
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIAN ANTONIO DANIELI, RODOLFO COSTA, EMANUELE
RODINÒ

**Analisi del locus esterasi 6 in *Drosophila*
melanogaster: variabilità genetica in popolazioni
naturali**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 58 (1975), n.3, p. 441-446.*
Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_58_3_441_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/>

Genetica. — *Analisi del locus esterasi 6 in Drosophila melanogaster: variabilità genetica in popolazioni naturali* (*). Nota di GIAN ANTONIO DANIELI, RODOLFO COSTA e EMANUELE RODINÒ, presentata (**) dal Corrisp. B. BATTAGLIA.

SUMMARY. — Esterase 6 polymorphism has been studied in *Drosophila melanogaster* wild populations. By acrilamide gel electrophoresis six different allozymes have been identified. The frequency and the distribution of the alleles were studied by sampling in different years and in different places: annual and geographical differences were found. The analysis of the same population from August to October has shown a seasonal trend: the inbreeding coefficient decreases with time and equilibrium values are obtained only in late autumn.

These results are discussed on the basis of *Drosophila* populations structure.

Da quando Lewontin e Hubby [3] nel 1966 per primi richiamarono l'attenzione sull'elevato grado di polimorfismo di molti loci in *Drosophila pseudoobscura*, il lavoro di analisi di molti sistemi isoenzimatici, compiuti in diversi organismi e da vari autori (vedi rassegna di Johnson, 1974 [1]) ha chiarito che di regola nelle popolazioni esiste un elevato grado di variabilità genetica a livello dei loci che controllano enzimi; rimane tuttavia da chiarire come tale polimorfismo venga mantenuto.

Il presente lavoro riporta alcuni dati relativi al locus esterasi 6 in *Drosophila melanogaster*: il polimorfismo di tale locus era già stato descritto preliminarmente nel 1963 da Wright [8] e successivamente dallo stesso Wright e Mc Intyre [9]. Nostre ricerche precedenti avevano identificato altri alleli di detto locus (Rodinò e Martini 1971 [5] Rodinò e Danieli, 1972 [6]). Finora sono note 6 forme alleliche separabili su gel di acrilamide in base alla loro mobilità elettroforetica (fig. 1). Tali forme allozimiche sono presenti in una popolazione naturale con frequenze diverse: la forma S (slow) prevale (circa 70 %) seguita dalla forma F (fast) (15 % circa) e nell'ordine da S' (slow') (circa 6 %) VF (very fast) (circa 5 %), F' (fast') (circa 3 %), VS (very slow) (circa 1%). Abbiamo ritenuto interessante campionare popolazioni diverse e la stessa popolazione in tempi diversi per verificare se tali frequenze vengano mantenute rigidamente nel tempo e in differenti località e risalire quindi al ruolo di eventuali fattori selettivi o di deriva. Si è proceduto perciò, in anni diversi, ad un campionamento regolare nel periodo da fine Agosto a fine Ottobre, in due località della zona pedemontana del Vicentino (Schio e Valdagno). Gli individui raccolti in ciascun campione venivano subito eterizzati e classificati e i maschi di *Drosophila melanogaster* venivano separati e congelati per essere conservati in freezer a -20 °C fino al momento dell'analisi elettroforetica.

(*) Ricerca compiuta presso l'Istituto di Biologia Animale dell'Università di Padova.

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

Ciascun individuo veniva omogenato separatamente in tampone Tris-EDTA-Borato a pH 9, contenente saccarosio al 10 % ed alcune gocce di bromo-fenolo (indicatore del fronte di migrazione elettroforetica).

