
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

PAOLO MARIA BISOL, TOMASO PATARNELLO, BRUNO
BATTAGLIA

Variabilità genetica in anfipodi del genere *Gammarus* di ambienti salmastri

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 80 (1986), n.7-12, p.
593–601.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1986_8_80_7-12_593_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/>

SEZIONE III

(Botanica, zoologia, fisiologia e patologia)

Genetica. — *Variabilità genetica in anfipodi del genere Gammarus di ambienti salmastri.* Nota di PAOLO MARIA BISOL (*), TOMASO PARNELLO (*) e BRUNO BATTAGLIA (**), presentata (***) dal Corrisp. B. BATTAGLIA.

SUMMARY. — Protein polymorphism in some brackish-water populations of *Gammarus aequicauda* and *G. insensibilis* was assayed by electrophoresis. The analyses for several gene-enzyme systems indicate a low level of genetic variability. The data of repeated investigations show a strong temporal stability of the distribution of heterozygous loci, with a consistently high heterozygosity for the Pgi locus in *G. insensibilis*.

This suggests that the prevailing adaptive mechanism is based on a higher individual flexibility in more challenging environments. This is achieved through fixation of alleles conferring higher adaptiveness. However, it is possible that some loci can maintain high levels of heterozygosity by interaction of stochastic and directional factors.

INTRODUZIONE

Lagune salmastre ed estuari rappresentano ambienti marginali di contatto fra le acque dolci e quelle marine. La loro caratteristica più importante è la notevole fluttuazione dei parametri fisico-chimici, sia temporalmente che spazialmente, a causa del continuo rimescolamento fra le acque dei bacini interni dei fiumi con l'acqua del mare (Biggs e Cronin, 1981).

L'instabilità di fattori come la temperatura e la salinità, che hanno grande influenza su molti processi biologici (Kinne, 1970; 1971), si riflette in una rigidità che riduce il numero delle specie in grado di adattarsi. Il raggiungimento di tale obiettivo coinvolge numerose caratteristiche (metaboliche, popolazionistiche, comportamentali) di una specie e comporta una loro complessa interazione.

Per quanto riguarda l'individuazione degli aspetti genetici dell'adattamento, il problema può essere affrontato con lo studio della variabilità genetica, riferita soprattutto a caratteri biochimici rivelabili con l'elettroforesi, e della sua distribuzione (Battaglia *et al.*, 1978; Nevo, 1978; Nevo *et al.*, 1984). Le modalità che tendono a ottimizzare le capacità riproduttive e di sopravvivenza po-

(*) Dipartimento di Biologia dell'Università di Padova.

(**) Istituto di Biologia del Mare, C.N.R., Venezia.

(***) Nella seduta del 13 dicembre 1986.

trebbero risultare dalla esistenza di schemi di distribuzione comuni e riconducibili, in qualche misura, a quelle che Levins (1968) ha definito strategie adattative.

I dati qui riportati si riferiscono a una serie di indagini condotte su due crostacei anfipodi, *Gammarus insensibilis* e *Gammarus aequicauda*, tipici delle acque salmastre. La prima specie occupa soprattutto habitat lagunari con salinità più elevata; la seconda mostra una distribuzione estesa alle acque estuariali in zone a più bassa salinità (Brun, 1971; Karaman, 1982).

I campioni delle due specie provenivano da ambienti geograficamente distinti e caratterizzati da un diverso livello di instabilità in rapporto al differente variare, per entità e per periodicità, delle condizioni ambientali. In questo modo sono stati resi possibili dei confronti fra genomi assai affini, sottoposti a regimi ambientali variabili in maniera differenziata. Inoltre, si è cercato di valutare l'eventuale costanza di certe combinazioni genetiche con la replica di alcuni campionamenti e seguendo per un certo periodo le frequenze geniche di uno specifico locus.

