
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ROBERTO BERTOLANI, GIAN PIERO BUONAGURELLI

Osservazioni cariologiche sulla partenogenesi meiotica di *Macrobiotus dispar* (Tardigrada)

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 58 (1975), n.5, p. 782–786.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_58_5_782_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. - *Osservazioni cariologiche sulla partenogenesi meiotica di *Macrobiotus dispar* (*Tardigrada*)* (*). Nota di ROBERTO BERTOLANI e GIAN PIERO BUONAGURELLI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — Having found no males during three years of breeding in *Macrobiotus dispar* the parthenogenesis has been demonstrated. The karyological examination has shown that *M. dispar* has a diploid meiotic and chiasmatic parthenogenesis and the restitutive process takes place at the beginning of the 2nd oocyte division.

Nei Tardigradi del genere *Macrobiotus* l'analisi cariologica ha permesso di distinguere, in alcune specie, la presenza di un biotipo diploide e anfigonico e di un biotipo poliploide e partenogenetico; il biotipo diploide presenta un rapporto-sessi di 1 : 1 [1]; in qualche caso i due biotipi sono separati geograficamente, come *M. richtersi* che in Toscana è anfigonico ed in Emilia è partenogenetico e triploide [2]; in altri casi, invece, i due biotipi sono simpatici, come avviene in *M. hufelandi* del Trentino ove il biotipo anfigonico diploide vive assieme a quello partenogenetico triploide [3]; in quest'ultimo caso vi è un alterato rapporto-sessi che può spiegare la ragione della rarità dei maschi riscontrata in altre popolazioni di Tardigradi [4, 5].

L'assenza di maschi ed alcune osservazioni cariologiche, oltre a dimostrare la partenogenesi in altri generi di Tardigradi [6], fanno ritenere che questo fenomeno si verifichi anche in altri *Macrobiotus* [7]. Va precisato che oltre alla condizione triploide è stata accertata anche una partenogenesi tetraploide in *M. hufelandi recens* di Cipro [7], ove i cromosomi degli ovociti sono numericamente pari a quelli delle mitosi, ma, a differenza dei casi precedenti, essi risultano formati da quattro cromatidi senza chiasmi e sono stati interpretati come pseudobivalenti, analogamente a quelli di una popolazione con partenogenesi triploide di *M. hufelandi* trovata presso il lago di Garda [7].

Tutte le osservazioni compiute nel nostro laboratorio sono state eseguite su animali raccolti in natura; esse si arrestano alla I^a metafase maturativa, cioè all'epoca della deposizione, poichè i tentativi di allestire allevamenti in laboratorio non avevano finora avuto successo. Ricordiamo che l'unico esame completo sulla gametogenesi dei Tardigradi è stato compiuto su una specie del genere *Hypsibius* (*H. dujardini*), ove la partenogenesi era stata sospettata per l'assenza di maschi in sei anni di allevamento in laboratorio: in questo caso gli ovociti presentano un appaiamento tardivo, i bivalenti

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia Comparata dell'Università di Modena (dir. prof. G.M. Baffoni), Via Berengario 14, 41100 Modena.

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

non esibiscono chiasmi e la restituzione cromosomica avviene per endomitosi dopo la deposizione dell'uovo e prima della 2^a divisione [8].

In questa Nota saranno riferiti i risultati delle osservazioni cariologiche di una popolazione di *Macrobotus dispar* Murray trovata nel laghetto della Chioggiola presso Pavullo (Appennino modenese) che siamo riusciti ad allevare in laboratorio in vaschette di Boveri tenute in armadi termostatici a 19 °C, esposte a luce diurna e contenenti alghe e acqua del laghetto di origine con aggiunta della soluzione Erd-Schreiber. In tre anni di allevamento non abbiamo mai osservato maschi; ripetute esperienze di isolamento di singole uova hanno rivelato la presenza di sole femmine, sempre feconde, per almeno tre generazioni successive. Ciò dimostra che *M. dispar* si riproduce per partenogenesi.

L'esame cariologico è stato compiuto su circa 70 femmine sessualmente mature e 300 uova, colorate *in toto* conorceina aceto-lattica ed eventualmente schiacciate; le uova di ogni singola deposizione (da 4 a 11) sono state fissate simultaneamente, o due a due a vari tempi dopo la deposizione con intervalli costanti (7 o 10 o 15 o 20 minuti) di tempo.

