
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

MASSIMILIANO CERVELLI, GIANCARLO FAVA

**Carico genetico in *Tisbe* (Copepoda, Harpacticoida).
III. *T. bulbisetosa* della laguna di Grado e della
sacca di Scardovari**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 68 (1980), n.4, p. 343–351.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1980_8_68_4_343_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)*.
III. *T. bulbisetosa della laguna di Grado e della sacca di Scardovari*.
Nota di MASSIMILIANO CERVELLI e GIANCARLO FAVA, presentata (*)
dal Corrisp. B. BATTAGLIA.

SUMMARY. — Two populations of *Tisbe bulbisetosa* from brackish environments were examined, the first from the mouth of the port-entrance of Grado, the second from a more inward position, from the Scardovari embayment on the Po delta. Comparisons were made with a third population from Malamocco, in the lagoon of Venice, which was studied in a previous work. The three localities differed in terms of chemical and physical parameters, and in the composition of benthic communities.

The mean nauplius to adult survival of outcrossed individuals differs in the three populations, the value being highest in Malamocco and lowest in Scardovari.

Concealed genetic variability was calculated from estimates of the genetic load (number of lethal equivalents) based on depression of survival with progressive inbreeding; the highest values were found in the population of Grado, the lowest in that of Scardovari.

These data suggest there is a relationship between environmental stability, biological heterogeneity, and the genetic variability of *T. bulbisetosa* as determined by the number of lethal equivalents.

INTRODUZIONE

Precedenti ricerche sul carico genetico in *Tisbe holothuriae* hanno suggerito l'ipotesi che la variabilità genetica latente sia in stretto rapporto con la variabilità ambientale. In particolare, Battaglia (1970) e Lazzaretto-Colombera *et al.* (1976) hanno trovato che, di due popolazioni della costa mediterranea francese, quella marina presentava una variabilità più elevata rispetto a quella proveniente da un vicino ambiente lagunare.

Fava *et al.* (1976) prendendo in considerazione gli animali di due stazioni della laguna di Venezia, simili rispetto alle caratteristiche fisiche ma con differenti comunità bentoniche, hanno riscontrato un carico genetico più alto per la popolazione insediata nella comunità più vicina al mare e caratterizzata dalla maggiore eterogeneità biotica.

Nella presente nota verranno esposti i risultati delle ricerche condotte su due diverse popolazioni lagunari di *T. bulbisetosa*. Si è ritenuto opportuno estendere lo studio a questa seconda specie per verificare se le ipotesi formulate sulla base delle stime del carico genetico ottenute per *T. holothuriae* potessero avere validità più ampia. Ciò avrebbe anche permesso di escludere che i primi risultati potessero essere dovuti, almeno in parte, ai limiti propri del metodo seguito per stimare la variabilità genetica.

(*) Nella seduta del 12 aprile 1980.

Non essendo stato possibile ottenere, sinora, dei campioni dalle medesime stazioni di provenienza di *T. holothuriae*, si sono prese in considerazione le popolazioni di due stazioni situate in lagune che presentano delle caratteristiche piuttosto diverse tra loro: la laguna di Grado, situata a circa 60 Km a NE della laguna di Venezia, e la sacca di Scardovari, sul delta del Po. Queste due popolazioni sono state confrontate con quella della stazione di Malamocco, nella laguna di Venezia, già studiata da Fava *et al.* (1976).

La stazione di Grado, simile a quella di Malamocco per quanto riguarda le variazioni di temperatura e salinità, è vicinissima al mare e si differenzia nettamente dalle altre per avere la comunità biotica più varia: possiede quindi la maggior eterogeneità biologica ambientale. Vi sono presenti 8 specie di *Tisbe*, cinque delle quali con frequenza superiore al 10 % (Fava, in stampa).

La stazione di Malamocco presenta una eterogeneità biotica notevolmente più ridotta e, pur essendoci lo stesso numero di specie di *Tisbe*, solo *T. holothuriae* raggiunge una frequenza superiore al 10 % (Fava e Volkmann, 1975).

Nella sacca di Scardovari vi sono notevoli ed imprevedibili fluttuazioni di salinità e la comunità si presenta piuttosto povera con una eterogeneità minima rispetto alle precedenti stazioni. In complesso si tratta di un ambiente altamente selettivo. Sono presenti solo 5 specie di *Tisbe* e probabilmente solo *T. bulbisetosa* riesce a formare delle popolazioni che permangono più anni (Fava e Volkmann, 1977).

