

**LA VARIABILITAT DE LES PROTEÏNES EN LA GENÈTICA
DE POBLACIONS I EN L'EVOLUCIÓ**

Discurs llegit en la sessió inaugural del curs
el dia 16 d'octubre de 1969 per

ANTONI PREVOSTI

Cap del Departament de Genètica de la Facultat de Ciències de Barcelona

En descobrir INGRAM⁴ que la diferència existent entre l'hemoglobina normal o hemoglobina A en l'home i la que determina la falcèmia o hemoglobina S consisteix en la substitució de l'àcid glutàmic, situat a la posició 6 de les cadenes polipeptídiques- β , per valina, posà una de les primeres bases de l'actual desenvolupament de la Genètica Molecular. Principalment les idees favorables a pensar que l'acció gènica primària és el mecanisme de síntesi de proteïnes específiques, dirigida per les seqüències d'àcids nucleics dels gens, trobaren un fort punt de suport experimental amb aquest fet. No és aquesta, però, l'única conseqüència del descobriment d'INGRAM⁴. Amb el descobriment de la substitució d'un aminoàcid que dona lloc a l'hemoglobina S i la comprovació ulterior que altres hemoglobines anormals tenen per base substitucions específiques d'aminoàcids a les mateixes cadenes o bé a les cadenes α , s'obrí el coneixement d'un aspecte nou de la variabilitat en els éssers vius. Ben aviat els descobriments fets en les hemoglobines foren reproduïts en moltes altres molècules proteiques del mateix home i de tots els éssers vius analitzats. Així, hom arribà a poder afirmar que en la base de la variabilitat genètica hi ha una variació en l'estructura primària de les proteïnes, és a dir, diferències precises en les seqüències d'aminoàcids característiques d'aquestes molècules. L'interès d'aquest descobriment no es limita a fer conèixer un nou aspecte de la variabilitat, sinó que té un significat especial. En el procés fenogenètic, o sigui en el procés que va des del gen, amb una seqüència específica de nucleòtids, fins al fenotipus individual, és a dir, les propietats biològiques, bioquímiques, fisiològiques, morfològiques o de comportament que podem observar en un individu, l'estructura primària de les proteïnes constitueix la primera etapa, ja que resulta de l'acció gènica primària. A conseqüència d'això l'estructura primària d'una proteïna és el caràcter fenotípic que més exactament reflecteix les característiques del genotipus que l'ha determinat. Aquest nivell bàsic del fenotipus, o sigui l'estructura primària de les proteïnes, no és afectat per les accions ambientals. Aquestes només tenen influència a nivells més distants del genotipus. Comencen en alguns casos amb les estructures terciària i quaternària de les proteïnes, són progressivament més importants a mesura que avancem en el procés fenogenètic, i arriben

a un màxim en els caràcters morfològics o de comportament. Per tant, com hem dit, la variabilitat en les proteïnes és la millor expressió fenotípica que hom pot obtenir de la variabilitat genètica. Per contra, la relació entre la variabilitat de les proteïnes i l'eficàcia biològica és sovint difícil d'establir amb seguretat. L'eficàcia biològica resulta principalment de la integració dels caràcters en els nivells superiors del fenotipus, i roman, per tant, allunyada de l'acció gènica primària. Atès l'interès general que té l'anàlisi de la variabilitat en les proteïnes passem, primer, a veure les característiques d'aquesta variabilitat.

CARACTERÍSTIQUES DE LA VARIABILITAT EN LES PROTEÏNES

a) Variabilitat dins l'espècie

Començant amb les hemoglobines de l'home hom veu que són moltíssimes les molècules proteïques que presenten polimorfisme genètic, o sigui que en les poblacions presenten diferents variants controlades per al·lels del mateix locus genètic, amb freqüències relativament altes. Sembla que aquestes freqüències no poden ésser explicades per un simple equilibri entre freqüència de mutació i pressió de selecció. La tècnica que hom utilitza per a detectar aquestes variants és basada en la diferent mobilitat electroforètica que presenten les proteïnes quan les substitucions d'aminoàcids determinen variacions en la càrrega elèctrica o en la forma de les molècules corresponents. Les substitucions d'aminoàcids amb la mateixa càrrega elèctrica i que no canvien la forma de la molècula en què es troben, passen desapercibudes. Interessa de fer notar, per tant, que amb aquest mètode hom pot detectar només una part de les variants realment existents i que les estimes obtingudes poden ésser molt inferiors a la realitat. Així i tot, la variabilitat trobada és molt gran. Per exemple, en el nostre laboratori hem investigat l'existència de variants detectables per electroforesi en esterases de *Drosophila subobscura*, *Neurospora crassa* i en set espècies, acceptades per la seva morfologia, del gènere de coleòpters crisomèlids, *Timarcha*. En totes hom troba polimorfisme. En aquests polimorfismes, a més, el nombre d'al·lels sol ésser elevat. Dotze al·lels han estat detectats per PRAKASH¹⁵ per a l'esterasa 5 de *Drosophila pseudoobscura*, i per les dades que actualment tenim de *Drosophila subobscura*, si més no cinc o sis al·lels deuen controlar l'esterasa homòloga en aquesta espècie.

