
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

IVANA LAZZARETTO-COLOMBERA, GIANCARLO FAVA,
MARIA GRADENIGO-DENES

**Carico genetico in *Tisbe* (Copepoda, Harpacticoida).
I. *Tisbe holothuriae* di due popolazioni del
Mediterraneo occidentale**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 60 (1976), n.5, p. 691–698.*
Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1976_8_60_5_691_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. — *Carico genetico in Tisbe (Copepoda, Harpacticoida).*

I. *Tisbe holothuriae* di due popolazioni del Mediterraneo occidentale. Nota di IVANA LAZZARETTO-COLOMBERA (*), GIANCARLO FAVA (**), e MARIA GRADENIGO-DENES (***), presentata (****) dal Corrisp. B. BATTAGLIA.

SUMMARY. — Two populations of *Tisbe holothuriae*, coming from marine (Banyuls-sur-mer) and brackish waters (Sigean), have been analyzed before and after progressive inbreeding.

It has been shown that an increase of the homozygosity due to inbreeding determines in both populations a progressive depression of survival, fecundity, mean generation time and intrinsic rate of natural increase. The inbreeding depression is higher in the marine population. The concealed genetic variability, estimated on the basis of survival values, demonstrates a higher genetic load in the marine population.

The hypothesis is advanced that the genetic variability in the population from Sigean, subjected to extreme variability in time of both chemical and physical factors, is lower than in the population from Banyuls.

La ricerca e la traduzione in termini quantitativi della variabilità genetica latente viene usualmente effettuata determinando la riduzione della idoneità media, o meglio di alcune sue componenti, in popolazioni sottoposte a incrocio sistematico; sulla stima di questa variabilità latente è basato uno dei metodi di studio delle relazioni intercorrenti tra assetto genetico delle popolazioni e variabilità ambientale. Tale tipo di approccio sperimentale, impiegato utilmente per lo studio di popolazioni naturali di *Drosophila* (Dobzhansky *et alii*, 1963 [7]), può avere ancora, pur con le limitazioni evidenziate da Dobzhansky (1970) [8] una certa validità per quelle specie, come *Tisbe holothuriae*, la cui struttura genetica è ancora poco conosciuta.

Pertanto volendo iniziare lo studio della variabilità genetica in relazione all'ambiente in questo copepode marino, si sono effettuate della ricerche sull'effetto dell'inbreeding in due popolazioni naturali di *Tisbe holothuriae* provenienti da due diverse località della costa mediterranea meridionale della Francia, Banyuls s.m. e Sigean, caratterizzate da fattori ambientali notevolmente dissimili (Petit e Mizoule, 1962 [16]; Jacques *et alii*, 1969 [11]; Guille e Soyer, 1970 [10]; Razouls, 1971 [17]; Boutière, 1974 [5]; Jacques *et alii*, 1975 [12]). Si suppone infatti che le popolazioni insediate in questi ambienti e sottoposte a forze selettive diverse e di differente intensità presentino una struttura genetica notevolmente diversa analogamente a quanto si è riscon-

(*) Istituto di Biologia Animale, Università di Padova, Via Loredan, 10. Padova.

(**) Istituto di Biologia del Mare del C.N.R. Venezia, Riva 7 Martiri 1364/A.

(***) Istituto di Biologia Animale, Università di Padova, Via Loredan 10. Padova.

(****) Nella seduta dell'8 maggio 1976.

trato in popolazioni di *Drosophila* (Dobzhansky, 1963 [7]; Band e Ives, 1967 [3]).

Con la presente ricerca ci si propone di conseguire qualche utile indicazione sulla natura e sulla entità di quelle differenze tra le due popolazioni che riguardano la variabilità genetica latente e, se possibile, stabilire il tipo di correlazione esistente tra variabilità genetica e variabilità ambientale.

MATERIALI E METODI

Questa ricerca è stata effettuata su individui appartenenti alla specie *Tisbe holothuriae* provenienti da due distinte popolazioni della costa mediterranea della Francia: Banyuls s.m. e Sigean.