Rimandiamo ad una precedente Nota la descrizione delle mitosi somatiche, il numero ($2n = 10$) e la morfologia dei cromosomi mitotici di *M. dispar* [9]; va sottolineato che i cromosomi metafasici delle prime divisioni embrionali sono molto più grossi di quelli delle divisioni somatiche dell'adulto, hanno aspetto bastoncellare, sono disposti a raggera sul piano equatoriale (Tav. I, fig. 1) e, benchè il centromero non sia mai stato osservato, all'anafase si separano a partire dall'estremità rivolta verso il centro della piastra, comportandosi come cromosomi acrocentrici.

Negli ovociti ovarici di *M. dispar*, come in altri Tardigradi, i cromosomi ricompaiono solo verso il termine dell'auxocitosi, quando il nucleo raggiunge un diametro di 25 μ e contiene un nucleolo di 3,5 μ : essi si presentano come lunghi ed esili filamenti sinuosi di cui non è facile precisare il numero (Tav. I, fig. 2); successivamente i cromosomi subiscono una spiralizzazione e, quando il nucleolo è scomparso ed il diametro nucleare raggiunge 30-40 μ , si distinguono chiaramente 5 bivalenti, ancora allungati (12-15 μ) e sinuosi, ognuno dei quali presenta uno, più raramente due, chiasmi (Tav. I, figg. 3-5); a questo stadio di diplotene segue quello di diacinesi ove, continuando la spiralizzazione, i bivalenti si accorciano ulteriormente (6-3,5 μ) ed ognuno mette in evidenza la presenza dei quattro cromatidi costitutivi (Tav. I, fig. 6). Nella 1^a metafase i 5 bivalenti (lunghi 5-3,5 μ) si dispongono sul piano equatoriale in una piastra di 14-18 μ di diametro con due cromatidi orientati verso un polo e due verso l'altro (Tav. II, figg. 7, 8), senza presentare traccia di chiasmi. L'elevata frequenza di femmine con ovociti in metafase depone per una lunga durata di questo stadio. Non sono stati mai osservati ovociti ovarici che abbiano superato la 1^a metafase; pertanto le fasi successive del processo maturativo sono state descritte esclusivamente su uova deposte. In proposito abbiamo notato che quando la deposizione delle uova ha una breve durata tutte le uova presentano quadri cariologici

eguali, quando invece la deposizione è disturbata ed ha una lunga durata i quadri cariologici sono diversi: infatti se le uova deposte per ultime sono in metafase, le prime sono a stadi avanzati della maturazione; questo fatto e il blocco in metafase delle uova ovariche indicano che l'attivazione dell'uovo è determinata dalla deposizione.

Nelle uova deposte, alla metafase segue l'anafase (Tav. II, fig. 9) in cui si formano regolarmente due gruppi di cinque cromosomi; man mano però che questi si allontanano, si nota che un gruppo mantiene una disposizione simile a quella della metafase, mentre l'altro costituisce una piastra più piccola. Dopo di ciò per un tempo abbastanza lungo non sono stati osservati nell'uovo nè cromosomi, nè nuclei intercinetici. Lo stadio successivo è caratterizzato dalla ricomparsa dei cromosomi che risultano parzialmente despiralizzati e disposti su una piastra di 20-25 μ di diametro. Si tratta di 5 coppie di cromosomi, ciascuno dei quali evidenzia i due cromatidi costitutivi; abbiamo potuto osservare, anche nella stessa piastra, che in alcune coppie i due cromosomi sono attaccati, mentre in altre sono molto vicini e sullo stesso piano (Tav. II, fig. 10). Dopo di ciò tutti e 10 i cromosomi risultano separati (Tav. II, fig. 11) e tendono nuovamente a spiralizzarsi (Tav. II, fig. 12); al termine di questo processo si nota una piastra più piccola, simile per dimensione a quella della prima metafase, in cui l'aspetto di cromosomi a coppie è pressoché perduto (Tav. II, fig. 13). Avendo osservato in un solo caso l'anafase 2^a se ne deduce che questa è molto rapida; più di frequente i cromosomi non sono più osservabili; essi ricompaiono nel primo fuso di segmentazione in numero di 10 e, quando raggiungono la massima spiralizzazione, assumono un aspetto bastoncellare che li distingue dalle divisioni precedenti e che si conserva nelle divisioni di segmentazione immediatamente successive.

