
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ROBERTO BERTOLANI

**Primo caso di una popolazione tetraploide nei
Tardigradi**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 55 (1973), n.5, p. 571–574.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1973_8_55_5_571_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. — *Primo caso di una popolazione tetraploide nei Tardigradi* (*). Nota di ROBERTO BERTOLANI, presentata (***) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — A sample of *Hypsibius oberhaeuseri* without males was found near Trento. The karyologic examination found that this sample is a tetraploid biotype ($4n = 24$) reproducing with an ameiotic parthenogenesis. Some quantitative inquiries about the tetraploid biotype and the two others (diploid and triploid) indicate that the somatic size increases with the ploidy.

The presence of three biotypes in *H. oberhaeuseri* demonstrates that some species of Tardigrada have a high level of complexity.

Nei Tardigradi la scoperta della partenogenesi è abbastanza recente; anche se da tempo esistevano sospetti sull'esistenza di questo fenomeno, solo una decina di anni fa esso è stato documentato citologicamente [1, 2]. È stato appurato che nei Tardigradi esiste la partenogenesi meiotica [2] e quella ameiotica [3]; a differenza della prima, descritta solo in biotipi diploidi [2], la seconda è stata riscontrata in alcuni biotipi triploidi (18 cromosomi) di forme in cui è noto anche un biotipo bisessuato e anfigonico diploide (12 cromosomi) [3-6]. La distribuzione dei due biotipi della stessa forma è diversa: *Macrobiotus richtersi* è presente in Toscana col biotipo diploide ed in Emilia con quello triploide [4]; *Hypsibius oberhaeuseri* presenta entrambi i biotipi nell'Appennino modenese; questi tuttavia, anche se rinvenuti in località molto vicine, non vivono insieme [5]; *Macrobiotus hufelandi* è invece presente col biotipo diploide in Emilia [7], mentre questo è simpatico con quello triploide in una località del Trentino [6].

I biotipi anfigonici e partenogenetici di una stessa forma si distinguono solo grazie all'analisi cariologica poiché presentano gli stessi caratteri morfologici utilizzati per la determinazione della specie; per questo motivo si è ritenuto opportuno estendere le ricerche ad altre popolazioni, soprattutto di quelle specie che presentano un'ampia distribuzione geografica.

Questa Nota riferisce i dati cariologici di una popolazione di *Hypsibius oberhaeuseri* (Doyère) rinvenuta ad Andalo, nel Trentino, sullo stesso substrato in cui erano presenti le due forme simpatiche di *Macrobiotus hufelandi* [6].

I metodi di analisi utilizzati sono i medesimi di precedenti ricerche sulla cariologia dei Tardigradi: polivinil lattefenolo per la diagnosi sistematica degli animali e delle uova, orceina aceto-lattica per la colorazione dei cromosomi [7].

Tra gli individui di *H. oberhaeuseri* del Trentino i maschi sono assenti; i tipici caratteri morfologici delle femmine di questa popolazione sono eguali

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

(**) Nella seduta del 26 novembre 1973.

a quelli delle popolazioni emiliane prese in esame in una precedente Nota [5]; sarebbe interessante un accurato confronto tra le popolazioni per evidenziare eventuali differenze quantitative.

L'analisi cariologica è stata condotta su 120 esemplari di sesso femminile. Nelle metafasi di cellule goniali si osservano 24 cromosomi di aspetto rotondeggiante, lunghi $0,8-1 \mu$ e compresi in una piastra di circa 6μ di diametro (Tav. I, fig. 1). Mitosi sono state osservate anche nell'intestino medio (tra le cellule di transizione) e nei globuli cavitari; esse in metafase hanno un diametro inferiore ($4-4,5 \mu$) e mostrano 22-24 cromosomi più ravvicinati, ma di dimensioni simili a quelli delle cellule goniali.

Il nucleo degli ovociti in auxocitosi o non si colora, o ha una debolissima colorazione, per cui solo in qualche caso si intravede il nucleolo, ma non si riescono ad evidenziare strutture cromatiche; terminata l'auxocitosi i cromosomi divengono evidenti e appaiono come 24 filamenti contorti che risultano non appaiati; essi diventano più corti ($3-2 \mu$) e tozzi quando il diametro nucleare è di $20-22 \mu$ ed il nucleolo è ridotto (4μ). Ognuno dei 24 cromosomi metafasici si presenta come una coppia di sferule (lunga $1,5-2 \mu$); i cromosomi sono regolarmente ordinati in piastra (di $9-11 \mu$ di diametro) (Tav. I, fig. 2), come avviene in tutti i biotipi diploidi e triploidi dei Tardigradi ad esclusione del biotipo triploide di *M. hufelandi*.