Le due stazioni di cattura sono situate in parte nella baia di Banyuls, nel tratto di mare antistante il laboratorio, in parte lungo la costa sud occidentale del bacino di Sigean. In entrambe le località si sono pescate poco più di un centinaio di femmine che sono state portate a Padova e qui utilizzate per fondare due distinte popolazioni di laboratorio. Ogni popolazione è stata frazionata in 10 recipienti in ognuno dei quali erano state poste almeno 10 femmine catturate in natura. Per iniziare l'esperimento si è aspettato che i figli di queste femmine diventassero adulti e le popolazioni consistessero di diverse centinaia di individui.

Nell'esecuzione dell'esperimento si sono seguite le stesse modalità per le due popolazioni e pertanto il procedimento viene descritto soltanto una volta.

1° generazione. Si sono prelevate dalla popolazione di laboratorio 50 femmine ovigere che sono state distribuite in altrettanti recipienti. Con i figli di queste femmine si sono fatte numerose coppie avendo cura ogni volta di scegliere un maschio ed una femmina che non avessero progenitori comuni. A questo scopo si procurava che i due partners discendessero da madri provenienti da due diversi recipienti di popolazione. Una volta che le femmine fecondate avevano emesso il sacco ovigero, venivano poste in un nuovo recipiente. Al momento della deposizione, fra i nati nell'intervallo di sei ore, 500 nauplii venivano distribuiti in numero eguale in cinque recipienti e qui mantenuti con il metodo standard (Battaglia, 1970 [4]). Quando questi individui sono diventati adulti, sono stati fissati e contati per calcolare la sopravvivenza ed il rapporto sessi. Le altre misure, necessarie per la stima dei parametri prescelti, sono state determinate su 30 femmine prelevate a caso dai cinque recipienti prima di eseguire il conteggio. Le femmine, isolate singolarmente, sono state controllate una volta al giorno per la stima della fecondità e della longevità. Agli individui di questa prima generazione si è attribuito il coefficiente di incrocio $F = 0$.

2° generazione. Questa seconda parte dell'esperimento si è svolta con le stesse modalità seguite nella prima generazione. Una unica variante è stata introdotta al momento di fare le coppie sulla cui discendenza si sarebbero

effettuate le misure prestabilite: in questo caso la coppia era costituita da fratelli, per cui si è assegnato alla progenie il coefficiente di inbreeding $F = 1/4$.

3° *generazione*. Anche per questa terza fase dell'esperimento le modalità seguite sono quelle descritte nel primo paragrafo ad eccezione del fatto che i due individui componenti la coppia erano fratelli, figli di fratelli. Le stime dei vari parametri sono state eseguite sulla discendenza di queste coppie, a cui è stato assegnato il coefficiente di inincrocio $F = 3/8$.

I dati ottenuti dagli esperimenti ora descritti sono stati utilizzati per ricavare la stima dei seguenti parametri: fecondità lorda, fecondità netta o R_0 , intervallo minimo e intervallo medio di generazione, tasso intrinseco di accrescimento naturale. Per il calcolo dei detti parametri vedi Parise (1966) [15]. I dati relativi alla sopravvivenza sono stati utilizzati anche per calcolare il carico genetico in termini di A e B secondo Morton, Crow e Muller (1956) [14].

RISULTATI

Le stime dei vari parametri relative alla prima generazione ($F = 0$) effettuate nelle due popolazioni non presentano alcuna apprezzabile differenza tra di loro. Da un esame particolareggiato dei risultati riportati nelle Tabelle I e II risulta che: il numero dei nauplii prodotti in media per femmina è quasi identico nelle due popolazioni; la sopravvivenza differisce solo minimamente; il rapporto sessi è un po' più spostato a favore delle femmine nella popolazione di Banyuls; l'intervallo minimo di generazione è più breve nella popolazione di Sigean che presenta anche una longevità leggermente superiore a quella dell'altra popolazione. Anche le differenze che riguardano la fecondità netta e l'intervallo medio di generazione sono poco rilevanti. La popolazione di Sigean apparirebbe, dalle misure di entrambi i parametri, leggermente svantaggiata rispetto all'altra. Tuttavia queste lievi differenze che a seconda dei parametri considerati sono a favore di una o dell'altra popolazione, vengono ad elidersi nel calcolo del tasso intrinseco di accrescimento naturale per cui le due popolazioni presentano un potenziale biotico praticamente identico.

