

ΕΚ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΤΗΣ ΑΝΩΤΑΤΗΣ
ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΑΘΗΝΩΝ

Διευθυντής: Καθηγητής ΚΩΣΤΑΣ ΚΡΙΜΠΑΣ

**Η ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΕΠΙΛΟΓΗΣ
ΔΙΑ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΤΩΝ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΟΜΟΜΕΙΞΙΑΣ
ΕΙΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΗΣ DROSOPHILA SUBOBSCURA**

ΥΠΟ
ΙΩΑΝΝΑΣ
ΦΟΥΝΤΑΤΟΥ - ΒΕΡΓΙΝΗ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΠΙ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΑ
Υποβληθείσα εις τήν Ἀνωτάτην Γεωπονικὴν Σχολὴν Ἀθηνῶν

ΑΘΗΝΑΙ
1976

ΕΚ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΤΗΣ ΑΝΩΤΑΤΗΣ
ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΑΘΗΝΩΝ

Διευθυντής: Καθηγητής ΚΩΣΤΑΣ ΚΡΙΜΠΑΣ

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
Αρ. εισ.: 14096.....

**Η ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΕΠΙΛΟΓΗΣ
ΔΙΑ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΤΩΝ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΟΜΟΜΕΙΞΙΑΣ
ΕΙΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΗΣ DROSOPHILA SUBOBSCURA**

ΥΠΟ
ΙΩΑΝΝΑΣ
ΦΟΥΝΤΑΤΟΥ - ΒΕΡΓΙΝΗ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΠΙ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΑ
Υποβληθείσα εις την Άνωτάτην Γεωπονικὴν Σχολὴν Ἀθηνῶν

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΑΘΗΝΑΙ
1976

"Ἡ ἔγκριστις τῆς παρούσης διδακτορικῆς διατριβῆς ὑπό τῆς Ἀνωτάτης Γεωπονικῆς Σχολῆς Ἀθηνῶν δέν ὑποδηλοῖ ἀποδο - χῆν τῶν γνωμῶν τοῦ συγγραφέως".

(Νομ. 5343/1932 ἄρθρ. 202)

Ἡμερ. ἐγκρίσ. / /197

Ἄφιεροῦται
εἰς τοὺς γονεῖς μου
καὶ τὸν ἀδελφόν μου
μέ ἀγάπη

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	7
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1. Κλασσική θεωρία καί θεωρία του έξισσοροπημένου πολυμορφισμού	9
2. Άντιθέσεις των δύο θεωριών	10
3. Νεοκλασσική θεωρία	15
II. Η ΜΕΘΟΔΟΣ	17
1. Τό πρόβλημα της έπιλογής	17
2. Περιγραφή της μεθόδου	19
α. Χρονική μέθοδος	19
β. Γεωγραφική μέθοδος	24
γ. Περιορισμοί της μεθόδου	28
III. ΥΛΙΚΟΝ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	33
A' Γενικάί πληροφορίες	33
1. Τό είδος <u>Drosophila subobscura</u>	33
2. Γόννοι καί ένζυμα	33
3. Τεχνικάί άνιχνεύσεως των ένζύμων	34
α. Τεχνική της ήλεκτροφορήσεως	34
1. Παρασκευή του πήγματος	34
2. Λήψεις καί τοποθέτησις του δείγματος	34
3. Ήλεκτροφόρησις	35
4. Χρώσις	35
β. Άνίχνευσις ένζύμων	35
1. Έστεράσαι	36
2. Άφυδρογονάση της όκτανόλης	38
3. Όξειδάση της άλδεΰδης	39
4. Μηλικόν ένζυμον	39
5. Άφυδρογονάση της ξανθίνης	40
6. Πεπτιδάσαι	41
7. Φωσφατάσαι	43
8. Άφυδρογονάση του ίσοκιτρικού	46
9. Φωσφορογλυκομουτάση	46
10. Έξοκινάσαι	47

11. 'Ισομεράση τῆς φωσφοροεξόζης	48
12. 'Αφυδρογονάση τοῦ α-γλυκεροφωσφορικοῦ	49
13. 'Αφυδρογονάση τῆς ἀλκοόλης	50
14. Μηλική ἀφυδρογονάση	50
15. 'Αφυδρογονάση τῆς 6-φωσφορογλυκόζης	51
16. 'Αφυδρογονάση τοῦ 6-φωσφορογλυκονικοῦ'	52
17. 'Αλδολάση	53
18. Διαφοράσαι	53
19. Φουμαράση	54
4. 'Αναστροφαί	55
5. Τεχνική μικροσκοπικῶν παρασκευασμάτων	55
6. Χάρται	56
B' ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΝ ΜΕΡΟΣ	60
1. Μελετηθέντες πληθυσμοί	60
2. 'Εκτροφή τῶν ἐντόμων	61
3. Τά στελέχη <u>ch</u> <u>cu</u> καί <u>pp</u> , <u>sj</u> , <u>pl</u>	62
4. Αἱ διασταυρώσεις	63
IV. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΙΣ ΑΥΤΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟΝ ΤΗΣ ΑΝΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΟΜΟΜΕΙΕΙΑΣ.	67
1. Αἱ συχνότητες τῶν ἀλληλομόρφων καί ὁ πολυμορφι- σμός τῶν γόνων-Συχνότητες τῶν ἀναστροφῶν	67
2. 'Εφαρμογή τῆς μεθόδου	67
3. 'Εφαρμογή τῆς μεθόδου εἰς τό ζεῦγος Sussex-Πάρνης	68
4. 'Εφαρμογή τῆς μεθόδου εἰς τό ζεῦγος Πρέβεζα-Barcelona	69
V. ΚΡΙΤΙΚΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	84
VI. ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ	89
VII. SUMMARY	91
VIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	92

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ἡ παρούσα ἐρευνητική ἐργασία διεξήχθη ἐξ ὀλοκλήρου εἰς τό Ἔργαστήριον Γενετικής τῆς Ἀνωτάτης Γεωπονικῆς Σχολῆς Ἀθηνῶν.

Τόν Καθηγητήν μου Κον Κ.Κριμπᾶν, ὁ ὁποῖος παρηκολούθησεν ἐκ τοῦ σύνεγγυς ὅλας τὰς φάσεις τῆς παρούσης ἐργασίας, διὰ τήν ἐν γένει καθοδήγησιν καί διὰ τὰς πολυτίμους συμβουλὰς του ὡς καί διὰ τήν μεγίστην προσφορὰν του διὰ τῆς "ἀναγνώσεως" 8.000 μικροσκοπικῶν παρασκευασμάτων, θερμῶς εὐχαριστῶ.

Ἐπίσης θερμῶς εὐχαριστῶ τόν συνάδελφον καί στενὸν συνεργάτην μου Κον Μ.Λουκᾶν διὰ τήν πολύτιμον καί ποικιλότροπον συμβολήν του εἰς τήν διεξαγωγὴν τῶν πειραμάτων καί τήν ὀλοκλήρωσιν τῆς παρούσης ἐργασίας.

Θερμῶς εὐχαριστίες ὀφείλω εἰς τόν συνάδελφον Κον Ι. Σούρδην, ὁ ὁποῖος ἠσχολήθη μέ τήν στατιστικὴν ἐπεξεργασίαν τῶν ἀποτελεσμάτων, εἰς τόν Κον Β.Ἀλεβῆζον κυριολεκτικῶς κοπιᾶσαντα διὰ τήν παρασκευὴν 14.000 μικροσκοπικῶν παρασκευασμάτων καί εἰς τήν Καν Γ.Κόλλια-Γιακουμῆ διὰ τήν ποικιλότροπον βοήθειάν της εἰς τήν διεξαγωγὴν τοῦ πειραματικοῦ μέρους τῆς ἐργασίας.

Τέλος θερμῶς εὐχαριστῶ τήν Καν Π.Κατωπόδη, ἡ ὁποία διὰ τῶν ὑποδείξεών της συνετέλεσε εἰς τήν ἐμφάνισιν τῆς παρούσης ἐργασίας.

Ἀθῆναι 1976

I ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Κλασική θεωρία και θεωρία του εξισοροπημένου πολυμορφισμού

Κατά τήν μελέτην τῆς γενετικῆς δομῆς ἑνός πληθυσμοῦ δέν ἐξετάζεται μόνον ἡ γονοτυπική σύστασις τῶν ἀτόμων του ἀλλά καί ἡ ἀπό γενεᾶς εἰς γενεάν μεταβίβασις τῶν γόνων. Δι' αὐτόν τόν λόγον ἰδιαιτέρα προσοχή δίδεται εἰς τοὺς παράγοντας, οἱ ὁποῖοι δύνανται εἰς διάστημα χρόνου νά ἀλλοιώσουν τήν γενετικὴν δομήν τοῦ πληθυσμοῦ.

Οἱ παράγοντες αὐτοί εἴτε ἔχουν χαρακτῆρά συστηματικόν, ὡς εἶναι ἡ ἐπιλογή, ἡ μεταλλαγή καί ἡ μετανάστευσις εἴτε ἔχουν χαρακτῆρα τυχαῖον, ὡς εἶναι ἡ γενετική παρέκκλισις (genetic drift).

Ἡ μεταλλαγή ἀποτελεῖ τόν κυριώτερον μηχανισμόν παραγωγῆς γενετικῆς ποικιλομορφίας ἐπὶ τῆς ὁποίας δρᾷ ἡ φυσικὴ ἐπιλογή (καί ὁ γενετικός ἀνασυνδυασμός ὅταν μελετῶνται περισσότεροι τοῦ ἑνός γόνου).

Οἱ ἀνωτέρω παράγοντες εἶναι ὑπεύθυνοι διὰ τήν διατήρησιν καί συγκράτησιν τῆς γενετικῆς ποικιλομορφίας, ἡ ὕπαρξις τῆς ὁποίας ἀποτελεῖ ἀναγκαίαν προϋπόθεσιν τῆς ἐξελέξεως. Δύο θεωρίαι διετυπώθησαν διὰ νά ἐξηγήσουν τοὺς μηχανισμούς οἱ ὁποῖοι εἶναι ὑπεύθυνοι διὰ τήν διατήρησιν καί συγκράτησιν τῆς γενετικῆς ποικιλομορφίας εἰς τοὺς φυσικοὺς πληθυσμούς: ἡ κλασικὴ θεωρία καί ἡ θεωρία τοῦ ἐξισοροπημένου πολυμορφισμοῦ.

Ἡ κλασσικὴ θεωρία ὑποστηρίζει ὅτι ἕκαστον ἄτομον ἑνός πληθυσμοῦ εἶναι ὁμοζυγωτόν σχεδόν δι' ὅλους τοὺς γόνους του δι' ἕνα "ἀγρίου-τύπου" ἀλληλόμορφον. Ἐπὶ

πλέον ἕκαστον ἄτομον εἶναι ἑτεροζυγωτὸν διὰ σπανίους ὑπολειπομένους ἀλληλομόρφους εἰς μικρὸν ἀριθμὸν τῶν γόνων του.

Οὕτω μία πολὺ μικρὰ ἀναλογία τοῦ πληθυσμοῦ θὰ εἶναι ὁμόζυγος δι' ἓνα σπάνιον ὑπολειπόμενον ἀλληλόμορφον, ἡ ἀναλογία δέ αὕτη θὰ αὐξάνεται πάρα πολὺ εἰς τοὺς ἀπογόνους μεταξὺ συγγενῶν ἀτόμων. Ἡ ὑπόθεσις αὕτη ἔχει διατυπωθῆ καὶ ἔχει περιγραφῆ ἀπὸ τὸν Müller(1950), εἰς τὸ ἄρθρον του μετὰ τὸν τίτλον "Our Load of Mutations". Ὑπολογίζει ὅτι εἰς ἓν τυπικὸν ἄτομον εἰς τὸν ἄνθρωπον, τὸ ποσοστὸν τῶν γόνων οἱ ὁποῖοι εἶναι ἑτεροζυγωτοὶ διὰ σπανίους ὑπολειπομένους ἀλληλομόρφους ἐξαρτᾶται ἐκ τοῦ ἀριθμοῦ τῶν γόνων, τοῦ ποσοστοῦ μεταλλαγῆς, καὶ τοῦ βαθμοῦ κυριαρχίας, ἀντιστοιχεῖ δέ περίπου εἰς τὸ 0,1% τῶν γόνων ἀνά ἄτομον.

Ἡ θεωρία τοῦ ἐξισορροπημένου πολυμορφισμοῦ ὑποστηρίζει ὅτι ἄτομα προερχόμενα ἐκ φυλέτικῶς ἀναπαραγομένων πληθυσμῶν εἶναι ἑτεροζυγωτὰ σχεδὸν δι' ὅλους τοὺς γόνους των. Ἐξαίρεσιν ἀποτελοῦν οἱ ἀπόγονοι προερχόμενοι ἐκ διασταυρώσεως συγγενῶν ἀτόμων.

Δέν ὑπάρχει δηλαδὴ ἀλληλόμορφος δυνάμενος νὰ θεωρηθῆ "ἀγρίου-τύπου" ἐφ' ὅσον κατὰ μέσον ὄρον τὰ ἄτομα εἰς τὸν πληθυσμὸν εἶναι ἑτεροζυγωτὰ.

Ἐπί πλέον ἡ παραδοχὴ ὅτι ὅλα τὰ ἄτομα εἶναι ἑτεροζυγωτὰ δι' ὅλους τοὺς γόνους, συνεπάγεται ὅτι ὁ ἀριθμὸς τῶν ἀλληλομόρφων δι' ἕκαστον γόνον εἶναι μεγάλος. Τὸ μεγαλύτερον ποσοστὸν τῶν ἑτεροζυγωτῶν δι' ἓνα γόνον μετὰ n ἀλληλομόρφους εἶναι $\frac{n-1}{n}$

2. Ἀντιθέσεις τῶν δύο θεωριῶν

Ἐάν ἡ κλασσικὴ θεωρία εἶναι ὀρθή, ἡ διαφορὰ μεταξὺ τῶν πληθυσμῶν θὰ εἶναι περισσότερον σημαντικὴ ἀπὸ ἐκείνην τὴν ὁ-

ποιάν παραδέχεται ή θεωρία τοῦ ἔξισοροπημένου πολυμορφισμοῦ Ἐφ' ὅσον θά ὑπάρχη τόσον μικρά γενετική ποικιλομορφία μεταξύ τῶν ἀτόμων ἑνός πληθυσμοῦ, ἢ μεγαλύτερα γενετική ποικιλομορφία ἐντός ἑνός πολυμορφικοῦ εἴδους, θά παρατηρηθῆται μεταξύ τῶν πληθυσμῶν. Ἀντιθέτως ἡ θεωρία τοῦ ἔξισοροπημένου πολυμορφισμοῦ παραδέχεται ὅτι ἔν μέρει τῆς γενετικῆς ποικιλομορφίας ὑπάρχει ἐντός ἑκάστου πληθυσμοῦ, οὕτως ὥστε αἱ μεταξύ τῶν πληθυσμῶν διαφοραί εἶναι ὀλιγώτερον σημαντικά.

Ἡ κλασσική θεωρία μέ τήν παραδοχήν τῆς πλήρους ὁμοζυγωτίας δέχεται ὅτι ἡ κυρία δρᾶσις τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς εἶναι νά ἀπομακρύνῃ ὑπολειπομένης μεταλλαγᾶς ἐκ τοῦ πληθυσμοῦ, οὕτως ὥστε τελικῶς ὁ πληθυσμός νά ἀποτελεῖται ἐξ ὁμοζυγῶν γονοτύπων δι' ὅλους τοῦς γόνους καί μάλιστα διὰ τόν "ἀγρίου-τύπου" ἀλληλόμορφον. Ἡ παραδοχή αὕτη δέν ἀποκλείει τήν περίπτωση μιᾶς εὐνοϊκῆς μεταλλαγῆς. Μία τοιαύτη μεταλλαγή σταθεροποιεῖται εἰς τόν πληθυσμόν ὡς εἷς "ἀγρίου-τύπου" ἀλληλόμορφος. Ἐπίσης ἡ παραδοχή αὕτη δέν ἀποκλείει τήν περίπτωση οὐδετέρων μεταλλαγῶν. Ἀλλά ἡ ὑπερβολική ὁμοζυγωτία τῶν πληθυσμῶν ἀπαιτεῖ, ὅπως τό ποσοστόν μεταλλαγῆς ἀνά γενεάν εἰς τοιοῦτους οὐδετέρους ἀλληλόμορφους εἶναι μερικῶν τάξεων μεγέθους μικρότερον ἀπό τό γνωστόν ποσοστόν διὰ δραστικᾶς μεταλλαγᾶς.

Εἰδικῶς τό ποσοστόν ἑτεροζυγωτίας ἀνά γόνον δι' οὐδετέρους ἀλληλόμορφους εἰς ἕνα πληθυσμόν μεγέθους N , μέ ἕν ποσοστόν οὐδετέρων μεταλλαγῶν μ ἀνά γενεάν εἶναι:

$$H \approx 1 - \frac{1}{4N\mu+1} \quad (\text{Kimura-Grow, 1964})$$

Συμφώνως πρὸς τήν κλασσικήν κλασσικήν θεωρίαν (Müller, 1950) ἑτεροζυγωτία ἴση πρὸς 0.001 ἀνά γόνον ἀντιστοιχεῖ πρὸς $\mu = 2,5 \cdot 10^{-4} \left(\frac{1}{N} \right)$. Δι' ἕνα πληθυσμόν σχετικῶς μικροῦ μεγέθους π.χ. 1000, τό ποσοστόν μεταλλαγῆς ἰσοῦται πρὸς $2,5 \cdot 10^{-7}$.

Ἐναντιθέτως ἡ θεωρία τοῦ ἑξισορροπημένου πολυμορφισμοῦ, θεωρεῖ ὅτι τὰ ἑτεροζυγωτά ἄτομα εἶναι τὰ πλέον προσηρμοσμένα, γεγονός τό ὁποῖον συνεπάγεται τήν διατήρησιν ἀμφοτέρων τῶν ἀλληλομόρφων ἑνός ἑτεροζυγωτοῦ γόνου εἰς τόν πληθυσμόν. Κατά τήν ἄποψιν τοῦ Dobzhansky (1955) οἱ διάφοροι ἀλληλόμορφοι ἔχουν ἑνεργῶς διατηρηθῆ εἰς τόν πληθυσμόν διὰ τῆς "ἑξισορροπημένης ἐπιλογῆς" (balancing selection), λόγῳ τῆς ἐπιλεκτικῆς ὑπεροχῆς τῶν ἑτεροζυγωτῶν.

Συμφώνως πρὸς τήν θεωρίαν ταύτην τό ποσοστόν ἑτεροζυγωτίας κυμαίνεται ἀπό 80% ἕως 100%. Δι' ἐφαρμογῆς καί πάλιν τοῦ τύπου τῶν Crow καί Kimura, ἑτεροζυγωτία ἴση πρὸς 80% ἀντιστοιχεῖ εἰς ποσοστόν μεταλλαγῆς $\mu = \frac{1}{N}$ καί ἐπομένως ἀρκεῖ νά ὑποθέσωμεν ὅτι τό μέγεθος τοῦ πληθυσμοῦ εἶναι ἴσον πρὸς τό ἀντίστροφον τῆς τιμῆς μεταλλαγῆς.

Ἐπίσης ἡ θεωρία τοῦ ἑξισορροπημένου πολυμορφισμοῦ δέν ἀποκλείει τήν ἐμφάνισιν ἐπιβλαβῶν μεταλλαγῶν, ἐφ' ὅσον ἡ φυσική ἐπιλογή θά διατηρήσῃ αὐτάς εἰς χαμηλήν συχνότητα καί θά ἐπηρεάζουν ὀλίγον τήν παρατηρηθεῖσαν ποικιλομορφίαν.

Αἱ ἀντιθέσεις τῶν δύο θεωριῶν ὅσον ἀφορᾷ εἰς τήν ποικιλομορφίαν ἐπεκτείνονται καί εἰς τόν τρόπον δημιουργίας εἰδῶν (speciation).

Ἐάν οἱ πληθυσμοί ἀποτελοῦνται σχεδόν ἐξ ὁλοκλήρου ἀπό ὁμοζυγωτά ἄτομα καί εἶναι μονομορφικοί, τότε ἡ δημιουργία τῶν εἰδῶν πρέπει ν' ἀναμένεται ἀπό τήν ἐμφάνισιν νέων μεταλλαγῶν αἱ ὁποῖαι δύνανται νά εἶναι εὐνοϊκαί εἰς ἓν νέον περιβάλλον εἰς τό ὁποῖον ὁ πληθυσμός εὐρέθῃ ἀπομονωμένος. Πάντως, ἀκόμη καί εὐνοϊκαί μεταλλαγαί, συνήθως ἐξαλείφονται εἰς τὰς πρώτας γενεάς λόγῳ τοῦ γενετικοῦ ἀνασυνδυασμοῦ (segregation) καί τῆς διαφοροποιήσεως τοῦ ἀριθμοῦ τῶν παραγομένων ἀπογόνων.

Ἐπολογίζεται ὅτι εἰς τήν περίπτωσιν εὐνοϊκῆς μεταλλαγῆς συντελεστοῦ ἐπιλογῆς $1+s$, ἡ πιθανότης σταθεροποιήσεως

αύτης είς τόν πληθυσμόν ίσοῦται πρός $2s$ (Haldane, 1927). Καί ἐφ' ὅσον αὐτό πρέπει νά γίνῃ είς πολύ μεγάλον ἀριθμόν γόνων, ἡ δημιουργία τῶν εἰδῶν γίνεται ἐν πολύ δύσκολον γεγονός.

Ὁ Darwin εἶχε ἀναλύσει τό πρόβλημα τοῦ σχηματισμοῦ τῶν εἰδῶν, παραδεχόμενος ὡς αὐταπόδεικτον ὅτι ἡ ἐντός τῶν πληθυσμῶν ποικιλομορφία μετετρέπη είς ποικιλομορφία μεταξύ τῶν πληθυσμῶν κατόπιν ἀπομονώσεως καί δράσεως τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς. Ἀλλά ἐάν οἱ ὀργανισμοί εἶναι πράγματι πολύ ὁμόζυγοι καί ὡς ἐκ τούτου γενετικῶς ἐντελῶς ὅμοιοι ἐντός τῶν εἰδῶν, ποῦ εἶναι ἡ ποικιλομορφία ἐπί τῆς ὁποίας ὁ Darwin ὑπέθεσε ὅτι δρᾷ ἡ φυσική ἐπιλογή;

Ἀντιθέτως, ἡ ὑπόθεσις τοῦ ἐξισορροπημένου πολυμορφισμοῦ παραδέχεται ὅτι ἡ γενετική ποικιλομορφία εἶναι πάντοτε παρούσα καί ὡς ἐκ τούτου ἡ δημιουργία τῶν εἰδῶν εἶναι δυνατή ὑπό καταλλήλους βιογεωγραφικῆς καί οἰκολογικῆς συνθήκας.

Ἐάν ἡ κλασσική θεωρία φαίνεται συντηρητική είς τά προβλέψεις της διά τήν δημιουργίαν τῶν εἰδῶν, ἡ θεωρία τοῦ ἐξισορροπημένου πολυμορφισμοῦ φαίνεται νά προβλέπη δημιουργίαν εἰδῶν παντοῦ.

Τό ἔτος 1957 ἐτέθη ὑπό τοῦ Haldane ἐν πρόβλημα γνωστό ὡς "δίλημμα τοῦ Haldane". Τό πρόβλημα τοῦτο ἀναφέρεται είς τήν γενετικὴν ἐπιβάρυνσιν (genetic load) τήν ὁποίαν ὑφίσταται είς πληθυσμός διά τήν συγκράτησιν τοῦ πολυμορφισμοῦ δι' ἓνα γόνον. Ὡς γενετική ἐπιβάρυνσις θεωρεῖται ποσόν ἀνάλογον πρός τόν ἀπόλυτον ἀριθμόν ἀνά ἄτομον ἢ πρός τήν συχνότητα γενετικῶν θανάτων. Ὡς γενετικός θάνατος δέν θεωρεῖται μόνον ὁ πρόωρος βιολογικός τοιοῦτος, ἀλλά καί ὁ προερχόμενος ἐκ στειρότητος κ.ο.κ.

Ἡ γενετική ἐπιβάρυνσις (L) δίδεται ἐκ τοῦ τύπου

$$L = \frac{W_{\max} - \bar{W}}{W_{\max}} \quad (\text{Crow, 1958})$$

όπου W_{\max} = ό συντελεστής προσαρμοστικότητας ενός πληθυσμού εάν ούτος άπετελεϊτο έξ άτομων έχόντων τόν πλέον εύνοϊκόν γονότυπον ώς πρός ένα γόνον.

καί \bar{W} = ό μέσος συντελεστής προσαρμοστικότητας του πληθυσμού ώς πρός τόν αυτόν γόνον.

Πολλοί γόννοι άνεξάρτητοι καί πολυμορφικοί δημιουργούν γενετικόν φορτίον τοιούτου είδους, ώστε τό βάρος τούτου είς τήν περίπτωσιν του έξισοροπημένου πολυμορφισμού νά είναι δυσβάστακτον διά τόν πληθυσμόν, νά καθιστά δηλαδή είς τόν πληθυσμόν άδύνατον τήν επίβίωσιν (Lewontin and Hubby, 1966). Διάφοροι όμως μηχανισμοί δύναται νά έξηγήσουν τήν συγκράτησιν του πολυμορφισμού άνευ επίβαρύνσεως, ώς είναι ή περί έξαρτήσεως του συντελεστού προσαρμοστικότητας (fitness) έκ τής συχνότητος των άλληλομόρφων (Kojima and Yarbrough 1967, Yarbrough and Kojima 1967). Ή συγκράτησιν του πολυμορφισμού δι'έπιλογής δύναται επίσης νά έξηγηθί καλώς, ώς προκύπτει καί έκ των υποδειγμάτων των Sved, Reed and Bodmer (1967) ώς επίσης καί των King and Jukes (1969). Ήπιστατικάί επίσης άλληλεπιδράσεις μεταξύ των γόννων έχουσαι ώς άποτέλεσμα τήν δημιουργίαν άνισοροπίας συνδέσεως, μειώνουν τήν γενετικήν επίβαρύνσιν είς τοιούτον βαθμόν, ώστε νά έπιτρέπουν τήν επίβίωσιν του πληθυσμού.

Κατά τήν κλασσικήν θεωρίαν ό πληθυσμός δέν ύφίσταται γενετικήν επίβαρύνσιν έφ'όσον οι περισσότεροι των γόννων του είναι μονομορφικοί. Ό γενετικός πολυμορφισμός είς τήν περίπτωσιν ταύτην είναι μικρός τουλάχιστον είς τό τμήμα του του επί του οποίου δύναται νά δράση ή φυσική έπιλογή.

Ή θεωρία του έξισοροπημένου πολυμορφισμού ύποστηρίζει ότι ή φυσική έπιλογή διατηρεϊ καί πιθανόν αύξάνει τήν ποικιλομορφίαν, ήτις δύναται νά κληρονομηθί έντός των πληθυσμών. Τό αντίθετον είναι άληθές διά τήν κλασσικήν θεωρίαν ότι δηλαδή ή γενετική βάση διά περαιτέρω έξέλιξιν είτε έλείπει είτε είναι άκρως σπανία είς τήν ιστορίαν των πληθυσμών.

σμών, διότι η φυσική επιλογή δραστηκώς απομακρύνει εκάστην ποικιλομορφίαν ητις δύναται νά έμφανίζεταί είς τούς πληθυσμούς. Έδω έγκειταί η αντίθεσις μεταξύ τών δύο απόψεων, όσον άφορα είς τήν σπουδαιότητα τής φυλετικής άναπαραγωγής είς τήν εξέλιξιν. Έάν πράγματι η φυσική επιλογή είναι τό αίτιον τής διατηρήσεως τής ποικιλομορφίας είς τούς πληθυσμούς, τότε φυλετικώς άναπαραγόμενα άτομα δύνανται νά σχηματίσουν μίαν πολύ μεγάλην σειράν γονοτύπων, μέσφ άνασυνδυασμοϋ είς εκάστην γενεάν και οϋτω αύξάνονται τά προσαρμοστικά όρια μεταξύ τών απογόνων των.

Άπό τό άλλο μέρος ο Müller, ο όποϊος ήτο ο πρώτος όστις συνεζήτησε τά πλεονεκτήματα τής φυλετικής άναπαραγωγής και άργότερον οί Crow και Kimura (1965), ύποστηρίζουν ότι τό πλεονέκτημα τής φυλετικής άναπαραγωγής είναι ότι φέρονται είς όμοζυγωτίαν αί πολύ σπάνιαί εύνοϊκαί μεταλλαγαί, τοϋτο δέ άποτελεϊ τήν πραγματικήν βάση τής εξέλικτικής πορείας.