MATERIALE E METODI

I campioni di *Gammarus insensibilis* sono stati raccolti nella laguna di Venezia (Chioggia), da una distesa a *Ulva* sp. nei pressi di Chioggia (Isola di S. Felice): si tratta di un'area polialina che mostra marcate variazioni stagionali (Brunetti *et al.*, 1983). Per lo studio dei livelli di polimorfismo dei sistemi genenzima, le raccolte sono state effettuate nel maggio 1976 e nel novembre 1986; le ricerche sull'andamento delle frequenze geniche del locus Pgi-1 che codifica per l'enzima fosfoglicosio-isomerasi sono state svolte dal dicembre 1978 all'aprile 1980, attraverso campionamenti pressoché mensili.

Gammarus aequicauda proveniva sia da un ambiente lagunare - bacino di Bages-Sigean, Francia meridionale - sia da un ambiente estuario - delta del Po. Nel primo caso l'instabilità dell'area è condizionata fortemente dalle situazioni metereologiche (Cahet *et al.*, 1974); nel secondo è l'apporto fluviale a determinare l'ampiezza e il carattere delle oscillazioni (Mazzocchi e Ferrari, 1978; rapporto ENEL, 1980).

Nel bacino di Bages-Sigean, la raccolta è stata fatta nei pressi della stazione del Laboratorio Arago nell'agosto 1977.

L'area estuariale è rappresentata dalla Sacca del Canarin, compresa fra i rami del Po di Pila e di Tolle. Ad un primo campionamento nel settembre 1979 se ne è aggiunto un altro nel maggio 1980. Nello stesso mese si è proceduto inoltre alla raccolta di campioni da uno specchio d'acqua contiguo ma separato da un argine. Nella tabella i due campionamenti nella stessa località ma in tempi diversi vengono indicati con le sigle A₁ e A₂; il terzo con la sigla B.

Le analisi elettroforetiche sono state condotte inizialmente utilizzando gel di acrilamide come supporto; successivamente (1979) sono state introdotte tecniche per il gel d'amido. Per il campionamento più recente (1986) è stato appli-

cato anche il sistema Sartophor, che prevede l'acetato di cellulosa come mezzo sul quale far avvenire la migrazione.

L'applicazione di tecniche diverse e il loro affinamento nel corso del tempo giustificano una relativa disomogeneità nel numero e nel tipo di enzimi studiati di volta in volta. Alcune differenze nel campione di geni studiato sono imputabili al fatto che gli animali, conservati in freezer al momento dell'analisi elettroforetica, davano risposte non chiaramente interpretabili per alcuni sistemi.

Le metodiche seguite sono quelle descritte da Selander *et al.* (1971), Harris e Hopkinson (1976 e supplemento 1977), Bisol (1976; 1980), con alcuni aggiustamenti relativi ai pH dei tamponi e alle quantità dei substrati. Per economia di spazio si omette la descrizione analitica delle tecniche e dell'ampia gamma di condizioni sperimentate.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Per lo studio del pool genico delle popolazioni di *Gammarus* si sono eseguite due diverse vie: in una prima fase, dal 1976 al 1980, le indagini hanno riguardato un campione casuale di sistemi gene-enzima, dato che il criterio di scelta si basava sull'affidabilità delle classificazioni; nella seconda si è lavorato su un gruppo di geni scelto in rapporto alla funzione metabolica svolta dai loro prodotti.

Nella Tabella I sono illustrati i valori medi dei principali parametri indicativi del polimorfismo genetico, ottenuti nella prima serie di ricerche.

In tutti i casi e per tutti i parametri - numero medio di alleli per locus, percentuale di loci polimorfi, frequenza osservata e attesa degli eterozigoti - risultano dei valori molto bassi. Ciò dipende dal fatto che nella gran parte dei loci si è fissato o quasi un allele, come è suggerito dalla fig. 1, indicativa della eterozigosi attesa per locus. Limitate a uno o due loci appaiono le situazioni con frequenze di eterozigoti superiori al cinquanta per cento dei genotipi possibili.

Le due specie di *Gammarus* hanno caratteristiche biologiche molto simili. La riproduzione avviene per tutto l'anno con tempi di sviluppo che variano in funzione della temperatura: la maturità sessuale viene raggiunta in 25-30 giorni nella stagione estiva e in 100-150 in quella invernale (Jansen *et al.*, 1979). Oltre che euriterme le due specie possono essere considerate eurialine: *G. aequicauda* sopporta salinità comprese fra il 5 e il 40 per mille; *G. insensibilis* fra il 15 e il 38 per mille (Brun, 1971, l.c.).