Dopo centrifugazione a 15.000 RPM per 2', singoli campioni del supernatante venivano depositi nei pozzetti di una piastra verticale di acrilamide al 5 %; l'elettroforesi avveniva a 4 °C, usando un tampone continuo 0,082 M TRIS, 0,001 M EDTA 0,032 M H₃BO₄, a pH 9; dopo l'elettroforesi le piastre venivano sottoposte al trattamento per l'identificazione dell'attività esterasica (200 mg di Fast Blue BB, 1 ml di soluzione di α -Naftil-Acetato in acetone al 2 %. 100 ml di tampone fosfato 0,1 M a pH 6,5). Alla fine della colorazione le piastre venivano fissate con una soluzione di acido acetico 10 % ed alcool

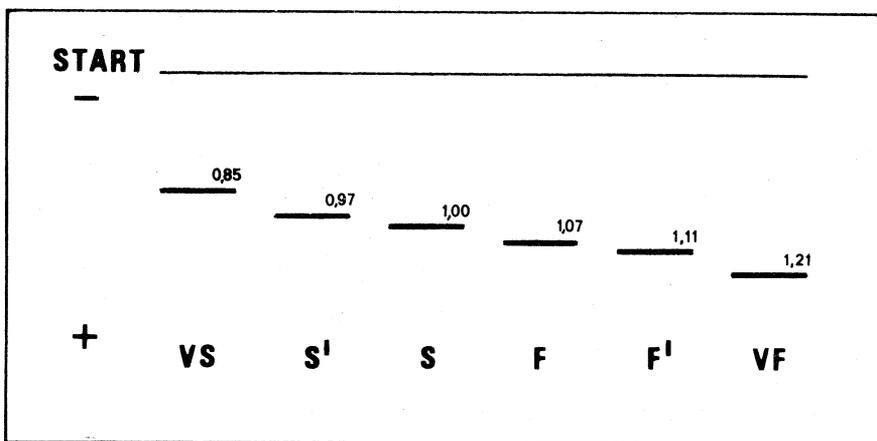


Fig. 1. - Mobilità elettroforetica delle diverse forme alleliche di Esterasi 6. La forma S viene presa come riferimento (mobilità = 1).

metilico 50 % e conservate in soluzione di acido acetico al 10 %. Per un'accurata misurazione della distanza di migrazione dei vari allozimi, le piastre venivano fotografate e le misure eseguite sul positivo, con procedimenti opportuni.

In Tabella I sono riportati i risultati del campionamento effettuato nello stesso periodo in due località diverse e in Tabella II il confronto tra i dati ottenuti nelle stesse stazioni in anni diversi.

Si nota che nelle diverse località distanti tra loro circa 15 Km, ma isolate da una collina di 700 m di altezza (che costituisce probabilmente una discreta barriera naturale) le frequenze degli alleli sono grossolanamente simili, benché siano rilevabili con l'analisi statistica differenze significative anche a carico degli alleli più frequenti. Tali differenze non sono invece riscontrabili in stazioni poco distanti tra loro (1 Km), e situate nella stessa località (Lazzari, 1971 [2]).

Si nota inoltre che con il passare del tempo le frequenze geniche subiscono delle variazioni (Tabella II): tali cambiamenti sono maggiormente sensibili nell'arco di tre anni, sebbene si possano rilevare anche i segni di variazioni annuali (Tabella II, A).

TABELLA I.

Confronto delle frequenze alleliche tra campioni raccolti in località diverse.

Località	Periodo	N. individui	Frequenze alleliche					
			VS	S'	S	F	F'	VF
Valdagno . . .	Ago-Ott. 1971	1337	0,0003	0,0848	0,7127	0,1518	0,0261	0,0239
Schio	Ago-Ott. 1971	1319	0,0003	0,0570	0,6670	0,2030	0,0254	0,0472
χ^2 58,45			G.L. 5			P < 0,001		

L'analisi dei genotipi effettuata su tutti gli individui campionati in una stessa stazione ha messo in evidenza in tutti i casi un significativo scostamento dalla condizione di equilibrio. Tale scostamento è determinato da un eccesso di genotipi omozigoti (Tabella III). Particolarmente interessante è la correlazione tra eccesso di omozigoti e periodo di campionamento: una stima di tale fenomeno è fornita dalla variazione del coefficiente di inincrocio, calcolato per i diversi periodi di cattura secondo il metodo usato da Manwell e Baker [4] e da altri autori (fig. 2). L'andamento del grafico rivela l'esistenza di un elevato grado di inincrocio iniziale che si riduce progressivamente, con il passare del tempo, ed in coincidenza con l'esplosione stagionale della popolazione; soltanto nell'autunno avanzato vengono raggiunte condizioni molto vicine all'equilibrio.