Η ανακάλυψις όμως μεγάλου ποσοϋ πολυμορφισμοϋ μέ τήν μέθοδον τής ήλεκτροφορητικής τεχνικής (Harris, 1966, Habbu and Lewontin, 1966, Johnson et al., 1966) διετάραξε τάς άπόψεις τών όπαδών τής κλασσικής θεωρίας. Αί συχνότητες τών άλληλομόρφων είναι τοιαϋται, ώστε νά μή έξηγούνται διά τοϋ μηχανισμοϋ μεταλλαγής-επιλογής τής κλασσικής θεωρίας. Διά νά έξηγήσουν τήν ύπαρξιν τόσον μεγάλου ποσοϋ πολυμορφισμοϋ οί όπαδοί τής κλασσικής θεωρίας, διετύπωσαν τήν νεοκλασσικήν θεωρίαν.

3. Νεοκλασσική θεωρία

Η κλασσική σχολή, διά νά έξηγήση τόν παρατηρηθέντα ήλεκτροφορητικώς πολυμορφισμόν, ύπεστήριξε ότι η ποικιλομορφία είναι μόνον φαινομενική και όχι πραγματική. Δηλαδή ύποθέτει ότι η αντικατάστασις ενός άμινοξέος, ένϋ είναι άνιχνεύ-

σιμος μέ τήν ήλεκτροφορητικήν τεχνικήν, εἶναι εἰς τάς περισσοτέρας περιπτώσεις μή ἀνιχνεύσιμος ὑπό τοῦ ὄργανισμοῦ. Ἐάν ἡ ἀντικατάστασις δέν διαφοροποιεῖ τήν φυσιολογικήν λειτουργίαν ἐνός ἐνζύμου, τότε αἱ ποικιλομορφίαί αἱ ὁποῖαι ἀποκαλύπτονται ήλεκτροφορητικῶς ἢ ἀπό κάποιαν μέθοδον εὐαίσθητον, ὥστε νά ἀνιχνεύη τάς ἀντικαταστάσεις, δυνατόν νά εἶναι πλήρως ἀδιαφοροποιήτοι εἰς τήν δρᾶσιν τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς (Kimura and Crow, 1964).

Ἐπί πλέον ὑποστηρίζουν ὅτι πολλαί μεταλλαγαί ὑπόκεινται εἰς τήν δρᾶσιν τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς, ἀλλά ἀπεμακρύνθησαν ἐκ τοῦ πληθυσμοῦ ὡς ἐπιβλαβεῖς. Ἐπιπροσθέτως ἡ θεωρία ἐπιτρέπει τήν σταθεροποίησιν σπανίων εὐνοϊκῶν μεταλλαγῶν λόγῳ τῆς δράσεως τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς, ἐφ' ὅσον ἀπαντᾶται ἡ προσαρμοστική ἐξέλιξις. Ὑποθέτει ὁμως ὅτι τό φαινόμενον αὐτό εἶναι σπάνιον. Ἡ θεωρία δηλαδή δέν ἀρνεῖται προσαρμοστικήν ἐξέλιξιν ἀλλά μόνον ὅτι τό μεγαλύτερον ποσοστόν τῆς μοριακῆς ποικιλομορφίας ἐντός τῶν πληθυσμῶν καί ἀκολούθως ἡ μεγάλη μοριακή ἐξέλιξις μεταξύ τῶν εἰδῶν, δέν ἔχουν σχέσιν μέ αὐτάς τάς προσαρμοστικάς πορείας. Δέν ἀποκλείεται βεβαίως ἡ ὑπαρξις μιᾶς τυχαίας ἐτερωτικῆς μεταλλαγῆς, ἀλλά ὑποτίθεται ὅτι αὕτη δέν ἀντιπροσωπεύει μίαν σημαντικήν ἀναλογίαν τῆς παρατηρηθείσης ποικιλομορφίας εἰς τοὺς πληθυσμούς. Οἱ ὀπαδοί τῆς νεοκλασικῆς θεωρίας ὑποστηρίζουν ὅτι τό ποσό τῆς ἀλληλικῆς ποικιλομορφίας καί τό ποσοστόν ἀντικαταστάσεως ἀμινοξέων εἰς τάς πρωτεΐνας κατά τήν διάρκειαν τῆς ἐξελίξεως, εἶναι ἀμφοτέρα πάρα πολύ μεγάλα διά νά ἐξηγηθοῦν μέ ἐπιλογήν ἀλλά δύνανται ἱκανοποιητικῶς νά ἐξηγηθοῦν, ἀρκεῖ νά ὑποθέσωμεν ὅτι ἡ γενετική ποικιλομορφία ὅσον ἀφορᾷ εἰς τάς ἀντικαταστάσεις ἀμινοξέων εἶναι οὐδετέρα καί ὅτι αἱ διαφοραί εἰς τήν σύνθεσιν τῶν ἀμινοξέων τῶν περισσοτέρων πρωτεϊνῶν εἶναι τό ἀποτέλεσμα τυχαίας σταθεροποίησεως αὐτῶν τῶν οὐδετέρων ἀλληλομόρφων κατά τήν διάρκειαν τῆς ἐξελίξεως.

Πλήν τῆς περιπτώσεως τῶν ἐμφανῶς ἐπιβλαβῶν ἀλληλομόρφων, τοὺς ὁποίους ἡ ἐπιλογή τείνει νά ἐξαλείψῃ, ἡ μεγάλη

πλειοψηφία τούτων είναι ούδετέρα από απόψεως φυσικής επίλογης, ή δέ εξέλιξις λαμβάνει χώραν κατά μέγα μέρος δι' αλλαγής συχνοτήτων λόγω γενετικής παρεκκλίσεως (Kimura and Ohta, 1971), δηλαδή διά τυχαίων διαδικασιών.

II Η ΜΕΘΟΔΟΣ

1. Τό πρόβλημα τής επίλογης

Ποία έκ τών δύο θεωριών αντικατοπτρίζει περισσότερο τήν πραγματικότητα αποτελεί σήμερον τό σημαντικώτερον πρόβλημα τής Γενετικής τών Πληθυσμών. Η αποκάλυψις μεγάλου ποσού πολυμορφισμού εις φυλετικώς αναπαραγόμενα ζώα καί φυτά (Harris, 1966, Habbay and Lewontin, 1966, Johnson et al., 1966) έδωσεν μίαν άξιοσημείωτον ώθησιν εις τό πρόβλημα τής διακρίσεως μεταξύ φυσικής επίλογης καί ούσιαστικώς μή έπιλεκτικων πορειών, όπως ο περιορισμός του μεγέθους του πληθυσμού, ή μεταλλαγή καί ή μετανάστευσις, διά τόν προσδιορισμόν τής γενετικής ποικιλομορφίας.

Είναι άπαραίτητον νά διακρίνωμεν, ποϊον ποσοστόν τής γενετικής ποικιλομορφίας υπόκειται εις τήν δρασιν τής φυσικής επίλογης καί ποϊον εις τήν δρασιν μή έπιλεκτικων παραγόντων. Έφ' όσον οι πληθυσμοί είναι άπομονωμένοι καί ή συχνότης μεταλλαγής είναι πολύ μικρά τής τάξεως 10^{-8} , τότε αι αλλαγαι τών συχνοτήτων τών άλληλομόρφων θά όφείλωνται κυρίως εις τήν δρασιν τής φυσικής επίλογης καί εις τήν γενετικήν παρέκκλισιν (genetic drift).

Βεβαίως ή έρευνα αντιμετωπίζει μεγάλας δυσκολίας διά τήν προσπέλασιν του προβλήματος τούτου, ως έδειξεν ο Lewontin εις τό βιβλίον του "The genetic Basis of Evolutionary Change" (1974).

Μία μέθοδος αντιμετώπισης του προβλήματος της έπιλογής είναι η διά πειραματικής μελέτης διαπίστωσης έπιλογής έ- νός γόνου. Η δυσκολία είς τήν περίπτωσιν ταύτην όφείλε- ται είς τό γεγονός ότι δέν δυνάμεθα εύκόλως νά διακριώνωμεν έ- άν τά λαμβανόμενα άποτελέσματα έπιλογής όφείλονται είς τόν μελετώμενον γόνον ή είς έτερον στενώς συνδεδεμένον μετ'αυτοϋ δι'άνισορροπίας συνδέσεως (Lewontin 1964, Lewontin and Kojima, 1960).

Ός έκ τούτου τό πρόβλημα της έπιλογής δύναται ν'άντι- μετωπισθί διά της μελέτης άνισορροπίας συνδέσεως μεταξύ δύο γόνων ή μεταξύ ένός γόνου και μιās άναστροφής. Η ύπαρξις ά- νισορροπίας συνδέσεως δύναται νά όφείλεται άφ'ένός μέν είς τήν μείωσιν του δραστικοϋ μεγέθους του πληθυσμοϋ, άφ' έτέρου δέ είς έπιστατικήν έπιλογήν. Έπομένως τό πρόβλημα μεταπί- ζεται είς τόν διαχωρισμόν των δύο αυτών δυνατοτήτων ύπάρξε- ως τοιαύτης άνισορροπίας. Ο διαχωρισμός οϋτος έπιτυγχάνεται διά της μελέτης της φορᾶς της άνισορροπίας συνδέσεως είς ά- ριθμόν τινά πληθυσμών.

Έάν η άνιχνευομένη άνισορροπία συνδέσεως μεταξύ δύο γόνων όφείλεται είς τήν μείωσιν του δραστικοϋ μεγέθους του πληθυσμοϋ, δηλαδή είς τυχαίαν διαδικασίαν, τότε αύτη θά εί- ναι διαφορετικής φορᾶς είς άριθμόν τινά πληθυσμών, ένῶ άνι- σορροπία συνδέσεως της αύτης φορᾶς είς άπαντας τούς μελετη- θέντας πληθυσμούς, άποτελεϊ ένδειξιν υπέρ της έπιστατικής έ- πιλογής. Είς τήν περίπτωσιν άνιχνεύσεως άνισορροπίας συνδέ- σεως της αύτης φορᾶς μεταξύ άναστροφής και γόνου περικλειο- μένου υπ'αύτης, δέν δύναται τις νά ύποστηρίξη μετά βεβαιότη- τος ύπαρξιν έπιστατικής έπιλογής, διότι μηχανική πλήρης σύν- δεσις άπαιτεϊ μέγα χρονικόν διάστημα μέχρις άποκαταστάσεως ί- σορροπίας συνδέσεως. Ίσορροπία συνδέσεως μεταξύ δύο γόνων ή μεταξύ άναστροφής και γόνου περικλειομένου υπ'αύτης, άνα- μένεται είς πληθυσμόν εύρισκόμενον είς σταθεράν κατάστασιν και υπό συνθήκας ούδετερότητας.

Ἄετέρα μέθοδος πειραματικῆς ἀντιμετωπίσεως τοῦ προβλήματος τῆς ἐπιλογῆς εἶναι ἡ διά τῆς μελέτης τῆς ὁμοιογενείας τῶν συντελεστῶν ὁμομειξίας, διά τῆς ὁποίας ἐπιτυγχάνεται ἐφαρμογή τῶν πειραματικῶν δεδομένων ἐπὶ μαθηματικοῦ ὑποδείγματος. Εἰς τὴν παροῦσαν ἐργασίαν τὸ πρόβλημα ἀντιμετώπισθη διά τῆς τελευταίας μεθόδου.

2. Περιγραφή τῆς μεθόδου

Ἡ ἐφαρμογή τῆς μεθόδου τῶν συντελεστῶν ὁμομειξίας εἶναι δυνατή, διότι ὑπάρχει ἓν χαρακτηριστικόν τῆς γενετικῆς παρεκκλίσεως, τὸ ὁποῖον τὴν διακρίνει ἀπὸ τὴν δρᾶσιν τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς. Τὸ κοινόν αὐτὸ χαρακτηριστικόν εἶναι ὅτι κατὰ τὴν γενετικὴν παρέκκλισιν ὅλαι αἱ ἀλλαγαὶ τῶν συχνοτήτων τῶν ἀλληλομόρφων, ὀφείλονται εἰς τὴν ἰδίαν αἰτίαν, τὸ δραστικόν μέγεθος τοῦ πληθυσμοῦ. Ἐάν αἱ ἀλλαγαὶ τῶν συχνοτήτων τῶν ἀλληλομόρφων ἀπὸ πληθυσμοῦ εἰς πληθυσμόν ἢ ἀπὸ χρόνου εἰς χρόνον ὀφείλονται εἰς τὴν γενετικὴν παρέκκλισιν, εἶναι δυνατόν νὰ ἐκτιμηθῇ παράμετρος, ἥτις εἶναι ἡ ἰδία δι' ὅλους τοὺς ἀλληλομόρφους οἱ ὁποῖοι ἀλλάσσουν συχνότητα. Καί πράγματι ἡ διαφορὰ τῶν συχνοτήτων τῶν ἀλληλομόρφων δύναται νὰ χρησιμοποιηθῇ διά τὸν ὑπολογισμόν τοῦ δραστικοῦ συντελεστοῦ ὁμομειξίας, F_e (effective inbreeding coefficient).

Ὁ ὑπολογισμὸς τοῦ δραστικοῦ συντελεστοῦ ὁμομειξίας, F_e , γίνεται, ἀφ' ἑνὸς μὲν δι' ἐφαρμογῆς τῆς χρονικῆς μεθόδου τὴν ὁποίαν διετύπωσαν οἱ Krimbas καὶ Tsakas (1971) καὶ ἐπεξεργάσθησαν στατιστικῶς οἱ Lewontin καὶ Krakauer (1973), ἀφ' ἑτέρου δέ δι' ἐφαρμογῆς τῆς γεωγραφικῆς μεθόδου τὴν ὁποίαν ἐπρότειναν οἱ Lewontin καὶ Krakauer (1973).

α. Χρονικὴ μέθοδος

Ὑπὸ τῶν Krimbas καὶ Tsakas (1971) ἐμελετήθη εἰς φυσικὸς πληθυσμὸς τοῦ ἐντόμου Dacus oleae. Συγκεκριμένως ἐμελετήθησαν,

αί συχνότητες τών ἄλληλομόρφων δύο πολυμορφικῶν γόνων ἑστεράσων, Est-A, and Est-B, καθώς ἐπίσης καί ἡ ἐπίδρασις ἑνός ἔντομοκτόνου, τοῦ dimethoate, ἐπ' αὐτῶν. Ὁ γόνος Est-A ἐλέγχει τήν σύνθεσιν μιᾶς ἀκετυλχολινεστεράσης καί ὁ γόνος Est-B τήν σύνθεσιν μιᾶς ψευδοχολινεστεράσης, (Zouros, Tsakas and Krimbas, 1968), ἀμφότεροι ὁμοῦ οἱ γόνου χαρακτηρίζονται ἀπό ὑψηλόν πολυμορφισμόν.

Ἐπελέγη εἷς φυσικός πληθυσμός ἐπί τοῦ ὁποίου οὐδέποτε ἐπέδρασε τό ἔντομοκτόνον dimethoate καί ἐλήφθησαν δύο δείγματα ἐξ αὐτοῦ κατά τά ἔτη 1966 καί 1967. Τά δύο δείγματα δέν διέφερον καί ἐπομένως ὁ πληθυσμός ἐφαίνεται εὐρισκόμενος εἰς σταθεράν ἰσορροπίαν δι' ἀμφοτέρους τοὺς γόνους. Ἐπηκολούθησε ἰσχυρός ψεκασμός καί ἓνα τρίτο δείγμα ἐλήφθη τό ἔτος 1968.

Παρατηρήθησαν δραστικάί ἀλλαγαί τῶν συχνοτήτων τῶν ἀλληλομόρφων τῶν δύο γόνων, αἱ ὁποῖαι δέν ἦτο δυνατόν νά ἐξηγηθοῦν δι' ἐπιλογῆς βάσει προηγουμένων ἐργαστηριακῶν δεδομένων. Μία πρώτη παρατήρησις ἦτο ὅτι εἰς τήν φύσιν χρησιμοποιοῦνται ὑψηλαί δόσεις τοῦ ἔντομοκτόνου μέ τόν σκοπόν νά φονεθοῦν ὅσο τό δυνατόν περισσότερα ἔντομα. Μία δευτέρα παρατήρησις ἦτο ὅτι ἓν κλάσμα τοῦ πληθυσμοῦ λαμβάνει μεγάλην ποσότητα ἔντομοκτόνου καί ὅλα τά ἔντομα ἀποθνήσκουν, ἓν δεύτερον κλάσμα λαμβάνει ἐλαχίστην ποσότητα καί ὅλα τά ἔντομα ἐπιζοῦν καί ἓν τρίτο κλάσμα λαμβάνει πιθανῶς τοιαύτην ποσότητα, ὥστε μέρος τῶν ἐντόμων ἀποθνήσκει καί μέρος αὐτῶν ἐπιζῆ. Εἰς τό τρίτο αὐτό κλάσμα πιθανῶς λαμβάνει χώραν ἡ ἐπιλογή. Μία τρίτη παρατήρησις ἦτο, ἡ ἐλάττωσις τοῦ πληθυσμοῦ κατόπιν τοῦ ψεκασμοῦ. Ἐξ αὐτῶν τῶν παρατηρήσεων συνάγεται τό συμπέρασμα ὅτι αἱ ἀλλαγαί τῆς συχνότητος τῶν ἀλληλομόρφων πιθανῶς νά ὀφείλονται εἰς τήν γενετικήν παρέκκλισιν, ἐφ' ὅσον ἡ μεταλλαγή καί ἡ μετανάστευσις δέν δύνανται νά ἐξηγήσουν τόσον δραστικάς ἀλλαγάς, ἡ δέ ἐπιλογή δέν φαίνεται ν' ἀποτελῆ ἰκανοποιητικήν αἰτίαν.

Εάν και οι δύο γόννοι ήσαν επιλεκτικώς ουδέτεροι, εκ των αλλαγών των συχνοτήτων των αλληλομόρφων, είτε του γόνου Est-A είτε του γόνου Est-B, θα καταλήγαμε εις τόν ίδιον υπολογισμόν του δραστικού μεγέθους του πληθυσμού, N_e , και έπομένως δι'εκαστον γόννον θα υπολογίζαμε τόν ίδιον συντελεστήν όμομειξίας F_t εκ τής σχέσεως

$$F_t = 1 - \left(1 - \frac{1}{2N_e} \right)^t \quad (1)$$

όπου t ό αριθμός των γενεών μεταξύ των δύο δειγματοληψιών.

Γνωρίζομεν όμως τήν διακύμανσιν των αλλαγών των συχνοτήτων αριθμού πληθυσμών, προερχομένων εκ του ίδιου βασικού πληθυσμού. Οι πληθυσμοί αυτοί έχουν τό ίδιον δραστικόν μέγεθος και αι αλλαγαι των συχνοτήτων όφείλονται εις τήν γενετικήν παρέκκλισιν. Η διακύμανσις εις τήν περίπτωσιν ταύτην είναι

$$\sigma_{p_t}^2 = p_o (1-p_o) \left[1 - \left(1 - \frac{1}{2N_e} \right)^t \right] \quad (2) \text{ (Falconer, 1960)}$$

όπου p_o ή αρχική συχνότης του αλληλομόρφου εις τόν βασικόν πληθυσμόν.

N_e τό δραστικόν μέγεθος του πληθυσμού και

t ό αριθμός των παρερχομένων γενεών

Εκ των εξισώσεων (1) και (2) έχομεν:

$$\sigma_{p_t}^2 = p_o (1 - p_o) F_t \quad (3)$$

Εκ τής σχέσεως (3) καταλήγομεν εις τήν έπομένην σχέσηιν

$$F_t = \frac{\sigma_{p_t}^2}{p_o (1 - p_o)} \quad (4)$$

εκ τής οποίας υπολογίζεται ό συντελεστής όμομειξίας F_t .

Αι συχνότητες τών ἀλληλομόρφων ἑνός γόνου εἰς ἓνα πληθυσμόν δύναται νά κυμαίνωνται ἀνεξαρτήτως ἢ μία τῆς ἄλλης, ὑπόκεινται μόνον εἰς τόν περιορισμόν $\sum p_i = 1$. Δι' ἕκαστον δηλαδή γόνον θά ἔχωμεν ἓνα ἀριθμόν ἀνεξαρτήτων δειγμάτων ἴσον πρὸς τόν ἀριθμόν τών ἀλληλομόρφων αὐτοῦ μείον ἓνα. Ἐνῶ ὁμως αἱ ἀρχικαί συχνότητες τών ἀλληλομόρφων ἐκάστου γόνου εἶναι διαφορετικά, ἡ τιμὴ τοῦ F_t δύναται νά εἶναι ἢ ἰδίᾳ δι' ὅλους τοὺς ἀλληλομόρφους ὑπολογιζομένη ἐκ τῆς σχέσεως:

$$\frac{1}{n} \sum \frac{(p_1 - p_0)^2}{p_0(1 - p_0)} \quad (5)$$

ὅπου p_1 ἡ συχνότης τοῦ ἀλληλομόρφου εἰς τὸ δείγμα τοῦ 1968.

p_0 ἡ συχνότης τοῦ ἀλληλομόρφου εἰς τὸ δείγμα τοῦ 1967.

n ὁ ἀριθμὸς τών ἀλληλομόρφων ἐκάστου γόνου.

Ἡκολούθησεν ὁ ὑπολογισμὸς τοῦ δραστικοῦ μεγέθους τοῦ πληθυσμοῦ κατὰ τὰ ἔτη 1966-1967 καί 1967-1968. Διεπιστώθη ἐλάττωσις τοῦ δραστικοῦ μεγέθους τοῦ πληθυσμοῦ μετὰ τόν ψεκασμό. Ἡ ὁμοιότης τών τιμῶν τών N_e διὰ τοὺς δύο γόνους καί διὰ τὸ αὐτὸ χρονικὸν διάστημα εἶναι ἓν ἰσχυρόν ἐπιχείρημα ὅτι οἱ γόνοι εἶναι ἐπιλεκτικῶς οὐδέτεροι, ἐφ' ὅσον ἀναμένεται ἡ φυσικὴ ἐπιλογή νά δρά κατὰ διαφορετικόν τρόπον εἰς ἕκαστον γόνον καί ἀλληλόμορφον.

Οἱ Lewontin καί Krakauer (1973) ἐπεξεργάσθησαν στατιστικῶς τοὺς ὑπολογισμοὺς τῆς ἀναμενομένης διακυμάνσεως τοῦ συντελεστοῦ F καί ἔδειξαν ὅτι ἀπαιτοῦνται τούλάχιστον ὀκτώ ἀλληλόμορφοι, διὰ νά ἐφαρμοσθῇ ἡ μέθοδος αὕτη, καί μόνον ἰσχυραί ἐπιλεκτικά δυνάμεις δύναται ν' ἀποκαλυφθοῦν.

Ἡ μέθοδος αὕτη, προταθεῖσα ὑπὸ τών Krimbas καί Tsakas (1971), ὡς ἀνωτέρω ἀνεφέρθη, ἀπετέλεσεν τὴν πρώτην πρότασιν καί ἐφαρμογὴν τῆς χρονικῆς μεθόδου.

Γενικῶς κατά τήν χρονικήν μέθοδον μελετῶνται αἱ συχνότητες τῶν ἀλληλομόρφων ἐνός πληθυσμοῦ εἰς δύο χρονικάς στιγμάς. Ἐάν παρατηρήσωμεν τήν συχνότητα ἐνός ἀλληλομόρφου εἰς δύο διαδοχικάς γενεάς καί ἐάν οἱ γόνοι εἶναι ἐπιλεκτικῶς οὐδέτεροι, εἶναι δυνατόν νά γίνῃ μία ἀλλαγὴ εἰς τήν συχνότητα, Δp , λόγῳ τοῦ περιωρισμένου τοῦ μεγέθους τοῦ πληθυσμοῦ.

Ἐάν ὑπολογίσωμεν τήν συχνότητα τοῦ ἰδίου ἀλληλομόρφου, εἰς δύο διαδοχικάς γενεάς εἰς μέγα ἀριθμόν ὁμοίων πληθυσμῶν οἱ ὁποῖοι δέν ὑπόκεινται εἰς τήν δρᾶσιν τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς καί ἔχουν τήν ἰδίαν ἀρχικήν συχνότητα ἀλληλομόρφων p_0 , τότε ἡ διακύμανσις τῆς συχνότητος τῶν ἀλληλομόρφων σ_p^2 εἰς τήν ἐπομένην γενεάν δίδεται ἐκ τῆς σχέσεως:

$$\sigma_p^2 = F \cdot p_0 (1-p_0) \quad (6)$$

ὅπου p_0 ἡ συχνότης τοῦ ἀλληλομόρφου εἰς τήν πρώτην γενεάν, ἣτις εἶναι ἡ ἰδία εἰς ἅπαντας τοὺς μελετηθέντας πληθυσμούς.

σ_p^2 ἡ διακύμανσις τῆς συχνότητος τοῦ ἰδίου ἀλληλομόρφου εἰς ἅπαντας τοὺς μελετηθέντας πληθυσμούς εἰς τήν δευτέραν γενεάν

καί F ὁ συντελεστής ὁμομειξίας εἰς τήν δευτέραν ταύτην γενεάν.

Ἄλλά: $\sigma_p^2 = (\Delta p)^2 \quad (7)$

ὅπου $\Delta p = p_0 - p_i$

καί p_i εἶναι ἡ συχνότης τοῦ ἀλληλομόρφου εἰς τήν δευτέραν γενεάν εἰς ἕκαστον πληθυσμόν.

Ἐκ τῶν σχέσεων (6) καί (7) ὑπολογίζεται ὁ συντελεστής ὁμομειξίας εἰς μίαν γενεάν ἐκ τῆς σχέσεως:

$$F = \frac{(\Delta p)^2}{p_0 (1-p_0)} \quad (8)$$

Ἐάν ἔχωμεν δεδομένα συχνότητων διά πολλούς διαφόρους γόνους εἰς τόν ἴδιον πληθυσμόν, ἐκ τῶν διαφορῶν τῶν συχνότητων τῶν ἀλληλομόρφων ἐκάστου γόνου, ὑπολογίζεται ὁ ἴδιος πραγματικός συντελεστής F , ἐφ' ὅσον ὅλοι οἱ γόνου εἶναι ἐπιλεκτικῶς οὐδέτεροι.

β. Γεωγραφική μέθοδος

Κατά τήν γεωγραφικήν μέθοδον μελετῶνται αἱ συχνότητες τῶν ἀλληλομόρφων διαφορῶν γόνων εἰς ἓνα μέγαν ἀριθμόν πληθυσμῶν. Δι' ἕκαστον ἀλληλόμορφον ἐκάστου γόνου ὑπολογίζεται εἰς δραστηκός συντελεστής ὁμομειξίας F_e ἐκ τῆς ἐξισώσεως

$$\hat{F}_e = \frac{s^2 p}{\bar{p}(1 - \bar{p})} \quad (9)$$

ὅπου \hat{F}_e ὁ ὑπολογιζόμενος δραστηκός συντελεστής ὁμομειξίας

$s^2 p$ διακύμανσις εἰς τήν συχνότητα τοῦ ἑνός ἐκ τῶν ἀλληλομόρφων εἰς ὅλους τοὺς ἐξεταζομένους πληθυσμούς

\bar{p} ἡ μέση συχνότης τοῦ ἀλληλομόρφου εἰς ὅλους τοὺς πληθυσμούς.

Ὁ δραστηκός συντελεστής ὁμομειξίας ἀναφέρεται εἰς πληθυσμούς καθ' ὅλοκληρίαν ἀπομονωμένους, οἱ ὅποιοι δέν δύναται ν' ἀνταλλάσσουν γόνους μεταξύ των, εἶναι πλήρως παμμεικτικοί, ἕκαστος δέ πληθυσμός ἔχει σταθερόν μέγεθος N . Ἐξ αὐτῶν δέ τῶν πληθυσμῶν προκύπτει τό ποσόν τῆς γενετικῆς ποικιλομορφίας τό παρατηρούμενον εἰς πραγματικούς πληθυσμούς.