Actualment disposem d'algunes estimes experimentals quantitatives sobre la freqüència de loci polimòrfics, basada en la separació electroforètica de variants moleculars. Les primeres dades obtingudes sobre aquest punt són les de LEWONTIN I HUBBY¹¹. Aquests autors troben investigant 18 loci de *Drosophila subobscura* elegits a l'atzar, que el 39 % són polimòrfics a l'espècie, considerada en conjunt. Les poblacions resulten, per

terme mitjà, polimòrfiques en un 30 % dels *loci*, i els individus són heterozigots en el 12 % de llurs *loci*. En *Drosophila melanogaster*, O'BRIEN I McINTYRE¹³ troben valors encara més alts: 54 % de *loci* polimòrfics per a l'espècie, i un 22'7 % de *loci* heterozigots per a l'individu. *Drosophila simulans*, per contra, sembla que presenta molta menys variabilitat genètica.

Aquestes dades indiquen que les poblacions, fins les d'espècies que morfològicament semblen tan uniformes, com les de *Drosophila*, presenten una variabilitat genètica considerable. Aquest resultat qualitativament considerat no és res nou. Per altres vies la genètica de poblacions fa temps que ja hi ha arribat. En especial, l'anàlisi de la variabilitat dels caràcters quantitius demostra la gran variabilitat existent en les poblacions de qualsevol espècie. Els experiments de selecció artificial, amb els quals fàcilment pot desplaçar-se el terme mitjà d'un caràcter quantitius en una població, fins a valors que excedeixen dels límits de la variabilitat normal, en demostren clarament l'existència. Disposar d'estimes quantitatives d'aquesta variabilitat és, doncs, cosa que constitueix un progrés important. La possibilitat, a més, d'individualitzar els *loci* que determinen aquesta variabilitat en cada cas concret, és un altre pas important de la genètica de poblacions.

Actualment, la genètica de poblacions i l'estudi dels mecanismes de l'evolució tenen plantejades una sèrie de qüestions, algunes de les quals semblen un carreró sense sortida. Són qüestions com la del llast genètic, la importància relativa que la deriva genètica i la selecció tenen en l'evolució de les poblacions, la importància de la superioritat dels heterozigots o dels coeficients de selecció variables en la conservació de la variabilitat en les poblacions, etc. La dificultat que es presenta en aquestes qüestions consisteix en el fet que hom ha desenrotllat models matemàtics basats en els coneixements actuals, en alguns punts bastant incomplets, i partint d'algunes suposicions que no s'ajusten gaire a la realitat. Potser les discussions sobre el llast genètic són l'exemple més típic d'aquesta situació. D'acord amb la teoria del llast genètic, hom arriba a la conclusió que les poblacions no poden sostenir gaires polimorfismes segregacionals, és a dir, dependents de superioritat dels heterozigots. KIMURA I CROW⁶ conclouen, en aquest sentit, que gaires polimorfismes sostinguts per superioritat dels heterozigots donarien lloc a una «mort genètica» superior a la que podria resistir una població sense extingir-se. Les dades recents sobre l'alta freqüència dels polimorfismes moleculars en les poblacions naturals comporten que el model de Kimura i Crow no s'adapti a la realitat, o bé que factors diferents a la superioritat dels heterozigots són els principals responsables de la conservació de la variabilitat en les poblacions. La publicació de les dades de Levontin i Hubby, abans esmen-

tades, ha provocat una sèrie d'investigacions, tant teòriques com experimentals, en aquest sentit. Nous models matemàtics han aparegut, com els de SVET i col.¹⁸, KING⁸ i MILKMAN¹². De fet, ja des de la publicació, per FISHER², del teorema fonamental de la selecció natural, un defecte dels models matemàtics utilitzats en genètica de poblacions, és que s'hi confon l'eficàcia biològica de l'individu amb la de la població. És a dir, hom dóna el mateix significat al terme mitjà de l'eficàcia biològica de la població que a la variança en aquesta eficàcia.