Questo è il primo caso di una partenogenesi diploide in *Macrobiotus*; la maturazione delle uova partenogenetiche di *M. dispar* si effettua seguendo una regolare profase meiotica. A questo proposito rimane da decidere quando avvenga la restituzione cromosomica. I fenomeni che si osservano nella seconda divisione maturativa si prestano infatti a due interpretazioni: o i due gruppi di cromosomi dopo la prima anafase si riuniscono appaiandosi, oppure il gruppo di cromosomi ravvicinati forma un nucleo polare che scompare e la restituzione avviene esclusivamente a carico dell'altro gruppo. A nostro parere la difficoltà di ammettere un secondo appaiamento (dopo quello della profase meiotica) rende più probabile la seconda ipotesi; tra l'altro la restituzione cromosomica descritta presenta quadri citologici simili a quelli di alcuni Oligocheti [10] e Nematodi [11].

A questo punto va stabilito un confronto tra i fenomeni cariologici riscontrati in *M. dispar* e quelli osservati in *Hypsibius dujardini* [8], cioè tra gli unici due biotipi che nei Tardigradi presentano una partenogenesi diploide. In ambedue i casi la partenogenesi è di tipo meiotico in quanto si ha formazione di bivalenti e quindi riduzione numerica dei cromosomi. Una sostanziale differenza, però riguarda la profase poiché in *H. dujardini* l'appaiamento si verifica solo immediatamente prima della metafase e non

è accompagnato dalla formazione di chiasmi, mentre in *M. dispar* l'appaiamento è normale e si verificano chiasmi: non può sfuggire l'importanza genetica di questa differenza poiché mentre *H. dujardini* è destinato all'omozigosi e all'immediata manifestazione di un'eventuale mutazione, *M. dispar*, invece, ha la possibilità di conservare l'eterozigosi nei tratti distali al chiasma ove le mutazioni possono accumularsi [12]. L'evoluzione successiva dei processi maturativi è comune nei due Tardigradi se si esclude l'osservazione, in sezioni istologiche di *H. dujardini*, della membrana nucleare dopo la prima anafase attorno ai due gruppi di cromosomi, uno dei quali dà luogo ai cromosomi che separandosi restituiscono il numero diploide e l'altro ad un nucleo polare che non viene espulso e che raramente si vede negli stadi successivi; in *M. dispar* la formazione della membrana nucleare, forse a causa della diversa tecnica impiegata, non si osserva.