Οἱ πραγματικοί πληθυσμοί δέν εἶναι πλήρως ἀπομονωμένοι, ἀνταλλάσσουν γόνους μεταξύ των, δέν ἔχουν σταθερόν μέγεθος, καί δέν εἶναι καθ' ὅλοκληρίαν παμμεικτικοί. Αἱ πραγματικά ὁμως αὐταί συνθήκαι δέν ἐπηρεάζουν τήν μέθοδον, ἐφ' ὅσον κατα

νέμονται τυχαίως και συμπεριλαμβάνονται εις τον υπολογισμόν του δραστικοῦ συντελεστοῦ ὁμομειξίας κατά τον ἴδιον τρόπον, δι' ὅλους τούς μελετηθέντας ἀλληλομόρφους. Ἐπίσης, διότι ὁ δραστικός συντελεστής ὁμομειξίας ἀναφέρεται εις ἰδεατόν Βαλουνδιανόν (Wahlund) "ὑπερπληθυσμόν" ἀποτελούμενον ἐκ τῶν ὑπό μελέτην πληθυσμῶν ἕκαστος τῶν ὁποίων θά εἶχε τό αὐτό δραστικόν μέγεθος.

Ἐπολογίζομεν τὰς τιμάς τοῦ \hat{F}_e δι' ὅλους τούς γόνους ἕκαστος τῶν ὁποίων θά ἔχη τὰς ἐξ ὁλοκλήρου δικάς του τιμάς τῶν s_p^2 καί \bar{p} . Ἐφ' ὅσον ὅλοι οἱ γόνουι εἶναι ἐπιλεκτικῶς οὐδέτεροί, δι' ἕκαστον γόνον ὑπολογίζεται ὁ ἴδιος συντελεστής \hat{F}_e , δέν θά ὑπάρχη δηλαδή σημαντική ἑτερογένεια μεταξύ τῶν τιμῶν τῶν συντελεστῶν καί ἐξ αὐτῶν θά ὑπολογίζεται εἰς πραγματικός συντελεστής \hat{F}_e . Ἐάν ὅμως ὅλοι οἱ γόνουι ὑποκείνται εις τήν δρᾶσιν τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς, αἱ τιμαί τῶν συντελεστῶν δέν θά εἶναι ἐκτιμήσεις τοῦ ἰδίου \hat{F}_e , διότι θά διασκορπίζωνται ἀπό τήν ἐπιλογήν. Εἰς τήν περίπτωσιν ταύτην αἱ τιμαί τῶν \hat{F}_e δέν θά ἔχουν τήν ἰδίαν κατανομήν, ἐκτός ἐάν ἡ ἐπιλογή δρᾶ κατά τον ἴδιον ἀκριβῶς τρόπον εις ὅλους τούς ἀλληλομόρφους.

Πρακτικῶς τό πρόβλημα εἶναι ἡ κατανομή τῶν \hat{F}_e , διά νά ἔχωμεν τήν δυνατότητα νά ἐξετάσωμεν τήν σημαντικότητα τῶν διαφορῶν μεταξύ δύο ἢ περισσοτέρων τιμῶν τῶν \hat{F}_e ἐκ διαφόρων γόνων. Δηλαδή μία δοκιμασία ὁμοιογενείας τῶν συντελεστῶν ὁμομειξίας διά διαφόρους γόνους ὑπό συνθήκας σταθερᾶς καταστάσεως, εἶναι μία δοκιμασία ὁμοιογενείας τῶν συντελεστῶν ἐπιλογῆς μεταξύ τῶν γόνων, εἶναι δηλαδή μία δοκιμασία διά τήν διαπίστωσιν ἐπιλογῆς.

Αἱ τιμαί τῶν \hat{F}_e θά ἔχουν μίαν κατανομήν ἐξαρτωμένην ἐκ τῆς πραγματικῆς κατανομῆς τῶν συχνοτήτων τῶν ἀλληλομόρφων ἐκάστου γόνου. Ἡ κατανομή αὕτη δυνατόν ν' ἀντιστοιχῆ εις διαφόρους μορφάς κατανομῆς, ἐξαρτωμένη ἐκ παραμέτρων, ὅπως N (δραστικόν μέγεθος πληθυσμοῦ), s (έντασις ἐπιλογῆς), μ (πο-

σοστόν μεταλλαγής), m (ποσοστόν μεταναστεύσεως), αί οποῖαι εἶναι ἄκρως δύσκολον νά μετρηθοῦν πρακτικῶς.

Οἱ Lewontin καί Krakauer (1973) οἱ ὁποῖοι ἐπρότειναν τήν γεωγραφικήν μέθοδον, ἐμελέτησαν διαφόρους κατανομάς καί τελικῶς ἔδωσαν μίαν στατιστικήν μέθοδον διά τόν ἔλεγχον τῶν ἀποτελεσμάτων. Ἀπέδειξαν ὅτι ἡ θεωρητικῶς ἀναμενομένη διακύμανσις τῶν τιμῶν τῶν Fe δέν δύναται νά ὑπερβαίνη τήν τιμήν:

$$\sigma_{Fe}^2 = \frac{2\bar{Fe}^2}{n-1} \quad (10)$$

ὅπου σ_{Fe}^2 ἡ θεωρητικῶς ἀναμενομένη διακύμανσις τῶν Fe
 \bar{Fe} ἡ μέση τιμή τῶν Fe
καί n ὁ ἀριθμός τῶν μελετηθέντων πληθυσμῶν

Ὁ λόγος τῆς παρατηρηθείσης διακυμάνσεως τῶν τιμῶν τῶν Fe πρὸς τήν ἀναμενομένην τοιαύτην (s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2), μᾶς προμηθεύει ἓν στατιστικόν κριτήριον διά τήν ἀποδοχήν ἢ ἀπόρριψιν τῆς ὑποθέσεως ὅτι δηλαδή αἱ διαφοραί εἰς τὰς συχνότητας τῶν ἀλληλομόρφων ὀφείλονται εἰς ἐπιλεκτικὴν οὐδετέροτητα. Ὁ λόγος αὐτῶν τῶν διακυμάνσεων ἔχει τήν ἰδίαν κατανομήν τήν ὁποίαν ἔχει ὁ λόγος τῆς κατανομῆς χ^2 πρὸς τοὺς βαθμοὺς ἐλευθερίας (B.E). Ἡ ἀπόρριψις τῆς ὑποθέσεως ὀδηγεῖ εἰς τήν ἀποδοχήν μιᾶς ἐπιλεκτικῆς αἰτίας, ἡ ὁποία διαταράσσει τὰς τιμάς τῶν συχνοτήτων τῶν γόνων κατὰ τοιοῦτον τρόπον ὥστε ἡ ὑπολογισθεῖσα διακύμανσις νά εἶναι διάφορος ἐκ τῆς ἀναμενομένης τοιαύτης.

Εἰς τήν περίπτωσιν ταύτην ἡ σημαντικότης τοῦ λόγου s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2 δυνατὸν νά ὀφείλεται εἰς ἓνα ἢ περισσοτέρους γόνους, οἱ ὁποῖοι ὑφίστανται ἢ ἔχουν ὑποστῆ τήν δρᾶσιν τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς κάποιον χρόνον εἰς τήν ἱστορίαν αὐτῶν τῶν πληθυσμῶν μετὰ τόν διαχωρισμὸν των.

Ἡ μέθοδος αὕτη δέν ἐπιτρέπει τήν ἀπ'εὐθείας ἀνεύρεσιν

του αριθμού των γόνων οι οποίοι υφίστανται την δράσιν της φυσικής επιλογής.

Διά την προσπέλασιν του προβλήματος τούτου οι S. Tsakas και C. B. Krimbas (1975) επρότειναν την εκάστοτε άφαιρσιν ενός γόνου και τόν υπολογισμόν του λόγου s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2 διά τούς έναπομείναντας γόνους. Έάν εις έκ των γόνων υφίσταται την δράσιν της φυσικής επιλογής, η άφαιρσιν τούτου αΐρει την σημαντικότητα του υπολογιζομένου έκ των έναπομεινάντων γόνων λόγου s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2 .

Έάν η σημαντικότης του λόγου s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2 παραμένη μετ' άφαιρσιν ενός εκάστοτε γόνου, οδηγούμεθα εις τό συμπέρασμα ότι τουλάχιστον δύο γόνοι υφίστανται την δράσιν της φυσικής επιλογής. Ώς έκ τούτου αφαιρούνται εκάστοτε δύο γόνοι και υπολογίζεται ο λόγος s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2 διά τούς έναπομείναντας γόνους και τοϋτο επαναλαμβάνεται δι' άλλους τούς συνδυασμούς των γόνων ανά δύο λαμβανομένων. Η σημαντικότης του λόγου τούτου αΐρεται μετ' άφαιρσιν του ζεύγους εκείνου τό όποϊον υφίσταται την δράσιν της φυσικής επιλογής.

Έάν και εις την περίπτωσιν ταύτην η σημαντικότης του λόγου παραμένη, ακολουθεΐται η ίδια, ως προηγουμένως, πορεία δι' άφαιρέσεως εκάστοτε των γόνων συνδυαζομένων ανά τρεις κ.ο.κ.

Είς την ανάλυσιν υπάρχει έν πρόβλημα διά τόν υπολογισμόν των Β.Ε. Πρόκειται διά γόνους μέ περισσοτέρους των δύο άλληλομόρφων. Αι διακυμάνσεις των συχνοτήτων των άλληλομόρφων ενός γόνου είναι θετικώς συσχετισμένοι. Έάν εκλέξωμεν, τυχαίως, ένα μόνον έκ των άλληλομόρφων τότε θυσιάζομεν πληροφορίας. Έάν υπολογίσωμεν τας τιμάς του Fe δι' άλλους τούς άλληλομόρφους ενός τοιούτου γόνου, θα υπερεκτιμηθῆ η δύναμις της μεθόδου. Διά την προσπέλασιν του προβλήματος τούτου οι Lewontin και Krukauev επρότειναν την άφαιρσιν ενός βαθμοϋ έλευθερίας, δι' εκαστον γόνον μέ περισσοτέρους των δύο άλληλομόρφων, έκ του συνόλου (των τιμών των Fe). Είς την περίπτωση γόνου μέ δύο άλληλομόρφους υπολογίζεται η τιμή του Fe

δι' ένα μόνον αλληλόμορφον. Επίσης έξ εκάστου συνόλου άφαι -
ροϋμε τήν μονάδα.

γ. Περιορισμοί τής μεθόδου

Οι Μ. Nei και T. Maruyama (1975) υπεστήριξαν ότι ή
μέθοδος δέν είναι δυνατόν νά εφαρμοσθί είς τήν περίπτωσιν ώ-
ρισμένων τύπων μεταναστεύσεως και μεταλλαγής.

Έάν ύπάρχη έν ύψηλόν ποσοστόν μεταναστεύσεως μεταξύ
των πληθυσμών, θά ύπάρχη ίσχυρά συσχέτισις μεταξύ των συχνο-
τήτων των γόνων των και τοϋτο θά έχη σαν άποτέλεσμα τήν ύ-
περεκτίμησιν τοϋ κλάσματος s_{Fe}^2/σ_{Fe}^2 και οϋτω οδηγούμε-
θα είς έσφαλμένα συμπεράσματα. Βεβαίως έσημειώθη ή περίπτω-
σις αύτη υπό των Lewontin και Krakauer (1973), άλλ' έθεωρήθη
άσήμαντος.

Έπίσης έσημειώθη υπό των άνωτέρω συγγραφέων ότι αι πε-
ρισσότεραι μεταλλαγαί είναι μοναδικαί και ως έκ τούτου ή τι-
μή τοϋ συντελεστοϋ όμομειξίας δι' ένα ώρισμένον αλληλόμορ-
φον αλλάσσει άπό χρόνου είς χρόνον, έξαρτωμένη έκ τοϋ τύπου
τής μεταναστεύσεως και τοϋ μεγέθους τοϋ πληθυσμοϋ. Είς τήν πε-
ρίπτωσιν ταύτην δυνατόν νά υπερεκτιμηθί τό κλάσμα s_{Fe}^2/σ_{Fe}^2 .

Οι Tsakas και Krimbas (1976) είσηγήθησαν ένα τρόπον
διά τήν προσπέλασιν τοϋ προβλήματος τούτου. Μέ τόν σκοπόν
νά άνεξαρτητοποιήσουν τήν μέθοδον ταύτην έκ τοϋ άποτελέσμα-
τος τό όποϊον έπιφέρουν τυχόν μεταλλαγαί, έπρότειναν νά ά-
ποκλεισθοϋν έκ των ύπολογισμών αλληλόμορφοι οι όποιοι δέν
έμφανίζονται είς όλα τά δείγματα των πληθυσμών.

Η μέθοδος όμοιογενείας των συντελεστών όμομειξίας έ-
φαρμόζεται είς τήν περίπτωσιν κατά τήν όποιάν αι συχνότητες
των αλληλομόρφων είναι μεγαλύτεραι τοϋ 5%. Ός έκ τούτου δι'
έκαστον γόνον, αλληλόμορφοι μέ συχνότητα μικρότεραν τοϋ 5%

συγχωνεύονται εις ένα αλληλόμορφον με συχνότητα τό άθροισμα των συχνοτήτων αυτών.

Δέν λαμβάνονται υπ' όψιν πολυμορφικοί γόνου των όποιών ό εις αλληλόμορφος έχει συχνότητα μεγαλύτεραν του 95%.

Ό A. Robertson (1975b) έξ άλλου συμφωνεί με τάς άπόψεις των M. Nei και T. Maruyama και έτόνισεν ιδιαιτέρως τήν σημασίαν τής ιεραρχικής δομής των πληθυσμών εις τόν υπολογισμόν τής θεωρητικής διακυμάνσεως των συντελεστών όμομειξίας.

Οι Lewontin και Krakauer (1973) υπελόγισαν μίαν συντηρητικήν τιμήν τής διακυμάνσεως ταύτης έκ του τύπου

$$\sigma_{Fe}^2 = \frac{2\bar{F}e^2}{n-1}$$

εις η πληθυσμούς προερχομένους ανεξαρτήτως ό εις του άλλου έξ ενός βασικού πληθυσμού και έθεώρησαν ότι αι συνέπειαι συσχετίσεων μεταξύ των έπιφέρουν άσήμαντον άποτέλεσμα εις τήν διακύμανσιν του Fe.

Άλλ'ώς υπεστήριξεν ό A. Robertson, (1975a, 1975b), συσχετίσεις πληθυσμών έντός ενός είδους, αΐτινες είναι άποτέλεσμα τής κοινής προελεύσεως των πληθυσμών ή τής μεταναστεύσεως μεταξύ αυτών, συνεπάγονται συσχετίσεις μεταξύ των συχνοτήτων των αλληλομόρφων των διαφόρων γόνων. Όταν οι έξεταζόμενοι γόνου προέρχονται έκ του ίδίου δείγματος πληθυσμού και μελετηθούν τοιουτοτρόπως η πληθυσμοί, ή άναμενομένη διακύμανσις σ_{Fe}^2 δίδεται έκ του τύπου

$$\sigma_{Fe}^2 = 2 \bar{F}e^2 \left(\frac{1}{n-1} + Vr \right)$$

όπου $Vr = \eta$ διακύμανσις των συντελεστών συσχετίσεως ζευγών πληθυσμών, όταν ό μέσος συντελεστής συσχετίσεως άναχθῆ εις τό μηδέν.

Η τελευταία αύτη διακύμανσις, Vr , είναι μηδέν, μόνον όταν όλοι οι πληθυσμοί προέρχονται ανεξαρτήτως έκ του άρχικού

πληθυσμοῦ. Εἰς πληθυσμούς ὅπου παρατηρεῖται ἱεραρχική δομή ἢ διακύμανσις αὕτη εἶναι διάφορος τοῦ μηδενός. Πάντως φαίνεται πολὺ δύσκολον, ἐάν ὄχι πρακτικῶς ἀδύνατον, ὁ ὑπολογισμός τοῦ Vr , ἐφ' ὅσον ἡ φυλογενετική ἱστορία τῶν πληθυσμῶν δέν εἶναι γενικῶς γνωστή.

Οἱ Tsakas καί Krimbas (1976), διὰ τὴν προσπέλασιν τῆς δυσκολίας ταύτης, εἰσηγήθησαν μίαν ἐναλλακτικὴν λύσιν, τὴν ἐφαρμογὴν τῆς μεθόδου εἰς ἓν ζευγος πληθυσμῶν τὸν αὐτὸν χρόνον. Κατ' αὐτὸν τὸν τρόπον περιορίζεται ὀψωδῆποτε ἡ ἰσχὺς τῆς μεθόδου ἀλλὰ εἰς τὴν περίπτωσιν ταύτην ἡ διακύμανσις Vr ἰσοῦται μέ τό μηδέν. Ὅποιαδήποτε κι' ἂν εἶναι ἡ φυλογενετική ἱστορία αὐτῶν τῶν δύο πληθυσμῶν, θά προέρχωνται ἀνεξαρτήτως ἐκ τοῦ ἰδίου πληθυσμοῦ κατὰ ἓνα ἀπλοῦν καί ὁμοιον τρόπον. Εἰς τὴν περίπτωσιν ταύτην ἡ ἀναμενομένη διακύμανσις τῶν συντελεστῶν ὁμομειξίας ὑπὸ συνθήκας οὐδετερότητος, ἰσοῦται πρὸς $2Fe^2$

Κατὰ τὴν μελέτην $2n$ πληθυσμῶν εἶναι δυνατὴ ἡ δοκιμασία $n(2n-1)$ ζευγῶν. Εἰς τὴν περίπτωσιν ταύτην οἱ συντελεσταὶ ὁμομειξίας ὑπολογίζονται ἐξ ἀλληλομόρφων τοῦ ἰδίου γόνου, οἱ ὅποιοι ἤδη ἔχουν χρησιμοποιηθῆ. Ἐπομένως αἱ τιμαὶ τῶν συντελεστῶν ὁμομειξίας εἶναι συσχετισμένα (A. Robertson, 1975a, 1975b) καί εἶναι δυνατὸν νά ὑπερεκτιμοῦν τὴν παρατηρηθεῖσαν διακύμανσιν τῶν συντελεστῶν τούτων.

Οἱ ἀνωτέρω ἀναφερθέντες συγγραφεῖς Tsakas καί Krimbas (1976) συνεπέραναν ὅτι ἡ μέθοδος τῶν Lewontin καί Krakauer δύναται νά ἐφαρμοσθῆ εἰς ζεύγη πληθυσμῶν ἀνεξάρτητα μεταξύτων. Ἐκ $2n$ πληθυσμῶν χρησιμοποιοῦνται μόνον n ζεύγη κατὰ τοιοῦτον τρόπον, ὥστε ἕκαστος πληθυσμὸς νά περιέχεται εἰς ἓν μόνον ζευγος πληθυσμῶν ἐκ τῶν n τοιούτων. Οἱ πληθυσμοὶ δέ συνδυάζονται εἰς ζεύγη κατὰ ἓνα τυχαῖον τρόπον, πρὶν εἰσέτι γνωστοποιηθοῦν τ' ἀποτελέσματα.

Οἱ Lewontin καί Krakauer (1975) ἐπίσης ἐθεώρησαν, ὅτι ἡ μέθοδος δέν εἶναι δυνατὸν νά ἐφαρμοσθῆ, ὅταν ἡ κατανομή τῶν συχνότητων τῶν ἀλληλομόρφων παρουσιάζει ἀσυμμετρία.

Οι Lewontin και Krakauer (1973) χρησιμοποιώντας τα δεδομένα του Cavalli-Sforza (1966) υπελόγισαν τās τιμάς του Fe εἰς μίαν μεγάλην σειράν ἀνθρωπίνων πληθυσμῶν διὰ 15 διαφορετικούς ἀλληλομόρφους οἱ ὅποιοι ἀντιστοιχοῦν εἰς 9 γό - νους. Ἡ εὐρεθεῖσα διαφορά τῶν τιμῶν τῶν Fe ἐφαίνετο καί διὰ τόν Cavalli-Sforza πολύ μεγάλη, διὰ νά ἐξηγηθῆ μόνον ἀπό σφάλμα δειγματοληψίας, ἐχρειάζετο ὅμως κάποιο θεωρητικόν ὑπόδειγμα διὰ τήν πλήρη ἀξιοποίησιν τῶν δεδομένων του. Ἄν καί ἡ μέθοδος δέν ἐφηρμοσθη καταλλήλως, διότι δι' ἕκαστον γόνον ἐχρησιμοποιήθη διαφορετικός ἀριθμός πληθυσμῶν (Are polyomorphic genes selected? A new approach. Krimbas, 1976, ὑπό δημοσίευσιν), τὰ δεδομένα ἔδειξαν μίαν ἑτερογένειαν τῶν συντελεστῶν ὁμομιξίας. Τοῦλάχιστον εἰς ἐκ τῶν 9 μελετηθέντων γόνων ὑπέστη τήν δρᾶσιν τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς.

Οἱ Tsakas καί Krimbas (1975) ἔχουν μελετήσῃ τρεῖς Μεσογειακούς πληθυσμούς τοῦ ἐντόμου Dacus oleae δι' ἕξ ἔνζυμα : Est-A, Est-B, Alph (alkaline phosphatase), ADH (alcohol dehydrogenase), ODH (octanol dehydrogenase) καί TO (tetrasolium oxidase). Ἡ ἀνάλυσις τῶν δεδομένων μέ τήν γεωγραφικὴν μέθοδον ἔδειξεν ὅτι τοῦλάχιστον δύο γόνοι ἔχουν ὑποστῆ τήν δρᾶσιν τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς κάποιον χρόνον κατὰ τήν διάρκειαν τῆς ἱστορίας αὐτῶν τῶν πληθυσμῶν μετὰ τόν διαχωρισμόν των.

Εἰκοσιένα πληθυσμοί τοῦ εἴδους Euphydryas editha καί πληθυσμοί τοῦ εἴδους Euphydryas chalcidona ἐμελετήθησαν διὰ ὀκτώ πολυμορφικούς γόνους ὑπό τῶν Mckechnie et al. (1975). Τὰ δεδομένα των ἔδειξαν ὅτι ἡ ὑπόθεσις τῆς οὐδετερότητος εἶναι ἀβάσιμος διὰ τοὺς μελετηθέντας γόνους. Ἡ μέθοδος τῶν Lewontin καί Krakauer ἔδειξεν μεγέθη ἑτερογενείας μεταξὺ τῆς ποικιλομορφίας τῶν συχνοτήτων τῶν γόνων ἀσυνεπῆ πρὸς τήν ὑπόθεσιν τῆς οὐδετερότητος.

Ἐπίσης ὁ Nevo (1973) ἐμελέτησεν εἰκοσιτέσσαρας πολυμορφικούς γόνους εἰς ἔνδεκα πληθυσμούς τοῦ τρωκτικοῦ Thomomys talpoides, μέ τήν γεωγραφικὴν μέθοδον καί διεπίστωσεν ἑ-

τερογένειαν τών συντελεστών όμομειξίας.

Έάν λάβωμεν ύπ' όψιν τά λεχθέντα ύπό τών Nei and Maruyama καί Robertson, τότε τά δεδομένα τών Lewontin καί Krakauer είς τόν άνθρωπον, τά δεδομένα τών Tsakas καί Krimbas είς τόν D. oleae, τά δεδομένα τών Mckechnie et al. είς πληθυσμούς τών είδών Euphydryas editha καί Euphydryas chalcidona καί τά δεδομένα τοϋ Nevo είς τόν Thomomys talpoides δέν είναι κατ' ανάγκην άκριβή είς τήν έρμηνείαν των.

Έπανεξετάζοντες τά δεδομένα των, έκ δημοσιεύσεως 1975, οί Tsakas καί Krimbas, συμφώνως πρός τήν έναλλακτική λύσιν τήν όποιαν είσηγήθησαν οί έν λόγω συγγραφείς (Testing the Heterogeneity of F values: a suggestion and a correction. Tsakas and Krimbas, 1976, ύπό δημοσίευσιν), διεπίστωσαν ότι μόνον ή άφαίρεσις τοϋ γόνου Est-B άρει τήν έτερογένειαν τών άποτελεσμάτων. Οϋτω είς τούλάχιστον έν τών έξ γόνων ύπέστη τήν δρᾶσιν τής φυσικής έπιλογής. Έμελέτησαν έπίσης δώδεκα Μεσογειακούς πληθυσμούς τοϋ έντόμου D. oleae διά τούς ίδίους έξ γόνους τούς άναφερθέντας άνωτέρω (Tsakas and Krimbas, 1975). Διεπίστωσαν ότι τούλάχιστον δύο γόνοι (Est-B καί ADH) ύπέστησαν τήν δρᾶσιν τής φυσικής έπιλογής.

Δύο πληθυσμοί τοϋ έντόμου Drosophila subobscura έμελετήθησαν ύπό τοϋ Γ. Άλτιπαρμάκη (Διατριβή επί διδασκατορία, 1975), ή μελέτη έγένητο, άφ' ένός μέν δι' έφαρμογής τής μεθόδου τών Lewontin καί Krakauer (1973), άφ' έτέρου δέ διά τριγωνομετρικού μετασχηματισμοϋ τών συχνοτήτων τών άλληλομόρφων ώς έπρότειναν οί Kidd καί Cavalli - Sforza (1974). Έμελετήθησαν δώδεκα πολυμορφικοί γόνοι, είς ούδένα όμως έξ αύτών διεπιστώθη ή δρᾶσις τής φυσικής έπιλογής.

Είς τήν παροϋσαν έργασίαν έχρησιμοποιήθη ή γεωγραφική μέθοδος διά τήν μελέτην τής όμοιογενείας τών συντελεστών όμομειξίας είς τέσσαρας φυσικούς πληθυσμούς τοϋ έντόμου D. subobscura.

III ΥΛΙΚΟΝ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Α' ΓΕΝΙΚΑΙ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΙ

1. Τό είδος Drosophila subobscura

Τό είδος D. subobscura ἀνήκει εἰς τό ὑπογένος Sophophora τοῦ γένους Drosophila τῆς οἰκογενείας Drosophilidae τῆς τάξεως Diptera. Εἰς τό ὑπογένος Sophophora ὑπάγονται καί ἄλλα συγγενῆ πρός τήν D. subobscura εἶδη τά ὁποῖα ἀπαρτίζουν τήν ομάδα εἰδῶν obscura. Τά περιγραφέντα αὐτά εἶδη εἶναι μέχρι στιγμῆς εἰκοσιτρία (Throckmorton, 1975) Δέκα ἐξ αὐτῶν εὐρίσκονται εἰς τήν Βόρειον Ἀφρικὴν, Εὐρώπην, Μέσην Ἀνατολήν καί Βόρειον Ἀσίαν ἐνῶ δεκατρία εἶδη εὐρίσκονται εἰς τήν Βόρειον καί Κεντρικὴν Ἀμερικὴν.

Ἡ D. subobscura ἔχει εὐρείαν γεωγραφικὴν κατανομήν: Βόρειον Ἀφρικὴν (Τῦνιδα, Ἀλγέρι), Εὐρώπη μέχρι τοῦλάχιστον Οὐαλίω ὁρέων, Μέση Ἀνατολή (ἀπὸ Τουρκία μέχρι καί Ἰσραήλ) καί Βόρειον Περσία.

2. Γόνοι καὶ ἐνζυμα

Συνολικῶς ἐμελετήθησαν 100.000 ἄτομα τῆς D. subobscura διὰ 29 ἐνζυμα τά ὁποῖα ἐλέγχονται ὑπὸ ἀντιστοίχων γόνων ἐδραζομένων εἰς τὰ χρωματοσώματα.

Ἐκαστον ἐνζυμον ἐμελετήθη εἰς τό στάδιον ἐκεῖνο τοῦ βιολογικοῦ κύκλου τοῦ ἀτόμου κατὰ τό ὁποῖον εὐρίσκεται εἰς τήν μεγαλυτέραν αὐτοῦ συγκέντρωσιν.

Ἡ ὀνομασία ἐκάστου ἐνζύμου, ὁ συμβολισμὸς τοῦ ἀντιστοίχου γόνου, τό στάδιον τοῦ βιολογικοῦ κύκλου τοῦ ἀτόμου εἰς τό ὁποῖον ἐμελετήθη ἕκαστον ἐνζυμον, ὡς καί λε-

πτομερής περιγραφή της χρησιμοποιηθείσης τεχνικής διά την ανίχνευσιν εκάστου ένζυμου, αναφέρονται κατωτέρω εις την παράγραφον "τεχνικαί ανιχνεύσεως ένζυμων". Τό χρωματόσωμα επί του οποίου έδράζεται έκαστος γόνος αναγράφεται εις τόν πίνακα I.

3. Τεχνικαί ανιχνεύσεως τών ένζυμων

α. Τεχνική της ήλεκτροφορήσεως

Διά τά μελετηθέντα ένζυμα έχρησιμοποιήθη ή τεχνική της ήλεκτροφορήσεως εις πηγμα άμύλου (Smithies, 1955).