Com a treballs experimentals impulsats pel descobriment dels polimorfismes moleculars, cal considerar les anàlisis del polimorfisme per a l'esterasa 6, en poblacions experimentals de laboratori de *Drosophila melanogaster*, realitzats per KOJIMA i YARBROUGH^{10, 20} en els quals demostren que el polimorfisme és mantingut perquè els coeficients de selecció a què estan sotmesos els al·lels del locus que controla les variants d'aquesta esterasa depenen de les freqüències gèniques. Hom constata, per tant, com l'estudi de la variabilitat molecular ha promogut l'elaboració de models teòrics que, contràriament al de Kimura i Crow, fan acceptable que en una població puguin coexistir nombrosos polimorfismes genètics mantinguts per superioritat dels heterozigots. D'altra banda, han estat promoguts, també, treballs experimentals en què hom demostra que altres factors, ultra la superioritat dels heterozigots, poden mantenir el polimorfisme.

La individualització dels *loci* responsables de la variabilitat en una població obre una via experimental que, comptat i debatut, ha d'ésser la decisiva per a analitzar els factors responsables de la conservació de la variabilitat. De fet, treballs com els de Kojima i Yarbrough, citats en el paràgraf anterior, aprofiten ja aquesta possibilitat.

També l'anàlisi del genotipus polímer que regeix els caràcters quantitius, sembla que podrà progressar amb l'estudi de la variabilitat genètica de les proteïnes. La principal dificultat en la genètica dels caràcters quantitius ha estat, fins ara, la impossibilitat d'aïllar els factors particulars que formen els genotipus polímers. Tot fa pensar que una gran part d'aquests factors corresponen als *loci* que controlen els polimorfismes moleculars. No obstant això, aquesta relació, que lògicament sembla evident, no ha estat demostrada experimentalment. HALDANE³ indica l'interès d'estudiar la correlació entre les variants moleculars i els caràcters biomètrics. Per aquest camí podrien ésser posades de manifest quines de les dites variants i, per tant, quins gens, influeixen sobre cada caràcter quantitiu. Poc ha estat fet —o res— en aquest sentit, i probablement, bé que la idea és bona, hi ha dificultats per a dur-la a terme. Això porta a tractar de les limitacions que, de moment almenys, sembla tenir la utilització dels polimorfismes moleculars en la investi-

gació de la genètica de poblacions. Hi ha casos, com el de les hemoglobines anormals de l'home, en què la presència d'una variant molecular en el lloc d'una altra té efectes considerables sobre el fenotipus a nivells superiors del molecular i sobre l'eficàcia biològica. Però aquests casos són rars. En especial les variants moleculars que tinguin un efecte, de factor polímer, sobre caràcters quantitius, tindran un efecte fenotípic i, probablement, també sobre l'eficàcia biològica, petit. Per tant, aquests efectes, amb les tècniques de què hom disposa poden ésser molt difícils de detectar. A causa d'això, determinar els valors dels coeficients de selecció a què estan sotmesos els al·lèls que controlen les variants moleculars pot ésser sovint irrealitzable. Fins i tot pot ésser difícil o impossible de determinar si són al·lèls selectivament neutres o no, ja que, si estan sotmesos a selecció, és molt probable que sigui amb coeficients molt petits. De fet, les dades que ja tenim, tant sobre poblacions naturals com experimentals, sovint ofereixen aquesta dificultat d'interpretació. Possiblement, en molts casos, el coneixement de l'efecte fisiològic que té per a un individu la presència d'una variant molecular en lloc d'una altra, pot ésser una via per a deduir-ne la relació amb l'eficàcia biològica. Aquest coneixement gairebé sempre falta. Hi ha un buit entre els nostres coneixements del nivell molecular i dels nivells més superiors del fenotipus (com és la longitud de l'ala o el nombre de pèls de les plaques ventrals en *Drosophila*, o l'eficàcia biològica). Ultra les qüestions de genètica de poblacions tractades, l'anàlisi de la variabilitat intraspecífica en les proteïnes ens dóna informació interessant sobre els mecanismes de l'evolució del genotipus. Hom coneix de ja fa temps els fenòmens d'entrecreuament anormal i la duplicació gènica en *Drosophila*, per observacions fenotípiques acompanyades d'anàlisis citològiques, principalment dels cromosomes gegants. L'estudi del mutant «Bar» (ulls en barra) a *Drosophila melanogaster*, n'és un exemple típic. L'estudi de les seqüències d'aminoàcids a les proteïnes ha permès d'observar aquests fenòmens al nivell molecular. Especialment les duplicacions dels gens resulten molt més freqüents que hom no creia, i sembla que deuen ésser la base de l'origen evolutiu de proteïnes noves. El cas més conegut, bé que hom en troba bastants d'altres, és el de les molècules de mioglobines i les diferents cadenes de les hemoglobines. La comparació de les seqüències d'aminoàcids de les globines que formen part de la mioglobina i les hemoglobines fa pensar que els gens que les controlen deriven tots d'un fragment arquetípic d'ADN, el qual fragment contenia probablement 486 parells de nucleòtids (JUKES⁵). En efecte, les cadenes de les globines analitzades tenen aproximadament la mateixa longitud (nombre d'aminoàcids), amb alguns aminoàcids en posició constant. Per tant, per a aquestes proteïnes, que són les més ben estudiades fins ara des d'aquest punt de vista, INGRAM⁴