Il fatto che a tali capacità di adattamento fisiologico corrisponda un grado di variabilità genetica molto simile riferita in larga misura agli stessi geni, potrebbe indicare l'esistenza di meccanismi genetici di adattamento comuni. In particolare, il basso grado di polimorfismo proteico dipenderebbe dalla prevalenza di meccanismi che favoriscono la fissazione di alleli in grado di soddisfare la più ampia plasticità individuale. In questo modo le continue e ampie variazioni dell'ambiente verrebbero tamponate da poche combinazioni genotipiche

TABELLA I.
Numero di geni studiato e parametri della variabilità genetica nelle popolazioni di Gammarus.

| Popolazione | Numero di enzimi | Numero di loci | Numero medio di geni per locus | Numero medio di alleli per locus | Percentuale di loci polimorfi | | Frequenza media degli eterozigoti | | |
|----------------------------------|------------------|----------------|--------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|---------------------|-----------------------------------|------------------|--|
| | | | | | $P \leq 0,05^{(*)}$ | $P \leq 0,01^{(*)}$ | osservati | * attesi | |
| <i>G. aequicauda</i> | | | | | | | | | |
| Sigean | 12 | 27 | $82,92 \pm 4,63$ | $1,222 \pm 0,08$ | 18,5 | 22,2 | $0,037 \pm 0,02$ | $0,039 \pm 0,02$ | |
| Canarin A ₁ | 12 | 26 | $113,85 \pm 3,64$ | $1,462 \pm 0,17$ | 15,4 | 26,9 | $0,040 \pm 0,02$ | $0,049 \pm 0,02$ | |
| A ₂ | 15 | 29 | $105,59 \pm 3,32$ | $1,414 \pm 0,18$ | 13,8 | 24,1 | $0,047 \pm 0,03$ | $0,052 \pm 0,02$ | |
| B | 14 | 29 | $106,21 \pm 3,31$ | $1,517 \pm 0,22$ | 10,3 | 17,4 | $0,047 \pm 0,02$ | $0,049 \pm 0,03$ | |
| <i>G. insensibilis</i> | | | | | | | | | |
| Venezia, 1976 | 15 | 22 | $142,17 \pm 0,17$ | $1,417 \pm 0,17$ | 16,7 | 20,2 | $0,063 \pm 0,03$ | $0,065 \pm 0,03$ | |

(*) Vengono indicati i due criteri seguiti per considerare un locus come polimorfo: l'allele più comune ha una frequenza non superiore al 95% nel primo caso ed al 99% nel secondo.