1. Παρασκευή του πήγματος

33 gr άμύλου έντός 330 ml καταλλήλου ρυθμιστικού διαλύματος δι' έκαστον μελετώμενον γόνον, έθερμαίνοντο υπό συνεχή ανάδευσιν εις φλόγα λύχνου Bunsen μέχρις άρχομένου βρασμοϋ καί έν συνεχεία έγένητο συμπλήρωσις του βρασμοϋ υπό κενόν διαρκείας 1'-2'. Ηκολούθει πλήρωσις είδικών πλαισίων έκ πλαστικού έσωτερικών διαστάσεων 19,3 X 20,5 X 0,5 cm καί τέλος ψύξις καί πήξις.

2 Λήψις καί τοποθέτησις του δείγματος

Έκαστον άτομον έλειοτριβεΐτο έντός σταγόνος άπεσταγμένου ύδατος επί ύαλίνης πλακός /τῆ βοηθεία ύαλίνης ράβδου. Τό προϊόν της λειοτριβήσεως άπερροφάτο επί τεμαχίου χάρτου Whatman No 3 διαστάσεων 0,8X0,4 cm. Μεταξύ του έκχυλίσματος του έντόμου καί του άπορροφητικού χάρτου παρενεβάλλετο έν τεμάχιον έκ λεπτοϋ χάρτου Kleenex πρός άποφυγήν προσκολλήσεως, επί του χάρτου τεμαχίων του σώματος του έντόμου. Τό πηγμα έκόπτετο καθέτως καί κατά μήκος της μεγάλης διαστάσεως τών πλαισίων, έντός δέ της τομῆς έτοποθετούντο τά έμπεποτισμένα διά του προϊόντος της λειοτριβήσεως τεμάχια χάρτου. Κατά μή-

κος εκάστης τομής ήτο δυνατή ή τοποθέτησις 25 τεμαχίων χάρτου.

3. Ήλεκτροφόρησις

Έν συνεχεία τό πλαίσιον προσηρμόζετο οριζοντίως επί ειδικής συσκευής εκ πλαστικού.

Έπί τής κάτω επιφανείας του πήγματος εγένετο διείδι - κής συσκευής συνεχής εκτόξευσις ψυχρού ύδατος, ένω επί τής άνω επιφανείας έτοποθετεΐτο στρώμα πάγου, προς άποφυγήν ύπερθερμάνσεως του πήγματος διά τής εφαρμογής ρεύματος ύψηλής τάσεως και έντάσεως. Είς τά δοχεΐα τών ήλεκτροδίων προσετί - θετο ρυθμιστικόν διάλυμα, ως γέφυραι δέ μεταξύ πήγματος και διαλύματος έχρησιμοποιοϋντο δύο τεμάχια εκ σπογγώδους πλα - στικού Wettex.

Ή εφαρμοζομένη τάσις και ή αντίστοιχος έντασις ρεύμα - τος ως και ή διάρκεια τής ήλεκτροφορήσεως, διέφερον δι'έν έ - καστον ένζυμον, αναφέρονται δέ είς τήν αντίστοιχον περιγρα - φήν τεχνικής άνιχνεύσεως αύτου.

4. Χρώσις

Μετά τό πέρας τής ήλεκτροφορήσεως άφηροϋντο τά τεμάχια του χάρτου και τό πήγμα έτέμνετο οριζοντίως είς δύο τμήματα, τή βοηθεία λεπτού σύρματος. Ή άνίχνευσις ενός εκάστου ένζύ - μου εγένετο επί τής άποκαλυπτομένης επιφανείας. Ή άποκαλυ - πτομένη επιφάνεια έφέρετο είς κατάλληλον διάλυμα χρώσεως και έν συνεχεία επωάζετο είς θερμοκρασίαν 37°C.

Δι'έν έκαστον ένζυμον έχρησιμοποιεΐτο διαφορετικόν δι - άλυμα χρώσεως, ως λεπτομερώς περιγράφεται είς τήν αντίστοι - χον τεχνικήν άνιχνεύσεως αύτου.

β. Άνίχνευσις ένζύμων

Αι χρησιμοποιηθεΐσαι τεχνικάί διά τήν άνίχνευσιν τών έν - ζύμων Est-3, Est-5, Est-7, Lap, Alph, Odh, Mdh, Adh, TO, ε -

χουν περιγραφη υπό M.Loukas et al. (1974), των ένζυμων Est-9, Hk-1, Hk-3 υπό M.Loukas and C.B. Krimbas (1975) και των ένζυμων ME, Pgm, a-GPDH υπό M.Loukas and C.B. Krimbas (1974). Νέαι τεχνικαί ανιχνεύσεως των ένζυμων AO, Xdh, Pept-1, Pept-2, Acph, ATPase, Isdh, PHI, G-6-PD, 6-PGD, Diaph-1, Diaph-2, Ald, Fum πρόκειται να δημοσιευθοϋν υπό M. Λουκαῖ.

1. Έστεράσαι

Έχρησιμοποιήθησαν τά εξής ρυθμιστικά διαλύματα:

(Ashton and Braden, 1961).

I. 0,05 M TRIS (ϋδροξυμεθυλοαμινομεθάνιο) + 0,007 M κιτρικόν όξύ. pH : 8,6

II. 0,76 M Βορικόν όξύ + 0,20 M LiOH pH: 8,2

III. 0,017 M Na₂HPO₄ + 0,049 M KH₂PO₄ pH: 6,4

IV. 0,023 M κιτρικόν όξύ + 0,06 M Na₂HPO₄ pH: 5,2

Διά την παρασκευήν τοϋ πήγματος έχρησιμοποιήθησαν 9 μέρη εκ τοϋ διαλύματος I και 1 μέρος εκ τοϋ διαλύματος II.

Διά την πλήρωσιν των δοχείων των ήλεκτροδίων έχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος εκ τοϋ διαλύματος II και 3 μέρη άπεσταγμένου ϋδατος.

Η διάρκεια της ήλεκτροφορήσεως ήτο 2 ώραι.

Η εφαρμοσθεΐσα τάσις εκυμαΐνετο μεταξύ 500-600 Volts ή δέ αντίστοιχος έντασις άνήρχετο είς 180-200 mA.

1α. Est 3

Τό ένζυμον Est-3 έμελετήθη είς τό στάδιον της νύμφης.

Διάλυμα χρώσεως: είς 100 ml διαλύματος III προσετίθεντο 30 mgr a-naphthyl-acetate, 30 mgr β-naphthyl-acetate, τρεΐς σταγόνες διαλύματος MgCl₂ και MnCl₂ (10%) άντιστοιχως και 50 mgr χρωστικῆς Fast Blue BB salt.

Η διάρκεια επώσεως ήτο 1 ώρα.

Παρατήρησις

Διά τήν ανίχνευσιν τῆς Est-9 εἶναι ἀπαραίτητος ἡ παρουσία ἀμφοτέρων τῶν ὑποστρωμάτων, α-naphthyl-acetate καί 1-leucine-β-naphthylamide εἰς τό διάλυμα χρώσεως. Τοῦτο πιθανῶς νά ὀφείλεται εἰς τήν ὑδρόλυσιν τῶν δύο ὑποστρωμάτων καί τόν σχηματισμόν μακρᾶς ἀλύσεως ἑστερικοῦ ὑποστρώματος προσομοιάζοντος περισσότερον πρὸς τό φυσικόν τοιοῦτον (Loukas and Krimbas, 1975).

2. Ἀφυδρογονάση τῆς ὀκτανόλης (Odh)

Ἐχρησιμοποιήθησαν τὰ ἑξῆς ρυθμιστικά διαλύματα:

- I. 0,076 M TRIS + 0,005 M κιντρικόν ὀξύ pH: 8,7
 II. 0,3 M Βορικόν ὀξύ + 0,062 M NaOH pH: 8,4

Διά τήν παρασκευήν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθη τό διάλυμα I καί διά τήν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων τό διάλυμα II.

Τό ἔνζυμον Odh ἐμελετήθη εἰς τό στάδιον τοῦ ἀκμαίου.

Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 1 ὥρα καί 30'.

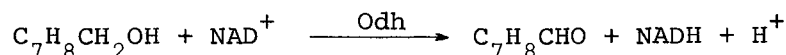
Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 400 Volts, ἡ δέ ἀντίστοιχος ἔντασις ἦτο 120 mA.

Διάλυμα χρώσεως: εἰς 100 ml διαλύματος 0,1M TRIS-HCl pH:8,5 προσετίθετο 3 ml ὀκτανόλης, 20 mgr NAD, 4 mgr NBT καί 2 mgr PMS.

Ἡ χρῶσις ἐγένετο εἰς τό σκοτός.

Ἡ διάρκεια ἐπώσεως ἦτο 1 ὥρα.

Ἡ ἀντίδρασις ἐπὶ τῆς ὁποίας βασίζεται ἡ ανίχνευσις τοῦ ἀνωτέρω ἀναφερθέντος ἐνζύμου εἶναι ἡ ἀκόλουθος:



Παρατήρησις: 1. Ἐνζυμα ἀνάγοντα τὰ πυριδινο-νουκλεοτίδια ἀνιχνεύονται διά τῆς μεθόδου τοῦ τετραζολίου. Ἡ μέθοδος περιλαμβάνει ἕναν φορέα e, τήν PMS. Τό ἀνηγμένον πυριδινο-νουκλεοτίδιον ἀνάγει τήν PMS, ἡ ὁποία ἐν συνεχείᾳ ἀνάγει τό

NBT. Τό τελευταῖον καθιζάνει ὡς φορμαζάνη εἰς τήν περιοχὴν δράσεως τοῦ ἐνζύμου προσδίδον ἔντονον κυανοῦν χρωματισμόν.

2. Μετά τοῦ ἐνζύμου Odh ἀνιχνεύεται καί τό ἐνζυμον Tetrazolium oxidase (TO) ὡς λευκή ζώνη εἰς κυανοῦν περιβάλλον.

3 Ὁξειδάση τῆς ἀλδεΐδης (AO)

Ἐχρησιμοποιήθη τό ρυθμιστικόν διάλυμα:

I. 0,25 M TRIS pH: 8,6

Διά τήν παρασκευήν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος τοῦ διαλύματος I καί 4 μέρη ἀπεσταγμένου ὕδατος.

Τό διάλυμα παρασκευῆς τοῦ πηγματος περιέχει ἐπίσης 1,5 gr EDTA.2Na/lt.

Διά τήν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων ἐχρησιμοποιήθη τό ἀνωτέρω ρυθμιστικόν διάλυμα I.

Τό ἐνζυμον AO ἐμελετήθη εἰς τό στάδιον τοῦ ἀκμαίου.

Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 2 ὥραι καί 30'.

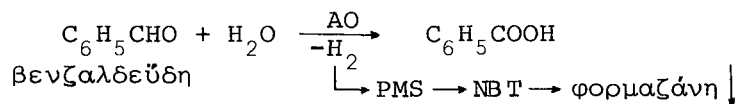
Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 400 Volts ἡ δέ ἀντίστοιχος ἔντασις ἦτο 200 mA.

Διάλυμα χρώσεως: εἰς 100 ml διαλύματος 0,1 M TRIS-HCl, pH: 8,5 προσετίθεντο: 2 ml βενζαλδεΐδης 4 mgr NBT καί 2 mgr PMS.

Ἡ χρώσις ἐγένετο εἰς τό σκότος.

Ἡ διάρκεια ἐπώασεως ἦτο 15'.

Τό ἐνζυμον AO καταλύει τήν ἀντίδρασιν.



4. Μηλικόν ἐνζυμον (ME)

Ἐχρησιμοποιήθη τό ρυθμιστικόν διάλυμα:

I. 0,1 M TRIS + 0,1 M μαλεϊκόν ὄξύ + 0,01 M EDTA.2Na +
+ 0,01 M MgCl₂ pH : 7,4

Διά τήν παρασκευήν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος

του διαλύματος I και 9 μέρη άπεσταγμένου ύδατος. Διά τήν πλήρωσιν τών δοχείων τών ήλεκτροδίων έχρησιμοποιοήθη τό διάλυμα I.

Τό ένζυμον ME έμελετήθη είς τό στάδιον του άκμαίου.

Ή διάρκεια τής ήλεκτροφορήσεως ήτο 2 ώραι και 30΄.

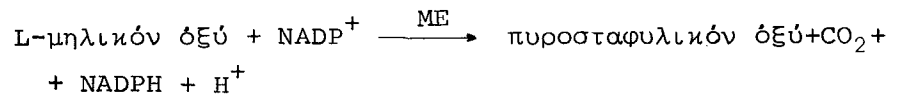
Ή εφαρμοσθεΐσα τάσις ήτο 300 Volts ή δέ αντίστοιχος έντασις 300 mA.

Διάλυμα χρώσεως: είς 100 ml διαλύματος 0,1 M TRIS- HCl , pH:8,5 προσετίθεντο 20 mgr L-μηλικού όξεός, 10 mgr NADP, 4 mgr NBT και 2 mgr PMS.

Ή χρώσις έγένητο είς τό σκότος.

Ή διάρκεια έπώάσεως ήτο 15΄.

Ή αντίδρασις επί τής όποιας βασίζεται ή άνίχνευσις του άνωτέρω ένζύμου είναι:



5. Άφυδρογονάση τής ξανθίνης (Xdh)

Έχρησιμοποιοήθη τό ρυθμιστικόν διάλυμα:

I. 0,25 M TRIS pH: 8,6

Διά τήν παρασκευήν του πήγματος έχρησιμοποιοήθησαν 1 μέρος του διαλύματος I και 4 μέρη άπεσταγμένου ύδατος.

Τό διάλυμα παρασκευής του πήγματος περιέχει επίσης 1,5 gr EDTA.2Na/lt.

Διά τήν πλήρωσιν τών δοχείων τών ήλεκτροδίων έχρησιμοποιοήθη τό διάλυμα I.

Τό ένζυμον Xdh έμελετήθη είς τό στάδιον του άκμαίου.

Ή διάρκεια τής ήλεκτροφορήσεως ήτο 2 ώραι και 30΄.

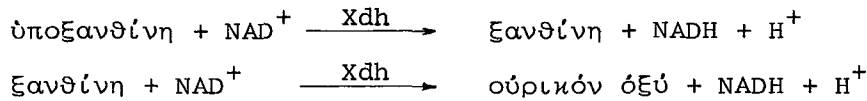
Ή εφαρμοσθεΐσα τάσις ήτο 400 Volts ή δέ αντίστοιχος έντασις 200 mA.

Διάλυμα χρώσεως: είς 100 ml διαλύματος 0,1 M TRIS-HCl, pH:7,5 προστίθεντο 50 mgr ύποξανθίνης, 20 mgr NAD, 1gr EDTA.2Na, 4 mgr NBT και 2 mgr PMS.

Ή χρώσις έγένητο είς τό σκότος.

Ἡ διάρκεια ἐπώσεως ἦτο 1 ὥρα.

Αἱ ἀντιδράσεις ἐπὶ τῶν ὁποίων βασίζεται ἡ ἀνίχνευσις τοῦ ἀνωτέρω ἐνζύμου εἶναι :



6 Πεπτιδάσαι

6α: Pept-1 καὶ Pept-2

Ἐχρησιμοποιήθη τό ρυθμιστικόν διάλυμα :

I. 0,18 M TRIS + 0,1 M βορικόν ὄξύ + 0,004 M EDTA.2Na,
pH: 8,6

Διὰ τὴν παρασκευὴν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος τοῦ διαλύματος I καὶ 3 μέρη ἀπεσταγμένου ὕδατος.

Διὰ τὴν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων ἐχρησιμοποιήθη τό διάλυμα I.

Τά ἔνζυμα Pept-1 καὶ Pept-2 ἐμελετήθησαν εἰς τό στάδιον τοῦ ἀκιμαίου. Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 3 ὥραι καὶ 30'.

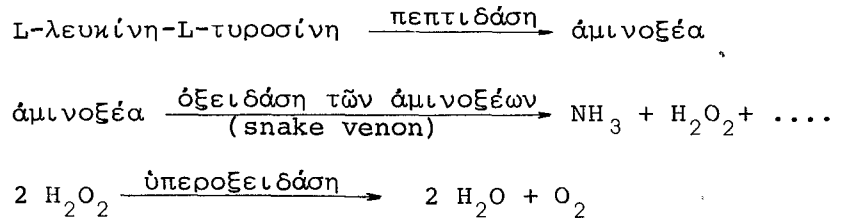
Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 300 Volts, ἡ δέ ἀντίστοιχος ἔντασις 40 mA.

Διάλυμα χρώσεως: 40 mgr Ionagar διελύοντο διὰ βρασμοῦ εἰς 10 ml διαλύματος 0,025 M Na₂HPO₄, pH : 7,6. Εἰς ἕτερα 10 ml τοῦ ὡς ἄνω διαλύματος προσετίθεντο: 4 mgr snake venom 8 mgr l-leucyl-l-tyrosine καὶ 8 mgr peroxidase. Τέλος εἰς 1,5 ml N,N-dimethyl formamide διελύοντο 15 mgr 3-amino-9 ethyl carbazole. Εὐθύς ὡς ἡ θερμοκρασία τοῦ πρώτου διαλύματος κατήρχετο εἰς τοὺς 45°C, τὰ τρία διαλύματα ἀνεμειγνύοντο καλῶς καὶ τό ὅλον διάλυμα ἐρρίπτετο ὑπεράνω τῆς ἀποκαλυπτομένης ἐπιφανείας τοῦ πηγματος. Πρὸς ἀποφυγὴν τῆς διαρροῆς, τό πῆγμα ἐκόπτετο καταλλήλως.

Μετ' ὀλίγον τό διάλυμα ἐπήγνυτο καὶ τό πῆγμα ἐφέρετο πρὸς ἐπώασιν.

Ἡ διάρκεια ἐπώασης ἦτο 20'.

Αἱ ἀντιδράσεις ἐπὶ τῶν ὁποίων βασίζεται ἡ ἀνίχνευσις τῶν ἀνωτέρω ἐνζύμων εἶναι :



Τό ἐλεύθερον O_2 ὀξειδώνει τό carbazole εἰς καστανέρυθρον προϊόν εἰς τὴν περιοχὴν δράσεως τοῦ ἐνζύμου.

Παρατήρησις

Διάφορα διπεπτίδια χρησιμοποιοῦνται διὰ τὴν ἀνίχνευσιν τῶν ἀνωτέρω πεπτιδασῶν: Παρατηρήθη δέ ὅτι ἡ Pept-1, ἐμφανίζεται περισσότερο ἐξειδικευμένη τῆς Pept-2 καὶ εἰδικώτερον διὰ διπεπτίδια περιλαμβάνοντα τό ἀμινοξύ λευκίνη.

6β. Λευκίνη ἀμινοπεπτιδάση (Lap)

Ἐχρησιμοποιήθησαν τὰ ἑξῆς ρυθμιστικὰ διαλύματα:

- | | | |
|------|--|----------|
| I. | 0,05 M TRIS + 0,007 M κιτρικόν ὄξύ | pH : 8,6 |
| II. | 0,76 M βορικόν ὄξύ + 0,20 M LiOH | pH : 8,2 |
| III. | 0,023 M κιτρικόν ὄξύ + 0,053 M Na_2HPO_4 | pH : 5,2 |

Διὰ τὴν παρασκευὴν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθησαν 9 μέρη τοῦ διαλύματος I καὶ 1 μέρος τοῦ διαλύματος II.

Διὰ τὴν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων ἐχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος τοῦ διαλύματος II καὶ 3 μέρη ἀπεσταγμένου ὕδατος. Τό ἐνζυμον Lap ἐμελετήθη εἰς τό στάδιον τοῦ ἀμμάου.

Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 2 ὥραι.

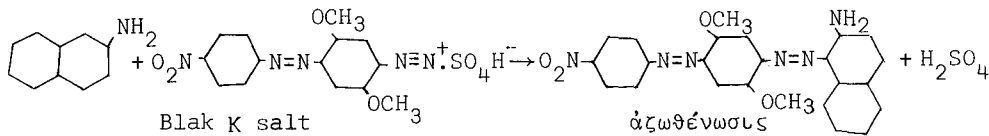
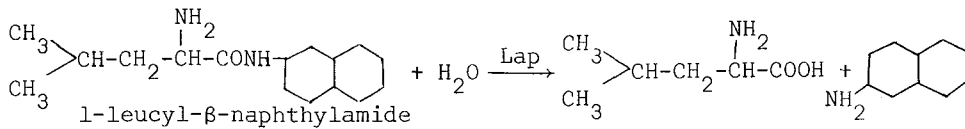
Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἐκυμαίνεται μεταξύ 500-600 Volts ἢ δέ ἀντίστοιχος ἔντασις ἀνήρχετο εἰς 180-200 mA.

Διάλυμα χρώσεως: εἰς 100 ml διαλύματος III προσετίθεντο 30

mgr 1-leucine- β -naphthylamide, τρεῖς σταγόνες διαλύματος ,
 $MgCl_2$ καί $MnCl_2$ (10%) ἀντιστοίχως καί 30 mgr χρωστικῆς Black
 K salt.

Ἡ διάρκεια ἐπώσεως ἦτο 30'.

Αἱ ἀντιδράσεις ἐπὶ τῶν ὁποίων βασίζεται ἡ ἀνίχνευσις τοῦ ἀ-
 νωτέρω ἐνζύμου ἔχουν ὡς ἀκολούθως:



Ἡ προκύπτουσα ἀζωθένωσις χρώματος ἐντόνου κυανοῦ καθιζάνει
 εἰς τὴν περιοχὴν δράσεως τοῦ ἐνζύμου.

7 Φωσφατάσαι

7α. Ἀλκαλική φωσφατάση (Alph)

Ἐχρησιμοποιήθησαν τὰ ἑξῆς ρυθμιστικά διαλύματα:

- I. 0,005 M κιτρικόν ὄξύ + 0,076 M TRIS + 0,005 M $MgCl_2$
 pH : 8,7
- II. 0,3 M βορικόν ὄξύ + 0,062 M NaOH
 pH : 8,4

Διὰ τὴν παρασκευὴν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποίηθη τό δι-
 ἄλυμα I καί διὰ τὴν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων τό
 διάλυμα II.

Τό ένζυμον Alph έμελετήθη είς τό στάδιον τής προνύμφης.

Ή διάρκεια τής ήλεκτροφορήσεως ήτο 1 ώρα.

Ή έφαρμοσθεΐσα τάσις ήτο 400 Volts , ή δέ αντίστοιχος έντασις ήτο 120 mA.

Διάλυμα χρώσεως: είς 100 ml διαλύματος I προσετίθεντο 40 mgr α-naphthyl-phosphate, τρεΐς σταγόνες διαλύματος $MgCl_2$ καί $MnCl_2$ (10%) καί 50 mgr χρωστικής Fast-Blue RR salt.

Ή διάρκεια έπώάσεως ήτο 1 ώρα.

7β. Ήξινη φωσφατάση (Acph)

Έχρησιμοποιήθη τό ρυθμιστικόν διάλυμα:

I. 0,135 M TRIS + 0,045 M κιτρικόν όξύ pH : 7,0

Διά τήν παρασκευήν τοϋ πήγματος έχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος τοϋ διαλύματος I καί 2,3 μέρη άπεσταγμένου ύδατος. Διά τήν πλήρωσιν τών δοχείων τών ήλεκτροδίων έχρησιμοποιήθη τό διάλυμα I.

Τό ένζυμον Acph έμελετήθη είς τό στάδιον τοϋ άκμαΐου

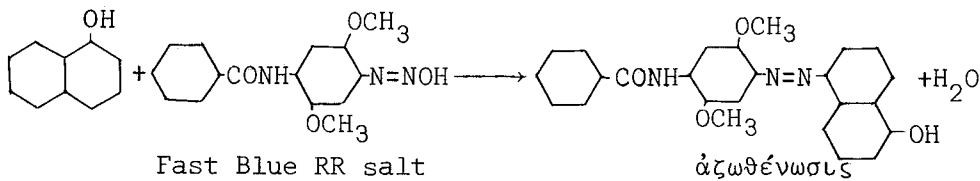
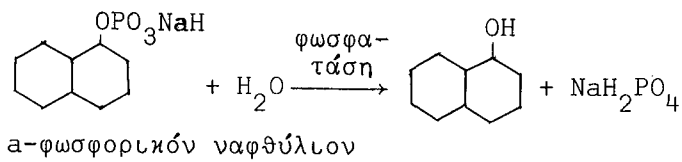
Ή διάρκεια τής ήλεκτροφορήσεως ήτο 4 ώραι.

Ή έφαρμοσθεΐσα τάσις ήτο 300 Volts, ή δέ αντίστοιχος έντασις 200 mA.

Διάλυμα χρώσεως: είς 100 ml διαλύματος 0,05 M NaOH , pH : 5 (τή προσθήκη όξεικοϋ όξέος) προσετίθεντο τά αύτά άντιδραστήρια ώς καί είς τό διάλυμα χρώσεως τοϋ ένζύμου Alph, καί έπιπροσθέτως 10 mgr χρωστικής Black K salt.

Ή διάρκεια έπώάσεως ήτο 20'.

Αί άντιδράσεις επί τών όποίων βασίζεται ή άνίχνευσις τών άνωτέρω ένζύμων έχουν ώς άκολούθως:



7γ. ATPase

Έχρησιμοποιήθη τό ρυθμιστικόν διάλυμα:

I. 0,05 M TRIS+ 0,05 M μαλεϊκόν όξύ pH : 7,4

Διά τήν παρασκευήν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος τοῦ διαλύματος I καί 4 μέρη ἀπεσταγμένου ὕδατος. Διά τήν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων ἐχρησιμοποιήθη τό διάλυμα I.

Τό ἔνζυμον ATPάση ἐμελετήθη εἰς τό στάδιον τῆς πρό - νύμφης.

Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 2 ὥραι καί 30'.

Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 250 Volts, ἡ δέ ἀντίστοιχος ἔντασις 110 mA.

Διάλυμα χρώσεως: εἰς 100 ml διαλύματος ἐκ τοῦ χρησιμοποιουμένου πρός παρασκευήν τοῦ πηγματος προσετίθεντο: 125 mgr ATP, 50 mgr $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 110 mgr $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ καί τρεῖς σταγόνες MgCl_2 , KCl καί NaCl (10%) ἀντιστοίχως. Τό πῆγμα μετά τοῦ διαλύματος ἐπιάζετο εἰς θερμοκρασίαν δωματίου καί μετά δῖωρον ἐτοποθετεῖτο εἰς διάλυμα θειούχου ἀμμωνίου (5%). Μετά παρέλευσιν 30' τό διάλυμα θειούχου ἀμμωνίου ἀφηρεῖτο, καί προσετίθετο ὕδωρ. Ἡ "ἀνάγνωσις" ἦτο δυνατή τήν ἐπομένην ἡμέραν.

8 Άφυδρογονάση του ίσοκιτρικού (Isdh)

Έχρησιμοποιήθησαν τὰ ἑξῆς ρυθμιστικά διαλύματα:

- I. 0.076 M TRIS + 0,005 M κιτρικόν ὄξύ pH : 8,7
 II. 0,687 M TRIS + 0,157 M κιτρικόν ὄξύ pH : 8,0

Διὰ τὴν παρασκευὴν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθη τὸ διάλυμα I καὶ διὰ τὴν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων τὸ διάλυμα II.

Τὸ ἔνζυμον Isdh ἐμελετήθη εἰς τὸ στάδιον τοῦ ἀκμαίου. Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 2 ὥραι καὶ 30'.

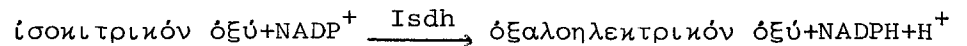
Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 250 Volts, ἡ δὲ ἀντίστοιχος ἐντάσις 150 mA.

Διάλυμα χρώσεως: εἰς 100 ml διαλύματος 0,1 M TRIS-HCl pH: 8 προσετίθεντο: 30 mgr ἰσοκιτρικὸν ὄξύ, 10 mgr NADP, 30 mgr MnCl₂, 4 mgr NBT καὶ 2 mgr PMS.

Ἡ χρῶσις ἐγένετο εἰς τὸ σκότος.

Ἡ διάρκεια ἐπώσεως ἦτο 20'.

Ἡ ἀντίδρασις ἐπὶ τῆς ὁποίας βασίζεται ἡ ἀνίχνευσις τοῦ ἀνωτέρω ἐνζύμου ἔχει ὡς ἀκολούθως:



9. Φωσφορογλυκομουτάση (Pgm)

Έχρησιμοποιήθη τὸ ρυθμιστικόν διάλυμα:

- I. 0,1 M TRIS + 0,1 M μαλεϊκόν ὄξύ + 0,01 M EDTA.2Na + 0,01 M MgCl₂
 pH : 7,4

Διὰ τὴν παρασκευὴν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος διαλύματος I καὶ 9 μέρη ἀπεσταγμένου ὕδατος.

Διὰ τὴν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων ἐχρησιμοποιήθη τὸ διάλυμα I.

