
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ROBERTO BERTOLANI

**Presenza di un biotipo partenogenetico e suo effetto
sul rapporto-sessi in *Macrobiotus hufelandi*
(Tardigrada)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 54 (1973), n.3, p. 469-473.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1973_8_54_3_469_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/>

Zoologia. — *Presenza di un biotipo partenogenetico e suo effetto sul rapporto-sessi in Macrobiotus hufelandi (Tardigrada) (*)*. Nota di ROBERTO BERTOLANI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — In samples of *Macrobiotus hufelandi* found near Andalo (Trento) the sex-ratio changes in different places of the same rock (from 1:1 to 1:4).

The caryological examination of the spanandric population (sex-ratio = 1:4) shows that many animals have 12 chromosomes in the mitoses and 6 bivalents in the meiotic prophase, as in the appenninic populations, but most of the females have 18 chromosomes in the mitoses and the same number of univalents in the ovarian eggs. Therefore in some sites of the rock two sympatric populations are present, one being bisexual and diploid and the other thelytokous and triploid.

These results explain previous data of spanandric populations and of populations without males in *M. hufelandi*.

The presence in the same species of both biotypes, one amphigon and the other having ameiotic parthenogenesis is a frequent event among the Tardigrades.

È stato in precedenza riferito che le popolazioni di *Macrobiotus hufelandi* dell'Appennino modenese e reggiano sono bisessuate ed hanno un normale (1:1) rapporto-sessi [1]; l'analisi cromosomica di questi animali ha precisato che nelle mitosi somatiche e goniali sono presenti 12 cromosomi e nella prima metafase meiotica 6 bivalenti [2]. Va ricordato in proposito che in una popolazione tedesca della stessa specie è stato riscontrato un rapporto-sessi a favore delle femmine (1:8) e completa assenza di maschi in un'altra popolazione vicina [3].

In questa Nota sono esposti i risultati ottenuti dall'esame di una popolazione di *Macrobiotus hufelandi* Schultze rinvenuta nel Trentino (Andalo, Val di Non) su un masso calcareo (circa 2 m² di superficie) emergente da un prato e parzialmente rivestito da muschi e licheni; da questi substrati sono stati isolati i Tardigradi e le loro uova. Le uova ed alcuni individui, inclusi in polivinil-lattofenolo o in liquido di Faure-Berlese, hanno accertato la presenza delle seguenti specie: *Echiniscus trisetosus* Cuénot, *Hypsibius oberhaeuseri* (Doyère), *Macrobiotus hufelandi* Schultze, *Macrobiotus intermedius* Plate e *Milnesium tardigradum* Doyère. Per lo strano comportamento del rapporto-sessi, il mio interesse è stato attirato da *Macrobiotus hufelandi*, che è stato distinto da *M. intermedius* esaminando con attenzione gli esemplari a forte ingrandimento. Poichè nei maschi di *M. hufelandi* italiano non ho mai riscontrato la sporgenza sul 4° paio di zampe descritta da Baumann [3], il sesso è stato determinato in base alla morfologia della gonade, osservata

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia Comparata dell'Università, via Berengario, 14, 41100 Modena.

(**) Nella seduta del 10 marzo 1973.

in preparati semipermanenti di animali colorati *in toto* con orceina acetolattica.

Un primo esame, compiuto nell'aprile dello scorso anno, aveva fatto sorgere il sospetto che il rapporto-sessi variasse a seconda della zona del masso dalla quale provenivano i muschi. Successivi esami, compiuti nell'estate e nell'autunno, hanno confermato il sospetto: infatti nei campioni di muschi e licheni esposti a Nord sono stati riconosciuti 147 maschi e 136 femmine su un totale di 360 *M. hufelandi* ed in quelli esposti a Sud 55 maschi e 131 femmine su 256. Gli animali in cui non è possibile precisare il sesso presentano in ambedue le zone un'elevata incidenza (23-27%), tuttavia il calcolo statistico ha stabilito che la diversa frequenza dei maschi tra le due zone ($\chi^2 = 24,55$; $P < 0,005$), come pure quella delle femmine ($\chi^2 = 10,39$; $P < 0,005$) è significativa. Questo primo risultato ha indotto a compiere un'esame cariologico di *M. hufelandi* del lato Sud del masso. Sono stati esaminati complessivamente 670 animali.

