
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

TOMASO PATARNELLO, PAOLO MARIA BISOL, BRUNO
BATTAGLIA

**Sopravvivenza genotipica differenziale in relazione
alla temperatura in *Gammarus insensibilis*
(Amphipoda, Crustacea)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 81 (1987), n.4, p. 427–432.*
Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1987_8_81_4_427_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. — *Sopravvivenza genotipica differenziale in relazione alla temperatura in Gammarus insensibilis (Amphipoda, Crustacea).*
Nota di TOMASO PATARNELLO (*), PAOLO MARIA BISOL (*) e BRUNO BATTAGLIA (**), presentata (***) dal Corrisp. B. BATTAGLIA.

ABSTRACT. — *Differential survival of genotypes in Gammarus insensibilis (Amphipoda, Crustacea) dependent on temperature.* Laboratory tests have been carried out in order to investigate on the possible adaptative role of PGI-1 locus in *Gammarus insensibilis*.

The test consisted in keeping groups of 100 adult individuals at the constant temperature of 27 °C for 36 hours. In each assay, after that time, the mortality was of about 50%.

The electrophoretic screening shows a differential survivorship of PGI genotypes with a significant advantage of the heterozygote genotypes compared with the homozygotes ones.

.KEY WORDS: Differential survivorship; Genotypes; Temperature.

RIASSUNTO. — Allo scopo di chiarire il significato adattativo del locus PGI-1, in *Gammarus insensibilis*, sono stati eseguiti esperimenti di laboratorio consistenti nel sottoporre gruppi di 100 individui adulti ad una temperatura costante di 27 °C per 36 ore.

Questo trattamento ha causato, in tutte le prove effettuate, livelli di mortalità di circa il 50%.

Le indagini elettroforetiche hanno permesso di evidenziare una sopravvivenza della classe eterozigote significativamente più elevata della classe omozigote.

INTRODUZIONE

Lo studio dei meccanismi di adattamento genetico attraverso l'analisi elettroforetica ha portato spesso a risultati controversi (Nevo, 1983).

La valutazione dei polimorfismi enzimatici in organismi che occupano ambienti rigorosi, in cui i parametri fisico-chimici mostrano ampie fluttuazioni stagionali, potrebbe favorire l'individuazione di tali meccanismi di adattamento.

D'altra parte, una stretta relazione tra parametri ambientali come la sali-

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

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

(***) Nella seduta del 9 maggio 1987.

nità o la temperatura e particolari combinazioni genotipiche è stata messa in luce da diversi Autori (Nevo *et al.*, 1977; Koehn e Immermann, 1981).

Il presente lavoro riporta i risultati riguardanti l'influenza della temperatura sulle distribuzioni genotipiche, relativamente al sistema enzimatico Fosfoglucoisomerasi, nell'Anfipode *Gammarus insensibilis*. Gli individui utilizzati per queste indagini, provengono dalla laguna di Venezia (Chioggia), ed occupano ambienti di acqua salmastra in cui si osservano ampie fluttuazioni, su base stagionale, di parametri come la temperatura e la salinità (Brunetti *et al.*, 1983).

Studi precedenti hanno mostrato una notevole omogeneità spaziale nella struttura genetica di diverse specie appartenenti a questo genere, dove lo schema che sembra ripetersi con regolarità prevede molti loci monomorfi o scarsamente polimorfi e pochi loci altamente polimorfi (Battaglia *et al.*, 1978; Siegi-smund *et al.*, 1985).

Per *G. insensibilis*, inoltre, l'aver rilevato un'elevata costanza temporale delle frequenze geniche per il locus PGI-1, che pure è il più polimorfo, ha fatto ipotizzare l'esistenza di una interazione tra fattori stocastici e fattori selettivi tale da permettere il mantenimento di una simile situazione (Bisol *et al.*, 1986).

Allo scopo di evidenziare l'effetto della temperatura sulla distribuzione genotipica del locus PGI-1, sono stati allestiti degli esperimenti di laboratorio realizzati in due riprese, a breve distanza di tempo gli uni dagli altri.

MATERIALI E METODI

I campioni di *G. insensibilis* sono stati raccolti nella laguna di Venezia (Chioggia) presso l'isola di S. Felice nel marzo e nell'aprile '87. In entrambi i casi alcune centinaia di individui, trasportati vivi in laboratorio, sono stati suddivisi in gruppi di 100 adulti ed immessi in acquari di dimensioni $35 \times 25 \times 25$ cm. Ciascun acquario conteneva circa 15 litri di acqua di mare (pH 8.2, Salinità 35‰), raccolta a Chioggia in coincidenza dei massimi di marea e filtrata, prima dell'uso, con filtri di 5 μ m di diametro. In questo modo veniva eliminato tutto il particolato. Sono stati allestiti due tipi di acquari differenti solo per la temperatura: in uno l'acqua era mantenuta a 27 °C mentre nell'altro, che fungeva da controllo, la temperatura era di 10° C, essendo questa molto vicina alla temperatura dell'acqua al momento della raccolta. In entrambi i tipi di acquari gli animali erano privi di cibo, ed in quello a 27 °C l'acqua veniva ossigenata continuamente. La durata dell'esperimento è stata di 36 ore. I campioni morti durante l'esperimento sono stati prelevati dall'acquario ed immediatamente congelati a -40° C. La stessa conservazione ha riguardato i sopravvissuti alla fine delle 36 ore. Gli individui di tutti gli acquari sono stati poi sottoposti ad analisi elettroforetica, utilizzando come supporto gel di acrilamide secondo le tecniche descritte da Bisol (1976).