Molto dissimili sono invece i dati relativi alla stima dei diversi parametri nelle generazioni successive. Dai risultati concernenti la 2ª e la 3ª generazione, caratterizzate da coefficiente di inbreeding rispettivamente uguale a $F = 1/4$ e $F = 3/8$, si può osservare che la caduta di eterozigosi provoca in entrambe le popolazioni una notevole depressione di tutte le principali componenti della fitness: tutti i parametri presi in considerazione dimostrano un progressivo deterioramento corrispondente al graduale aumento di omozigosi; questo deterioramento risulta più accentuato nella popolazione di Banyuls che appare quindi più sensibile agli effetti dell'inincrocio.

TABELLA I

Numero totale di nauplii, numero medio di nauplii e di sacchi per femmina, numero medio di nauplii per sacco, sopravvivenza da nauplio ad adulto, rapporto sessi e durata media della vita in giorni per due popolazioni di T. holothuriae a vari coefficienti di inincrocio.

F	N. totale di nauplii deposti	N. di nauplii per femmina	N. di sacchi per femmina	N. di nauplii per sacco	Sopravvivenza	% di femmine	Durata media della vita
a) Banyuls-sur-mer.							
0	14.747	491,6	9,5	51,9	0,918	54,7	48,9
1/4	6.410	213,7	5,8	36,6	0,508	42,5	38,8
3/8	4.572	152,4	5,5	27,5	0,464	34,3	36,4
b) Sigean.							
0	14.996	499,9	9,8	51,2	0,901	51,2	49,7
1/4	11.387	379,6	8,5	44,6	0,664	41,8	42,6
3/8	8.683	289,4	7,8	37,1	0,610	33,8	39,3

Se si considerano dettagliatamente i risultati, si rileva che l'aumento del grado di consanguineità provoca una netta diminuzione della fecondità che si esprime con una progressiva riduzione del numero dei nauplii deposti per femmina: nella popolazione di Banyuls il numero medio di individui prodotti scende, da 491,6 rispettivamente a 213,7 ed a 152,4, in quella di Sigean da 499,9 rispettivamente a 379,6 ed a 289,4. Le differenze nel numero di nauplii prodotti dalle due popolazioni rispettivamente dopo la prima e la seconda generazione di inbreeding sono risultate statisticamente significative, ($p < 0,001$). Per saggiare la significatività di queste differenze si è usato il test combinato Q

$$[Q = \sum z_t^2 \text{ dove } z_t = z : P\{|N(0, 1)| \leq z\} = P\{|T| \leq |t|\}].$$

Piuttosto marcata è pure la riduzione che si verifica a carico della sopravvivenza; anche per questo parametro tuttavia le conseguenze sono più dannose per la popolazione marina. Col progredire dell'inincrocio il rapporto sessi si sposta gradualmente verso la mascolinità e pressapoco nella stessa misura in entrambe le popolazioni. Le conseguenze dell'aumentato grado di inbreeding sulla fecondità si possono valutare ampiamente osservando l'andamento del tasso netto di riproduzione, che, in pratica, riassume i valori della fecondità, del rapporto sessi e della sopravvivenza. Nella popolazione

di Banyuls il valore della R_0 corrispondente a $F = 3/8$ è pari a $1/10$ di quello registrato nella generazione con $F = 0$: nella popolazione di Sigean invece la riduzione della R_0 risulta meno cospicua in quanto il valore per $F = 3/8$ corrisponde ad $1/4$ del valore riscontrato con $F = 0$. L'intervallo minimo di generazione presenta un progressivo allungamento in entrambe le popolazioni, un po' più accentuato in quella di Banyuls.