Una prima analisi ha messo in evidenza che, mentre tutti i maschi e parte delle femmine possiedono 12 cromosomi nelle mitosi somatiche e goniali (fig. 1) e 6 bivalenti alla prima metafase meiotica, come avviene nelle popolazioni emiliane [2], la maggioranza delle femmine, invece, presenta 18 cromosomi nelle mitosi somatiche e goniali (fig. 5); poichè le femmine con 18 cromosomi hanno la stessa morfologia generale di quelle con 12, l'ipotesi più ovvia è di considerarle triploidi. Essendo i cromosomi mitotici di *M. hufelandi*, come quelli noti in altri Tardigradi, piccoli, puntiformi e senza un evidente centromero, è inutile la costruzione di cariogrammi idonei a documentare la triploidia; i cromosomi degli ovociti sono più voluminosi di quelli mitotici, ma poichè conservano le stesse caratteristiche morfologiche e dimensioni uniformi, neppure essi si prestano a dare cariogrammi utili. L'analisi di alcuni processi che si verificano durante la maturazione gametica degli ovociti ha però fornito risultati interessanti che confermano la triploidia delle femmine a 18 cromosomi.

Nelle femmine diploidi il nucleo dell'ovocita al termine dell'auxocitosi ha un diametro di 18-20 μ , presenta un nucleolo voluminoso (8-9 μ) e dei sottili e lunghi filamenti cromosomici, sinuosi e poco colorati, che non si prestano ad un conteggio ed a mettere in evidenza fenomeni di sinapsi. Successivamente il nucleolo si riduce volumetricamente mentre i filamenti si accorciano, appaiono più colorati e, sebbene ancora allungati, si risolvono in sei corpi cromatici; poichè il loro numero è la metà di quello riscontrato nelle mitosi somatiche e goniali, anche se non si notano fessurazioni, l'appaiamento dei cromosomi omologhi deve ritenersi avvenuto; pertanto i sei corpi cromatici vanno interpretati come bivalenti; infatti l'esame degli stadi successivi ha messo in evidenza la presenza di chiasmi (fig. 2) e talora dei quattro cromatidi di ciascun bivalente quando il nucleolo sta per scomparire (4 μ); quando il nucleolo è scomparso, i bivalenti sono più corti e larghi (fig. 3) e non si ravvisa in essi traccia di chiasmi. Nella metafase I (fig. 4) i bivalenti hanno raggiunto la massima contrazione, anche se sono molto più voluminosi

dei cromosomi mitotici; se osservati in fuso, essi spesso mostrano i quattro cromatidi costitutivi. A questo stadio l'uovo è pronto per la deposizione; in due occasioni ho tuttavia osservato ovociti in anafase I nella gonade.

Queste osservazioni documentano che negli ovociti delle femmine diploidi si verificano i normali quadri della prima profase meiotica; data l'esistenza di maschi a data la presenza di spermatozoi nel ricettacolo seminale di alcune femmine, si deve concludere che gli ovociti appartengono ad individui di una popolazione anfigonica.

Nelle femmine triploidi il nucleo degli ovociti al termine dell'auxocitosi presenta maggiori dimensioni (circa 25 μ), ma aspetti simili a quelli degli ovociti delle femmine diploidi: il nucleolo è un po' più voluminoso (11 μ) e si osserva un più elevato numero di filamenti poco colorati (fig. 6); in stadi successivi i filamenti si accorciano e si ispessiscono trasformandosi in 18 corpi cromatici, con estremità colorate e zona centrale chiara; mai sono stati osservati fenomeni di appaiamento tra corpi cromatici ed il loro numero resta sempre uguale a quello dei cromosomi mitotici; ne consegue che i 18 corpi cromatici sono univalenti. Con il proseguire della spiralizzazione dei corpi cromatici, la zona centrale si riduce ad una sottile fessura chiara che separa i due cromatidi costitutivi (fig. 7). Negli ovociti pronti alla deposizione i cromosomi, diversamente da quanto è stato osservato finora in altri Tardigradi [4], appaiono dispersi in una vescicola chiara di forma allungata (fig. 8), talvolta separati in due gruppi numericamente ineguali; una disposizione simile è stata descritta da Seiler in *Otiorrhynchus* [5] e da Stefani in *Haploembia* [6], ed è stata interpretata come una divisione abortiva.

Sia per gli ovociti diploidi, che per quelli triploidi, mancano le osservazioni delle fasi successive alla prima metafase meiotica, perchè la deposizione non è mai avvenuta in laboratorio e in natura non si sono trovate uova appena deposte; tuttavia, anche se il quadro non è completo, è possibile individuare le differenze essenziali tra i due tipi di maturazione degli ovociti. Mentre infatti nelle femmine diploidi la profase meiotica si effettua normalmente, nelle femmine triploidi, invece, la profase è ameiotica poichè in essa non avvengono fenomeni di appaiamento (formazione di bivalenti) e pertanto si effettua una divisione di tipo mitotico.

Giova inoltre ribadire che l'accurata analisi morfologica degli animali non ha messo in evidenza differenze che permettano di distinguere gli individui diploidi da quelli triploidi.