Τὸ ἔνζυμον Pgm ἐμελετήθη εἰς τὸ στάδιον τοῦ ἀκμαίου.

Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 2 ὥραι καὶ 30'.

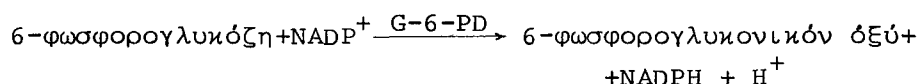
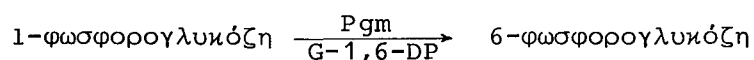
Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 300 Volts, ἡ δὲ ἀντίστοιχος ἔντασις 150 mA.

Διάλυμα χρώσεως: εἰς 100 ml διαλύματος 0,05 M TRIS-HCl pH : 8 , προσετίθεντο: 10 mgr 1-φωσφορογλυκόζης (Sigma, grade III περιέχον ἀρκετὴν διὰ τὴν ἀντίδρασιν ποσότητα 1,6-δι - φωσφορογλυκόζης) 10 mgr NADP, 40 μονάδες ἐνζύμου ἀφυδρογονάση τῆς 6-φωσφορογλυκόζης (G-6-PD), 30 mgr MgCl₂, 4 mgr NBT καὶ 2 mgr PMS.

Ἡ χρωσὶς ἐγένετο εἰς τὸ σκότος.

Ἡ διάρκεια ἐπώσεως ἦτο 45'.

Αἱ ἀντιδράσεις ἐπὶ τῶν ὀποίων βασίζεται ἡ ἀνίχνευσις τοῦ ἀνωτέρω ἐνζύμου ἔχουν ὡς ἀκολούθως:



10 Ἐξοκινάσαι (Hk - 1, Hk - 3)

Ἐχρησιμοποιήθη τὸ ρυθμιστικὸν διάλυμα:

I. 0,18 M TRIS+0,1 M βορρικόν ὄξύ+0,004M EDTA.2Na pH : 8,6

Διὰ τὴν παρασκευὴν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος διαλύματος I καὶ 3 μέρη ἀπεσταγμένου ὕδατος. Διὰ τὴν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων ἐχρησιμοποιήθη τὸ διάλυμα I.

Τὸ ἐνζυμον Hk ἐμελετήθη εἰς τὸ στάδιον τοῦ ἀκμαίου.

Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 3 ὥραι.

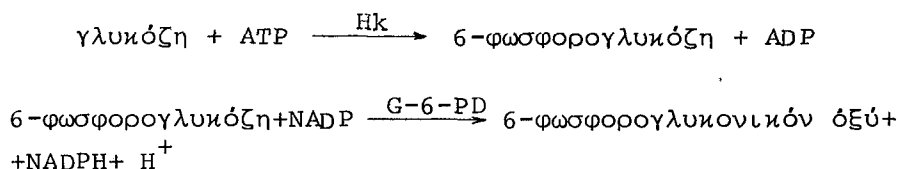
Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 300 Volts ἡ δὲ ἀντίστοιχος ἔντασις 40 mA.

Διάλυμα χρώσεως: εἰς 100 ml διαλύματος 0,1 M TRIS-HCl pH:8,5 προσετίθεντο 100 mgr D(+) - γλυκόζης, 15 mgr ATP, 10

mgr NADP, 40 μονάδες ένζυμου άφυδρογονάση τής 6-φωσφορογλυκόζης, 30 mgr MgCl₂, 4 mgr NBT και 2 mgr PMS.

Ή χρώσις έγένετο είς τό σκότος.

Αί άντιδράσεις επί τών όποιών βασίζεται ή άνίχνεισις του άνωτέρω ένζυμου έχουν ώς άκολούθως:



Ή διάρκεια έπώσεως ήτο 30'.

Σημείωσις: Διά χρησιμοποίησεως φρουκτόζης αντί γλυκόζης λαμβάνομεν βραδείαν μέν, αλλά ικανοποιητικήν άντίδρασιν. Έπομένως τό ένζυμον δέν δύναται νά χαρακτηρισθῆ ώς γλυκοκινάση.

11. Ίσομεράση τής φωσφοροεξόζης (PHI)

Έχρησιμοποιήθη τό ρυθμιστικόν διάλυμα:

I. 0,18M TRIS + 0,1 M βορικόν όξύ + 0,004 M EDTA.2Na pH:8,6

Διά τήν παρασκευήν του πήγματος έχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος διαλύματος I και 3 μέρη άπεσταγμένου ύδατος. Διά τήν πλήρωσιν τών δοχείων τών ήλεκτροδίων έχρησιμοποιήθη τό διάλυμα I.

Τό ένζυμον PHI έμελετήθη είς τό στάδιον του άκμαίου.

Ή διάρκεια τής ήλεκτροφορήσεως ήτο 2 ώραι και 30'.

Ή εφαρμοσθεΐσα τάσις ήτο 300 Volts, ή δέ άντίστοιχος έντασις 40 mA.

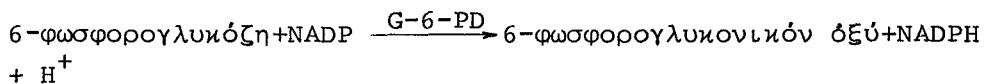
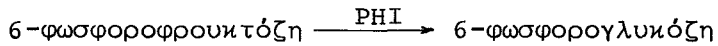
Διάλυμα χρώσεως: 40 mgr Ionagar διελύοντο διά βρασμού είς 100 mgr διαλύματος 0,1 M TRIS-HCl, pH=8. Είς έτερα 10 ml του ώς άνω διαλύματος προσετίθεντο: 20 mgr 6-φωσφοροφρουκτόζης, 10 mgr NADP, 40 μονάδες ένζυμου άφυδρογονάση τής 6-φωσφορογλυκόζης, 10 mgr MgCl₂, 4 mgr NBT και 2 mgr PMS Εύθύς ώς ή θερμοκρασία του πρώτου διαλύματος κατήρχετο είς τούς 45°C τά δύο διαλύματα άνεμειγνύοντο καλώς και τό όλον

διάλυμα έρρίπτετο υπεράνω τής άποκαλυπτομένης έπιφανείας του πήγματος. Πρός άποφυγήν διαρροής, τό πήγμα έκόπτετο καταλλήλως. Μετ' όλίγον τό διάλυμα έπήγνυτο και τό πήγμα έφέρετο προς έπώασιν.

Ή χρώσις έγένετο εις τό σκότος.

Ή διάρκεια έπώσεως ήτο 1 ώρα.

Αι άντιδράσεις επί των όποιών βασίζεται ή άνίχνευσις του άνωτέρω ένζύμου έχουν ως άκολούθως:



12. Άφυδρογονάση του α-γλυκεροφωσφορικού (α - GPDH)

Έχρησιμοποιήθη τό ρυθμιστικόν διάλυμα:

I. 0,1 M TRIS + 0,1 M μαλεϊκόν όξύ + 0,01 M EDTA.2Na +
+ 0,01 M MgCl₂ pH : 7,4

Διά τήν παρασκευήν του πήγματος έχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος διαλύματος I και 9 μέρη άπεσταγμένου ύδατος.

Διά τήν πλήρωσιν των δοχείων τής ήλεκτροδίων έχρησιμοποιήθη τό διάλυμα I.

Τό ένζυμον α-GPDH έμελετήθη εις τό στάδιον του

Τό ένζυμον α-GPDH έμελετήθη εις τό στάδιον του άκμαίου.

Ή διάρκεια τής ήλεκτροφορήσεως ήτο 2 ώραι και 30'.

Ή έφαρμοσθεΐσα τάσις ήτο 300 Volts, ή δέ άντίστοιχος έντασις 300 mA.

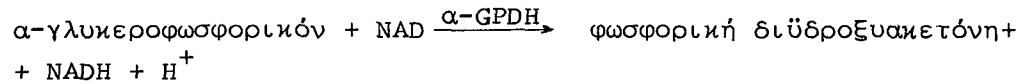
Διάλυμα χρώσεως: εις 100 ml διαλύματος 0,1 M TRIS - HCl, pH : 8,5 προσετίθεντο: 50 mgr α-glycerophosphate , 20 mgr NAD, 4 mgr NBT και 2 mgr PMS.

Ή χρώσις έγένετο εις τό σκότος.

Ή διάρκεια έπώσεως ήτο 20'.

Ή αντίδρασις επί τής όποιας βασίζεται ή άνίχνευσις του

άνωτέρω ένζυμου έχει ως ακόλουθως:



13. Άφυδρογονάση της αλκοόλης (Adh)

Έχρησιμοποιήθησαν τὰ ἑξῆς ρυθμιστικά διαλύματα:

I. 0,005 M κιτρικόν όξύ + 0,076 M TRIS + 0,005 M MgCl₂ pH:8,7

II. 0,3 M βορικόν όξύ + 0,062 M NaOH pH : 8,4

Διά τήν παρασκευήν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθη τό διάλυμα I καί διά τήν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων τό διάλυμα II.

Τό ένζυμον Adh ἐμελετήθη εἰς τό στάδιον τοῦ άκμαίου.

Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 1 ὥρα καί 30'.

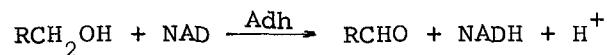
Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 400 Volts, ἡ δέ αντίστοιχος έντασις 120 mA.

Διάλυμα χρώσεως: εἰς 100 ml διαλύματος 0,1 M TRIS - HCl, pH : 8,5 προσετίθεντο: 3 ml ἰσοπροπανόλης, 20 mgr NAD 4 mgr NBT καί 2 mgr PMS.

Ἡ χρώσις ἐγένετο εἰς τό σκότος.

Ἡ διάρκεια ἐπώασεως ἦτο 15'.

Ἡ αντίδρασις ἐπί τῆς ὁποίας βασίζεται ἡ ἀνίχνευσις τοῦ άνωτέρω ένζυμου έχει ως ακόλουθως:



14. Μηλική άφυδρογονάση (Mdh)

Έχρησιμοποιήθη τό ρυθμιστικό διάλυμα:

I. 0,1 M TRIS + 0,1 M μαλεϊκόν όξύ + 0,01 M EDTA.2 Na +
+ 0,01 M MgCl₂ pH : 7,4

Διά τήν παρασκευήν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος διαλύματος I καί 9 μέρη ἀπεσταγμένου ὕδατος.

Διά τήν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων ἐχρησιμοποιήθη τό διάλυμα I.

Τό ἔνζυμον Mdh ἐμελετήθη εἰς τό στάδιον τοῦ ἀκμαίου.

Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 2 ὥραι καί 30΄.

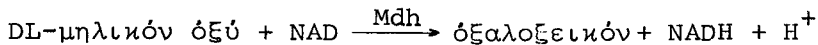
Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 300 Volts, ἡ δέ ἀντίστοιχος ἔντασις 300 mA.

Διάλυμα χρώσεως: εἰς 100 ml διαλύματος 0,1 M TRIS-HCl , pH:8,0 προσετίθεντο 30 mgr DL-μηλικόν ὄξύ, 20 mgr NAD, 4 mgr NBT καί 2 mgr PMS.

Ἡ χρώσις ἐγένετο εἰς τό σκότος.

Ἡ διάρκεια ἐπώσεως ἦτο 1 ὥρα.

Ἡ ἀντίδρασις ἐπί τῆς ὁποίας βασίζεται ἡ ἀνίχνευσις τοῦ ἀνωτέρω ἐνζύμου ἔχει ὡς ἀκολούθως:



15. Ἀφυδρογονάσις τῆς 6-φωσφορογλυκόζης (G - 6 - PD)

Ἐχρησιμοποιήθη τό ρυθμιστικόν διάλυμα:

I. 0,25 M TRIS pH : 8,6

Διά τήν παρασκευήν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος διαλύματος I καί 4 μέρη ἀπεσταγμένου ὕδατος.

Τό διάλυμα παρασκευῆς τοῦ πηγματος περιέχει 1,5 gr EDTA.2Na/lit , ὀλίγον δέ πρό τοῦ ὑπό κενόν βρασμοῦ 10 mgr NADP προσετίθεντο εἰς τό ἐναιώρημα.

Διά τήν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῆς ἠλεκτροδίων ἐχρησιμοποιήθησαν 4 μέρη διαλύματος I καί 1 μέρος ἀπεσταγμένου ὕδατος.

Τό ἔνζυμον G-6-PD ἐμελετήθη εἰς τό στάδιον τοῦ ἀκμαίου.

Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 4 ὥραι.

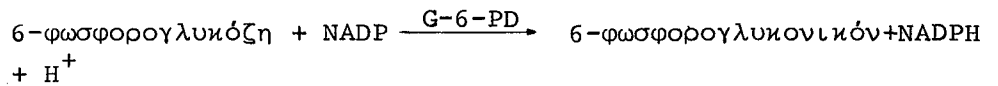
Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 200 Volts, ἡ δέ ἀντίστοιχος ἔντασις 70 mA.

Διάλυμα χρώσεως: είς 100 ml διαλύματος 0,1 M TRIS -
- HCl pH : 7,5 προσετίθεντο 25 mgr 6-φωσφορογλυκόζης, 10
mgr NADP, 4 mgr NBT καί 2 mgr PMS.

Ἡ χρώσις ἐγένετο εἰς τό σκοτός.

Ἡ διάρκεια ἐπάσεως ἦτο 45'.

Ἡ ἀντίδρασις ἐπί τῆς ὁποίας βασίζεται ἡ ἀνίχνευσις τοῦ
ἀνωτέρω ἐνζύμου ἔχει ὡς ἀκολούθως:



16. Ἀφυδρογονάση τοῦ 6 - φωσφορογλυκονικοῦ (6 - PGD)

Ἐχρησιμοποιήθη τό ρυθμιστικόν διάλυμα:

I. 0,25 M TRIS pH : 8,6

Διά τήν παρασκευήν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθησαν 1
μέρος διαλύματος I καί 4 μέρη ἀπεσταγμένου ὕδατος.

Τό διάλυμα παρασκευῆς τοῦ πηγματος περιέχει 1,5 gr
EDTA.2Na/lit . Διά τήν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων
ἐχρησιμοποιήθησαν 4 μέρη διαλύματος I καί 1 μέρος ἀπεσταγ -
μένου ὕδατος.

Τό ἐνζυμον 6-PGD ἐμελετήθη εἰς τό στάδιον τοῦ ἀκμαίου.

Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 4 ὥραι.

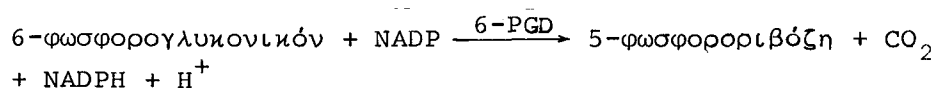
Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 200 Volts, ἡ δέ ἀντίστοιχος ἐντα-
σις 70 mA.

Διάλυμα χρώσεως: εἰς 100 ml διαλύματος 0,1 M TRIS -
- HCl, pH : 8,5 προσετίθεντο 25 mgr 6-φωσφορογλυκονικοῦ, 10
mgr NADP, 4 mgr NBT καί 2 mgr PMS.

Ἡ χρώσις ἐγένετο εἰς τό σκοτός.

Ἡ διάρκεια ἐπάσεως ἦτο 45'.

Ἡ ἀντίδρασις ἐπί τῆς ὁποίας βασίζεται ἡ ἀνίχνευσις τοῦ ἀ-
νωτέρω ἐνζύμου ἔχει ὡς ἀκολούθως:



17. Άλδολάση (Ald)

Έχρησιμοποιήθη τό ρυθμιστικόν διάλυμα:

I. 0,135 M TRIS + 0,045 M κιτρικόν όξύ pH : 7,0

Διά τήν παρασκευήν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθησαν 1 μέρος διαλύματος I καί 14 μέρη άπεσταγμένου ὕδατος.

Διά τήν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων ἐχρησιμοποιήθη τό άνωτέρω διάλυμα I.

Τό ένζυμον Ald ἐμελετήθη εἰς τό στάδιον τοῦ άκμαίου.

Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 3 ὥραι.

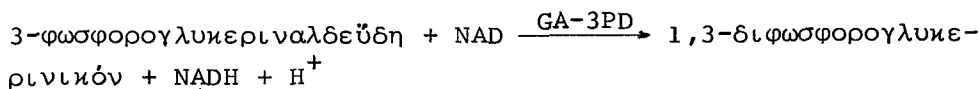
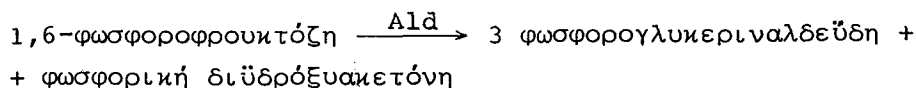
Ἡ εφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 400 Volts, ἡ δέ αντίστοιχος έντασις 20 mA.

Διάλυμα χρώσεως: εἰς 100 ml διαλύματος 0,1 M TRIS-HCl, pH : 7,1 προσετίθεντο 40 mgr 1,6-διφωσφοφρουκτόζης, 20 mgr NAD, 40 μονάδες ένζύμου άφυδρογονάση τῆς 3-φωσφορογλυκεριναλδεϋδης, 4 mgr NBT καί 2 mgr PMS.

Ἡ χρώσις ἐγένετο εἰς τό σκότος.

Ἡ διάρκεια ἐπάσεως ἦτο 1 ὥρα.

Αἱ άντιδράσεις ἐπί τῶν ὁποίων βασίζονται ἡ άνίχνευσις τοῦ άνωτέρω ένζύμου ἔχουν ὡς άκολούθως:



18. Διαφοράσαι (Diaph - 1, Diaph - 2)

Έχρησιμοποιήθησαν τά ἐξῆς ρυθμιστικά διαλύματα:

I. 0,076 M TRIS + 0,005 M κιτρικόν όξύ pH : 8,7

II. 0,3 βορικόν όξύ + 0,062 M NaOH pH : 8,4

Διά τήν παρασκευήν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθη διάλυμα I καί διά τήν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων τό διάλυμα II.

Τό ἔνζυμον Διαφοράση ἐμελετήθη εἰς τό στάδιον τοῦ ἀκμαίου.

Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 1 ὥρα καί 30'.

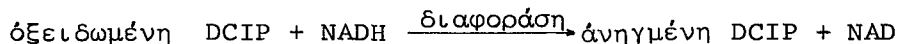
Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 200 Volts, ἡ δέ ἀντίστοιχος ἔντασις 80 mA.

Διάλυμα χρώσεως: 40 mgr Ionagar διελύοντο διά βρασμοῦ εἰς 100 ml διαλύματος 0,1 M TRIS-HCl, pH : 8. Εἰς ἕτερα 10 ml τοῦ ὡς ἄνω διαλύματος προσετίθεντο 5 mgr 2,6-dichloro - phenolindophenol (DCIP) καί 20 mgr NADH. Εὐθύς ὡς ἡ θερμοκρασία τοῦ πρώτου διαλύματος κατήρχετο εἰς τούς 45°C τά δύο διαλύματα ἀνεμιγνύοντο καλῶς καί τό ὅλον διάλυμα ἐρρίπτετο ὑπεράνω τῆς ἀποκαλυπτομένης ἐπιφανείας τοῦ πηγματος.

Πρός ἀποφυγὴν τῆς διαρροῆς, τό πηγμα ἐκόπτετο καταλλήλως. Μετ' ὀλίγον τό διάλυμα ἐπήγνυτο καί τό πηγμα ἐφέρετο πρός ἐπώασιν.

Ἡ διάρκεια ἐπώασεως ἦτο 15'.

Ἡ ἀντίδρασις ἐπὶ τῆς ὁποίας βασίζεται ἡ ἀνίχνευσις τοῦ ἀνωτέρω ἐνζύμου ἔχει ὡς ἀκολούθως:



Ἡ περιοχὴ δράσεως τοῦ ἐνζύμου φαίνεται ὡς λευκὴ ζώνη εἰς κυανοῦν περιβάλλον ἐφ' ὅσον ἡ κυανοῦ χρωματισμοῦ ὀξειδωμένη DCIP, ἀναγομένη μετατρέπεται εἰς ἄχρουν προϊόν.

19. Φουμαράση (Fum)

Ἐχρησιμοποιήθη τό ρυθμιστικόν διάλυμα:

I. 0,087 M TRIS + 0,0087 M βορικόν ὀξύ + 0,001 M EDTA.2Na
pH : 9

Διά τήν παρασκευήν τοῦ πηγματος ἐχρησιμοποιήθη τό διάλυμα I χωρίς EDTA καί διά τήν πλήρωσιν τῶν δοχείων τῶν ἠλεκτροδίων τό διάλυμα I.

Τό ἔνζυμον φουμαράση ἐμελετήθη εἰς τό στάδιον τοῦ ἀκμαίου.

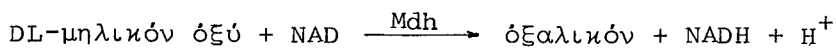
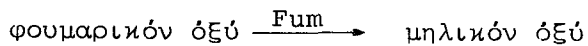
Ἡ διάρκεια τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἦτο 3 ὥραι.

Ἡ ἐφαρμοσθεῖσα τάσις ἦτο 300 Volts, ἡ δέ ἀντίστοιχος ἔντασις 80 mA.

Διάλυμα χρώσεως: εἰς 100 ml 0,1 M TRIS-HCl pH:7,5 , προσετίθεντο: 50 mgr φουμαρικόν ὄξύ, 20 mgr NAD, 4 mgr NBT 2 mgr PMS καί 50 μονάδες Mdh (malate dehydrogenase).

Ἡ διάρκεια ἐπώσεως ἦτο 1 ὥρα.

Αἱ ἀντιδράσεις ἐπὶ τῶν ὁποίων βασίζεται ἡ ἀνίχνευσις τοῦ ἀνωτέρω ἐνζύμου ἔχουν ὡς ἀκολούθως:



4. Ἀναστροφά

Ἡ μελέτη τῶν χρωματοσωμάτων ἐγένετο εἰς μικροσκοπικά παρασκευάσματα σιαλογόνων ἀδένων εἰς τό στάδιον τῆς νύμφης. Διά τεχνικῆς ἡ ὁποία περιγράφεται κατωτέρω λεπτομερῶς παρασκευάσθησαν περίπου 14.000 μικροσκοπικά παρασκευάσματα.

Ἐμελετήθησαν περίπου 8.000 μικροσκοπικά παρασκευάσματα διά τόν προσδιορισμόν τῆς δομῆς τῶν χρωματοσωμάτων.

5. Τεχνική μικροσκοπικῶν παρασκευασμάτων

Ἐκαστον ἄτομον εἰς τό στάδιον τῆς νύμφης ἐτοποθετεῖτο ἐντός ὕδατος, ὅπου ἀφηροῦντο οἱ σιαλογόνοι ἀδένες αὐτοῦ. Ἐν συνεχείᾳ οἱ σιαλογόνοι ἀδένες μετεφέροντο δι' ὀλίγα δευτερόλεπτα ἐντός διαλύματος 3 (95% ἀλκοόλη) : 1 (60% ὄξικόν ὄξύ). Ἀκολούθως μετεφέροντο εἰς διάλυμα καρμίνης 2% εἰς 45% ὄξει-

κόν όξύ όπου άφίεντο 3' περίπου.

Τέλος μετεφέροντο διά 5' περίπου είς διάλυμα όρσεΐνης 2% είς 1 (85% γαλακτικό όξύ): 1 (όξικό όξύ).

Αί μεταφοραί αύται έλάμβανον χώραν επί άντικειμενοφόρων πλακών. Οί σιαλογόνοι άδένες εύρισκόμενοι έντός του διάλυματος της όρσεΐνης έκαλύπτοντο διά καλυπτρίδος και έπιέζοντο καταλήλως, έκλείετο δέ τό παρασκευάσμα διά παραφίνης πρός άποφυγήν δημιουργίας φουσαλίδων άέρος.

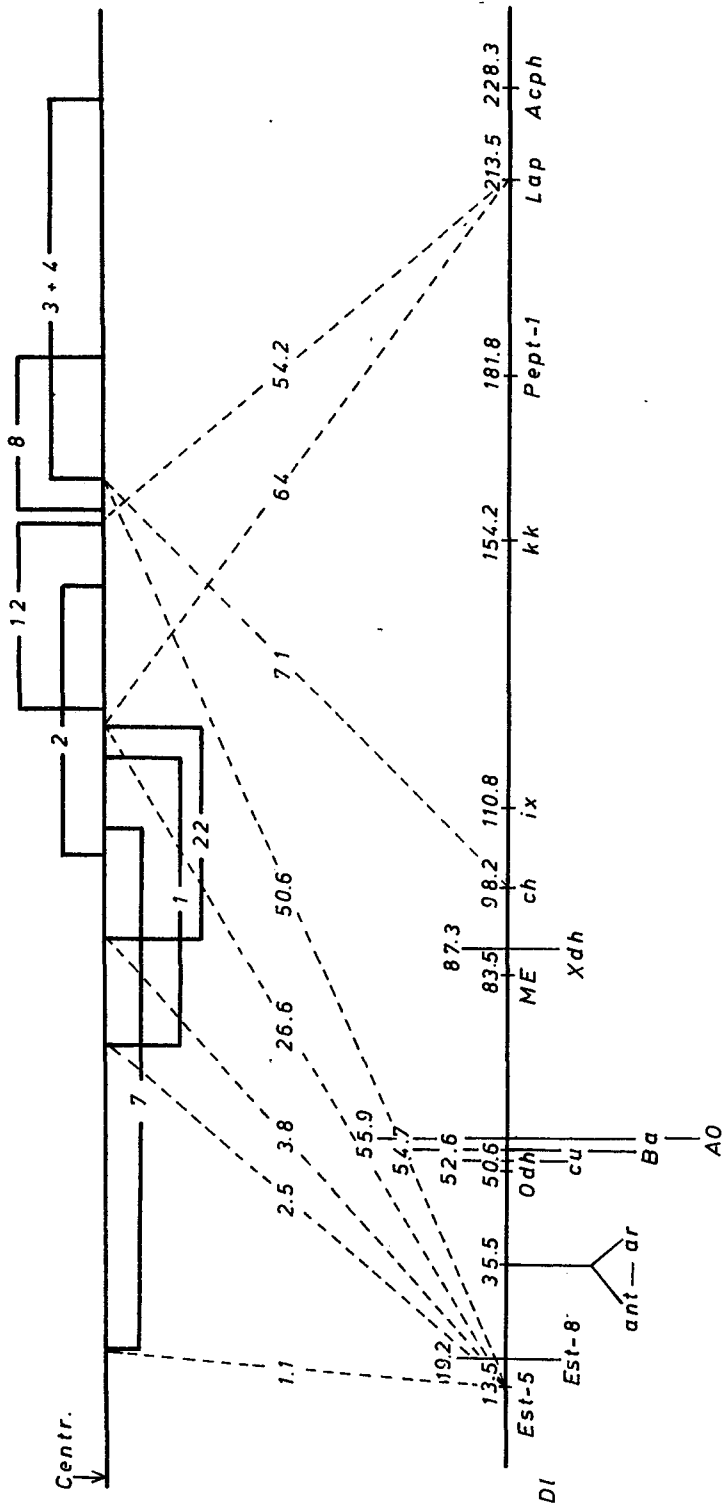
Αί άνωτέρω διεργασίαι είχον ως άποτέλεσμα τήν άπομάκρυνσιν του λίπους έκ των σιαλογόνων άδένων, τήν χρώσιν των χρωματοσωμάτων και τήν άπελευθέρωσιν των έκ της πυρηνικής μεμβράνης. Ούτω ήτο δυνατή ή άνάγνωσις των χρωματοσωματικών δομών είς μικροσκόπιον μεγεθύνσεως 900 X.