Nel primo esperimento sono stati allestiti due acquari, uno a 10 °C ed uno a 27 °C. Nella replica, due acquari sono stati tenuti ad alta temperatura mentre uno fungeva da controllo.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Le prove sul possibile ruolo selettivo della temperatura condotte sui campioni di *Gammarus insensibilis* hanno dato risultati completamente diversi in rapporto al diverso trattamento. I valori registrati nei due gruppi di esperimenti sono riportati in Tabella I.

TABELLA I.

Quadro riassuntivo della mortalità nei diversi acquari alla fine delle 36 ore.

	M	V	IV R
A	51	45	4
B	50	50	0
C	38	58	4
D	0	96	4
E	0	96	4

A, B, C = acquari tenuti a 27 °C. D, E = acquari tenuti a 10 °C. M = individui morti prima delle 36 ore; V = individui sopravvissuti al termine delle 36 ore; N/R = individui non recuperati al termine delle 36 ore.

Nei tre acquari tenuti a 27 °C per 36 ore, la mortalità media è di circa il 50%, mentre nei due acquari a bassa temperatura solo il 4% degli individui è da ritenersi morto, dato che alla fine dell'esperimento sono stati raccolti 96 individui dei 100 immessi. Con ogni probabilità la ragione è da attribuirsi a fenomeni di cannibalismo. Tali fenomeni, peraltro, non sembrano dipendere dalla temperatura, in quanto anche negli acquari a 27 °C non è stato possibile recuperare tutti gli individui. L'entità del fenomeno è comunque di così scarsa rilevanza, inferiore al 5%, da non dover essere considerato come influente sui dati.

Questi dati suggeriscono il ruolo condizionante della temperatura sulla sopravvivenza di *G. insensibilis*. Brun (1971) aveva segnalato il mantenimento delle attività biologiche principali in popolazioni naturali ed in giovani esemplari a 30 °C. Le diverse risultanze di questi esperimenti potrebbero essere dovute al protrarsi della elevata temperatura tale da determinare, in individui adulti, situazioni di letalità (Kinne, 1954) attraverso possibili alterazioni del metabolismo.

I risultati delle indagini elettroforetiche, riferite al locus PGI-1, confermano una notevole stabilità delle frequenze geniche. Si tratta di valori ampiamente sovrapponibili a quelli descritti da Bisol *et al.* (1986) riferiti ad anni precedenti.

Inoltre, i campioni di marzo e di aprile mostrano tra loro una notevole omogeneità. Infatti, il confronto statistico attraverso il test di χ^2 applicato alle frequenze geniche (Workmann e Niswander, 1973) ha permesso di valutare come non significative le differenze tra i campionamenti per ogni singola frequenza genica. Omogeneità tra marzo ed aprile risulta anche quando si considerano i genotipi.

Infatti, il χ^2 di tabelle di contingenza, applicato agli omozigoti ed agli eterozigoti, mostra valori di probabilità (P) compresi tra 0,5 e 0,3.

Similmente, il confronto delle frequenze geniche e quello dei genotipi non evidenzia significative differenze fra i campioni ripartiti negli acquari alle diverse temperature sperimentate.

Data la sostanziale omogeneità tra i campioni ed i sottocampioni, si è quindi ritenuto lecito cumulare i dati dei tre acquari a 27 °C. nei quali si è verificata l'elevata mortalità. I valori così ottenuti sono riportati in Tabella II.

TABELLA II.

Confronto genotipico, omozigoti-eterozigoti, tra il totale degli individui morti prima delle 36 ore ed il totale di quelli rimasti vivi, relativamente agli acquari a 27 °C.

	M	V
Omozigoti	74 * 64,228 **	60 * 69,772 **
Eterozigoti	65 * 74,772 **	91 * 81,228 **

gradi di libertà = 1; chi-quadro = 5,308; P < 0,05.

* Valori osservati. ** Valori attesi, calcolati in base a tabelle di contingenza secondo un'ipotesi di indipendenza. M = individui morti prima delle 36 ore. V = individui sopravvissuti al termine delle 36 ore.

Si può notare l'accentuata mortalità degli omozigoti rispetto ad una ipotesi di equivalenza dei genotipi, ed una maggiore sopravvivenza degli eterozigoti. Tali differenze sono statisticamente significative con probabilità inferiore a 0,05.