Sulla base dei dati esposti risulta quindi che *M. hufelandi* del Trentino non è un raggruppamento omogeneo di individui, bensì l'insieme di due popolazioni che presentano la stessa morfologia, ma possiedono diverso numero cromosomico e diverse modalità riproduttive. La presenza di biotipi anfigonici e partenogenetici, tra i Tardigradi, è già stata osservata in *Macrobiotus richtersi* [7] e *Hypsibius oberhaeuseri* [8], nei quali però la forma bisessuata vive isolata da quella partenogenetica. La novità riscontrata in *M. hufelandi* è costituita dal fatto che la popolazione diploide (bisessuata) e quella triploide (unisessuata) sono simpatriche: per questo motivo il rapporto-sessi si modifica

a favore delle femmine; però l'alterazione del rapporto-sessi non è effettiva, bensì è dovuta alla mescolanza di individui simili, ma appartenenti a due popolazioni indipendenti. In una precedente Nota è stata avanzata l'ipotesi che i rapporto-sessi atipici dei Tardigradi fossero dovuti alla coesistenza di forme bisessuate e partenogenetiche della stessa specie [8]; tale ipotesi trova una chiara verifica dall'esame cariologico delle popolazioni di *M. hufelandi* del Trentino. Questi risultati inoltre si prestano a spiegare le ragioni per cui in Germania sono state trovate, a breve distanza, popolazioni di *M. hufelandi* prive di maschi e popolazioni con rapporto-sessi di 1 : 8 [3]; mentre nel primo caso si doveva trattare di un biotipo partenogenetico, nel secondo caso invece era probabile la coesistenza di due biotipi (uno bisessuato ed uno partenogenetico).

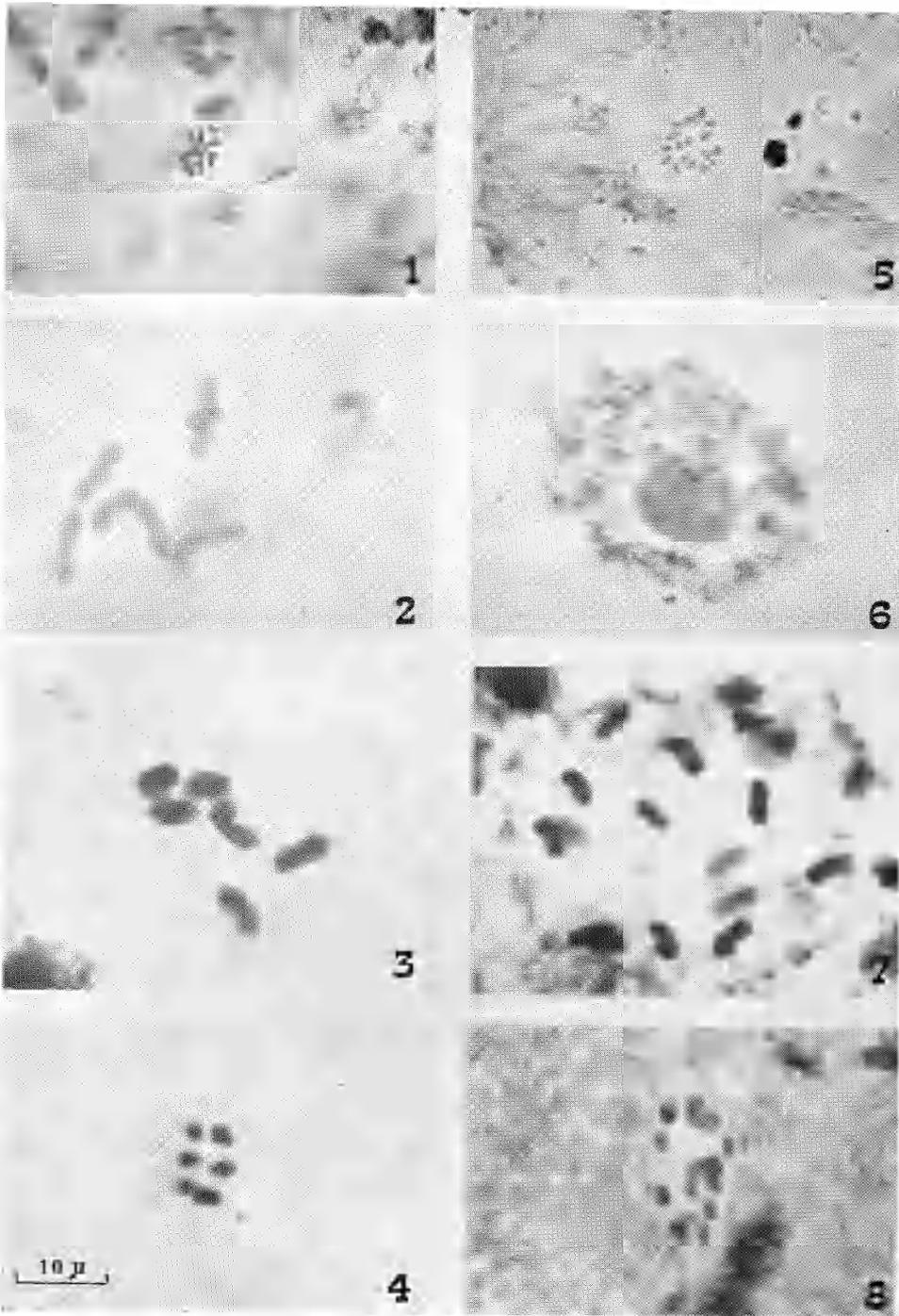
La variabilità del rapporto-sessi riscontrata in *M. hufelandi* del Trentino (da 1 : 1 a 1 : 4) è giustificata dall'incidenza degli individui partenogenetici nei singoli campioni. Alcuni dati in mio possesso, che mi riservo di documentare in seguito, indicano che il fenomeno è dovuto a fattori ambientali.

