprie correnti d'acqua.



I dati a favore di una selezione contro i morti sono:

A) *Sperimentali.*

a) il fenomeno dell'espulsione cessa non appena cade nella vasca di allevamento l'ultimo embrione morto.

b) Lo stadio embrionale in cui inizia l'espulsione è particolare per ogni femmina; per alcune inizia subito dopo il parto delle uova nel marsupio, per altre inizia dopo il terzo o quarto giorno e per altre a raggiungimento della vita larvale;

c) il fenomeno è tipico di una famiglia. Cioè le femmine che hanno espulso sono sorelle;

d) in coltura *in vitro* la distribuzione dei morti per capsula non è casuale, infatti in tutte le capsule in cui erano state suddivise le uova di un singolo marsupio si è manifestata la stessa mortalità. E propriamente il 33 % delle femmine ha partorito uova che – coltivate *in vitro* – hanno subito una mortalità del  $29 \pm 2,6$  % per capsula (vedi Tabella VII).

B) *Statistici.*

Il numero delle uova vitali che restano nel marsupio in seguito all'espulsione è prossimo al 60 % in tutte le femmine (vedi Tabella III); mentre se il fenomeno fosse casuale dovrebbe esservi una fortissima variabilità tra i vari sacchi marsupiali (vedi Tabelle IV e V).

I dati che provano la presenza di un certo errore materno quando tenta di espellere dal marsupio esclusivamente i morti, si ricavano dal confronto numerico e statistico tra gli embrioni superstiti nel marsupio e nelle colture *in vitro*. Infatti i superstiti sono sempre prossimi al 60 % nel marsupio e al 71 % nelle colture (Tabella VIII).

D'altra parte «l'errore» è molto facile da spiegare: infatti per quanto sia giusta la posizione che i morti vengono ad assumere nel marsupio, per quanto sia breve il tempo di apertura del marsupio, è inevitabile che un certo numero di uova sane venga perduto. Nelle colture – sterili – i morti rappresentano il *reale* numero di individui che sarebbero stati espulsi se fossero rimasti nel marsupio materno. La differenza fra i morti in coltura ed i figli espulsi dal marsupio materno è però molto piccola e ci dice che la madre percepisce di non aver (o di avere) più figli morti nella cavità marsupiale.

Da ultimo asseriamo che molto probabilmente la morte degli embrioni è imputabile a cause genetiche e non ambientali, infatti:

1) Se la morte degli embrioni fosse dovuta a traumi od a malattie il numero dei colpiti dovrebbe essere del tutto casuale in ogni sacco marsupiale, mentre l'espulsione è costantemente prossima al 40 % (vedi Tabella III e IV) e la morte degli embrioni in coltura *in vitro* per capsula di allevamento è prossima al 29 % (vedi Tabella VI e VII).

2) La differente – significativa – entità dell'espulsione (Tabella III) tra le femmine fecondate da maschi fratelli con quella effettuata dalle femmine

fecondate da maschi selvatici, ci porta a stabilire che il carico di geni letali embrionali nella specie è veramente alto.

È nostra intenzione indagare sulla natura chimica (o tattile) del segnale che innesca il meccanismo espulsivo. Per adesso vogliamo mettere in risalto che il fenomeno della espulsione (avvenendo in singoli sacchetti marsupiali) rappresenta un magnifico strumento per uno studio statistico dei fenomeni causali (espulsione selettiva dei morti) in cui interviene un certo grado di casualità (errore materno nell'espulsione).

Possiamo concludere:

1) Nell'Isopode d'acqua dolce *Asellus aquaticus* (L), una certa percentuale di femmine apre il marsupio (entro il quale avviene lo sviluppo embrionale dei figli) lasciandone cadere nell'acqua una percentuale vicina al 40% (vedi Tabella III).

2) Tale espulsione si può mettere in relazione con la presenza di embrioni morti nel marsupio di cui la femmina « percepisce » la presenza e di cui si libera operando una vera contro selezione.

3) Il comportamento delle femmine ha un importante significato evolutivo in quanto la madre, con l'eliminazione dei figli morti attua una forma di cura parentale evitando la probabile morte della totalità della prole.

4) Il fenomeno dell'espulsione selettiva di alcuni genotipi dai sacchi marsupiali rappresenta uno strumento molto interessante di indagine statistica dei fenomeni causali (espulsione selettiva dei morti) in cui interviene un certo grado di casualità (errore materno nell'espulsione).

#### BIBLIOGRAFIA

- [1] BALESDENT-MARQUET M. L. (1964) - *Recherches sur la sexualité et le déterminisme des caractères sexuels d'Asellus aquaticus* (L) (*Crust Isop.*). Thèse Univers. Nancy.
- [2] TALBOT H. WATERMAN (1960-1961) - *The Physiology of Crustacea*, 1, 2. Accad. Press, New York and London.
- [3] VITAGLIANO TADINI G. e VALENTINO F. (1964) - *Dati sull'idoneità di vari tipi di incroci fra non consanguinei e fra consanguinei in Asellus aquaticus*, « Atti A.G.I. », 9.
- [4] VITAGLIANO TADINI G. e VALENTINO F. (1964) - *Accumulo di geni letali in popolazioni di Asellus aquaticus di diversa origine geografica*, « Boll. Zool. », 31, (2).