MATERIALI E METODI

Come nei precedenti lavori, il carico genetico è stato stimato in termini di A e B (Morton *et al.*, 1956), dalle sopravvivenze medie misurate per tre o più differenti livelli di inincrocio.

Le femmine raccolte nelle varie stazioni venivano portate in laboratorio ed isolate singolarmente in capsule con 20 ml di acqua. Incrociando tra loro discendenti di femmine diverse, si ottenevano progenie con coefficiente di inbreeding $F = 0$. Da accoppiamenti tra figli di una stessa femmina si avevano discendenze con $F = 0,250$. Queste, proseguendo con incroci tra fratelli per successive generazioni, fornivano progenie con coefficienti via via crescenti e pari a $F = 0,375$ ed $F = 0,500$. Quest'ultimo livello di omozigosi è stato considerato solo per le popolazioni della sacca di Scardovari.

La sopravvivenza è sempre stata misurata introducendo in una serie di capsule con 20 ml di acqua 30 nauplii, nati da non più di 12 ore circa, col voluto livello di inincrocio. Gli adulti sopravvissuti sono stati contati dopo 14 giorni, tempo che, alla temperatura usata di 18 °C, corrisponde approssimativamente all'intervallo minimo di generazione. Come alimento si sono somministrati dei frammenti di frumento bollito, ad intervalli regolari. Si è sempre usata acqua di mare con salinità prossima al 35 ‰.

RISULTATI

A tutti i singoli valori di sopravvivenza ottenuti da ciascuna capsula è stata applicata la trasformazione angolare, prima di procedere ad ulteriori elaborazioni, per ottenere la loro normalizzazione. Le sopravvivenze medie per le diverse popolazioni e per ogni livello di inbreeding, usate per il calcolo del carico genetico, sono pertanto le ritrasformazioni in scala lineare delle medie ottenute dai valori normalizzati. Anche i dati relativi a *T. bulbisetosa* di Malamocco, già riportati da Fava *et al.* (1976), sono stati rielaborati nello stesso modo per renderli più chiaramente confrontabili e verranno riportati nel paragrafo relativo all'argomento.

TABELLA I

Sopravvivenza di T. bulbisetosa delle diverse località.

N = numero di repliche; \bar{Y} e s = media e deviazione standard calcolate con la trasformazione angolare; S = valore medio di sopravvivenza calcolato da \bar{Y} ; A, B e B/A = stime del carico genetico secondo Morton, Crow e Mueller (1956).

	F	N	\bar{Y}	s	S	A	B	B/A
Scardovari (S1)	0,000	65	41,26	11,41	0,435	0,803	0,743	0,925
	0,250	65	36,76	8,78	0,358			
	0,375	61	39,83	8,82	0,410			
	0,500	67	31,47	8,29	0,273			
Scardovari (S2)	0,000	60	50,06	11,41	0,588	0,535	0,558	1,044
	0,250	60	45,84	12,09	0,515			
	0,375	60	42,56	7,35	0,458			
	0,500	30	42,33	8,77	0,453			
Grado (G1)	0,000	69	60,11	15,23	0,753	0,145	3,896	26,953
	0,250	70	44,79	12,90	0,496			
	0,375	68	23,02	15,62	0,153			
Grado (G2)	0,000	70	56,49	16,99	0,695	0,445	1,737	3,902
	0,250	67	34,77	15,20	0,325			
	0,375	69	38,83	14,93	0,393			

I risultati complessivi di tutti gli esperimenti sono riassunti nella Tabella I. Nella figura 1 è più immediatamente visibile l'effetto dell'inincrocio sulla sopravvivenza ed il diverso andamento del fenomeno nelle tre popolazioni messe a confronto.