TABELLA II

Fecondità lorda, fecondità netta, intervallo minimo e medio di generazione e tasso intrinseco di accrescimento naturale per due popolazioni di T. holothuriae a vari livelli di inincrocio.

F	Fecondità lorda	Fecondità netta R_0	Intervallo minimo	Intervallo medio	r_r
a) <i>Banyuls-sur-mer</i>					
0	268,9	246,8	11,29	20,48	0,269
1/4	90,8	46,1	11,87	18,01	0,212
3/8	52,3	24,3	12,69	18,33	0,174
b) <i>Sigean</i>					
0	255,9	230,6	11,15	20,82	0,261
1/4	158,7	105,4	11,38	18,32	0,254
3/8	97,8	59,7	12,21	18,80	0,217

La durata media della vita in giorni si riduce gradualmente, ma anche per questo carattere la popolazione marina si dimostra più sensibile di quella di acque salmastre all'aumento di omozigosi. L'intervallo medio di generazione presenta un andamento discontinuo in entrambe le popolazioni perchè il progredire dell'inincrocio provoca sia un allungamento progressivo dell'intervallo minimo di generazione, come è già stato messo in evidenza, sia una graduale riduzione della fecondità delle classi di età avanzata e quindi un raccorciamento del periodo riproduttivo. Gli alti valori dell'intervallo medio riscontrati nella generazione con $F = 0$ appaiono giustificati dalla maggiore lunghezza del periodo riproduttivo, mentre l'allungamento che si rileva in corrispondenza della generazione con $F = 3/8$ è dovuto all'allungamento dell'intervallo minimo di generazione. Se si confrontano tra loro i dati riguardanti le due popolazioni si nota che in quella di Sigean i tempi medi sono risultati costantemente più elevati che nella popolazione di Banyuls; questa differenza va attribuita esclusivamente alla maggior durata del periodo riproduttivo come è dimostrato sia dai dati riguardanti il numero medio di sacchi ovigeri deposti per femmina, sia da quelli concernenti l'intervallo minimo.

TABELLA III

*Stima del carico genetico in termini di A e di B
ottenute dai dati della sopravvivenza.*

Popolazione	A	B	B/A
Banyuls s.m.	0,1144	1,8966	16,5786
Sigean	0,1137	1,0667	9,3817

Le conseguenze della progressiva caduta di eterozigosi si traducono per entrambe le popolazioni in una graduale riduzione della r . Anche nel comportamento di questo parametro si nota una discrepanza tra le due popolazioni: in quella marina la contrazione rilevata alla fine delle tre generazioni di inincrocio è molto più consistente di quella relativa alla popolazione di acque salmastre.

Le differenze tra le due popolazioni appaiono chiare anche dal confronto dei valori di A e B ricavati dai dati sulla sopravvivenza; in particolare l'alto valore di B riscontrato nella popolazione di Banyuls suggerisce l'esistenza di un carico genetico maggiore rispetto alla popolazione di Sigean.

DISCUSSIONE

Gli ambienti di insediamento delle due popolazioni studiate sono notevolmente dissimili tra loro come appare dal confronto delle misure dei principali fattori chimici e fisici che li caratterizzano. Le differenze si devono ascrivere al fatto che il bacino di Sigean è spesso sottoposto, a causa della bassa profondità delle acque, a cambiamenti rilevanti e improvvisi delle condizioni climatiche e idrologiche: in particolare sia le fluttuazioni termiche, sia le variazioni del regime alino sono molto più frequenti e di portata molto più ampia di quelle che si verificano nella zona litorale da cui proviene la seconda popolazione.