6. Χάρται

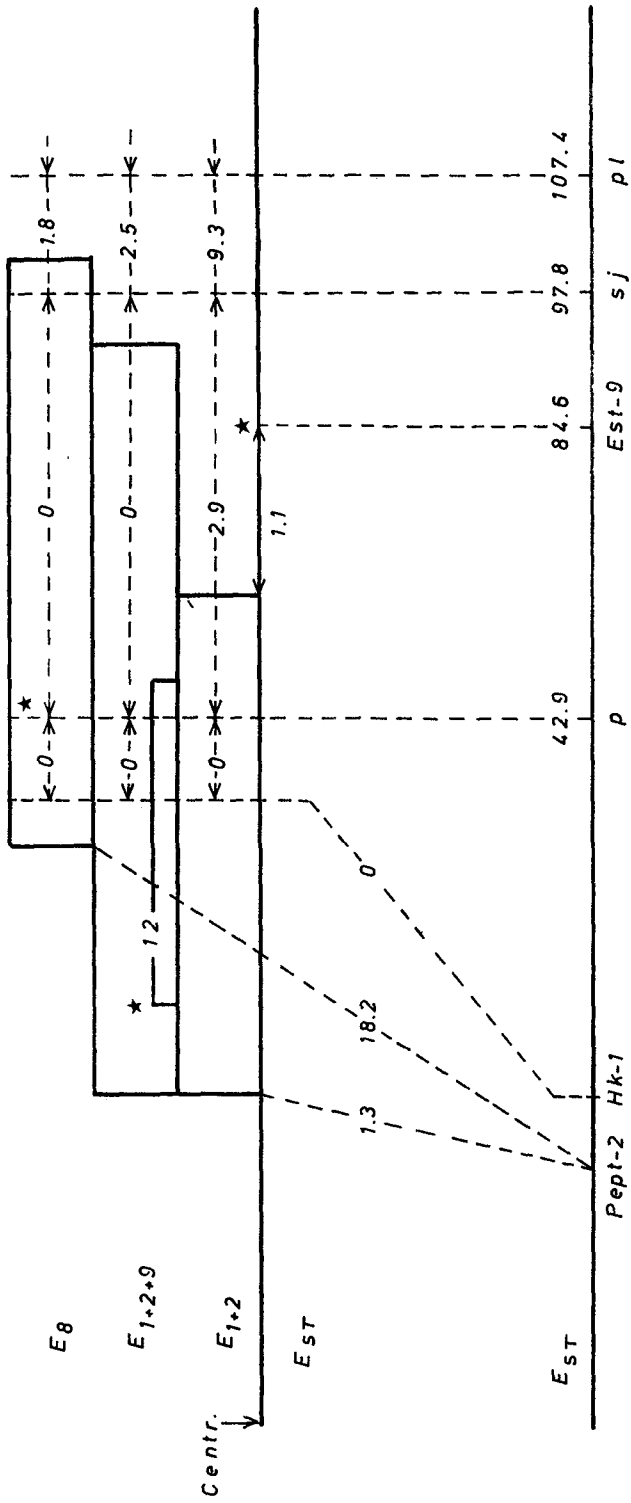
Είς τά διαγράμματα 1, 2 και 3 έμφαίνονται οί κυτταρολογικοί (Kunze-Mühl and Müller, 1958), και γενετικοί χάρται των χρωματοσωμάτων O, E και J άντιστοίχως, είς τήν D. subobscura.

Είς τούς γενετικούς χάρτας έμφαίνονται αι θέσεις των μέχρι τουδε χαρτογραφηθέντων γόνων οί όποιοι έμελετήθησαν είς τήν παρούσαν έργασίαν ως έπίσης και αι θέσεις των διαφόρων μεταλλαγών έκάστου χρωματοσώματος.

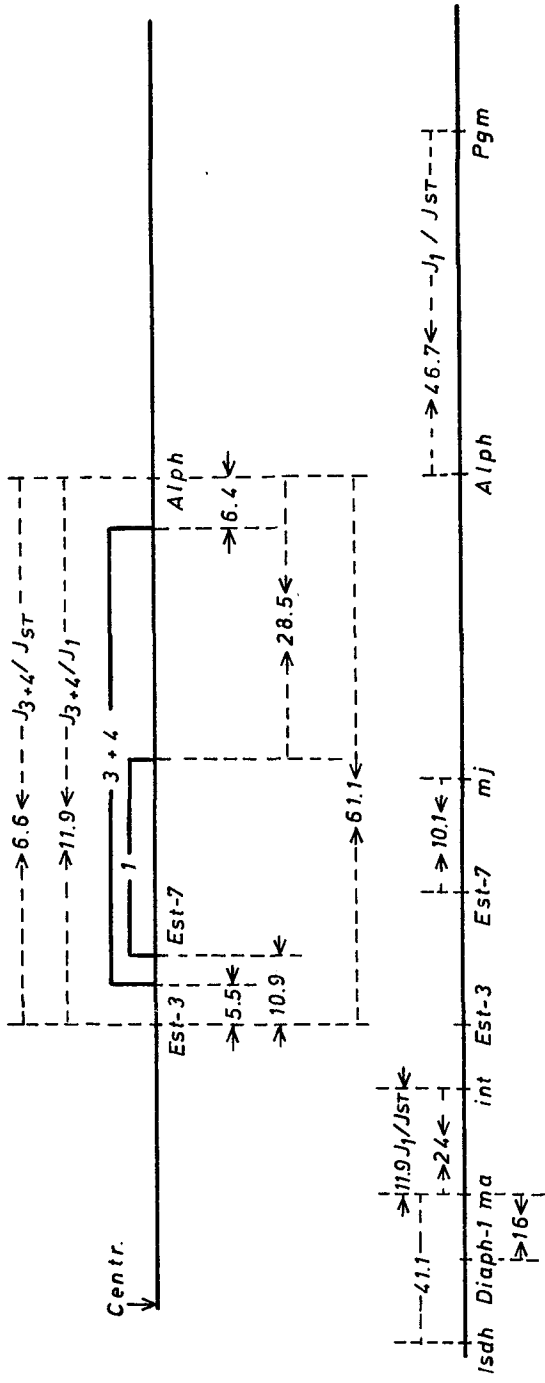
Είς τούς κυτταρολογικούς χάρτας δεικνύονται αι θέσεις των άπαντωμένων είς τούς φυσικούς πληθυσμούς της D. subobscura είς κλίμακα άντιπροσωπευτικήν του μήκους των ως έπίσης και ή θέση του κεντρομεροϋς έκάστου χρωματοσώματος.



Διάγραμμα 1. Κυτταρολογικός και γενετικός χάρτης του χρωματοσώματος 0.



Διάγραμμα 2. Κυτταρολογικός και γενετικός χάρτης του χρωματοσώματος E. (δι' άστερίσκου ένδεικνυται ή πιθανή θέση του γόνου Est-9).



Διάγραμμα 3. Κυτταρολογικός και πιθανός γενετικός χάρτης του χρωμα-
τοσώματος J.

Β' ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΝ ΜΕΡΟΣ

1. Μελετηθέντες πληθυσμοί

Διενεργήθησαν δειγματοληψίαι εἰς τέσσαρες φυσικούς πληθυσμούς τοῦ ἐντόμου D. subobscura. Ὁ εἰς πληθυσμός, εὐρίσκεται εἰς τήν κωμόπολιν Falmer ἣτις ἀπέχει 5 Km ἐκ τῆς πόλεως Brighton τῆς περιοχῆς Sussex (Ἀγγλία) ἐντός δάσους ἐκ δρυός καί πελέας. Τά εἶδη δρυός καί πελέας δέν εἶναι γνωστά ἐφ' ὅσον τό δεῖγμα ἀπεστάλη ἐξ Ἀγγλίας. Ἡ δειγματοληψία διενεργήθη κατά τό δεύτερον δεκαπενθήμερον τοῦ μηνός Αὐγούστου τοῦ ἔτους 1975.

Ὁ δεύτερος πληθυσμός εὐρίσκεται εἰς τό ὄρος Πάρνης τοῦ νομοῦ Ἀττικῆς. Ἡ δειγματοληψία διενεργήθη εἰς τοποθεσίαν εὐρισκομένην 25 Km βορείως τῆς πόλεως τῶν Ἀθηνῶν καί εἰς ὑψόμετρον 1100 m. Ἡ περιοχή αὕτη καλύπτεται κυρίως ἐξ ἐλάτης (Abies cephalonica) καί εἰς μικρότερον ποσοστόν ἐξ εἰδῶν, ἐτέρων γενῶν (Crataegus sp. καί Prunus sp.). Ἡ δειγματοληψία διενεργήθη κατά τό πρῶτον δεκαήμερον τοῦ μηνός Σεπτεμβρίου τοῦ ἔτους 1975.

Ὁ τρίτος πληθυσμός εὐρίσκεται εἰς παραθαλάσσιον τοποθεσίαν ἣτις ἀπέχει 3 Km ἐκ τῆς πόλεως Πρεβέζης τοῦ νομοῦ Πρεβέζης ἐντός πορτοκαλεῶνος ἐκτάσεως 500 στρεμμάτων περίξ δέ τῆς περιοχῆς αὕτης ἀνευρίσκονται ἐλαιόδενδρα καί ὀπωροκηπευτικά. Ἡ δειγματοληψία διενεργήθη κατά τό πρῶτον δεκαήμερον τοῦ μηνός Σεπτεμβρίου τοῦ ἔτους 1975.

Ὁ τέταρτος πληθυσμός εὐρίσκεται εἰς τοποθεσίαν ἣτις ἀπέχει 10 Km ἐκ τῆς πόλεως Barcelona (Ἰσπανία) ἐντός δάσους ἐκ πεύκης. Τά εἶδη πεύκης δέν εἶναι γνωστά, διότι τό δεῖγμα

ἀπεστάλη ἐξ Ἰσπανίας. Ἡ δειγματοληψία διενεργήθη κατά τὸ πρῶτον δεκαήμερον τοῦ μηνὸς Σεπτεμβρίου τοῦ ἔτους 1975.

Αἱ δειγματοληψίαι διενεργήθησαν τῇ βοηθείᾳ παγίδων καὶ ἀπόχης. Κατάλληλα δοχεῖα ἐπληρώθησαν κατά τὸ 1/4 περίπου ἐκ πολτοποιηθεισῶν μπανανῶν καὶ μικρᾶς ποσότητος διαλύματος μαγιᾶς ἀρτοποιείου. Τὰ ἔντομα προσελκύοντο ὑπὸ τῆς παγίδος λόγῳ τῆς ἐντόνου ὀσμῆς αὐτῆς, συνελαμβάνοντο τῇ βοηθείᾳ ἀπόχης καὶ μετεφέροντο ἐν συνεχείᾳ ἐντὸς καταλλήλων ὑαλίνων σωλῆνων.

Ἐκαστὸν δείγμα ἐκ τῶν τεσσάρων πληθυσμῶν προήρχετο ἐξ ἑνὸς μόνου δένδρου ἐκάστης περιοχῆς ἐκ παγίδος τοποθετηθείσης πλησίον τοῦ κορμοῦ τοῦ δένδρου τούτου. Τὸ μέγεθος ἐκάστου δείγματος ἐκφράζεται εἰς τὸν Πίνακα I διὰ τοῦ N.

2. Ἐκτροφή τῶν ἐντόμων

Τὸ ἐπόμενον στάδιον ἦτο ὁ διαχωρισμὸς τῶν ἀτόμων τῆς Drosophila subobscura ἐξ ἑτέρων τυχόν συλλεγέντων ἀτόμων καθὼς ἐπίσης καὶ ὁ διαχωρισμὸς τῶν ἀρρένων ἐκ τῶν θηλέων ἀτόμων.

Ἡ ἐκτροφή τῶν ἐντόμων γίνεται ἐντὸς ὑαλίνων σωλῆνων, (διαμέτρου 2,80 cm καὶ ὕψους 10 cm) πληρουμένων μερικῶς διὰ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος.

Τὸ θρεπτικὸν ὑπόστρωμα ἀποτελεῖται ἐξ ὕδατος 72%, ἄγαρ 1,0%, ἀλεύρου ἐξ ἀραβοσίτου 8%, τοματοπολτοῦ 8%, μαγιᾶς ἀρτοποιείου 0,6%, σακχάρως 10% καὶ νιπαγίνης 0,4%. Κατόπιν βρασμοῦ ἢ πυκνόρρευτος μᾶζα φέρεται ἐντὸς τῶν ὑαλίνων σωλῆνων ὅπου ψύχεται καὶ στερεοποιεῖται. Προηγουμένως τοποθετεῖται, τεμάχιον διηθητικοῦ χάρτου καὶ μικρὰ ποσότης μαγιᾶς ἀρτοποιείου. Τὸ θρεπτικὸν ὑπόστρωμα χρησιμεύει ἐπίσης διὰ τὴν ἐναπόθεσιν ὠν καὶ τὴν ἐν συνεχείᾳ θρέψιν τῶν προνυμφῶν καὶ ἀκμαίων.

Έν συνεχείᾳ οἱ ὑάλινοι σωλῆνες τοποθετοῦνται ἐντός θαλάμου σταθερᾶς θερμοκρασίας 19°C καί σχετικῆς ὑγρασίας 60% ὑπό συνεχῆ φωτισμόν διότι ἡ σύζευξις εἰς τό εἶδος τοῦτο λαμβάνει χώραν μόνον παρουσίᾳ φωτός.

3. Τά στελέχη ch cu καί pp, sj, pl

Διά τήν διεξαγωγήν τοῦ πειράματος ἐχρησιμοποιήθησαν δύο στελέχη τῆς D.subobscura, διατηρούμενα εἰς τό ἔργαστήριον. Τό στέλεχος ch cu εἶναι ὁμοζυγῶν διὰ τὰς ὑπολειπομένης μεταλλαγᾶς cherry (χρῶμα ὀφθαλμῶν ἀνοικτόν ἐρυθρόν ἐν σχέσει πρός τό βαθύ ἐρυθρόν τοῦ "ἀγρίου-τύπου") καί curled (πτερά συνεστραμμένα εἰς τό ἄκρον των πρός τὰ ἄνω) καθώς ἐπίσης καί δι' ὅλους τοῦς μελετηθέντας γόνους τοῦς ἐδραζομένους εἰς τό χρωματόσωμα O. Ὅσον ἀφορᾷ εἰς τήν δομήν τοῦ χρωματοσώματος O τό στέλεχος εἶναι ὁμοζυγῶν διὰ τήν ἀναστροφήν 3+4. Ὅμοίως, τό στέλεχος εἶναι ὁμοζυγῶν, δι' ὅλους τοῦς μελετηθέντας γόνους τοῦς ἐδραζομένους εἰς τὰ χρωματοσώματα E, J, U καί A, ὅλα δέ τὰ χρωματοσώματα εἶναι standard (ST) δομῆς.

Ἐνῶ ὅμως τό χρωματόσωμα O φέρει τὰς σημάσεις ch cu ἐμφανιζομένης εἰς τό φαινότυπον, τὰ ὑπόλοιπα χρωματοσώματα τοῦ στελέχους τούτου στεροῦνται σημάτων.

Τό στέλεχος pp sj pl εἶναι ὁμοζυγῶν διὰς τὰς ὑπολειπομένης μεταλλαγᾶς porry (χρῶμα ὀφθαλμῶν ἀνοικτόν-φωτεινόν ἐρυθρόν), plexus (σχηματισμός πλέγματος εἰς τήν πρώτην κατά μήκος ἐξωτερικήν νεύρωσιν καί μάλιστα εἰς τό ἄκρον ταύτης) καί six-joined (6 ταρσικά ἄρθρα συνημμένα), καθώς ἐπίσης καί δι' ὅλους τοῦς γόνους τοῦς ἐδραζομένους εἰς τό χρωματόσωμα E. Εἰδικῶς δι' ἓν σύμπλεγμα γόνων λίαν στενῶς συνδεδεμένων φέρον τήν ὀνομασίαν Est-9, τό στέλεχος εἶναι ὁμοζυγῶν διὰ τόν τύπον 35.

Ἐπίσης τό στέλεχος, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τήν δομήν τοῦ χρω-

ματοσώματος E, είναι ομοζυγωτόν διά τήν standard (ST) δομήν

Αί μεταλλάγαί pp sj pl αποτελοῦν καί τάς σημάνσεις τοῦ χρωματοσώματος E.

4. Αἱ διασταυρώσεις

Ἐκ τῶν δειγματοληψιῶν ἐχρησιμοποιήθησαν μόνον τά ἄρρενα ἄτομα τοῦ εἴδους, οὕτως ὥστε νά εἶναι δυνατή ἡ ἀπομόνωσις τῶν χρωματοσωμάτων "ἀγρίου-τύπου".

Ἡ ἀπομόνωσις αὕτη εἶναι δυνατή διά καταλλήλων διασταυρώσεων, αἵτινες περιγράφονται λεπτομερῶς κατωτέρω γνωστοῦ ὄντος ὅτι δέν συμβαίνει crossing-over εἰς τά ἄρρενα ἄτομα τῆς Drosophila.

Διά τῶν διασταυρώσεων αὐτῶν λαμβάνεται μέγας ἀριθμός πανομοιότυπων χρωματοσωμάτων ἐξ ἐνός ἀρχικοῦ "ἀγρίου-τύπου" καί οὕτω καθίσταται δυνατή ἡ μελέτη ἐκάστου χρωματοσώματος, "ἀγρίου-τύπου" ὅσον ἀφορᾷ εἰς τήν δομήν του καί διά γόνους ἐδραζομένους ἐπ' αὐτοῦ.

Αἱ διασταυρώσεις ἔλαβον χώραν εἰς δύο στάδια:

1ον στάδιον: Ἀφορᾷ εἰς τήν μελέτην τοῦ φυλετικοῦ χρωματοσώματος A καί τῶν αὐτοσωμάτων O, J καί U.

Ἐκαστον ἄρρεν συλλεγέον ἐκ τῆς φύσεως, διεσταυρώθη ἐντός ὑαλίνου σωλήνος μέ 2 παρθένα θήλεα ἐκ τοῦ στελέχους ch cu. Τό φυλετικόν χρωματόσωμα "ἀγρίου-τύπου" τοῦ ἄρρενος γονέως ἐκληρονομήθη ὀπωσδήποτε εἰς τούς θήλεις ἀπογόνους καί ὡς ἐκ τούτου ἡ μελέτη τοῦ χρωματοσώματος τούτου εἶναι δυνατή μόνον εἰς τούς θήλεις ἀπογόνους αὐτῶν τῶν διασταυρώσεων.

Ἐἴς μόνον θήλυς ἀπόγονος ἐξ ἐκάστης διασταυρώσεως ἐμελετήθη διά τήν δομήν τοῦ φυλετικοῦ χρωματοσώματος A εἰς μικροσκοπικά παρασκευάσματα σιαλογόνων ἀδένων εἰς τό στάδιον τῆς νύμφης, ὡς καί διά ἔνζυμα ἐλεγχόμενα ἐκ γόνων ἐδραζομένων εἰς τό χρωματόσωμα τοῦτο.

Ἐν μόνον ἄρρεν ἄτομον τῆς F_1 γενεᾶς ἐλήφθη ἐξ ἐκάστης καλλιεργείας καί διεσταυρώθη ἐντός ὑαλίνου σωλήνος μέ 2 παρθένα θήλεα ἐκ τοῦ στελέχους ch cu.

Τό ἄρρεν τοῦτο ἄτομον τῆς F_1 γενεᾶς ὅσον ἀφορᾷ εἰς ὅλα τὰ χρωματοσώματα αὐτοῦ, ἔφερε τό ἕν ἐκ τῶν δύο ὁμολόγων χρωματοσωμάτων "ἀγρίου-τύπου" τοῦ ἄρρενος γονέως καί ἕν χρωματόσωμα ἐκ τοῦ θήλεος γονέως τοῦ στελέχους ch cu.

Εἰς τούς ἀπογόνους τῆς δευτέρας ταύτης διασταυρώσεως ἐμελετήθη ἡ δομή τῶν χρωματοσωμάτων O, J καί U, καθώς ἐπίσης καί οἱ γόνου οἱ ἐδραζόμενοι ἐπ' αὐτῶν.

Εἰς τήν F_2 γενεάν ἐλήφθησαν δύο κατηγορίαι ἀτόμων δι' ἕκαστον χρωματόσωμα κεχωρισμένως. Τά ἄτομα τῆς μιᾶς κατηγορίας ἔφερον τό ἕν χρωματόσωμα "ἀγρίου-τύπου" ἐκ τοῦ ἄρρενος γονέως καί ἕν χρωματόσωμα ἐκ τοῦ θήλεος γονέως τοῦ στελέχους ch cu. Τά ἄτομα τῆς ἐτέρας κατηγορίας ἦσαν ὁμοζυγωτά, διὰ τό ἀντίστοιχον χρωματόσωμα τοῦ στελέχους ch cu.

Διὰ τήν μελέτην τῆς δομῆς τῶν χρωματοσωμάτων ἐξ ἐκάστης καλλιεργείας ἀνεγνώσθησαν 8 μικροσκοπικά παρασκευάσματα σιαλογόνων ἀδένων εἰς τό στάδιον τῆς νύμφης. Ὁ ἀριθμός οὗτος θεωρεῖται στατιστικῶς ἀσφαλῆς διὰ τήν ἀποφυγὴν σφάλματος (πιθανότης σφάλματος $(\frac{1}{2})^8$ δι' ἕκαστον μελετώμενον χρωματόσωμα). Ἐάν μεταξὺ τῶν ὀκτώ μικροσκοπικῶν παρασκευασμάτων δέν ἀνευρίσκοντο ἑτεροζυγωτά διὰ τὰς ἀναστροφάς ἄτομα, τότε τό ἀγρίου τύπου χρωματόσωμα προσδιορίζετο ὡς ἔχον τήν δομήν 3+4 ἐνῶ τὰ ἀγρίου τύπου χρωματοσώματα U καί J ὡς ἔχοντα τήν ST δομήν.

Εἰς περίπτωσιν ἀνευρέσεως ἑτεροζυγωτῶν διὰ τὰς ἀναστροφάς ἀτόμων, ὡς ἀνωτέρω ἀνεφέρθη, δέν καθίστατο ἀναγκαία ἡ ἀνάγνωσις καί τῶν ὀκτώ μικροσκοπικῶν παρασκευασμάτων.

Ἐν συνεχείᾳ ἐμελετήθησαν τά ἄτομα τῆς F_2 γενεᾶς δι' ἕν ζυμα ἐλεγχόμενα ὑπό γόνων ἐδραζομένων εἰς τὰ χρωματοσώματα O, J καί U, ἠλεκτροφορητικῶς.

Δι'ένζυμα έλεγχόμενα υπό γόνων έδραζομένων είς τά χρωματώματα J καί U, καθώς επίσης καί δι'ένζυμα άνιχνευόμενα είς τό στάδιον τής προνύμφης ή τής νύμφης, ήλεκτροφορούντο, τούλάχιστον όκτώ άτομα έξ έκάστης καλλιεργείας. Έάν μεταξύ τών όκτώ άτόμων δέν άνευρίσκοντο έτεροζυγωτά, ό "άγρίου-τύπου" άλληλόμορφος καθορίζετο ώς ό αντίστοιχος του στελέχους. Αντιθέτως, δι'ένζυμα έλεγχόμενα υπό γόνων έδραζομένων είς τό χρωματώμα O καί άνιχνευόμενα είς τό στάδιον του άκμαίου ήλεκτροφορεΐτο έν μόνον άτομον "άγρίου-τύπου" έξ έκάστης καλλιεργείας. Προφανώς έν τών άτόμων τής F₂ γενεάς τά φέροντα τό χρωματώμα O "άγρίου-τύπου" είναι καί φαινοτυπικώς "άγρίου-τύπου" ένώ τά υπόλοιπα άτομα είναι φαινοτύπου ch cu, διότι φέρουν είς όμοζυγώτιαν τό χρωματώμα O του στελέχους ch cu καί έπομένως καί τάς δύο μεταλλαγάς.

2ον στάδιον: Αφορᾶ είς τήν μελέτην του αύτοσωματικού χρωματώματος E. Έκαστον ᾄρρεν συλλεγέν έν τής φύσεως, άφου προηγουμένως έγονιμοποίησε τά παρθένα θήλεα έν του στελέχους ch cu, διεσταυρώθη είς έτερον ύάλινον σωλήνα μέ 2 παρθένα θήλεα έν του στελέχους pp sj pl. Έκ τής F₁ γενεάς έλήφθη έν μόνον ᾄρρεν άτομον έξ έκάστης καλλιεργείας καί διεσταυρώθη είς ύάλινον σωλήνα μέ 2 παρθένα θήλεα έν του στελέχους pp sj pl. Τό ᾄρρεν τουτο άτομον έφερε έν χρωματώμα E "άγρίου-τύπου" έν του ᾄρρενος γονέως καί έν χρωματώμα έν του θήλεος γονέως του στελέχους pp sj pl.

Είς τήν F₂ γενεάν έλήφθησαν δύο κατηγορίαι άτόμων. Η μία κατηγορία έφερε τό χρωματώμα E "άγρίου-τύπου" έν του ᾄρρενος γονέως καί έν χρωματώμα έν του θήλεος γονέως pp sj pl. Τά άτομα τής έτέρας κατηγορίας ήσαν όμοζυγωτά διά τό χρωματώμα E του στελέχους pp sj pl καί έπομένως καί διά τάς μεταλλαγάς pp, sj καί pl.

Διά τήν μελέτην τής δομής τών χρωματοσωμάτων άνεγνώσθησαν καί πάλιν όκτώ παρασκευάσματα έξ έκάστης καλλιεργεί-

ας. Εάν μεταξύ των όκτώ παρασκευασμάτων δεν ανευρίσκοντο έτεροζυγωτά άτομα διά τας άναστροφάς, τότε τό "άγρίου-τύπου", χρωματόσωμα E προσδιωρίζετο ως έχον τήν Standard (ST) δομήν.

Είς περίπτωσιν άνευρέσεως έτεροζυγωτών διά τας άναστροφάς ατόμων, ως άνωτέρω άνεφέρθη, δεν καθίστατο άναγκαία ή άνάγνωσις καί των όκτώ μικροσκοπικών παρασκευασμάτων.

Διά τήν μελέτην των ένζύμων άτινα έλέγχονται υπό γόνων έδραζομένων είς τό χρωματόσωμα τουτο, ήλεκτροφορήθη μόνον έν άτομον "άγρίου-τύπου" δι'έκαστον γόνον, έφ'όσον άπαντες οι μελετηθέντες γόνοι έλέγχουν ένζυμα δυνάμενα ν'άνιχνευθοϋν είς τό στάδιον του άκμαίου.

Τά άτομα της F_2 γενεάς τά όποια φέρουν τό χρωματόσωμα E "άγρίου-τύπου" είναι καί φαινοτυπικώς "άγρίου-τύπου" καί διακρίνονται των ύπολοίπων ατόμων της F_2 γενεάς τά όποια φέρουν είς όμοζυγωτίαν τό χρωματόσωμα E του στελέχους pp sj p1 καί έπομένως καί τας τρεις μεταλλαγάς, αι όποιαί έκφράζονται είς τόν φαινότυπον.

Est-9

Έκ της μελέτης του "άγρίου-τύπου" χρωματοσώματος κατέστη δυνατός ο προσδιορισμός της δομής του, καθώς επίσης ο προσδιορισμός των άλληλομόρφων όλων των γόνων, πλην των "άλληλομόρφων" 3 καί 5 του γόνου Est-9.

Διά νά όρισθῆ πλήρως τό "άγρίου-τύπου" χρωματόσωμα διά τόν γόνον Est-9, έν άρρεν άτομον "άγρίου-τύπου" έν της F_2 γενεάς διεσταυρώθη μέ 2 παρθένα θήλεα έκ στελέχους όμοζυγωτου διά τόν τύπον 4 7 του γόνου Est-9.

Ήλεκτροφορήθησαν όκτώ άπόγονοι έξ έκάστης διασταυρώσεως. Τό ήμισυ των ατόμων άνεμένετο νά φέρη τό "άγρίου-τύπου" χρωματόσωμα.

IV ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΙΣ ΑΥΤΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟΝ ΤΗΣ ΑΝΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΟΜΟΜΕΙΞΙΑΣ

1. Αι συχνότητες τών άλληλομόρφων και ό πολυμορφισμός τών γόνων - Συχνότητες τών άναστροφών

Είς έν ποσοτόν έκ τών μελετηθέντων γόνων παρετηρήθη πολυμορφισμός. Τά άλλόζυμα, δηλαδή τά ένζυμα τών όποιών ή σύνθεσις καθορίζεται έκ τών άλληλομόρφων του ίδίου γόνου, παρουσιάζουν διάφορον κινητικότητα είς τά ήλεκτροφορήματά των. Τά είδη τών άλλοζύμων έκάστου γόνου χαρακτηρίζονται διά τών σχετικών κινητικοτήτων αύτων, τής κινητικότητος του πλέον κοινού άλλοζύμου λαμβανομένης ως μονάδος. Αι συχνότητες τών άλληλομόρφων έκάστου γόνου δι' έκαστον πληθυσμόν άναγράφονται είς τόν πίνακα I. Αι συχνότητες τών άναστροφών δι' έκαστον πληθυσμόν άναγράφονται είς τόν πίνακα II.

2. Έφαρμογή τής μεθόδου

Έλήφθησαν τυχαίως δύο ζεύγη έκ τών τεσσάρων μελετηθέντων πληθυσμών. Τό ζεύγος Sussex-Πάρνης και τό ζεύγος Πρέβεζα-Barcelona.