Va accennato al fatto che in tutti i biotipi di *H. oberhaeuseri* i cromosomi metafasici degli ovociti sono di lunghezza doppia rispetto a quella dei cromosomi mitotici; in questo caso cioè le differenze riscontrate tra i cromosomi mitotici e meiotici non sono così accentuate come in *Macrobotus* [8].

In base a questi dati si deve ritenere che la popolazione trentina di *H. oberhaeuseri* sia costituita da individui tetraploidi. Anche se i cromosomi appaiono piuttosto uniformi, piccoli e senza un evidente centromero, tale asserzione può basarsi sul fatto che il numero cromosomico nei Tardigradi è piuttosto costante e le variazioni finora osservate nei biotipi poliploidi sono multiple del numero base $n = 6$. Per avere un'ulteriore conferma della poliploidia ed in attesa di dati citofotometrici, ho effettuato alcuni sondaggi orientativi sulle dimensioni cellulari tra individui appartenenti alle tre popolazioni di *H. oberhaeuseri*, prendendo in considerazione il diametro maggiore dei nuclei nei gangli nervosi ventrali; tali nuclei sono piccoli ($2-3 \mu$), uniformi, lievemente ovali e presentano cromatina a fitti granuli. Le misurazioni sono state effettuate su disegni alla camera lucida al massimo ingrandimento ($\times 1600$).

I risultati dell'elaborazione statistica (t di Student) dei dati ottenuti, (vedi Tabella I) dimostrano che vi sono differenze statisticamente significative tra le diverse classi di nuclei (Tav. I, figg. 3-5); inoltre il volume nucleare degli individui con 12 cromosomi è $2/3$ rispetto a quello con 18 cromosomi e la metà di quello degli individui con 24 cromosomi. Questi fatti confermano che l'aumento del volume nucleare è dovuto ad aumento del grado di ploidia, escludendo il dubbio che i numeri cromosomici più elevati siano dovuti a frammentazione cromosomica; ciò conferma che *H. oberhaeuseri* del Trentino è tetraploide.

TABELLA I.

Numero cromosomico	Nuclei considerati	Diametro medio (in μ)	t
12	52	$2,3 \pm 0,3$	} 4,5 ($p < 0,01$)
18	56	$2,6 \pm 0,3$	
24	56	$2,9 \pm 0,3$	} 6,4 ($p < 0,01$)

Poiché nei Tardigradi le cellule dei singoli tessuti hanno una costanza numerica secondaria [9], l'aumento del volume nucleare dovrebbe portare ad un proporzionale aumento di taglia somatica dei poliploidi: infatti la lunghezza media delle femmine diploidi risulta inferiore ($312 \pm 70 \mu$) a quella delle femmine tetraploidi ($361 \pm 46 \mu$), ma più indicativo è il fatto che solo poche femmine diploidi (10 %) raggiungono i 400μ di lunghezza, mentre ciò avviene con maggior frequenza (20 %) nella popolazione triploide, ma specialmente in quella tetraploide (36 %) ove si trovano individui che raggiungono 480μ .

Il biotipo tetraploide di *H. oberhaeuseri* del Trentino rappresenta una novità in quanto finora nei Tardigradi erano noti solo biotipi diploidi e triploidi; in questo biotipo la tetraploidia è associata a partenogenesi; com'era indicato dall'assoluta mancanza di maschi; l'assenza di appaiamento durante la profase ovocitaria indica che questa partenogenesi è di tipo ameiotico e ciò implica la telitochia e l'obbligatorietà. Va notato che l'appaiamento dei cromosomi negli animali tetraploidi partenogenetici è stato verificato solo in pochi casi; infatti, mentre esso si realizza in alcuni Oligocheti [10, 11] e Lepidotteri [12], non si effettua in Turbellari [13], altri Oligocheti [10], Crostacei fillopodì [14], Insetti ortotteri [15] e coleotteri [16]. Il tipo di regolazione gametica nel biotipo tetraploide di *H. oberhaeuseri* si attua in assenza di fenomeni meiotici, come nei biotipi triploidi della stessa [5] e di altre specie di Tardigradi [4, 6]; poiché la partenogenesi ameiotica implica un isolamento riproduttivo che impedisce ogni scambio genetico con altre popolazioni, i tre biotipi di *H. oberhaeuseri*, come i due di *Macrobotus hufelandi* e *M. richtersi*, dovrebbero considerarsi singole specie (specie *sibling*); tuttavia il termine di biotipo va mantenuto poiché, a parte il numero cromosomico, non è noto alcun altro carattere morfologico che permetta di distinguere tra loro le singole specie.