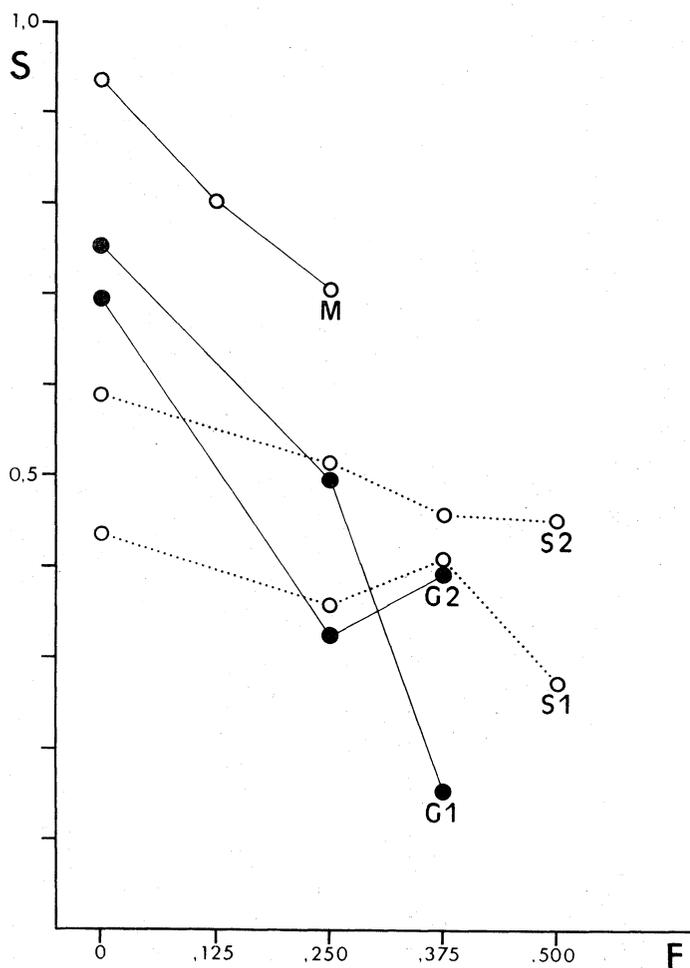


Fig. 1. - Sopravvivenza ai diversi gradi di inincrocio nelle popolazioni di Malamocco (M), Grado (G1 e G2) e Scardovari (S1 ed S2).

Effetto dell'inincrocio. Per i due esperimenti relativi agli animali provenienti da Grado e per la prima serie di misure riguardanti la popolazione di Scardovari, è stato possibile applicare l'analisi della varianza per verificare il livello di significatività della caduta di sopravvivenza a seguito del progressivo aumento dell'omozigosi. In tutti gli esperimenti l'effetto globale si è dimostrato altamente significativo con $P < 0,001$. Con la successiva applicazione, per ciascun esperimento, del test di Student-Newmann-Keuls (Sokal e Rohlf, 1969) si è ulteriormente saggiata la differenza tra le sopravvivenze

corrispondenti ai singoli livelli di inincrocio. Nel primo esperimento per gli animali di Grado (G 1) l'effetto di ogni livello di inbreeding è significativamente diverso ($P < 0,05$). In G 2 le sopravvivenze corrispondenti ad $F = 0,250$ ed $F = 0,375$ differiscono da quelle misurate in condizioni di esincrocio, ma non tra di loro.

Per Scardovari, nel primo esperimento (S 1), tra tutti i valori di F si hanno differenze significative, eccetto che per $F = 0,375$ che non si discosta da $F = 0$. Per S 2, poiché le varianze ottenute in corrispondenza di ciascun F si presentavano eterogenee, si è applicato il test t limitandosi a saggiare le sopravvivenze per i vari F contro quella misurata per $F = 0$. Tranne che nella prima generazione di inincrocio, le sopravvivenze sono sempre significativamente differenti ($P < 0,001$ e $P < 0,01$ per i successivi F).

Complessivamente, e come del resto ci si attendeva, i risultati indicano come l'aumento progressivo dell'omozigosi deprima corrispondentemente le probabilità di sopravvivenza da nauplio ad adulto.

Sopravvivenza per $F = 0$. Confronto tra repliche: con l'applicazione del test t abbiamo verificato se tra i risultati di ciascun esperimento esistesse una completa ripetibilità almeno nella generazione di esincrocio, cioè quando l'assetto genetico è il più prossimo a quello delle popolazioni naturali. Una differenza significativa è stata trovata per gli animali di Scardovari ($P < 0,01$), non per quelli di Grado.