Δι' έκαστον ζεύγος πληθυσμών διά τήν έφαρμογήν τής μεθόδου τής όμοιογενείας τών συντελεστών όμομειξίας έχρησιμοποιήθησαν πολυμορφικοί γόνοι τών όποιών ό είς άλλλόμορφος έχει συχνότητα μικροτέραν του 95% είς άμφοτέρους τούς πληθυσμούς. Δι' έκαστον χρησιμοποιηθέντα γόνον άλλλόμορφοι μέ συχνότητα μικροτέραν του 5% συνεχωνεύθησαν είς ένα άλλλόμορφον μέ συχνότητα τό άθροισμα τών συχνοτήτων αύτων (Πίναξ III).

Είς τούς πίνακας IV και V άναγράφονται άναλυτικώς αι ύπολογισθεΐσαι ποσότητες τών \bar{p} , $\bar{p}(1-\bar{p})$, s_p^2 , F_e καθώς επίσης

ή τιμή του \bar{Fe} και του s_{Fe}^2 των ζευγών Sussex-Πάρνης και Πρέβεζα-Barcelona αντιστοίχως. Αι χρησιμοποιηθεῖσαι συχνότητες των ἀλληλομόρφων διά τόν ὑπολογισμόν τῶν ἀνωτέρω ἀναφερθέντων ποσοτήτων ἐλήφθησαν μέ πέντε δεκάδικά ψηφία.

Εἰς τούς πίνακας VI καί VII ἀναγράφονται ἀναλυτικῶς αἱ ὑπολογισθεῖσαι ποσότητες τῶν ΣFe , ΣFe^2 , s_{Fe}^2 , σ_{Fe}^2 , s_{Fe}^2/σ_{Fe}^2 , οἱ βαθμοί ἐλευθερίας εἰς ἐκάστην περίπτωσιν καί ἡ σημαντικότητα τοῦ λόγου s_{Fe}^2/σ_{Fe}^2 , δι' ἐπίπεδα σημαντικότητος 1%, 1% καί 5% τῶν ζευγῶν Sussex-Πάρνης καί Πρέβεζα-Barcelona ἀντιστοίχως. Εἰδικῶς εἰς τόν πίνακα VII ἀναγράφεται ἡ σημαντικότητα τοῦ λόγου s_{Fe}^2/σ_{Fe}^2 καί δι' ἐπίπεδον σημαντικότητος 30%. Ὁ συντελεστής ὁμομειξίας Fe ἐκάστου ἀλληλομόρφου ὑπελογίσθη ἐκ τῆς σχέσεως

$$Fe = \frac{s_p^2}{\bar{p}(1-\bar{p})} \quad (\text{βλέπε σελίδα } 24)$$

ἡ δέ θεωρητική διακύμανσις σ_{Fe}^2 ὑπελογίσθη ἐκ τῆς σχέσεως

$$\sigma_{Fe}^2 = 2\bar{Fe}^2 \quad (\text{βλέπε σελίδα } 29)$$

Ἄπαντες οἱ ὑπολογισμοί τῶν πινάκων IV, V, VI καί VII ἐγένοντο τῆ βοηθείᾳ ἡλεκτρονικοῦ ὑπολογιστοῦ.

3. Ἐφαρμογή τῆς μεθόδου εἰς τό ζεῦγος Sussex - Πάρνης

Εἰς τόν πίνακα VI ἐμελετήθη τό ἔν ζεῦγος ἐκ τῶν τεσσάρων πληθυσμῶν ἤτοι τό ζεῦγος Sussex-Πάρνης, διά τούς ἐξῆς 13 πολυμορφικούς γόνους: Lar, Pept-1, Acph, Est-5, AO, ME, Xdh, Est-7, Alph, Est-3, Pgm, Hk-1 καί Est-9.

Δι' ἅπαντας τούς ἀνωτέρω γόνους ὑπελογίσθη ἡ πειραματική διακύμανσις τῶν Fe

$$s_{Fe}^2 = 0,00792763$$

καθώς επίσης και η θεωρητική διακύμανσις αὐτῶν:

$$\sigma_{\text{Fe}}^2 = 0,00254831$$

Ἡ πιθανότης τοῦ λόγου

$$s_{\text{Fe}}^2 / \sigma_{\text{Fe}}^2 = 3,111$$

διὰ βαθμούς ἐλευθερίας $29-1-6 = 22$ εἶναι:

$$p < 0,001$$

Παρατηρήθη δηλαδή ὑψηλὴ ἑτερογένεια τοῦ λόγου $s_{\text{Fe}}^2 / \sigma_{\text{Fe}}^2$. Ὡς εἰς τὸν πίνακα VI ἐμφαίνεται ἡ ὑψηλὴ αὕτη ἑτερογένεια τοῦ λόγου παραμένει, ἐάν οὗτος ὑπολογίζεται δι' ἀφαιρέσεως ἐκάστοτε ἑνὸς γόνου, αἴρεται δέ μόνον δι' ἀφαιρέσεως τοῦ γόνου Est-9. Εἰς τὴν τελευταίαν ταύτην περίπτωσιν ἡ πειραματικὴ διακύμανσις δέν διαφέρει σημαντικῶς ἐκ τῆς θεωρητικῆς τοιαύτης μέ ἀποτέλεσμα ὁ λόγος

$$s_{\text{Fe}}^2 / \sigma_{\text{Fe}}^2 = 1,449$$

διὰ βαθμούς ἐλευθερίας $24-1-5=18$ νά ἔχη πιθανότητα

$$p > 0,05$$

Ἐκ τῶν ἀνωτέρω συνεπάγεται τὸ συμπέρασμα ὅτι πιθανῶς ὁ γόνος Est-9 εὐρίσκεται ὑπὸ τὴν δρᾶσιν τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς.

4. Ἐφαρμογὴ τῆς μεθόδου εἰς τὸ ζεῦγος Πρέβεζα - Barcelona

Εἰς τὸν πίνακα VII ἐμελετήθη τὸ ἕτερον ζεῦγος ἐκ τῶν τεσσάρων πληθυσμῶν ἤτοι τὸ ζεῦγος Πρέβεζα-Barcelona διὰ τοὺς ἐξῆς 14 πολυμορφικοὺς γόνους: Lap, Pept-1, Acph, Est-5 AO, ME, Xdh, Est-7, Alph, Est-3, Pgm, 6-PGD, Hk-1 καί Est-9. Δι' ἅπαντας τοὺς ἀνωτέρω γόνους ὑπελογίσθη ἡ πειραματικὴ διακύμανσις τῶν Fe.

$$s_{Fe}^2 = 0,00028624$$

καθώς επίσης και ή θεωρητική διακύμανσις αὐτῶν:

$$\sigma_{Fe}^2 = 0,00023746$$

Ἡ πιθανότης τοῦ λόγου

$$s_{Fe}^2 / \sigma_{Fe}^2 = 1,205$$

διὰ βαθμούς ἐλευθερίας $34-1-7 = 26$ εἶναι

$$p > 0,05$$

Παρατηρήθη δηλαδή ὁμοιογένεια τοῦ λόγου s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2 .

Ὡς εἰς τὸν πίνακα VII ἐμφαίνεται, μόνον ἡ ἀφαίρεσις τοῦ γόνου Est-9 μειώνει αἰσθητῶς τὴν τιμὴν τοῦ λόγου s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2 ἢ πιθανότης του ὅμως παραμένει $p > 0,05$.

Ἐπίσης μέ πιθανότητα $p > 0.30$ παρατηρήθη ἕτερογένεια τοῦ λόγου s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2 , ἥτις αἴρεται δι' ἀφαιρέσεως ἐκάστοτε τῶν γόνων Lap, 6-PGD καί Est-9.

Χρωματο- σώματα	Γόνου	Αλληλό- μορφου	ΣΥΧΝΟΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΩΝ (*)			
			Sussex	Πάρνης	Πρέβεζα	Barcelona
Χρωμ.Ο	Lap	1.25	0,010		0,015	0,005
		1.18	0,060		0,020	0,027
		1.11	0,060	0,069	0,084	0,107
		1.06	0,110	0,063	0,114	0,118
		1.00	0,715	0,847	0,727	0,690
		0.92	-	0,005	0,005	-
		0.86	0,045	0,016	0,025	0,048
		0.69	-	-	0,010	0,005
		N=200	N=190	N=202	N=187	
Χρωμ.Ο	Pept-1	1.60	0,035	0,053	0,015	0,011
		1.00	0,455	0,253	0,307	0,347
		0.40	0,510	0,694	0,678	0,642
			N=200	N=190	N=202	N=187
Χρωμ.Ο	Acph	2.00	0,010	-	0,005	0,005
		1.88	0,040	0,047	0,044	0,043
		1.00	0,855	0,853	0,797	0,866
		0.54	0,085	0,100	0,144	0,064
		0.25	0,010	-	0,010	0,022
		N=200	N=190	N=202	N=187	
Χρωμ.Ο	Est-5	1.25	0,030	-	0,005	-
		1.06	0,045	0,026	0,020	0,005
		1.00	0,355	0,405	0,470	0,390
		0.90	0,495	0,527	0,450	0,519
		0,86	0,075	0,021	0,045	0,069
		0.78	-	0,021	0,010	0,016
		N=200	N=190	N=202	N=187	

Χρωματο- σώματα	Γόνοι	Αλληλο- μορφου	ΣΥΧΝΟΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΩΝ			
			Sussex	Πάρνης	Πρέβεζα	Barcelona
Χρωμ.Ο	ΑΟ	1.10		0,016	0,029	0,048
		1.08	0,080	0,100	0,050	0,075
		1.05	0,225	0,237	0,198	0,139
		1.00	0,555	0,547	0,569	0,567
		0.95	0,100	0,053	0,089	0,112
		0.91	0,035	0,037	0,050	0,037
		0.82	0,005	0,010	0,015	0,022
			N=200	N=190	N=202	N=187
Χρωμ.Ο	ΜΕ	1.10	0,025	0,016	0,025	0,011
		1.00	0,905	0,947	0,906	0,930
		0.94	0,055	0,037	0,064	0,054
		0.75	0,010	-	0,005	0,005
		0.65	0,005	-	-	-
			N=200	N=190	N=202	N=187
Χρωμ.Ο	Χdh	1.08	-	0,005	0,010	0,016
		1.06	0,015	0,016	0,030	0,016
		1.04	0,130	0,142	0,134	0,085
		1.00	0,685	0,674	0,653	0,658
		0.96	0,100	0,116	0,124	0,102
		0.92	0,060	0,037	0,039	0,086
		0,86	0,010	0,010	0,010	0,037
			N=200	N=190	N=202	N=187
Χρωμ.Ο	Οdh	1.14	0,040	0,016	0,025	0,022
		1.00	0,950	0,979	0,965	0,973
		0.86	0,005	0,005	0,010	0,005
		0.58	0,005	-	-	-
			N=200	N=190	N=202	N=187

Χρωματο- σώματα	Γόννοι	Αλληλό- μορφου	ΣΥΧΝΟΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΩΝ			
			Sussex	Πάρνης	Πρέβεζα	Barcelona
Χρωμ. J	Est-7	1.04	0,050	0,058	0,050	0,043
		1.02	-	0,010	0,010	0,005
		1.00	0,950	0,932	0,940	0,952
			N=200	N=190	N=202	N=187
Χρωμ. J	Alph	1.27	-	-	0,005	0,005
		1.00	0,555	0,453	0,465	0,519
		0.73	0,440	0,547	0,530	0,476
		0,46	0,005	-	-	-
		N=200	N=190	N=202	N=187	
Χρωμ. J	Est-3	1.30	0,010	-	-	-
		1.20	0,305	0,289	0,257	0,235
		1.00	0,650	0,674	0,728	0,711
		0.90	0,035	0,037	0,015	0,048
		0.70	-	-	-	0,005
		N=200	N=190	N=202	N=187	
Χρωμ. J	Pgm	1.58	-	-	-	0,011
		1.32	0,040	0,037	0,064	0,048
		1.10	0,005	0,005	-	-
		1.00	0,930	0,921	0,926	0,920
		0.90	-	-	0,005	-
		0.71	0,025	0,037	0,005	0,016
		0.42	-	-	-	0,005
		N=200	N=190	N=202	N=187	
Χρωμ. J	Isdh	1.17	0,030	0,011	-	0,011
		1.00	0,970	0,984	0,995	0,989
		0.83	-	0,005	0,005	-
		N=200	N=190	N=202	N=187	

Χρωμα- τισώματα	Γόνοι	Αλληλό- μορφοί	ΣΥΧΝΟΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΩΝ			
			Sussex	Πάρνης	Πρέβεζα	Barcelona
Χρωμ. J	Diaph-1	1.00	1,000	1,000	1,000	0,984
		0.85	-	-	-	0,016
			N=200	N=190	N=202	N=187
Χρωμ. U	Mdh	1.35	0,005	-	0,015	0,027
		1.00	0,995	0,995	0,985	0,973
		0.65	-	0,005	-	-
		N=200	N=190	N=202	N=187	
Χρωμ. U	Adh	1.67	0,035	0,005	-	0,021
		1.00	0,965	0,995	1,000	0,979
			N=200	N=190	N=202	N=187
Χρωμ. U	α-GPDH	1.38	0,010	0,011	0,010	0,005
		1.00	0,990	0,989	0,990	0,990
		0.60	-	-	-	0,005
		N=200	N=190	N=202	N=187	
Χρωμ. A	G-6-PD	1.17		-	0,030	-
		1.07		-	0,040	0,020
		1.00		1,000	0,930	0,980
			N=100	N=100	N=100	
Χρωμ. A	6-PGD	1.56		0,010	0,010	-
		1.27		-	-	0,010
		1.00		0,960	0,930	0,910
		0.78		0,030	0,060	0,070
		0.33		-	-	0,010
			N=100	N=100	N=100	
Χρωμ. E	Hk-1	1.43	0,010	0,005	-	-
		1.27	0,425	0,400	0,341	0,419
		1.00	0,430	0,492	0,542	0,484
		0.73	0,135	0,103	0,117	0,097
		N=200	N=195	N=205	N=186	

Χρωματο- σώματα	Γόνοι	Αλληλο- μορφου	ΣΥΧΝΟΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΩΝ			
			Sussex	Πάρνης	Πρέβεζα	Barcelona
Χρωμ. Ε	Est-9	14	-	0,010	0,005	-
		15	-	-	0,005	-
		1'	0,005	-	-	-
		1'3	-	0,005	-	-
		1'4	0,010	0,092	0,073	0,049
		1'5	-	0,031	0,049	0,027
		1'7	-	0,005	-	-
		24	0,010	0,174	0,185	0,059
		25	0,020	0,118	0,088	0,210
		26	-	0,026	0,010	0,005
		26'	-	-	0,005	-
		27	0,005	0,005	-	0,005
		29	-	-	0,005	-
		2'4	-	0,005	-	-
		2'5	-	-	0,005	-
		3	0,045	0,016	0,019	0,016
		34	0,125	0,190	0,021	0,118
		34'	0,005	-	0,005	0,011
		35	0,220	0,113	0,068	0,102
		36	0,035	0,077	0,049	0,038
		36'	0,025	0,005	0,005	-
		37	0,015	0,005	0,005	0,016
		38	0,010	0,005	0,005	-
		39	-	-	0,005	-
		4	0,265	0,056	0,131	0,156
		44'	0,005	-	-	-
		45	0,025	-	0,005	0,027
		46	0,040	0,016	0,024	0,032
		46'	-	0,005	-	-
		47	0,010	0,016	0,005	0,027
		48	0,005	-	-	0,016
		49	0,010	-	-	-
		4'	0,020	-	-	0,033
		4'5	0,015	0,010	0,005	-
		5	0,075	0,010	0,015	0,033
		347	-	0,005	-	-
		1'47	-	-	0,005	-
		6'	-	-	-	0,005
		57	-	-	-	0,005
		1'6	-	-	-	0,005
247	-	-	-	0,005		
			N=200	N=195	N=205	N=186

Χρωματο- σώματα	Γόνου	Αλληλό- μορφού	ΣΥΧΝΟΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΩΝ			
			Sussex	Πάρνης	Πρέβεζα	Barcelona
Χρωμ.Ε	Pept-2	1.08		0,005		
		1.00	0,985	0,990	0,995	0,989
		0.92	0,005	-	-	0,005
		0.83	0,010	0,005	0,005	0,005
			N=200	N=195	N=205	N=186
Χρωμ.Ε	PHI	1.80	-	-	-	0,005
		1.00	1,000	1,000	1,000	0,995
			N=200	N=195	N=205	N=186
Μή τοποθετημένοι γόνου						
	Fum	1.00	1,000 N=200	1,000 N=190	1,000 N=202	1,000 N=187
	Diaph-2	1.00	1,000 N=200	1,000 N=190	1,000 N=202	1,000 N=187
	ATPase	1.00	1,000 N=200	1,000 N=190	1,000 N=202	1,000 N=187
	Ald	1.00	1,000	1,000	1,000	0,995
		0.74	- N=200	- N=190	- N=202	0,005 N=187
	TO	1.00	1,000 N=200	1,000 N=190	1,000 N=202	1,000 N=187
	Hk-3	1.00	1,000 N=200	1,000 N=190	1,000 N=202	1,000 N=187

(*) Έκ τών μελετηθέντων ένζύμων έμφανίζουν υβρίδιον ένζυμον (hybrid) τά ακόλουθα: Pept-1, Acph, AO, ME, Xdh Alph, 6-PGD, Odh, Isdh, Mdh, Adh, Pept-2, Ald, α-GPDH, G-6-PD, PHI, Diaph-1.

Χρωματο- σωματική δομή	ΣΥΧΝΟΤΗΣ ΑΝΑΣΤΡΟΦΩΝ			
	Sussex	Πάρνης	Πρόβεζα	Barcelona
O _{ST}	0,440	0,126	0,188	0,284
O ₆	-	-	0,005	-
O ₃₊₄	0,425	0,526	0,455	0,310
O ₃₊₄₊₁	-	0,137	0,168	0,037
O ₃₊₄₊₂	-	0,042	0,030	0,005
O ₃₊₄₊₂₂	-	0,111	0,109	0,021
O ₃₊₄₊₆	0,010	-	-	-
O ₃₊₄₊₇	0,005	-	0,020	0,182
O ₃₊₄₊₈	0,120	0,047	0,020	0,139
O ₃₊₄₊₁₆₊₂	-	0,011	0,005	0,005
O ₇	-	-	-	0,016
	N=200	N=190	N=202	N=187
J _{ST}	0,375	0,126	0,173	0,246
J ₁	0,625	0,869	0,817	0,754
J ₃₊₄	-	0,005	0,010	-
	N=200	N=190	N=202	N=187
U _{ST}	0,055	0,021	0,050	0,059
U ₁	0,030	-	0,005	0,011
U ₂	-	0,026	-	-
U ₁₊₂	0,875	0,406	0,346	0,492
U ₁₊₂₊₃	-	0,011	0,015	-
U ₁₊₂₊₆	0,005	0,384	0,495	0,032
U ₁₊₂₊₇	-	0,084	0,025	-
U ₁₊₂₊₈	0,035	0,068	0,064	0,406
	N=200	N=190	N=202	N=187
A _{ST}		0,500	0,460	0,480
A ₁		0,190	0,360	0,160
A ₂		0,310	0,180	0,360
		N=100	N=100	N=100
E _{ST}	0,610	0,113	0,224	0,236
E ₈	0,005	0,236	0,224	0,070
E ₁₊₂	0,360	0,072	0,054	0,194
E ₁₊₂₊₉	-	0,518	0,478	0,220
E ₁₊₂₊₉₊₁₂	0,025	0,061	0,020	0,253
E ₁₊₂₊₉₊₃	-	-	-	0,027
	N=200	N=195	N=205	N=186

Γόνοι	Αλληλο- μορφου	ΣΥΧΝΟΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΩΝ			
		Sussex	Πάρνης	Πρόβεζα	Barcelona
Lap	1	0,130	0,069	0,084	0,107
	2	0,110	0,063	0,114	0,118
	3	0,760	0,868	0,727	0,690
	4	-	-	0,075	0,085
Pept-1	1	0,455	0,253	0,307	0,347
	2	0,545	0,747	0,693	0,653
Acph	1	0,855	0,853	0,797	0,866
	2	0,145	0,147	0,144	0,064
	3	-	-	0,059	0,070
Est-5	1	0,355	0,405	0,470	0,390
	2	0,495	0,527	0,450	0,519
	3	0,150	0,068	0,080	0,090
AO	1	0,080	0,116	0,198	0,139
	2	0,225	0,237	0,569	0,567
	3	0,555	0,547	0,089	0,112
	4	0,140	0,100	0,144	0,182
ME	1	0,905	0,947	0,906	0,930
	2	0,095	0,053	0,094	0,070
x _{dh}	1	0,130	0,142	0,134	0,085
	2	0,685	0,674	0,653	0,658
	3	0,100	0,116	0,124	0,102
	4	0,085	0,068	0,079	0,155

Γόνοι	Άλληλόμορφοι	ΣΥΧΝΟΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΩΝ			
		Sussex	Πάρνης	Πρέβεζα	Barcelona
Est-7	1	0,050	0,068	0,940	0,952
	2	0,950	0,932	0,060	0,048
Alph	1	0,555	0,453	0,530	0,476
	2	0,445	0,547	0,470	0,524
Est-3	1	0,315	0,289	0,728	0,711
	2	0,685	0,711	0,272	0,288
Pgm	1	0,930	0,921	0,926	0,920
	2	0,070	0,079	0,074	0,080
6-PGD	1	-	-	0,930	0,910
	2	-	-	0,070	0,090
Hk-1	1	0,435	0,405	0,341	0,419
	2	0,435	0,492	0,542	0,484
	3	0,135	0,103	0,117	0,097
Est-9	1	0,125	0,190	0,185	0,059
	2	0,220	0,113	0,088	0,210
	3	0,265	0,056	0,219	0,118
	4	0,050	0,472	0,068	0,102
	5	0,340	0,169	0,131	0,156
	6	-	-	0,309	0,355

Γόνοι	Αλληλο- μορφού	\bar{p}	$\bar{p}(1-\bar{p})$	s_p^2	Fe
Lap	1	0,099210	0,08936738	0,00189605	0,02121634
	2	0,086580	0,07908390	0,00109699	0,01387125
	3	0,814210	0,15127208	0,00587745	0,03885349
Pept-1	1	0,353815	0,22862995	0,02047681	0,08956311
Acph	1	0,853815	0,12481495	0,00000281	0,00002250
Est-5	1	0,380130	0,23563118	0,00126303	0,00536021
	2	0,510660	0,24988636	0,00049047	0,00196278
	3	0,109210	0,09728318	0,00332765	0,03420579
AO	1	0,097895	0,08831157	0,00064046	0,00725230
	2	0,230920	0,17759595	0,00007009	0,00039468
	3	0,551185	0,24738010	0,00002911	0,00011767
	4	0,120000	0,10560000	0,00080000	0,00757576
ME	1	0,926185	0,06836635	0,00089761	0,01312939
Xdh	1	0,136055	0,11754404	0,00007333	0,00062382
	2	0,679340	0,21783716	0,00006407	0,00029412
	3	0,107895	0,09625367	0,00012466	0,00129514
	4	0,076710	0,07082558	0,00013745	0,00194066
Est-7	1	0,059210	0,05570418	0,00016965	0,00304552
Alph	1	0,503815	0,24998545	0,00523981	0,02096045
Est-3	1	0,302235	0,21088900	0,00032589	0,00154532
Pgm	1	0,925525	0,06892847	0,00004005	0,00058106
Hk-1	1	0,420065	0,24361040	0,00044611	0,00183124
	2	0,461155	0,24849107	0,00194127	0,00781222
	3	0,118780	0,10467131	0,00052618	0,00502694
Est-9	1	0,157370	0,13260468	0,00209563	0,01580362
	2	0,166410	0,13871771	0,00574378	0,04140622
	3	0,160705	0,13487890	0,02175489	0,16129204
	4	0,260905	0,19289358	0,08896184	0,46133997
	5	0,254610	0,18978375	0,01458290	0,07683958
$\bar{Fe}=0,03569528$					
$s_{Fe}^2=0,00792763$					

Γόνοι	Αλληλο- μορφοί	\bar{P}	$\bar{P}(1-\bar{P})$	s_p^2	Fe
Lap	1	0,095555	0,08642436	0,00025977	0,00300576
	2	0,115754	0,10235518	0,00000717	0,00007001
	3	0,708781	0,20641042	0,00071757	0,00347642
	4	0,079909	0,07352394	0,00006389	0,00086898
Pept-1	1	0,327262	0,22016163	0,00082674	0,00375513
Acph	1	0,831670	0,13999506	0,00239989	0,01714268
	2	0,103868	0,09307923	0,00315164	0,03385978
	3	0,064462	0,06030694	0,00005113	0,00084790
Est-5	1	0,430336	0,24514688	0,00319382	0,01302818
	2	0,484606	0,24976302	0,00232709	0,00931719
	3	0,085059	0,07782356	0,00006846	0,00087967
AO	1	0,168529	0,14012672	0,00173946	0,01241348
	2	0,568076	0,24536567	0,00000303	0,00001235
	3	0,100704	0,09056285	0,00026890	0,00296922
	4	0,162691	0,13622282	0,00073168	0,00537118
ME	1	0,918211	0,07509961	0,00030112	0,00400964
Xdh	1	0,109612	0,09759755	0,00115689	0,01185373
	2	0,655610	0,22578563	0,00000920	0,00004073
	3	0,112683	0,09998579	0,00024549	0,00245526
	4	0,117144	0,10342133	0,00287830	0,02783084
Est-7	1	0,946233	0,05087624	0,00006359	0,00124994
Alph	1	0,502819	0,24999205	0,00144545	0,00578199
Est-3	1	0,719476	0,20183013	0,00013601	0,00067387
Pgm	1	0,922764	0,07127032	0,00001774	0,00024891
6-PGD	1	0,920000	0,07360000	0,00020000	0,00271739
Hk-1	1	0,382945	0,23629807	0,00265139	0,01122053
	2	0,516688	0,24972151	0,00215391	0,00862525
	3	0,107793	0,09617370	0,00024283	0,00252491
Est-9	1	0,122253	0,10730707	0,00796651	0,07424031
	2	0,148741	0,12661722	0,00742646	0,05865283
	3	0,168896	0,14037006	0,00512402	0,03650367
	4	0,085222	0,07795889	0,00057318	0,00735230
	5	0,143811	0,12312915	0,00029298	0,00237946
	6	0,331078	0,22146532	0,00112915	0,00509855
				$\bar{F}_e=0,01089641$	
				$s_{F_e}^2=0,00028624$	

ΠΙΝΑΞ VI

Γόνοι	s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2	.999 η 1%	.990 η 1%	.950 η 5%	BE	ΣFe	$\cdot \Sigma Fe^2$	s_{Fe}^2	σ_{Fe}^2	ν
Lap	3,111	2,20	1,83	1,54	22	1,035163	0,258924	0,00792763	0,00254831	29
Pept-1	3,237	2,26	1,88	1,57	20	0,961222	0,256772	0,00884942	0,00273357	26
Acph	3,555	2,23	1,85	1,56	21	0,945600	0,250902	0,00810993	0,00228102	28
Est-5	2,990	2,23	1,85	1,56	21	1,035141	0,258924	0,00817243	0,00273346	28
AO	3,010	2,26	1,88	1,57	20	0,993634	0,257721	0,00878992	0,00292103	26
ME	2,719	2,31	1,91	1,58	19	1,019823	0,258814	0,00905051	0,00332812	25
Xdh	3,078	2,23	1,85	1,56	21	1,022034	0,258752	0,00820171	0,00266468	28
Est-7	2,651	2,31	1,91	1,58	19	1,031009	0,258918	0,00901662	0,00340154	25
Alph	3,010	2,23	1,85	1,56	21	1,032118	0,258915	0,00818035	0,00271752	28
Est-3	3,130	2,23	1,85	1,56	21	1,014203	0,258485	0,00821291	0,00262400	28
Pgm	3,000	2,23	1,85	1,56	21	1,033618	0,258922	0,00817651	0,00272542	28
Hk-1	2,993	2,23	1,85	1,56	21	1,034582	0,258924	0,00817395	0,00273051	28
Est-9	2,840	2,26	1,88	1,57	20	1,020493	0,258834	0,00875121	0,00308108	26
	1,449	2,35	1,93	1,61	18	0,278482	0,012206	0,00039019	0,00026928	24

ΠΙΝΑΞ VII

Γόνοιο	s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2	.999 ñ 1%	.990 ñ 1%	.950 ñ 5%	.700 ñ 30%	BE	ΣFe	ΣFe^2	s_{Fe}^2	σ_{Fe}^2	v
Lap	1,205	2,08	1,75	1,49	1,12	26	0,370478	0,013483	0,00028624	0,00023746	34
Pept-1	1,067	2,16	1,81	1,53	1,13	23	0,363057	0,013461	0,00031267	0,00029291	30
Acph	1,319	2,10	1,77	1,51	1,13	25	0,349580	0,013175	0,00029599	0,00022444	33
Est-5	1,519	2,13	1,79	1,52	1,13	24	0,305599	0,011872	0,00029532	0,00019436	31
AO	1,351	2,13	1,79	1,52	1,13	24	0,334840	0,013071	0,00031516	0,00023334	31
ME	1,206	2,16	1,81	1,53	1,13	23	0,345702	0,013275	0,00032039	0,00026558	30
xdh	1,287	2,10	1,77	1,51	1,13	25	0,354615	0,013326	0,00029736	0,00023095	33
Est-7	1,305	2,16	1,81	1,53	1,13	23	0,327048	0,012560	0,00031017	0,00023769	30
Alph	1,217	2,10	1,77	1,51	1,13	25	0,363446	0,013448	0,00029516	0,00024260	33
Est-3	1,211	2,10	1,77	1,51	1,13	25	0,364022	0,013449	0,00029480	0,00024336	33
Pgm	1,164	2,10	1,77	1,51	1,13	25	0,369555	0,013482	0,00029200	0,00025082	33
6-PGD	1,248	2,10	1,77	1,51	1,13	25	0,359009	0,013357	0,00029535	0,00023671	33
HK-1	1,057	2,10	1,77	1,51	1,13	25	0,293520	0,007964	0,00016729	0,00015823	33
Est-9	2,264	2,13	1,79	1,52	1,13	24	0,345390	0,013269	0,00031402	0,00024827	31
	0,784	2,23	1,85	1,56	1,14	21	0,186251	0,003113	0,00006941	0,00008849	28

V ΚΡΙΤΙΚΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Είς τήν παροῦσαν ἐργασίαν ἐχρησιμοποιήθη ἡ γεωγραφικὴ μέθοδος τῆς ὁμοιογενείας τῶν συντελεστῶν ὁμομειξίας (Lewontin and Krakauer, 1973), ὡς λεπτομερῶς ἐξετέθη εἰς τήν Εἰσαγωγήν καί τήν Μέθοδον.