La partenogenesi che si verifica negli individui triploidi di *M. hufelandi* del Trentino è di tipo ameiotico e di conseguenza telitoca e obbligatoria; essa è già stata riscontrata in altre specie di Tardigradi (*M. richtersi* [7], *M. pseudo-hufelandi* [9] e *Hypsibius oberhaeuseri* [8]), anche in questo caso associata a condizioni di triploidia. Va ricordato che la presenza nella stessa specie di un biotipo anfigonico insieme ad un biotipo partenogenetico (o pseudogamico) con maturazione ameiotica è stata documentata anche in altri Invertebrati (Tricladi [10], Fillopodi [11], Isopodi [12], Embiotteri [6], Coleotteri [5, 13, 14] e Ditteri [15]).

Per quel che riguarda i Tardigradi, le specie di cui è noto il cariotipo sono solo una decina e tre di esse presentano biotipi anfigonici e biotipi a partenogenesi ameiotica; per cui se ne deduce che il fenomeno sia relativamente frequente. Va sottolineato che i biotipi con partenogenesi ameiotica, presenti nei Tardigradi, sono dei cloni isolati riproducibilmente dai biotipi anfigonici.

Concludendo. In una popolazione di *Macrobiotus hufelandi*, raccolta nei pressi di Andalo (Trento) il rapporto-sessi varia nelle diverse zone di uno stesso masso. L'esame cariologico sulla popolazione con pochi maschi dimostra che una parte di animali ha 12 cromosomi nelle mitosi e 6 bivalenti con chiasmi nella profase meiotica, come accade nelle popolazioni appenniniche [2], ma una parte delle femmine ha 18 cromosomi sia nelle mitosi che negli ovociti. Pertanto in alcune zone del masso vi sono due popolazioni simpatriche: l'una diploide e anfigonica, l'altra triploide e telitoca. Questi risultati spiegano precedenti annotazioni di popolazioni con pochi o nessun maschio in *M. hufelandi*.

La coesistenza in una specie di due biotipi, uno anfigonico e un altro con partenogenesi ameiotica, è un fenomeno relativamente frequente nei Tardigradi.



Mitosi (1), profase meiotica (2-3) e metafase I (4) nelle femmine del biotipo diploide; mitosi (5) e profase ovocitaria (6-8) nelle femmine triploidi di *M. hufelandi*. (Col.:orceina aceto-lattica. Tutte le foto ingrandite come in calce alla fig. 4).

BIBLIOGRAFIA

- [1] R. BERTOLANI, « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 50, 377-382 (1971).
- [2] R. BERTOLANI, « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 50, 772-775 (1971).
- [3] H. BAUMANN, « Veröff. Überseemus. Bremen », 4, 29-43 (1970).
- [4] R. BERTOLANI, « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 52, 220-224 (1972).
- [5] J. SEILER, « Chromosoma », 3, 88-109 (1947).
- [6] R. STEFANI, « Mem. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 5, 127-201 (1956).
- [7] R. BERTOLANI, « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 50, 487-489 (1971).
- [8] R. BERTOLANI, « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 51, 411-413 (1971).
- [9] R. BERTOLANI, « Boll. Zool. », 39, 577-581 (1972).
- [10] M. BENAZZI, « Caryologia », 10, 276-303 (1957).
- [11] C. BARIGOZZI, « Chromosoma », 2, 549-575 (1944).
- [12] A. VANDEL, « Bull. biol. France et Belg. (Fr.) », 62, 166-284 (1928).
- [13] E. SUOMALAINEN, « Chromosoma », 6, 627-655 (1954).
- [14] Y. TAKENOUCHI, « Jap. J. Genet. », 45, 457-466 (1971).
- [15] K. BLOCK, « Hereditas », 62, 357-381 (1969).