Queste differenze ambientali sembrano trovare un preciso riscontro nei risultati delle osservazioni qui riportate. I dati ottenuti sperimentalmente indicano, in modo concorde, che le due popolazioni reagiscono diversamente all'aumento di omozigosi rendendo in questo modo palese l'esistenza di una struttura genetica dissimile nelle due popolazioni, in accordo con i dati riferiti da Battaglia (1970) [4]. Dai risultati si rileva innanzi tutto che, in entrambe le popolazioni, l'inincrocio ha effetto fortemente deleterio su tutte le principali componenti della « fitness », come d'altra parte era già stato osservato in una precedente ricerca (Lazzaretto e Parise, 1967) [13]. Le conseguenze

dell'inbreeding si avvertono tuttavia in maniera molto più drastica nella popolazione marina; infatti, come è riportato in dettaglio nelle Tabelle, le due popolazioni che nella generazione caratterizzata da $F = 0$ differiscono tra loro in maniera irrilevante, col progredire dell'inincrocio manifestano un comportamento notevolmente diverso, denunciato dal fatto che tutte le principali componenti della «fitness» subiscono un decadimento molto più accentuato nella popolazione proveniente da Banyuls.

La caduta di eterozigosi pertanto mette in evidenza le differenze nella struttura genetica che sono alla base di questo diverso comportamento e che si raffigurano nel diverso grado di variabilità genetica latente presente nelle due popolazioni. Gli elementi conseguiti nel corso degli esperimenti sembrano dimostrare che la popolazione insediata nell'ambiente marino possiede un carico genetico, misurato in termini di B, che è quasi il doppio di quello determinato per la popolazione di Sigean.

In base a questi risultati si può formulare l'ipotesi che l'ambiente salmastro, probabilmente a causa della sua estrema instabilità nel tempo, eserciti una pressione selettiva maggiore di quella attuata dall'ambiente marino, determinando di conseguenza una riduzione della variabilità genetica. Viceversa l'ambiente marino relativamente stabile nel tempo dal punto di vista dei fattori chimici e fisici risulta più favorevole al mantenimento di un maggior numero di genotipi.

Benchè non si abbiano delle conoscenze precise sulle differenze esistenti nei popolamenti delle due località è ragionevole supporre che esse siano paragonabili a quelle riscontrate da D'Ancona e Battaglia (1964) [6] tra lagune salmastre dell'Alto Adriatico e Alto Adriatico propriamente detto. Secondo questi Autori il numero di specie presenti nelle lagune salmastre è molto limitato relativamente al numero di specie presenti in Alto Adriatico; inoltre, specie che risultano polimorfe in habitat marini sono invece monomorfe in habitat lagunari. Se questo parallelismo si dimostrasse valido allora l'ambiente marino risulterebbe non solo più stabile nel tempo rispetto a quello salmastro, ma anche più eterogeneo nello spazio. In base alle attuali conoscenze non è possibile tuttavia stabilire quali di queste diverse caratteristiche avrebbe avuto maggiore influenza nel determinare le differenze genetiche riscontrate.

I risultati di questa ricerca si inseriscono nella controversa questione delle relazioni esistenti tra variabilità genetica e variabilità ambientale: mentre da una parte si accumulano dati sperimentali e postulati teorici che mostrano una correlazione precisa fra alta stabilità ambientale e bassa variabilità genetica (Grassle, 1972 [9]; Van Valen, 1965 [19]), dall'altra invece vi sono numerosi dati che confortano l'ipotesi opposta (Schopf e Gooch, 1971 [18]; Ayala e Valentine, 1974 [1]; Ayala *et alii*, 1974 [2]).

I risultati delle nostre osservazioni sembrerebbero portare un ulteriore contributo alla ipotesi di una corrispondenza fra alta stabilità ambientale e alta variabilità genetica, pur tenendo conto che in questo caso il termine «stabilità» viene riferito soltanto alle variazioni nel tempo dei fattori chimici e fisici.

Si ringrazia vivamente il Laboratorio Arago di Biologia marina di Banyuls-sur-mer per l'ospitalità ed i mezzi messi a disposizione. Gli Autori ringraziano il prof. B. Battaglia per i consigli avuti durante la stesura del manoscritto ed il prof. F. Pesarin dell'Istituto di Statistica che ha suggerito l'uso del test Q.