Il medesimo test è stato applicato per verificare se l'apparente differenziazione tra zone geografiche fosse significativa. Si sono pertanto saggiati i due valori più prossimi: tra G 2 ed S 2 la differenza è significativa con $P < 0,05$ e tra Malamocco e G 1 con $P < 0,001$. Pertanto, pur potendo esistere delle diversità all'interno delle singole popolazioni e pur con la cautela dovuta al fatto che si sono confrontate misure effettuate in tempi alquanto diversi, sembra lecito ritenere che le sopravvivenze, misurate alle condizioni di laboratorio, delle popolazioni naturali varino a seconda delle loro zone di provenienza.

Grado di depressione della sopravvivenza. Si è anche verificato se il tasso di diminuzione della sopravvivenza causato dall'inincrocio variasse nelle due repliche. A tal fine si è applicata l'analisi della varianza prendendo in considerazione la significatività dell'interazione. Purtroppo ci si è dovuti limitare all'intervallo tra $F = 0$ ed $F = 0,250$ perchè per livelli maggiori di inincrocio veniva a mancare l'omogeneità delle varianze. Del resto, quello qui considerato è forse l'intervallo più significativo dal momento che per valori più elevati di F l'epistasi e la perdita di genotipi, possono alterare i risultati. L'interazione è risultata significativa ($P < 0,05$) solo per gli animali provenienti da Grado.

Utilizzando le sopravvivenze medie, sempre in corrispondenza di $F = 0$ ed $F = 0,250$, e per entrambe le repliche, si è calcolata l'interazione tra Grado e Scardovari che è risultata significativa con una probabilità $P < 0,01$. Sembra quindi che in queste due popolazioni l'intensità dell'effetto dell'inbreeding sia sensibilmente diversa.

Carico genetico. I valori di A e B dei quattro esperimenti sono riportati nella Tabella I e sono confrontabili con i nuovi valori ottenuti per Malamocco: $A = 0,071$; $B = 1,131$; $B/A = 16,015$. Le stime di B sono pressochè identiche per le due repliche di Scardovari e costituiscono i minimi tra tutte quelle ottenute in precedenza per *Tisbe*. I valori di B calcolati per la popolazione di Grado sono relativamente diversi tra le due repliche, tuttavia si collocano entrambi tra i valori più alti che sono stati trovati.

Come già detto, per varie ragioni è forse più affidabile il risultato che si ottiene per valori di F uguali o minori a 0,250. Pertanto abbiamo ricalcolato i B per tale intervallo, ottenendo per Scardovari $B = 0,780$ per S1 e $B = 0,531$ per S2, e per Grado $B = 1,668$ per G1 e $B = 3,040$ per G2. Tra l'altro, questi valori sono forse più direttamente comparabili con quelli di Malamocco, in quanto si riferiscono al medesimo intervallo di incrocio. Per le popolazioni di Scardovari le stime sono praticamente identiche a quelle riportate in tabella. Per quanto riguarda invece gli animali di Grado, i nuovi valori sono abbastanza diversi; tuttavia l'intervallo di variazione è lo stesso e le fluttuazioni riscontrate potrebbero dipendere, almeno in parte, da ragioni sperimentali.

DISCUSSIONE

Le tre popolazioni di *Tisbe bulbisetosa* prese in considerazione appaiono differire, come risulta con un ragionevole grado di sicurezza dagli esperimenti effettuati, sia per quanto riguarda i rispettivi valori della sopravvivenza in esincrocio alle condizioni di laboratorio, sia per il decremento della stessa con l'aumento del grado di omozigosi e quindi per il livello di carico genetico stimato come numero di equivalenti letali.

In particolare, le due misure effettuate per la popolazione di Scardovari hanno dato valori molto vicini, i più bassi tra quelli calcolati per *Tisbe* e ciò sia considerando tutto l'intervallo di incrocio saggiato, sia limitandolo ad $F = 0$ ed $F = 0,250$. Per la popolazione di Grado, le stime di B hanno fornito valori piuttosto elevati, i maggiori ottenuti per questa specie. Nel caso particolare le due repliche non sono così simili come quelle relative alla popolazione di Scardovari, e i valori calcolati per ogni singolo esperimento, come si è visto, differiscono a seconda dell'intervallo di F considerato. Tuttavia il « range » per B rimane praticamente il medesimo e la maggior variabilità non contrasta il fatto che la popolazione di Grado appare caratterizzata dal più alto carico genetico.

In definitiva, la variabilità genetica latente risulterebbe massima per la popolazione di Grado, intermedia per quella di Malamocco e minima per la popolazione insediata a Scardovari.