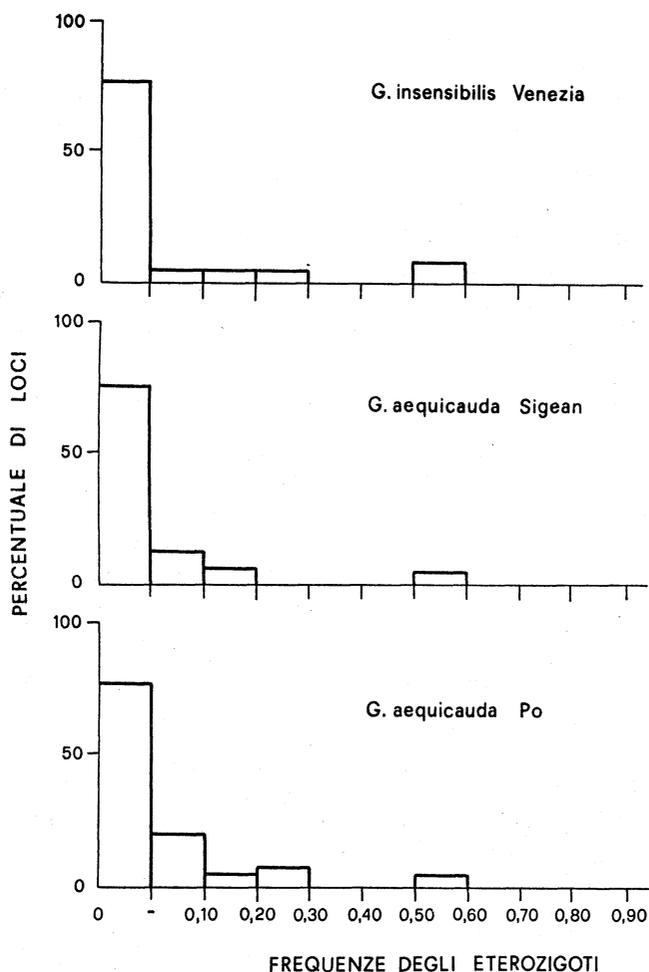


Fig. 1. - Distribuzione dell'eterozigosi attesa sui loci studiati nei campionamenti del maggio 1976 per *Gammarus insensibilis*, dell'agosto 1977 per *G. aequicauda* di Sigean e maggio 1980 (A_2) per quello del delta del Po.

piuttosto che attraverso il succedersi di genotipi. L'economia di tale meccanismo potrebbe inoltre essere attribuita alla specializzazione delle popolazioni che sperimentano un unico, pur se variabile, tipo di ambiente e alla relativa lunghezza dei cicli biologici.

Questo schema interpretativo sembra essere in qualche misura suffragato dalla distribuzione stessa dei dati, risultando i valori medi del polimorfismo inferiori in *G. aequicauda* rispetto a quelli di *G. insensibilis*, in accordo quindi con la maggiore rigidità degli ambienti di raccolta.

Altri Autori hanno trovato bassa variabilità genetica (Gooch e Hetrick, 1979) o polimorfismo limitato a pochi loci (Bulnheim e Scholl, 1980; 1981 *a e b*; 1982; 1985) in specie di *Gammarus* marine, d'acqua salmastra o d'acqua dolce, giustificandoli come risultati di fenomeni di deriva genetica.

Le popolazioni di Gammaridi sono di solito parcellizzate e vanno incontro a oscillazioni numeriche stagionali, accompagnate da più o meno rapide successioni di generazioni; per *G. aequicauda* e *G. insensibilis* delle coste meridionali francesi si vedano i già citati lavori di Brun e Jansen e co-autori. Ripetuti colli di bottiglia potrebbero determinare riduzioni della variabilità genetica o impedire l'accumulo di mutazioni geniche.

L'aver replicato i campionamenti di *G. aequicauda* del Delta del Po e l'aver seguito per oltre un anno le frequenze geniche del locus Pgi-1 nell'altra specie, (Tab. II), hanno consentito di ottenere ulteriori informazioni che suggeriscono la possibilità di interazioni fra i diversi fattori ambientali e biologici più che l'azione di un singolo fattore evolutivo.

Per *G. aequicauda* le variazioni più rilevanti sono state a carico di geni per i quali erano state messe in luce situazioni di monomorfismo o quasi. Si tratta comunque di pochi loci come quelli per la Glutammicoossalacetico-transaminasi (Got-1 e 2) e per le Aminopeptidasi (Ap-1 e 2). L'aumento in frequenza dell'allele più diffuso fino alla fissazione comporta una diminuzione dell'eterozigosi media attesa, riferita ai soli loci comuni ai tre campionamenti, dal 4,5% di settembre 1979 al 3,5% di maggio 1980.

Pure agli alleli rari sono da imputare le principali variazioni di frequenza osservate per il sistema gene-enzima della Fosfoglucoisomerasi, le cui distribuzioni genotipiche sono riportate assieme alla frequenza dell'allele più comune in Tabella II.

Nei diversi campionamenti, infatti, un andamento erratico è stato messo in luce per gli alleli A, E, F e, in minor misura, B, che mediamente rappresentano una frequenza pari a 0,05. Per gli alleli C (frequenza media 0,55), e D (frequenza media 0,40) i chi-quadro di omogeneità fanno ritenere le oscillazioni osservate casuali: per il primo allele il chi-quadro è uguale a 14,44, per il secondo a 10,35 con conseguenti probabilità ampiamente superiori al valore limite di 0,05, essendo 14 i gradi di libertà. È da notare, inoltre, che la scomparsa degli alleli rari appare legata anche alle dimensioni del campione studiato.