I dati cariologici finora raccolti dimostrano che nei Tardigradi, come in altri Invertebrati, la specie ha una complessità molto maggiore di quella risultante dall'esame dei caratteri utili per la sistematica. Ciò richiama l'attenzione su quei casi, non infrequenti tra i Tardigradi, in cui si rinvencono popolazioni con rapporto-sessi normale ed altre prive di maschi o con rapporto-sessi atipico. Va inoltre ricordato che i tre biotipi di *H. oberhaeuseri*, come i due di *M. hufelandi*, sono stati rinvenuti in una zona limitatissima dell'areale

della specie; ciò rappresenta un'ipoteca sulla effettiva esistenza di specie cosmopolite nei Tardigradi. È doveroso ricordare che in questi animali la complessità di alcune specie era stata sospettata dalla variabilità di alcuni caratteri morfologici: infatti Ramazzotti [17] aveva supposto che *Macrobotus hufelandi* comprendesse due o più razze. Pertanto lo studio cariologico si dimostra un mezzo prezioso per chiarire questo problema.

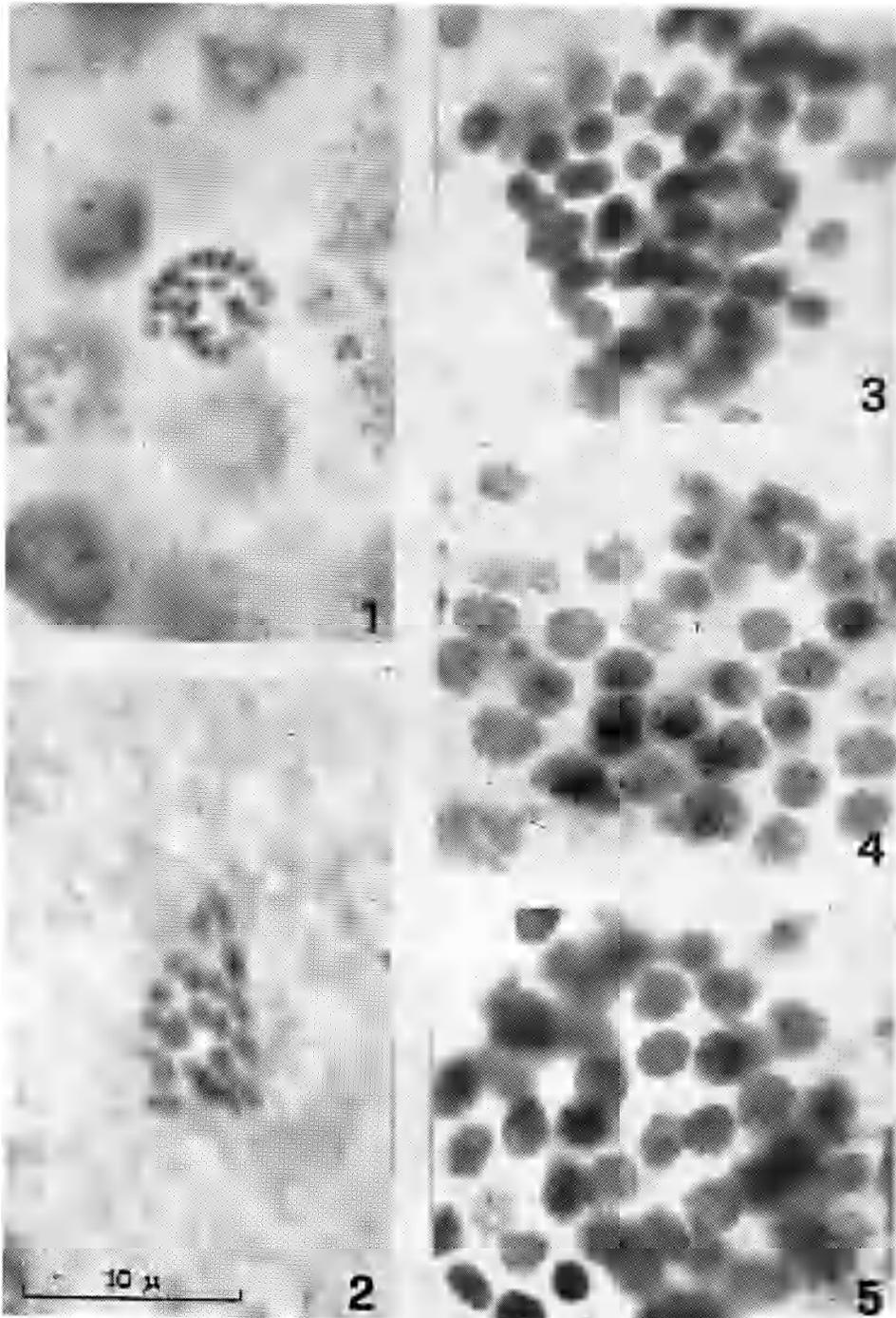
Va infine sottolineato il fatto, scaturito da questa ricerca, che una singola specie riesce a raggiungere lo stesso scopo, cioè la riproduzione e la diffusione, per vie diverse. *H. oberhaeuseri* presenta infatti almeno tre biotipi che sono riproduttivamente isolati, ma riescono a diffondersi anche in zone molto vicine; ho detto «almeno tre biotipi» poiché l'esame del materiale in osservazione fa prevedere che il loro numero sia destinato ad aumentare. Ricordo che specie, o gruppi di specie molto affini che si riproducono in maniera diversa, sono state già descritte in altri Invertebrati (*Rhabditis* [18, 19], *Artemia* [14, 20] e *Otiorrhynchus* [16]).