Se riconsideriamo gli ambienti di provenienza degli animali sulla base di alcune delle caratteristiche ecologiche di cui abbiamo fatto cenno nell'introduzione, possiamo ordinarli nel modo seguente: per quanto riguarda la

stabilità, quale può essere stimata dalle fluttuazioni a breve e lungo periodo della salinità, e la eterogeneità biotica, intesa come numero di specie presenti o come complessità delle biocenosi insediate, si ottiene la sequenza decrescente: Grado > Malamocco > Scardovari. Se consideriamo la marginalità, che nel nostro caso può essere intesa sia come distanza dal mare, e quindi geografica, che ecologica, otteniamo la medesima sequenza ma in ordine crescente: Grado < Malamocco < Scardovari. Questi ordinamenti risultano paralleli a quello indicato per il carico genetico.

Vi sono quindi validi indizi per ritenere che la variabilità genetica latente sia fortemente influenzata dai parametri ecologici e che la struttura genetica di *T. bulbisetosa* sia diversificata nelle tre popolazioni considerate, proprio in virtù delle differenze esistenti tra i loro rispettivi ambienti di provenienza.

L'ipotesi che le popolazioni delle tre zone lagunari non siano geneticamente omogenee è anche confermata dal fatto che in esincrocio, ed alle medesime condizioni ambientali, le rispettive sopravvivenze sono sostanzialmente dissimili. Tuttavia quest'ultimo risultato non sembra poter dare dirette informazioni sul grado di variabilità genetica degli animali studiati.

La diminuzione della variabilità genetica latente che si verifica nelle popolazioni lagunari di *T. bulbisetosa* con l'aumentare della loro distanza dal mare è in accordo con i risultati precedentemente ottenuti per *T. holothuriae* (Fava *et al.*, 1976; Battaglia *et al.*, 1978 a). Gli esperimenti effettuati sinora in *Tisbe* sembrerebbero quindi contrastare l'ipotesi che la variabilità genetica sia maggiore quando l'instabilità ambientale è più elevata (Levins, 1968; Grassle, 1972); come risulta anche da ricerche condotte su organismi che vivono in ambienti particolarmente stabili quale è il mare profondo e le barriere coralline tropicali (Gooch e Schopf, 1972; Ayala e Valentine, 1974; Campbell e Valentine, 1975).

Tuttavia, come si è detto, la stabilità dei parametri fisici non è la sola componente che differenzia le aree di provenienza degli animali saggiati. Infatti le popolazioni con minor carico genetico (Scardovari) sono anche le più marginali e quelle inserite nella comunità meno eterogenea ed in un ambiente in cui la variabilità è maggiormente imprevedibile. Ed il contrario è vero per le popolazioni in cui maggiore è il valore di B. Bisogna aggiungere che, anche se non abbiamo effettuato stime a riguardo, le tre stazioni di prelievo differiscono probabilmente anche per quanto riguarda la stabilità del livello trofico la cui importanza è stata particolarmente sostenuta, anche recentemente, da Ayala e Valentine (1978). In sostanza, ciascuno dei parametri esaminati può essere correlato, positivamente o negativamente, coi valori calcolati di B.

È pertanto estremamente difficile, a questo stadio della ricerca, suggerire un particolare fattore ambientale come quello che maggiormente influenza la variabilità genetica latente di *Tisbe*. Del resto siamo più portati a suggerire l'ipotesi che, con l'eccezione di condizioni estreme, non un particolare parametro ma l'« ambiente », nel suo complesso di interazioni e condi-

zionamenti a carico di ciascun particolare organismo, sia in grado di indurre sensibili modifiche nella struttura genetica in ogni data popolazione e che queste influenze non debbano necessariamente essere le medesime per qualsiasi specie.

Se i risultati che abbiamo discusso indicano concordemente l'esistenza di una precisa relazione tra caratteristiche ecologiche e variabilità genetica latente, non permettono tuttavia una diretta estrapolazione alla variabilità genetica «totale» delle popolazioni esaminate. Infatti il metodo usato per calcolare il numero di equivalenti letali non permette di stimare quanti siano i geni che influenzano la sopravvivenza, né il loro grado di eterozigosi nelle popolazioni naturali. Inoltre non si ha modo di verificare se questi possono rappresentare un campione casuale del genoma.