Anche i risultati del più recente studio, novembre 1986, suggeriscono una certa stabilità della composizione genetica in *G. insensibilis*. Attraverso l'analisi elettroforetica di un campione di 100 individui, 50 maschi e 50 femmine, per un gruppo selezionato di 19 enzimi si sono ottenuti i seguenti livelli medi di polimorfismo:

numero medio di alleli per locus = $1,62 \pm 0,30$;

percentuale di loci polimorfi = 4,8 ($P \leq 0,05$); 16,2 ($P \leq 0,01$);

eterozigosi osservata 2,9%; attesa 3,9%.

La diminuzione delle frequenze degli eterozigoti rispetto a quelle della Tabella I dipende, in buona misura, dal fatto che sono stati esclusi dall'analisi sistemi per i quali non sia noto il normale ruolo metabolico in vivo. Pertanto non sono stati considerati sistemi come le esterasi che, con la fosfoglucoisomerasi, contribuivano ad innalzare i valori medi del polimorfismo.

TABELLA II.
Distribuzioni genotipiche per il locus Pgi-1 in Gammarus insensibilis; χ^2 sull'equilibrio per le classi degli omozigoti e degli eterozigoti (g.l. 1); frequenza dell'allele più comune Pgi C.

| Date campionamento | Dimen- sioni campioni | CC | DD | Altri omozigi- goti | CD | BC | BD | Altri etero- zigoti | χ^2 | P | Frequenza Pgi C |
|--------------------|-----------------------------|--------------|--------------|---------------------------|--------------|-------------|-------------|---------------------------|----------|--------|--------------------|
| Dicembre 1978 | 115 | 36 35,617 | 16 14,263 | — 0,452 | 43 45,078 | 6 6,678 | 6 4,578 | 8 7,721 | 0,092 | > 0,70 | 0,557 ± 0,033 |
| Gennaio 1979 | 100 | 27 25,503 | 14 14,440 | 1 1,023 | 37 38,380 | 8 10,100 | 10 7,600 | 3 2,852 | 0,044 | > 0,80 | 0,505 ± 0,055 |
| Febbraio 1979 | 144 | 35 37,454 | 28 28,516 | 1 0,190 | 69 65,362 | 6 5,141 | 2 4,486 | 3 2,852 | 0,130 | > 0,70 | 0,510 ± 0,029 |
| Marzo 1979 | 176 | 58 57,383 | 24 24,355 | 1 0,342 | 75 74,769 | 6 8,643 | 7 5,630 | 5 4,876e | 0,019 | > 0,80 | 0,571 ± 0,026 |
| Aprile 1979 | 116 | 35 39,834 | 14 18,283 | — 0,022 | 63 53,973 | 3 1,767 | — 1,197 | 1 0,924 | 2,879 | > 0,05 | 0,586 ± 0,032 |
| Maggio 1979 | 117 | 39 38,953 | 19 18,070 | — 0,054 | 52 53,062 | 3 2,295 | 1 1,563 | 3 3,002 | 0,029 | > 0,80 | 0,577 ± 0,032 |
| Giugno 1979 | 95 | 36 33,070 | 18 15,200 | — 0,004 | 39 44,480 | — 0,559 | 1 0,380 | 1 0,945 | 1,380 | > 0,20 | 0,590 ± 0,036 |
| Luglio 1979 | 151 | 64 58,985 | 24 19,810 | — 0,106 | 59 68,349 | 6 4,827 | 2 2,797 | 3 2,814 | 2,030 | > 0,10 | 0,611 ± 0,027 |
| Settembre 1979 | 97 | 38 35,857 | 15 13,351 | — 0,046 | 40 43,760 | 2 1,769 | 1 1,080 | 1 0,377 | 0,475 | > 0,40 | 0,608 ± 0,035 |
| Ottobre 1979 | 160 | 60 57,025 | 24 22,861 | — 0,026 | 68 72,213 | 1 1,719 | 2 1,089 | 5 4,746 | 0,387 | > 0,50 | 0,597 ± 0,027 |
| Novembre 1979 | 96 | 27 29,251 | 13 15,054 | — 0,109 | 46 41,970 | 3 2,755 | 2 1,977 | 5 4,778 | 0,799 | > 0,30 | 0,552 ± 0,036 |
| Dicembre 1979 | 60 | 17 17,626 | 11 11,249 | — 0,037 | 29 28,162 | 2 1,626 | 1 1,299 | — — | 0,056 | > 0,80 | 0,542 ± 0,045 |
| Gennaio 1980 | 93 | 31 30,216 | 15 14,364 | — 0,097 | 40 41,666 | 4 3,393 | 2 2,339 | 1 0,925 | 0,075 | > 0,70 | 0,570 ± 0,036 |
| Febbraio 1980 | 132 | 49 45,483 | 23 19,363 | — 0,056 | 52 59,353 | 1 1,085 | 1 0,708 | 6 5,951 | 1,527 | > 0,20 | 0,587 ± 0,030 |
| Aprile 1980 | 86 | 23 24,615 | 15 15,901 | — 0,040 | 42 39,569 | 2 1,564 | 1 1,257 | 3 3,051 | 0,305 | > 0,50 | 0,535 ± 0,038 |