Κατά τήν ἐφαρμογήν τῆς ἐν λόγῳ μεθόδου οἱ ἀλληλόμορφοι μικρᾶς συχνότητος συνεχωνεύθησαν εἰς ἓνα ἀλληλόμορφον. Ἐλήφθη πρόνοια ἡ συχνότης τούτου νά μὴν εἶναι μικροτέρα τοῦ 5% (βλ. σελ.28). Ἐπίσης πρὸς ἀποφυγὴν τοῦ Vr (βλ. σελ.30) ἡ μέθοδος ἐφηρμόσθη εἰς δύο ἀνεξάρτητα ζεύγη πληθυσμῶν.

Ἡ κατ'αὐτόν τόν τρόπον διορθωμένη μέθοδος τῆς ὁμοιογενείας τῶν συντελεστῶν ὁμομειξίας ἔχει χρησιμοποιηθῆ ὑπὸ τοῦ Γ. Ἀλτιπαρμάκη εἰς τούς φυσικούς πληθυσμούς Πάρνηθος καί Κρήτης τῆς D.subobscura. Δέν διεπιστώθη ἡ ὕπαρξις φυσικῆς ἐπιλογῆς εἰς οἷονδήποτε ἐκ τῶν μελετηθέντων γόνων. Ἄς σημειωθῆ ὅτι δέν ἐγένετο ταυτόχρονος μελέτη τῶν χρωματοσωματικῶν δομῶν, ἡ ὁποία εἶναι ἀπαραίτητος διὰ τήν ἐρμηνείαν τῶν ἀποτελεσμάτων, ὡς λεπτομερῶς θά ἐκτεθῆ κατωτέρω.

Ἐπίσης ἡ μέθοδος αὕτη ἔχει χρησιμοποιηθῆ διορθωμένη ὑπὸ τῶν Tsakas καί Krimbas (1976) εἰς τρεῖς φυσικούς πληθυσμούς τοῦ ἐντόμου Dacus oleae, ὅπου διεπιστώθη ὅτι τοῦλάχιστον εἷς γόνος εὐρίσκεται ὑπὸ τήν δρᾶσιν τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς, ὅπως ἐπίσης καί εἰς δώδεκα φυσικούς πληθυσμούς τοῦ ἰδίου ἐντόμου, ὅπου διεπιστώθη ὅτι τοῦλάχιστον δύο γόνοι εὐρίσκονται ὑπὸ τήν δρᾶσιν τῆς φυσικῆς ἐπιλογῆς. Ἡ ἐρμηνεία τῶν ἀποτελεσμάτων τούτων εἶναι ἀσαφής, διότι δέν ἐγένετο ταυτόχρονος μελέτη τῶν χρωματοσωματικῶν δομῶν (ἡ ὁποία πρὸς τὸ παρόνδέν εἶναι δυνατόν νά γίνῃ εἰς τόν Δάκιον).

Εἰς τήν παροῦσαν ἐργασίαν ἐχρησιμοποιήθη ἡ διορθωμένη μέθοδος τῆς ὁμοιογενείας τῶν συντελεστῶν ὁμομειξίας εἰς δύο ζεύγη φυσικῶν πληθυσμῶν τῆς D.subobscura:

Είς τό έν ζευγος (Sussex-Πάρνης) διεπιστώθη ότι τουλάχιστον είς γόνος (Est-9) εύρίσκειται υπό τήν δρασιν τής φυσικής επίλογής (βλ. Πίνακα VI) . Είς τό έτερον ζευγος (Πρέβεζα-Barcelona) είς ούδένα έν τών μελετηθέντων γόνων διεπιστώθη ή ύπαρξις τής φυσικής επίλογής (βλ. Πίνακα VII) .

Έκ πρώτης όψεως οδηγούμεθα είς τό συμπέρασμα ότι ο γόνος Est-9 επιλέγεται .

Η ταυτόχρονος όμως μελέτη τών χρωματοσωματικών δομών κατά τήν διεξαγωγήν τής παρούσης έργασίας, μάς επιτρέπει νά εξέτάσωμεν ένδελεχώς τά ληφθέντα άποτελέσματα, τά όποια προέκυψαν έν τής έφαρμογής τής μεθόδου τής όμοιογενείας τών συντελεστών όμοιειξίας .

Έπειδή ο γόνος Est-9 έδράζεται έντός τών άναστροφών του χρωματοσώματος E (Loukas and Krimbas, 1975), ύφίστανται δύο δυνατότητες α) ο γόνος Est-9 νά είναι ούδέτερος είς τήν δρασιν τής φυσικής επίλογής καί β) ο γόνος Est-9 νά επιλέγεται . Άναλυτικώς :

α) Είναι γενικώς παραδεικτόν ότι αι άναστροφαί επιλέγονται . Είναι δηλαδή δυνατόν τά παρατηρηθέντα άποτελέσματα νά όφείλονται είς επίλογήν τών άναστροφών του χρωματοσώματος E, αι όποϊαι έν συνεχεία συμπαρασύρουν καί τόν γόνον Est-9, έφ' όσον ή τιμή άνασυνδυασμού μεταξύ γόνων καί άναστροφής είναι ίση πρός τό μηδέν . Είς τήν περίπτωση ταύτην οι επιλεγόμενοι έντός τών άναστροφών γόνοι θά είναι διάφοροι του γόνου Est-9 . Έπομένως αι παρατηρηθεΐσαι διαφοραί είς τάς συχνότητας τών "άλληλομόρφων" του γόνου Est-9 μεταξύ τών πληθυσμών, είναι άποτέλεσμα μηχανικών αίτίων, τά όποϊα δημιουργοΐν μίαν πλασματικήν είκόνα επίλογής του έν λόγω γόνου .

β) Είναι επίσης δυνατόν ο γόνος Est-9 νά επιλέγεται .

Αι παρατηρηθεΐσαι διαφοραί είς τάς συχνότητας τών άναστροφών δύνανται τότε νά όφείλονται άποκλειστικώς είς αύτόν

τόν γόνον ή ο γόνος Est-9 νά είναι είς έκ τών έπιλεγομένων γόνων τών περικλειομένων έντός τών άναστροφών. Δύναται δηλαδή ο γόνος Est-9 νά συμβάλη είς τήν έπιλογήν τών άναστροφών.

Ός όμως έδείχθη υπό τών Loukas and Krimbas (1975) και Μ.Λουκάς (διατριβή επί Ύψηγεσία), ύφίστανται λίαν ίσχυραί ένδείξεις ότι ο έν λόγφ γόνος έπιλέγεται. Έδείχθη δηλαδή διά μεθόδου έντελώς άνεξαρτήτου πρόσ τήν παρούσαν, διά μελέτης άνισορροπίας συνδέσεως, ότι οι γόνοι Est-9, Pept-1 και Lap έπιλέγονται.

Είς τήν παρούσαν έργασίαν ο γόνος Est-9 εύρέθη νά έπιλέγεται είς τό ζευγος πληθυσμών "Sussex -Πάρνης" μέ κριτήριο πιθανότητας τό 1%. (βλέπε Πίνακα VI). Είς τό έτερον ζευγος πληθυσμών "Πρέβεζα-Barcelona" καιτοι δέν άνιχνεύθησαν στατιστικώς σημαντικά άποτελέσματα, έν τούτοις παρατηρούμεν (Πίνακα VII) ότι μόνον ή άφαίρεσις του γόνου Est-9 μειώνει αισθητώς τήν τιμήν του λόγου s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2 , ή πιθανότης του όμως παραμένει $p > 0,05$. Επίσης μέ πιθανότητα $p > 0,30$ παρατηρήθη έτερογένεια του λόγου s_{Fe}^2 / σ_{Fe}^2 , ήτις άφρεται δι' άφαιρέσεως έκάστοτε τών γόνων Lap, 6-PGD και Est-9. Μολονότι τά άποτελέσματα αυτά δέν είναι στατιστικώς σημαντικά, έν τούτοις δεικνύουν τήν ύφισταμένην τάσιν έπιλογής τών γόνων Est-9 και Lap, ήτις έπεβεβαιώθη και έκ τών άπολεσμάτων του Μ.Λουκά (Διατριβή επί Ύψηγεσία). Τό γεγονός ότι είς τήν περίπτωση ταύτην δέν άνιχνεύθησαν στατιστικώς σημαντικά άποτελέσματα, μάλλον θά πρέπει νά άναζητηθῆ είς τήν εύαισθησίαν τῆς μεθόδου. Άνεξαρτήτως όμως τῆς εύαισθησίας τῆς μεθόδου, αϋτη φαίνεται ικανοποιητική, διότι δίδει άποτελέσματα ίδίας φοράς μέ αυτά τά όποια εύρέθησαν δι' άλλων μεθόδων είς τό αυτό ύλικό.

Η χρησιμοποίησις τῆς μεθόδου πρέπει νά συνοδεύεται μέ σύγχρονον μελέτην τών άναστροφών, διότι έξασφαλίζεται κατ' αυτόν τόν τρόπον ή σημαντικώτερα περίπτωσης άποκλίσεως από τήν σταθεράν κατάστασιν (steady state).

Ἐπειδή ἡ ἐφαρμογή τῆς μεθόδου προϋποθέτει ὅτι οἱ μελετηθέντες πληθυσμοί εὐρίσκονται εἰς σταθεράν κατάστασιν, γεννᾶται τό ἐρώτημα κατά πόσον εἰς τήν φύσιν οἱ μελετηθέντες πληθυσμοί, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὰς γενετικᾶς σημάσεις, εἶναι εἰς σταθεράν κατάστασιν. Ἄν καί δέν δυνάμεθα νά δώσωμεν μίαν γενικήν ἀπάντησιν εἰς τό ἐν λόγω κρίσιμον ἐρώτημα, ἐπί τοῦ ὁποίου βασίζεται ἡ δυνατότης ἐφαρμογῆς τῆς μεθόδου, ἐν τούτοις δυνάμεθα νά σημειώσωμεν ὅτι εἶναι μᾶλλον ἀπίθανον νά ἔχωμεν μίαν τοιαύτην κατάστασιν. Οὕτω π.χ. ἐάν ὑφίσταται ἀνισορροπία συνδέσεως μεταξύ ἀναστροφῶν καί γόνων περιλειομένων ὑπ' αὐτῶν καί ἐάν αἱ ἐν λόγω ἀνισορροπίαι συνδέσεως ὀφείλωνται εἰς μηχανικά αἷτια (λόγῳ παρεμποδίσεως τῶν crossing-overs) ἐν συνδυασμῷ μέ ἱστορικά γεγονότα καί ὅχι εἰς ἐπιλογήν, ἡ ἐκτίμησίς μας ἐπί τῶν ἐπιλεγόμενων γόνων εἶναι ἐσφαλμένη, διότι εἶναι λίαν πιθανόν οἱ ἐπιλεγόμενοι καί ἐντός τῆς ἀναστροφῆς περιλαμβανόμενοι γόνοι νά εἶναι διάφοροι τῶν μελετηθέντων.

Τοῦτο εἶναι οὐσιῶδες εἰς τήν ἐφαρμογήν τῆς μεθόδου, ἐπειδή ἀναμένομεν ὅτι σταθεραί καταστάσεις πραγματοποιοῦνται (ὅσον ἀφορᾷ εἰς τοὺς μηχανισμούς παρεμποδίσεως τῶν crossing-overs ὡς αἱ ἀναστροφαί) εἰς πολύ μεγαλυτέραν χρονικήν περίοδον. Ἡ ὡς ἄνω παρατήρησις ἡ ἀφορᾶσα γόνους καί ἀναστροφάς, εἶναι δυνατόν νά γενικευθῇ καί διά συνδεδεμένους γόνους μή περιλειομένους ὑπό ἀναστροφῶν. Διά συνδεδεμένους γόνους ἀπαιτεῖται σημαντική χρονική περίοδος ἐξαρτωμένη ἐκ τῆς ἀποστάσεως αὐτῶν, ἵνα οἱ ἐν λόγω γόνοι ἐκ τῆς καταστάσεως τῆς ἀνισορροπίας συνδέσεως φθάσουν εἰς ἰσορροπίαν συνδέσεως.

Τοιαῦται ἀνισορροπίαι συνδέσεως δημιουργοῦνται εἴτε δι' ἐπιστατικῆς ἐπιλογῆς εἴτε διά γενετικῆς παρεκκλίσεως (drift). Ἀκόμη καί ἂν ὁ ἀρχικός πληθυσμός ἐκινήσῃ ἀπό ἰσορροπίαν συνδέσεως, εἶναι δυνατόν περιορισμοί εἰς τό μέγεθος τοῦ πληθυσμοῦ, διαρκούσης τῆς ἱστορικῆς αὐτοῦ διαδρομῆς, νά δημιουργήσουν τοιαῦτα γεγονότα. Ἐπειδή κατά μίαν

συντηρητικήν εκτίμησιν ὁ ἀριθμὸς τῶν γόνων ἀνά μονάδα ἀνα-
συνδυασμοῦ εἶναι περίπου 50 εἰς τὴν D.melanogaster, δυνάμε-
θα νὰ θεωρήσωμεν ὡς γόνον εἰς τὴν μέθοδον τῶν Lewontin καὶ
Kraakauer ἓν χρωματοσωματικὸν τμήμα φέρον πολλοὺς γόνους εἰς
ἀνισορροπίαν συνδέσεως.

Δι' ἑξομοιώσεων εἶναι δυνατόν νὰ ἐκτιμηθῇ θεωρητικῶς
κατὰ πόσον ἢ ὡς ἄνω περιπλοκὴ ἐπηρεάζει τ' ἀποτελέσματα τῆς
μεθόδου τῆς ὁμοιογενείας τῶν συντελεστῶν ὁμοειξίας, ὅταν
ἀναφερώμεθα εἰς οὐδετέρους γόνους.

Ἐξ ἄλλου ἡ μελέτη εἰς φυσικοὺς πληθυσμοὺς ἀνισορροπι-
ῶν συνδέσεως μεταξὺ γόνων εὐρισκομένων εἰς πολὺ μικρὰν χαρ-
τογραφικὴν ἀπόστασιν θὰ δείξῃ κατὰ πόσον διαδραματίζει ση-
μαντικὸν ρόλον ἡ γενετικὴ παρέκκλισις καὶ κατὰ πόσον οἱ φυ-
σικοὶ πληθυσμοὶ εὐρίσκονται μακρὰν τῆς σταθερᾶς καταστάσεως
Ἐάν ὄντως εὐρίσκωνται εἰς σταθερὰν κατάστασιν, ὡς πολλαὶ
ἐνδείξεις δεικνύουσιν, εἶναι δυνατόν νὰ χρησιμοποιηθῇ ἡ μέθο-
δος αὕτη, διότι παρά τὴν ἔλλειψιν εὐαισθησίας παρουσιάζει τό-
πλεονέκτημα νὰ μὴν εἶναι ἀναγκαῖα ἡ ἐξαντλητικὴ (καὶ πρακτι-
κῶς ἀδύνατος) μελέτη τῶν περιβαλλοντικῶν παραγόντων, διὰ νὰ
δοθῇ ἀπάντησις εἰς τὸ κεντρικὸν ἐρώτημα τῆς γενετικῆς πλη-
θυσμῶν, πόσοι γόνοι ἐκ τῶν πολυμορφικῶν ἐπιλέγονται.

VI ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ

Έμελετήθησαν τὰ "άγρίου-τύπου" χρωματοσώματα εἰς τέσ -
σαρας φυσικούς πληθυσμούς τῆς D. subobscura. Ἡ μελέτη ἀ-
φοροῦσε εἰς τὴν δομὴν τῶν χρωματοσωμάτων καὶ εἰς εἰκοσιεννέα
γόνους ἐδράζομένους ἐπ' αὐτῶν.

Ἐγένετο ἐφαρμογὴ τῆς γεωγραφικῆς μεθόδου τῆς ὁμοιογε -
νείας τῶν συντελεστῶν ὁμομιξίας εἰς δύο τυχαίως ληφθέντα
ζεύγη πληθυσμῶν "Sussex-Πάρνης" καὶ "Πρέβεζα-Barcelona". Ἐ-
χρησιμοποιήθησαν οἱ πολυμορφικοὶ γόνου μετ' ἀλληλόμορφους, τῶν
ὁποίων ἡ συχνότης ἐκυμαίνεται μεταξύ 5% καὶ 95%, εἰς ἀμφοτέ -
ρους τοὺς πληθυσμούς ἐκάστου ζεύγους.

Δι' ἕκαστον ἀλληλόμορφον ὑπελογίσθη ὁ συντελεστής ὁμο -
μιξίας F_e , ἐκ τῆς σχέσεως:

$$F_e = \frac{s^2}{\bar{p}(1-\bar{p})}$$

Ἡ θεωρητικὴ διακύμανσις τῶν συντελεστῶν ὁμομιξίας ὑπελογί -
σθη ὡς:

$$\sigma_{F_e}^2 = 2\bar{F}_e^2$$

Ὁ λόγος τῆς παρατηρηθείσης διακυμάνσεως τῶν συντελεστῶν ὁ -
μομιξίας πρὸς τὴν θεωρητικὴν διακύμανσιν κατανέμεται ὡς ὁ
λόγος τοῦ χ^2 πρὸς τοὺς βαθμούς ἐλευθερίας καὶ ἀποτελεῖ στα -
τιστικὸν κριτήριον, διὰ τὴν ἐλεγχθῆ ἡ ὁμοιογένεια τῶν συντε -
λεστῶν ὁμομιξίας.

Εἰς τὴν παροῦσαν ἐργασίαν παρατηρήθη ἀνομοιογένεια τῶν
συντελεστῶν ὁμομιξίας εἰς τὸ ζεῦγος "Sussex-Πάρνης" ἥτις αἵ -
ρεται δι' ἀφαιρέσεως τοῦ γόνου Est-9. Συμπεραίνομεν ὅτι πιθα -
νῶς ὁ γόνος Est-9 εὐρίσκεται ὑπὸ τὴν δρᾶσιν τῆς φυσικῆς ἐπι -

λογής. Είς τό ζευγος "Πρέβεζα-Barcelona" παρατηρήθη ομοιογένεια τῶν συντελεστῶν ὁμομιξίας.

Καίτοι τὰ ἀποτελέσματα αὐτά εἶναι στατιστικῶς σημαντικά, ἐν τούτοις ἡ γνωστή ἀνισορροπία συνδέσεως τοῦ γόνου Est-9 μέ ἀναστροφάς, δημιουργεῖ ὠρισμένα προβλήματα διά τήν ἐρμηνείαν τούτων. Ἡ πιθανωτέρα ὁμως ἐκδοχή εἶναι ὅτι ὁ σύμπλοκος γόνος Est-9 ὄντως ἐπιλέγεται.

VII SUMMARY

"Wild type" genomes have been studied in four natural populations of *D. subobscura*. The study concerned the chromosomal inversions and the alleles of 29 different loci located on these chromosomes. The homogeneity of the inbreeding coefficients has been tested using the Lewontin and Krakauer's spatial method in two pairs of populations, namely "Sussex-Parnes" and "Preveza-Barcelona". The method has been applied in such a way that only loci with the commonest allele frequencies less than 95% have been used.

An inbreeding coefficient, F_e , has been estimated for each allele as follows

$$F_e = \frac{s^2}{\bar{p}(1-\bar{p})}$$

The observed variance of the F_e 's estimations was calculated, as well as, the expected variance

$$\sigma_{F_e}^2 = 2F_e^2$$

The ratio of the observed variance, $s_{F_e}^2$, to the expected one, $\sigma_{F_e}^2$, is distributed as χ^2 over its degrees of freedom and provides the criterion to judge whether selection is responsible for the frequency differences of alleles between the two populations of each pair. In the pair of populations "Sussex-Parnes" the inbreeding coefficient showed a statistically significant heterogeneity, which disappears when the gene Est-9 was excluded from the test. Although the gene Est-9 is in strong linkage disequilibrium with the inversions of E chromosome, our findings in connection with other work strongly suggest that it is under the influence of natural selection.

VIII ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αλιπαράκης, Γ., 1975 Ἡ μέθοδος τῆς ἑτερογενείας τῶν συντελεστῶν ὁμομιξίας σέ δύο ἑλληνικούς πληθυσμούς τῆς *Drosophila subobscura*. Διατριβή ἐπί διδακτορίας.
- Ashton, G.C. and A.W.H. Branden, 1961 Serum β -globulin polymorphism in mice. *Austr. J. exp. Biol. Med. Sci.* 14: 288.
- Cavalli-Sforza, L., 1966 Population structure and human evolution. *Proc. Roy. Soc. London Ser. B.* 164:362-379.
- Crow, J.F., 1958 Some possibilities for measuring selection intensities in man *Human Biology* 30:1-13.
- Crow, J.F. and M.Kimura, 1965 Evolution in sexual and asexual populations. *The American Naturalist* 99:439-450.
- Dobzhansky, Th., 1955 A review of fundamental concepts and problems of population genetics. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology* 20:1-15.
- Falconer, D.S., 1960 *Introduction to Quantitative Genetics*. Oliver and Boyd, Edinburgh and London.
- Haldane, J.B.S., 1927 A mathematical theory of natural and artificial selection. Part V. Selection and mutation. *Proc. Cambridge Philosophical Society* 23:838-844.
- Haldane, J.B.S., 1957 The cost of natural selection. *Journal of Genetics* 55:511-524.
- Harris, H., 1966 Enzyme polymorphisms in man. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* 164:298-310.
- Hubby, J.L. and R.C. Lewontin, 1966 A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles at different loci in *D.pseudoobscura*. *Genetics* 54:577-594.
- Johnson, F.M., C.G. Kanapi, R.H. Richardson, M.R. Wheeler and W.S. Stone, 1966 An analysis of polymorphisms among isozyme loci in dark and light *D.ananasae* strains from American and Western Samoa. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 56:119-125.

- Kidd, K.K. and L.L. Cavalli-Sforza, 1974 The role of genetic drift in the differentiation of Iceland and Norwegian cattle. *Evolution* 28:381-395.
- Kimura, M. and J.F. Crow, 1964 The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49:725-738.
- Kimura, M. and T.Ohta, 1971 Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. *Nature* 229:467-469.
- King, J.L. and T.H. Jukes, 1969 Non-Darwinian evolution Random fixation of selectively neutral mutations. *Science* 164:788-798.
- Kojima, K. and K.M. Yarbrough, 1967 Frequency-dependent selection at the esterase-6 locus in D.melanogaster. *Proc. Nat.Acad.Sci.* 57:645-649.
- Krimbas, C.B., 1976 Are polymorphic genes selected? A new approach. *Epistimoniki Epetiris Γεωπονοδασολογικῆς Σχολῆς Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (ὑπό ἔκδοσιν)*.
- Krimbas, C.B. and S.Tsakas, 1971 The genetics of Dacus oleae. V. Changes of esterase polymorphisms in a natural population following insecticide control-selection or drift? *Evolution* 25:454-460.
- Kunze-Mühl, E. and E.Müller, 1958 Weitere Untersuchungen über die chromosomale Struktur and die natürlichen struktypen von D. subobscura. *Chromosoma* 9:559-570.
- Lewontin, R.C., 1964 The interaction of selection and linkage. I. General considerations. Heterotic models. *Genetics* 49:49-67.
- Lewontin, R.C., 1974 The genetic basis of evolutionary change. Columbia University Press.
- Lewontin, R.C. and J.L.Hubby, 1966 A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural popylations of D.pseudoobscura. *Genetics* 54:595-609.
- Lewontin, R.C. and K.Kojima, 1960 The evolutionary dynamics of complex polymorphisms. *Evolution* 14:458-472.

- Lewontin, R.C. and J.Krakauer, 1973 Distribution of gene frequency as a test of the theory of selective neutrality of polymorphism. *Genetics* 74:175-195.
- Lewontin, R.C. and J.Krakauer, 1975 Testing the heterogeneity of F values *Genetics* 80:397-398.
- Λουκάς, Μ., 1976 Μελέτη άνισοροπιών συνδέσεως είς φυσικούς πληθυσμούς τής *Drosophila subobscura*. Διατριβή επί ύ φηγεσία (ύπό έκδοσιν).
- Loukas, M. and C.B. Krimbas, 1974 Some methods of detection of certain enzymes in *D.subobscura*. *D.I.S.* 51:134.
- Loukas, M. and C.B. Krimbas, 1975. The genetics of *D.subobscura* populations. V. Linkage disequilibrium between esterase genes and inversions. *Genetics* 80: 331-347.
- Mckechnie, S.W., P.R. Ehrlich and R.W.White, 1975. Population Genetics of *Euphydryas* Butterflies. I. Genetic variation and the neutrality hypothesis. *Genetics* 81:571-594.
- Nei, M., and T.Maruyama, 1975 Lewontin-Krakauer test for neutral genes. *Genetics* 80:395.
- Nevo, E., 1973 Test of selection and neutrality in natural populations. *Nature* 224:573-575.
- Robertson, A., 1975a Remarks on the Lewontin-Krakauer test *Genetics* 80:396.
- Robertson, A., 1975b Gene frequency distributions as a test of selective neutrality. *Genetics* 81:775-785.
- Smithies, O., 1955 Zone electrophoresis in starch gels: Group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.* 61:629.
- Sved, J.A., T.E.Reed and W.F.Bodmer, 1967 The number of balanced polymorphisms that can be maintained in a natural population. *Genetics* 55:469-481.
- Throckmorton, L.H., 1975 The Phylogeny, Ecology, and Geography of *Drosophila*. *Handbook of Genetics* vol. 3, Ch. 17. Edited by R.C.King, Plenum Press, New York.
- Tsakas, S. and C.B. Krimbas, 1975 How many genes are selected in populations of *Dacus oleae*. *Genetics* 79:675-679.

- Tsakas, S. and C.B. Krimbas, 1976 Testing the heterogeneity of F values: a suggestion and a correction. *Genetics* (ὕπό ἔκδοσιν).
- Yarbrough, K. and K. Kojima, 1967 The mode of selection at the polymorphic esterase-6 locus in cage populations of D. melanogaster. *Genetics* 57:677-686.
- Zouros, E., C.B. Krimbas, S. Tsakas and M. Loukas, 1974 Genic versus chromosomal variation in natural populations of D. subobscura. *Genetics* 78:1223-1240.
Appendix by M. Loukas, S. Tsakas, C.B. Krimbas, E. Zouros, E. Diamantopoulou-Panopoulou and V. Alevizos, 1240-1244.
- Zouros, E., S. Tsakas and C.B. Krimbas, 1968 The genetics of Dacus oleae. II. The genetics of two adult esterases. *Genet. Res.* 12:1-9.