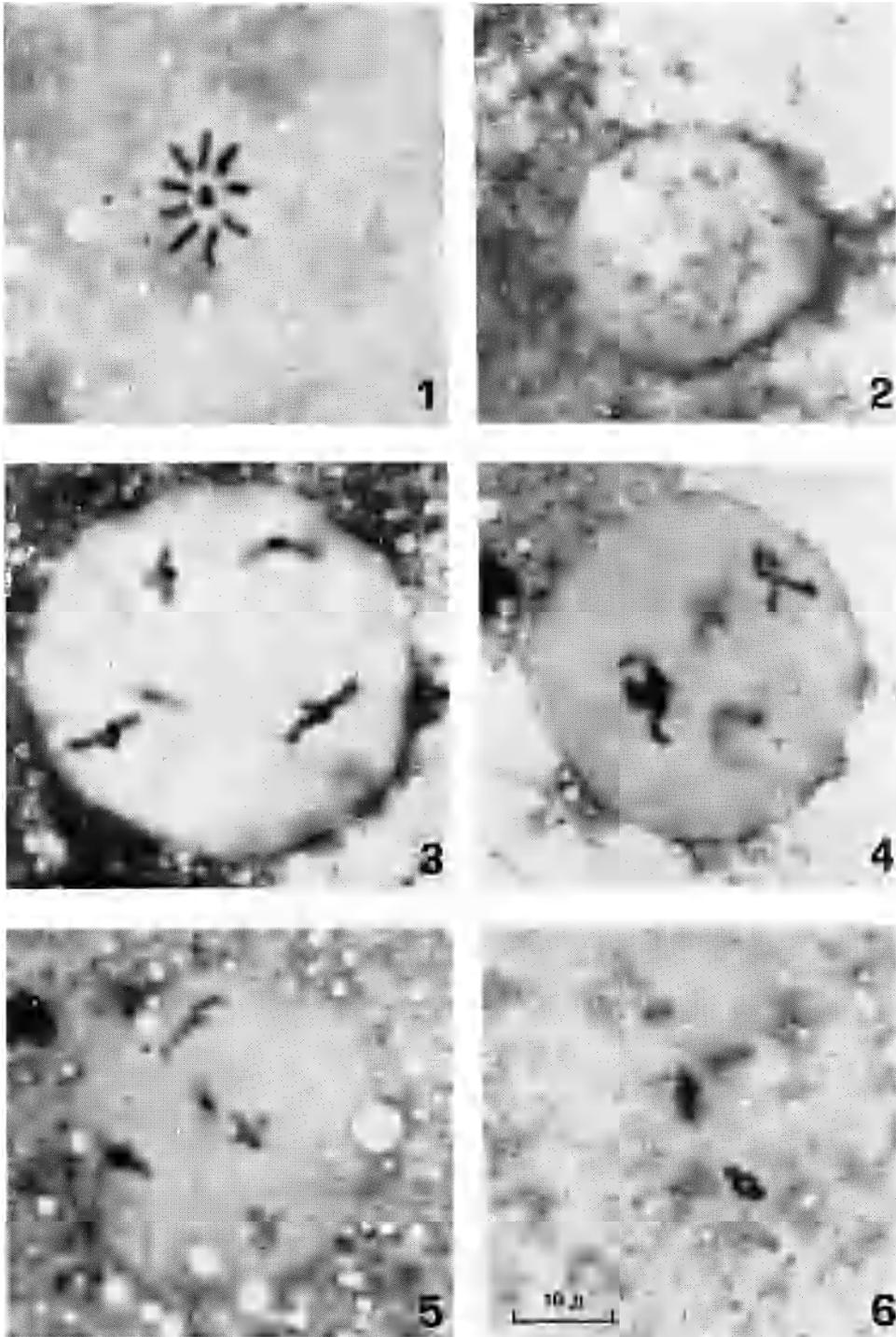
Comune ai due Tardigradi è il peculiare meccanismo di restituzione della diploidia. In effetti la separazione dei cromosomi prima della seconda metafase va considerata una vera e propria divisione cromosomica; ma allora la seconda metafase risulta una terza divisione cromosomica; tre divisioni cromosomiche si potrebbero spiegare se i bivalenti fossero costituiti da 8 cromatidi: ma in *M. dispar* i bivalenti hanno lo stesso aspetto di quelli osservati nei biotipi anfignonici di altri Tardigradi e pertanto devono ritenersi costituiti da soli 4 cromatidi perché avvenga la terza divisione di cromosomi (cioè la 2^a metafase) si deve pertanto ritenere che dopo la prima divisione meiotica avvenga una reduplicazione cromosomica e quindi si effettui sintesi di DNA; con questa ipotesi trovano spiegazione la scomparsa (despiralizzazione) dei cromosomi dopo la 1^a anafase, la loro ricomparsa in condizioni di parziale spiralizzazione, la piastra di dimensioni maggiori della precedente metafase e il numero doppio di cromatidi. In tal caso, però, in accordo con Ammerman [8], la 2^a divisione non ha senso per il processo di maturazione gametica, a meno che non si voglia interpretarla come una abortiva divisione di segmentazione, nonostante i suoi cromosomi conservino la morfologia di quelli meiotici, non essendo allungati come nelle prime mitosi embrionali.

Concludendo: gli esami compiuti seguendo per tre anni gli allevamenti di *M. dispar*, anche in condizioni di isolamento, hanno constatato la completa assenza di maschi documentando l'esistenza della partenogenesi. L'esame cariologico ha precisato che in *M. dispar* la maturazione dei gameti è di tipo diploide, meiotico e chiasmatico; la restituzione del numero cromosomico diploide si effettua all'inizio della 2^a divisione ovocitaria.