CONCLUSIONI

Nel Trentino è stata raccolta una popolazione di *Hypsibius oberhaeuseri* priva di maschi; l'esame cariologico ha dimostrato che essa rappresenta un biotipo tetraploide ($4n = 24$) che si riproduce mediante una partenogenesi ameiotica. Esami quantitativi tra il biotipo del Trentino e i due biotipi (diploidi e triploidi) dell'Emilia indicano che nei Tardigradi l'aumento della ploidia si accompagna ad un aumento della taglia somatica. L'esistenza di tre biotipi in *H. oberhaeuseri* dimostra che nei Tardigradi vi sono specie complesse.

BIBLIOGRAFIA

- [1] D. AMMERMANN, «Naturwiss», 49, 115 (1962).
- [2] D. AMMERMANN, «Chromosoma», 23, 203-213 (1967).
- [3] R. BERTOLANI, «Boll. Zool.», 39, 577-581 (1972).
- [4] R. BERTOLANI, «Rend. Acc. Naz. Lincei», ser. VIII, 50, 487-489 (1971).
- [5] R. BERTOLANI, «Rend. Acc. Naz. Lincei», ser. VIII, 51, 411-413 (1971).
- [6] R. BERTOLANI, «Rend. Acc. Naz. Lincei», ser. VIII, 54, 469-473 (1973).
- [7] R. BERTOLANI, «Rend. Acc. Naz. Lincei», ser. VIII, 50, 772-775 (1971).
- [8] R. BERTOLANI, «Rend. Acc. Naz. Lincei», ser. VIII, 52, 220-224 (1972).
- [9] R. BERTOLANI, «Rend. Acc. Naz. Lincei», ser. VIII, 49, 442-445 (1970).
- [10] S. MULDAL, «J. Heredity», 6, 55-76 (1952).
- [11] B. CHRISTENSEN, «Hereditas», 47, 387-450 (1961).
- [12] M. NARBEL-HOFSTETTER, «Chromosoma», 4, 56-90 (1950).
- [13] M. BENAZZI, «Caryologia», 10, 276-303 (1957).
- [14] C. BARIGOZZI, «Chromosoma», 2, 549-575 (1944).
- [15] R. MATHEY, «Rev. suisse Zool.», 48, 91-142 (1941).
- [16] E. SUOMALAINEN, «Chromosoma», 6, 627-655 (1954).
- [17] G. RAMAZZOTTI, «Mem. Ist. Ital. Idrobiol.», 28, 1-732 (1972).
- [18] K. BĚLAŘ, «Biol. Zentr.», 43, 513-518 (1923).
- [19] V. NIGON, «Ann. Sci. Nat.», 11, 1-132 (1940).
- [20] C. ARTOM, «Mem. R. Acc. Italia», Cl. Sci. Fis. Nat. Mat., 2, 1-57 (1931).



Metafase goniale (1) e ovocitaria (2) di *Hysibius oberhaeuseri* tetraploide. Nuclei di gangli nervosi ventrali in individui diploidi (3), triploidi (4) e tetraploidi (5) di *H. oberhaeuseri*.

(Col.orceina aceto-lattica; tutte le foto allo stesso ingrandimento).