TABELLA II.

Confronto delle frequenze alleliche tra campioni raccolti in anni diversi nella stessa località.

	Località	Periodo	N. individui	Frequenze alleliche					
				VS	S'	S	F	F'	VF
A	Valdagno .	Ago-Ott. 1970	698	0,0007	0,0322	0,7823	0,1610	0,0128	0,0107
	Valdagno .	Ago-Ott. 1971	1337	0,0003	0,0848	0,7127	0,1518	0,0261	0,0239
χ^2 71,57			G.L. 5			P < 0,001			
B	Schio . . .	Ago-Ott. 1971	1319	0,0003	0,0570	0,6670	0,2030	0,0154	0,0473
	Schio . . .	Ago-Ott. 1974	721	0,0097	0,0672	0,7316	0,1567	0,0180	0,0166
χ^2 66,91,			G.L. 5			P < 0,001			

TABELLA III

Distribuzione dei genotipi nelle popolazioni studiate.

Il χ^2 per l'omogeneità è stato calcolato per verificare il rapporto tra genotipi omozigoti osservati ed attesi.

Geno- tipi	Valdagno 1970		Valdagno 1971		Schio 1971		Schio 1974	
	698 individui		1337 individui		1319 individui		721 individui	
	Osservati	Attesi	Osservati	Attesi	Osservati	Attesi	Osservati	Attesi
VS/S	1	0,00	1	0,53	1	0,52	14	10,09
S'/S'	19	0,69	71	9,49	52	4,21	31	3,24
S/S	461	427,80	814	679,06	682	586,24	454	385,87
F/F	32	17,93	121	30,75	131	54,30	63	17,66
F'/F'	2	0,06	6	0,80	5	0,79	4	0,21
VF/VF	—	0,06	1	0,66	2	2,89	1	0,14
S'/S	1	35,17	54	161,50	39	100,16	22	70,80
S'/F	4	7,11	19	34,22	18	30,31	12	15,14
S'/F'	2	0,55	7	5,88	3	3,69	—	1,73
S'/VF	—	0,41	5	5,34	10	6,85	1	1,58
S/F	149	175,19	130	289,05	202	356,90	80	165,25
S/F'	10	13,96	47	49,73	41	44,54	15	18,89
S/VF	10	11,58	47	45,45	91	82,77	17	17,44
F/F'	2	2,79	4	10,42	15	13,44	3	4,03
F/VF	5	2,37	10	9,62	24	25,04	4	3,74
F'/VF	—	0,13	—	1,60	3	2,89	—	0,28
	χ^2 10,19		χ^2 118,49		χ^2 77,08		χ^2 52,27	

L'analisi del polimorfismo del locus Est 6 in natura ha dimostrato quindi che le frequenze degli alleli di questo locus non sono rigidamente mantenute nel tempo e che sono chiaramente evidenziabili differenze tra popolazioni separate geograficamente; ciò induce a ritenere che le variazioni di frequenza riscontrate siano determinate più da scostamenti casuali che da forti pressioni selettive. Non è tuttavia da escludere l'esistenza di selezione dipendente dalla frequenza o dalla densità, infatti soltanto con questa ipotesi si può spiegare il mantenimento degli alleli rari a livelli pressoché costanti.

L'eccesso di omozigoti riscontrato quando la dimensione della popolazione è ancora piccola suggerisce che essa in realtà sia costituita da parecchie micropopolazioni isolate tra loro, coesistenti in una stessa area e caratterizzate da un elevato grado di inincrocio. L'aumento del numero di individui che si verifica con l'avvento delle condizioni stagionali favorevoli comporterebbe via via una progressiva riduzione dell'inincrocio fino a un pressoché completo rimescolamento.