Per ciò che concerne il locus Pgi-1 sono stati messi in luce i sei alleli già descritti con una distribuzione ampiamente sovrapponibile a quelle medie precedentemente riportate: Pgi-A = 0,005; Pgi-B = 0,030; Pgi-C = 0,580; Pgi-D = 0,375; Pgi-E = 0,005; Pgi-F = 0,005. L'elevata eterozigosi rimane quindi una caratteristica peculiare di questo locus, mentre gli altri continuano a mostrare livelli di polimorfismo bassi o nulli.

Il perdurare di tali distribuzioni per un arco di dieci anni porta a considerare un'interazione fra diversi fattori quali mutazione ricorrente, migrazione, selezione bilanciata, deriva genetica. La strada, intrapresa con l'ultimo campionamento, di studiare in modo elettivo sistemi enzimatici con funzione metabolica nota e correlabile (ciclo di Krebs, glicolisi) potrebbe facilitare il chiarimento delle modalità di interazione fra le diverse componenti in gioco. Più semplice potrebbe allora risultare l'individuazione di caratteristiche biochimiche con effetti sulla fitness, in modo da arrivare a valutare fino a che punto la distribuzione del polimorfismo osservata rifletta meccanismi di adattamento genetico ad ambienti variabili.

BIBLIOGRAFIA

- BATTAGLIA B., BISOL P.M. e G. FAVA (1978) - *Genetic variability in relation to the environment in some marine invertebrates*. In « Marine organisms. Genetics, Ecology, and Evolution ». B. Battaglia and J. Beardmore Eds., Plenum Press, 53-70.
- BIGGS R.B. e CRONIN L.E. (1981) - *Special characteristics of estuaries*. In « Estuaries and nutrients », Neilson B.J. and Cronin L.E. Eds., Human Press, Clifton, New Jersey.
- BISOL P.M. (1976) - *Polimorfismi enzimatici ed affinità tassonomiche in Tisbe (Copepoda, Harpacticoida)*. « Atti Accad. Naz. Lincei, Rend. Cl. Sci. », MM.FF.NN., 60, 864-870.
- BISOL P.M. (1980) - *Analisi elettroforetica delle amilasi in due gruppi di specie gemelle di Copepodi del genere Tisbe*. « Atti Ist. Veneto SS.LL.AA. », 138, 113-119.
- BRUN B. (1971) - *Variations intraspécifiques et spéciation chez deux espèces de gammarus d'eau saumâtre du groupe Gammarus locusta*. Thèse, Marseille, C.N.R.S., A.O. 6247.
- BRUNETTI R., MARIN M., BEGHI L. and BRESSAN M. (1983) - *Study of pollution in the Venetian lagoon's lower basin during the period 1974-1981*. « Riv. Idrobiol. », 22, 27-58.
- BULNHEIM H.P. (1985) - *Genetic differentiation between natural populations of Gammarus tigrinus (Crustacea, Amphipoda) with reference to its range extension in European continental waters*. « Arch. Hydrobiol. », 102 (3), 273-290.
- BULNHEIM H.P. e SCHOOL A. (1980) - *Evidence of genetic divergence between two brackish-water gammaridean sibling species*. « Mar. Ecol. Progr. Ser. », 3, 163-165.
- BULNHEIM H.P. e SCHOOL A. (1981 a) - *Genetic variation between geographic population of the amphipods Gammarus zaddachi and Gammarus salinus*. « Mar. Biol. », 64, 105-115.
- BULNHEIM H.P. e SCHOOL A. (1981 b) - *Electrophoretic approach to the biochemical systematics of gammarids*. « Helgoländer Meeresunter. », 34, 391-400.
- BULNHEIM H.P. e SCHOOL A. (1982) - *Polymorphism of mannose phosphate isomerase in North Sea and Baltic Sea populations of the amphipods Gammarus zaddachi and Gammarus salinus*. « Mar. Biol. », 71, 163-166.
- CAHET G., FIALA L.M., LABAT J.PH. e JACQUET G. (1974) - *Ecologie de deux étangs du*