Tuttavia, stime della variabilità genetica in popolazioni marine e di acque salmastre ottenute dallo studio di isoenzimi in *T. holothuriae* (Battaglia *et al.*, 1978 b) e in *T. bulbisetosa* (Bisol *et al.*, 1979) hanno dato risultati in buon accordo con le misure del carico genetico (Lazzaretto-Colombera *et al.*, 1976). Sembra quindi lecito ritenere che, pur senza poter dare una valutazione quantitativa, anche le misure del carico genetico di *T. bulbisetosa* siano indicative di una effettiva riduzione della variabilità genetica per le popolazioni che sono insediate nelle aree lagunari interne.

BIBLIOGRAFIA

- AYALA F. J. e VALENTINE J. W. (1974) - *Genetic variability in a cosmopolitan deepwater ophiuran*, *Ophiomusium lymani*. «Marine Biology», 27, 51-57.
- AYALA F. J. e VALENTINE J. W. (1978) - *Genetic variation and resource stability in marine invertebrates*. In «Marine organisms: genetics, ecology and evolution», Eds. B. Battaglia and J. A. Beardmore. New York, Plenum Publishing corp., 23-51.
- BATTAGLIA B. (1970) - *Cultivation of marine copepods for genetic and evolutionary research*. «Helgoländer wiss. Meeresunters», 20, 385-392.
- BATTAGLIA B., BISOL P.M. e FAVA G. (1978 a) - *Genetic variability in relation to the environment in some marine invertebrates*. In «Marine organisms: genetics, ecology and evolution» Eds. B. Battaglia and J. A. Beardmore. New York, Plenum Publishing corp., 53-70.
- BATTAGLIA B., BISOL P.M. e VAROTTO V. (1978 b) - *Variabilité génétique dans des populations marines et lagunaires de Tisbe holothuriae (Copepoda, Harpacticoida)*. «Arch. Zool. exp. gén.», 119, 251-254.
- BISOL P.M., VAROTTO V. e BATTAGLIA B. (1979) - *Variabilità genetica di tre popolazioni del copepode arpacticoida Tisbe bulbisetosa*. «Atti Soc. Tosc. Sci. Nat., Mem.», ser. B, 86 suppl., 357-359.
- CAMPBELL C. A. e VALENTINE J. W. (1975) - *High genetic variability in a population of Tridacna maxima from the Great Barrier Reef*. «Marine Biology», 33, 341-345.
- FAVA G. (in stampa) - *Tisbe (Copepoda, Harpacticoida) species from the lagoon of Grado*. «Archo Oceanogr. Limnol.».
- FAVA G., LAZZARETTO-COLOMBERA I. e CERVELLI M. (1976) - *Carico genetico in Tisbe (Copepoda, Harpacticoida)*. II. *T. holothuriae e T. bulbisetosa della laguna di Venezia*. «Accad. Naz. Lincei, Rend.», 60, 699-708.
- FAVA G. e VOLKMANN B. (1975) - *Tisbe (Copepoda, Harpacticoida) species from the lagoon of Venice*. I. *Seasonal fluctuations and ecology*. «Marine Biology», 30, 151-165.

- FAVA G. e VOLKMANN B. (1977) – *Tisbe (Copepoda, Harpacticoida) species from the estuarine embayment of Scardovari*. «Archo Oceanogr. Limnol.», 19, 55–64.
- GOOCH J. L. e SCHOFF T. J. M. (1972) – *Genetic variability in the deep sea: relation to environmental variability*. «Evolution», 26, 545–552.
- GRASSLE J. F. (1972) – *Species diversity genetic variability and environmental uncertainty*. «Fifth European Marine Biological Symposium», Ed. B. Battaglia, Piccin, Padova, 19–26.
- LAZZARETTO-COLOMBERA I., FAVA G. e GRADENIGO-DENES M. (1976) – *Carico genetico in Tisbe (Copepoda, Harpacticoida)*. I. *Tisbe holothuriae di due popolazioni del Mediterraneo occidentale*. «Accad. Naz. Lincei. Rend.», 60, 691–698.
- LEVINS R. (1968) – *Evolution in changing environments*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, pp. 120.
- MORTON N. E., CROW J. F. e MUELLER H. J. (1965) – *An estimate of the mutational damage in man from data on consanguineous marriages*. «Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.», 42, 855–863.
- SOKAL R. S. e ROHLF F. J. (1969) – *Biometry*. Freeman and C., S. Francisco, pp. 776.