Questi dati, quindi, suggeriscono una capacità differenziale di rispondere a condizioni di temperatura elevata da parte di fenotipi biochimici, con una migliore efficienza della classe eterozigote. La superiorità degli eterozigoti sembra in accordo con l'ipotesi, precedentemente avanzata (Bisol *et al.*, 1986), secondo la quale, in *G. insensibilis*, una selezione di tipo bilanciato sia fra i meccanismi responsabili del mantenimento di un elevato polimorfismo del locus PGI-1.

Con questi soli dati, tuttavia, non è possibile chiarire in quale modo l'ete-

rozigote possa esercitare il suo vantaggio. Potrebbe trattarsi di una superiorità intrinseca di questo genotipo tale da permettere una risposta efficace nelle diverse condizioni. Come pure potrebbe trattarsi di una condizione contingente derivante da una minore adattabilità delle classi omozigoti a particolari situazioni limite come quelle da noi sperimentate.

I due meccanismi infine potrebbero operare contemporaneamente per i diversi alleli e le loro combinazioni genotipiche.

La plausibilità di questa interpretazione deriva dai dati sulle diverse cinetiche enzimatiche, in relazione alla temperatura, ottenuti proprio per il sistema enzimatico Fosfoglucoisomerasi in lepidotteri del genere *Colias* (Watt, 1983), nell'antozoo *Metridium senile* (Hoffmann, 1981) e nel mollusco bivalve *Mytilus edulis* (Hall, 1985). Accanto a combinazioni sempre eterotiche, si hanno combinazioni eterozigoti, soprattutto per alleli rari, che sono eterotiche solo in particolari condizioni o che possiedono caratteristiche intermedie a quelle degli omozigoti.

Il variare delle cinetiche in rapporto a diverse condizioni di temperatura implica cambiamenti dei coefficienti di adattamento che tendono ad attenuare od a esaltare le differenze dei vari genotipi. Il fatto che al di fuori di situazioni limite i diversi prodotti genici tendano ad equivalersi, comporta, da una parte, una riduzione del carico genetico e, dall'altra, la possibilità che anche altri fattori, non esclusi quelli stocastici, influiscano sugli andamenti delle frequenze geniche.

Con prove biochimiche si cercherà di valutare l'effettivo contributo all'adattamento del locus PGI-1 e dei suoi alleli, in rapporto alle diverse situazioni in cui le popolazioni naturali vengono a trovarsi.

BIBLIOGRAFIA

- BATTAGLIA B., BISOL P.M. e FAVA G. (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.
- 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., PATARNELLO T. e BATTAGLIA B. (1986) - *Variabilità genetica in Anfipodi del genere Gammarus di ambienti salmastri*. « Accad. Naz. Lincei, Rend. Cl. Sci. MM.FF.NN. », in stampa.
- BRUN B. (1971) - *Variations intraspécifiques et spéciation chez deux espèces de gammares 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.
- HALL J.G. (1985) - *Temperature-related kinetic differentiation of Glucosephosphate Isomerase alleloenzymes isolated from the blue mussel, Mytilus edulis*. « Biochem. Genet. », 23, 705-728.
- HOFFMANN R.J. (1981) - *Evolutionary genetics of Metridium senile. I. Kinetic difference in Phosphoglucose Isomerase allozymes*. « Biochem. Genet. », 19, 129-154.

- KINNE O. (1954) - *Die Gammarus-Arten der Kieler Bucht*. « Zool. Jahrb. » (Syst.), 82 (5), 405-424.
- KOEHN R.K. e IMMERMANN F.W. (1981) - *Biochemical studies of Aminopeptidase polymorphism in Mytilus edulis*. I. *Dependence of enzyme activity on season, tissue and genotype*. « Biochem. Genet. », 19, 1115-1142.
- NEVO E., SHIMONY T. e LIBNI M. (1977) - *Thermal selection of allozyme polymorphisms in barnacles*. « Nature », 267, 699-701.
- NEVO E. (1983) - *Adaptive significance of protein variation*. In: « Protein polymorphism. Adaptive and Taxonomic Significance », G.S. Oxford and D. Rollinson Eds., Academic Press, London and New York, Special Vol. No. 24.
- SIEGISMUND H.R., SIMONSEN V. and KOLDING S. (1985) - *Genetic studies of Gammarus*. I. *Genetic differentiation of local population*. « Hereditas », 102, 1-13.
- WATT M. (1983) - *Adaptation at specific loci*. II. *Demographic and biochemical elements in the maintenance of the Colias PGI polymorphism*. « Genetics », 103, 691-724.
- WORKMAN P.L. and NISWANDER J.D. (1970) - *Population studies on southwestern Indian tribes*. II. *Local genetic differentiation in the Papago*. « Amer. J. Hum. Genet. », 22, 24-49.