- littoral Languedoc-Roussillon, Bages-Sigean et Salses-Leucate*. Rapport préparé pour l'électricité de France. Direction des études et recherches service S.G.E.C.T.N.
- ENEL-DCO (1980) - *Programma di indagini naturalistiche per la centrale di Porto Tolle*. Rapporto finale della fase pre-operazionale. Marzo 1976-Novembre 1979.
- GOOCH J. e HETRICK S.W. (1979) - *The relation of genetic structure to environmental structure: Gammarus minus in a karst area* « Evolution », 33 (1), 192-206
- HARRIS H. e HOPKINSON D.A. (1976, 1977 suppl.) - *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*. North Holland Publishing Company.
- JANSEEN H., SCHEEPMACKER M., VAN CONWELAAR M. and PINKSTEER S. (1979) - *Biology and distribution of Gammarus aequicauda and G. insensibilis (Crustacea, Amphipoda) in the lagoon system of Bages-Sigean (France)*. « Bijdragen tot de Dierkunde », 49, 42-70.
- KARAMAN G.S. (1982) - *Family Gammaridae*, in « *The Amphipoda of the Mediterranean* ». Ruffo Ed., « Memoires Institute Oceanographique, Monaco », 13, 345-360.
- KINNE O. (1970) - *Environmental Factors*, in « Marine Ecology », Vol. 1, Part. 1; Kinne O. Ed., Wiley-Interscience, 407-514.
- KINNE O. (1971) - *Environmental Factors*, in « Marine Ecology », Vol. 1, Part 2, Kinne O. Ed., Wiley-Interscience, 821-995.
- LEVINS R. (1968) - *Evolution in changing environment*. Princeton Univ., Press, New York, pp. 168.
- MAZZOCCHI M.G. e FERRARI I. (1979) - *Variazioni a lungo ed a breve termine dello zooplancton nella sacca del Canarin (delta del Po)*. « Atti Soc. Tosc. Sci. Nat., Mar., serie B, suppl. », 86, 85-88.
- NEVO E. (1978) - *Genetic variation in natural populations: patterns and theory*. « Theor Pop. Biol. », 13, 121-154.
- NEVO E. BEILLES A. e BEN-SHLOMO R. (1984) - *The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic and life history correlates*. In « Evolutionary dynamics of genetic diversity », G.S. Mani Ed., Lecture Notes in Biomathematics, 53, 13-213.
- SELANDER R.K., SMITH M.H., YANG S.Y., JOHNSON W.E. e GENTRY J.B. (1971) - *Biochemical polymorphism and systematics in the genus Peromyscus. I. Variation in the old-field mouse (Peromyscus polionotus)*. « Studies in Genetics », IV, Univ. Texas Publ., 7103, 49-90.