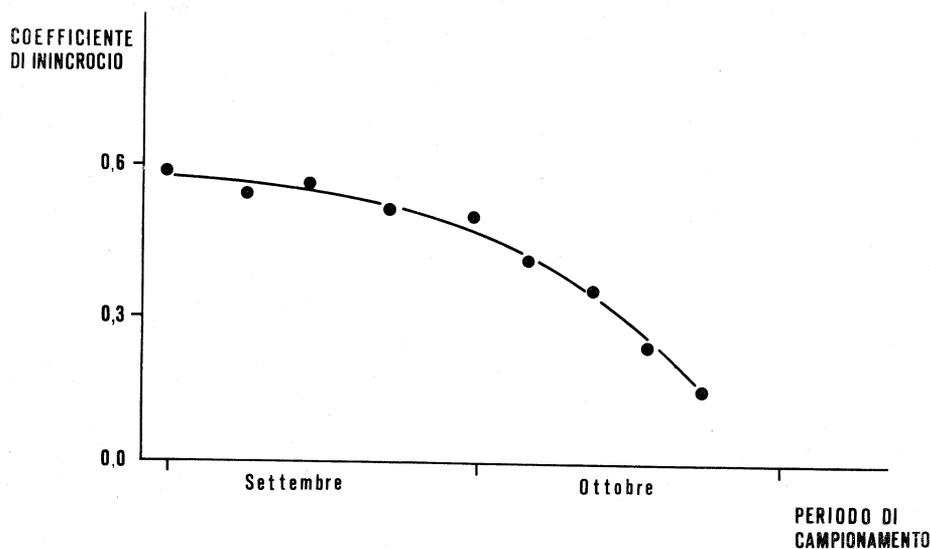


Fig. 2. - Variazioni del coefficiente di inincrocio durante il periodo di campionamento.

Da alcune stime sembra che la dimensione effettiva della popolazione che emerge dal collo di bottiglia invernale sia di alcune migliaia di individui (Trippa, 1973 [7]); a partire da questi si formerebbero, dopo l'inverno, numerose micropopolazioni « isolate » in ciascuna delle quali si stabilisce un equilibrio sulla base degli alleli presenti al momento della fondazione della micropopolazione. Poiché non sono state ancora dimostrate in modo inequivocabile apprezzabili differenze di fitness per le diverse forme alleliche, si può ritenere che la riduzione invernale del numero di individui colpisca indiscriminatamente tutti i genotipi. Essendo il collo di bottiglia sufficientemente « largo » ed a causa dell'effetto del fondatore nelle micropopolazioni, le frequenze subirebbero così una deriva casuale senza tuttavia sconvolgere profondamente i rapporti percentuali delle varie forme.

BIBLIOGRAFIA

- [1] JOHNSON G. B. (1974) - *Enzyme polymorphism and metabolism. Polymorphism among enzyme loci is related to metabolic function* « Science », 184, 28-37.
- [2] LAZZARI G. L. (1971) - *Distribuzione e variabilità delle esterasi 6 in alcune popolazioni di D. melanogaster* (Tesi di laurea, Università di Padova, a.a. 1970/71; non pubblicata).

-
- [3] LEWONTIN R. C. e HUBBY J. L. (1966) - *A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II) Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of Drosophila pseudoobscura*, « Genetics », 50, 595-609.
- [4] MANWELL G. e BAKER C. M. A. (1970) - *Molecular biology and the origin of species: heterosis, protein polymorphism and animal breeding*. Sidgwick e Jackson, London, p. 18.
- [5] RODINÒ E. e MARTINI A. (1971) - *Est 6 V: a new allele at the Est 6 locus in natural populations of D. melanogaster* « D.I.S. », 46, 139.
- [6] RODINÒ E. e DANIELI G. A. (1972) - *Three more alleles at the locus Est 6 in Drosophila melanogaster* « D.I.S. », 48, 77.
- [7] TRIPPA G. et al. (1973) - *Analisi del polimorfismo per la PGM in due anni successivi in sei popolazioni naturali di D. melanogaster*, « Atti Ass. Genet. Ital. », 19, 19-21.
- [8] WRIGHT T. R. F. (1963) - *The genetics of an esterase in Drosophila melanogaster*, « Genetics », 48, 787-801.
- [9] WRIGHT T. R. F. e MACINTYRE R. J. (1963) - *A homologous gene-enzyme system esterase 6, in Drosophila melanogaster and D. simulans*, « Genetics », 48, 1717-1726.