BIBLIOGRAFIA

- [1] F. J. AYALA and J. W. VALENTINE (1974) - *Genetic variability in a cosmopolitan deep-water ophiuran*, *Ophiomusium lymani*, «Marine Biology», 27, 51-57.
- [2] F. J. AYALA, J. W. VALENTINE, D. HEDGECOCK e L. G. BARR (1974) - *Deep-sea asteroids: high genetic variability in a stable environment*, «Evolution», 29, 203-212.
- [3] T. H. BAND e P. T. IVES (1968) - *Genetic structure of populations. IV. Summer environmental variables and lethal and semilethal frequencies in a natural population of Drosophila melanogaster*, «Evolution», 22, 633-641.
- [4] B. BATTAGLIA (1970) - *Cultivation of marine copepods for genetic and evolutionary research*, «Helgoländer wiss. Meeresunters», 20, 385-392.
- [5] H. BOUTIÈRE (1974) - *L'étang de Bages-Sigean modèle de lagune méditerranéenne*, «Vie Milieu», 24, 23-58.
- [6] U. D'ANCONA e B. BATTAGLIA (1962) - *Le lagune salmastre dell'Alto Adriatico, ambiente di popolamento e di selezione*, «Pubbl. Staz. Zool. Napoli», 32, 315-335.
- [7] T. DOBZHANSKY, S. A. HUNTER, O. PAVLOVSKY, B. SPASSKY e B. WALLACE (1963) - *Genetics of an isolated marginal population of Drosophila pseudobscura*, «Genetics», 48, 91-103.
- [8] T. DOBZHANSKY (1970) - *Genetics of the evolutionary process*, Columbia Univ. Press, N. Y., 505 pp.
- [9] J. F. GRASSLE (1972) - *Species diversity genetic variability and environmental uncertainty*, *Fifth European Marine Biological Symposium*, Piccin Ed. Padova, 19-26.
- [10] A. GUILLE e J. SOYER (1970) - *Bionomie benthique du plateau continental de la côte catalane française. 1. Physiographie*, «Vie Milieu», 21, 137-148.
- [11] G. JACQUES, C. RAZOULS e A. THIRIOT (1969) - *Climat et hydrologie a Banyuls-sur-mer (Golfe du Lion) 1965-1968*, «Vie Milieu», 20, 279-316.
- [12] G. JACQUES, G. CAHET, M. FIALA, J. NEVEUX e M. PANOUSE (1975) - *Caractéristiques du milieu pélagique des étangs de Bages-Sigean et de Salses-Leucate pendant l'été 1974*, «Vie Milieu», 25, 1-18.
- [13] I. LAZZARETTO e A. PARISE (1967) - *Effetto dell'inincrocio protratto su alcuni parametri di popolazione in Tisbe furcata (Baird) (Copepoda, Harpacticoida)*, «Boll. Zool.», 34, 128-129.
- [14] N. F. MORTON, J. F. CROW e H. J. MULLER (1965) - *An estimate of the mutational damage in man from data on consanguineous marriages*, «PNAS», 42, 855-863.
- [15] A. PARISE (1966) - *Ciclo sessuale e dinamica di popolazioni di Euchlanis (Rotatoria) in condizioni sperimentali*, «Archo. Ocean. Limmol.», 14, 387-411.
- [16] G. PETIT e R. MIZOULE (1962) - *Contribution à l'étude écologique du complexe lagunaire Bages-Sigean (Aude)*, «Vie Milieu», 13, 205-230.
- [17] C. RAZOULS (1971) - *Données climatologiques de la région de Banyuls-sur-mer. Année 1969-1970*, «Vie Milieu», 22, 425-435.
- [18] T. J. M. SCHOPF e J. L. GOOCH (1971) - *A natural experiment using deep-sea invertebrates to test the hypothesis that genetic homozygosity is proportional to environmental stability*, «Biol. Bull.», 141, 401.
- [19] L. VAN VALEN (1965) - *Morphological variation and the width of the ecological niche*, «Amer. Nat.», 99, 377-389.