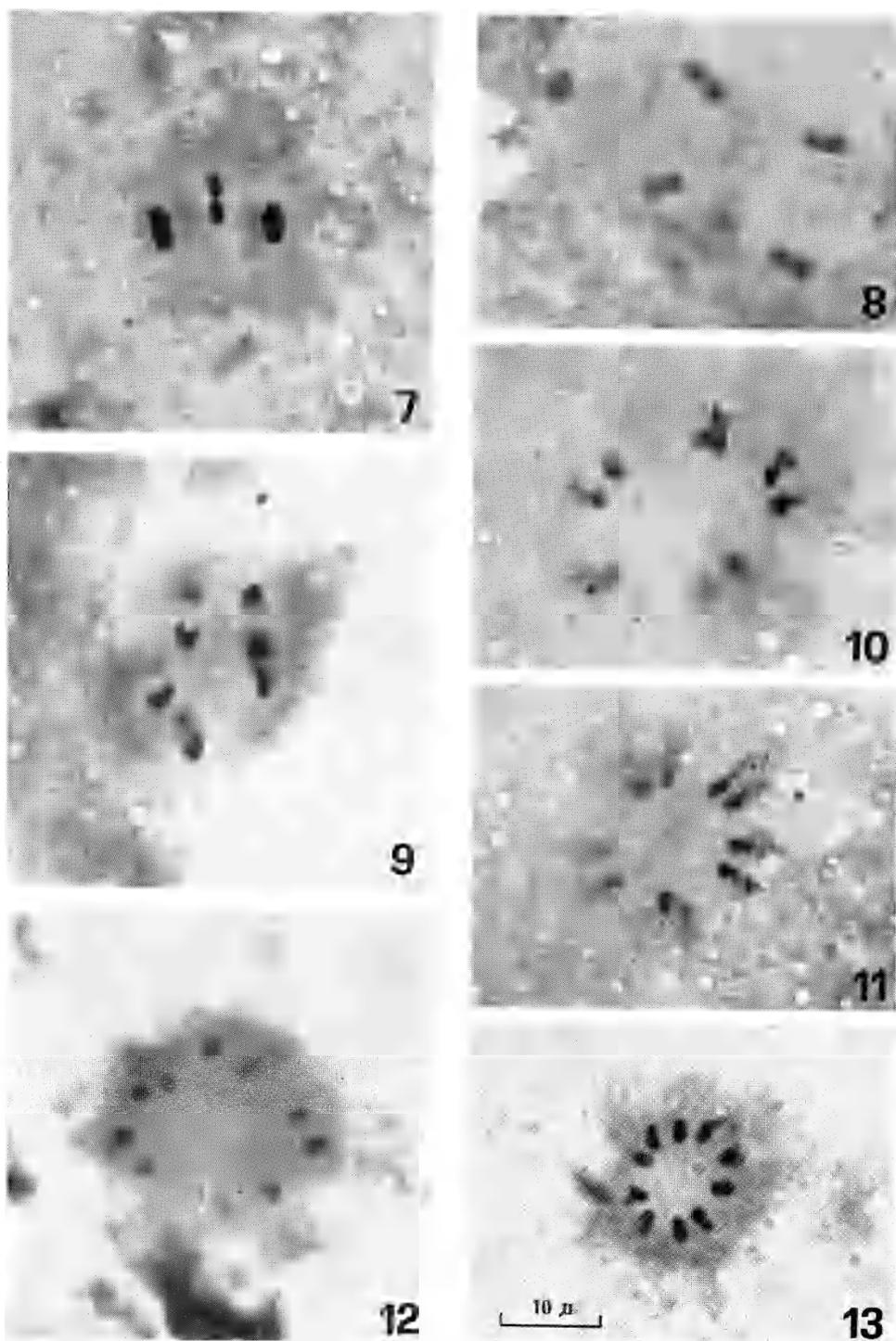
BIBLIOGRAFIA

- [1] R. BERTOLANI (1971) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 50, 377-382.
- [2] R. BERTOLANI (1971) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 50, 487-489.
- [3] R. BERTOLANI (1973) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 54, 469-473.

- [4] H. BAUMANN (1966) - « Veröff. Überseemus. Bremen », 3, 245-258.
- [5] H. BAUMANN (1970) - « Veröff. Überseemus. Bremen », 4, 29-43.
- [6] R. BERTOLANI (1973) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 55, 571-574.
- [7] R. BERTOLANI (1974) - « Mem. Ist. Ital. Idrobiol. », 31, Suppl. (in stampa).
- [8] D. AMMERMANN (1967) - « Chromosoma », 23, 203-213.
- [9] R. BERTOLANI (1972) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 52, 220-224.
- [10] B. CHRISTENSEN, (1961) - « Hereditas », 47, 387-450.
- [11] F. ZAFFAGNINI (1973) - « Chromosoma », 40, 443-450.
- [12] M. J. D. WHITE (1973) - *Animal Cytology and Evolution* (Cambridge Univ. Press).



Metafase embrionale (1); ricomparsa dei cromosomi nella profase I (2);
diplotene e chiasmi (3-5); diacinesi (6).



Metafase I in fuso (7) e piastra dopo schiacciamento (8); inizio anafase I (9); ricomparsa e separazione dei cromosomi alla seconda divisione maturativa (10, 11); distanziamento dei cromosomi (12); metafase II (13);

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