admet 4 duplicacions, les quals haurien originat, per passos successius des de la mioglobina, les cadenes α , γ , β i δ de l'hemoglobina.

Un altre cas molt interessant és el de les haptoglobines. Són tres els tipus principals existents d'aquestes proteïnes en l'home, designats 1-1, 1-2 i 2-2. Del tipus 1, n'hi ha dues variants, una d'emigració més ràpida que l'altra, que es diferencien per la substitució d'un sol aminoàcid en la cadena α de la molècula (lisina per àcid glutàmic). L'haptoglobina 2, també difereix de la 1 per la cadena α , però en aquest cas la diferència consisteix en el fet que aquesta cadena és aproximadament el doble de llarga en l'haptoglobina 2 que no en la 1. La seqüència d'aminoàcids de la cadena α en l'haptoglobina 2 demostra, d'acord amb els treballs de SMITHIES¹⁷, que l'allel que controla aquesta variant deu haver-se originat per duplicació parcial, duplicació originada al seu torn amb tota probabilitat per entrecreuament anormal en un heterozigot per als dos alleles que controlen les dues variants de la cadena α de l'haptoglobina 1. Això és un exemple d'un procés evolutiu en el qual s'ha format un gen més llarg i més complex i, per tant, també, una proteïna més llarga i més complexa. És interessant de constatar que aquesta variant d'haptoglobina amb una cadena llarga només ha estat trobada en l'home, i no ha estat observada en els simis antropomorfs. Per tant, és a la línia evolutiva de l'home on deu haver-se originat. Dades recents de PLANAS¹⁴, que ha estudiat les haptoglobines en un nombre important d'individus de ximpanzé confirmen aquesta conclusió.

b) Variabilitat entre espècies

L'anàlisi de la mobilitat electroforètica, tant de les proteïnes d'una espècie considerades globalment, com d'alguna proteïna específica, constitueix un bon mètode de diagnòstic en sistemàtica. Especialment, en casos de sistemàtica confusa, aquest mètode de diagnòstic pot ésser molt útil. En el nostre laboratori, Petitpierre utilitza l'anàlisi de la mobilitat electroforètica de les esterases per al diagnòstic de les espècies de coleòpters crisomèlids del gènere *Timarcha*. Les espècies d'aquests coleòpters, pel fet que la variabilitat morfològica a dintre i entre les espècies presenta una forta transgressió, són molt difícils de distingir, i fins i tot resulta dubtós si hom pot acceptar com a bones les espècies determinades utilitzant només criteris morfològics.

Aprofitant les dades que forneix la comparació de les seqüències d'aminoàcids en proteïnes homòlogues d'organismes diferents, hom desenrotlla actualment línies de treball molt interessants, tant referents a les característiques del procés com al mecanisme de l'evolució.

La comparació de les diferències en proteïnes de diferents espècies

amb les dades que la paleontologia dóna a propòsit del temps transcorregut des de la separació d'aquestes espècies, ha estat utilitzada per a calcular el ritme d'evolució a les proteïnes. Aquestes dades, entre d'altres, juntament amb la consideració que les substitucions d'alguns aminoàcids en certes regions de les cadenes proteiques no sembla que hagin de tenir efectes sobre la funció d'aquestes molècules, han fet pensar que un nombre important de substitucions d'aminoàcids a les proteïnes han d'ésser selectivament neutres. Ja FISHER² analitzà matemàticament la probabilitat de conservació dels gens a les poblacions, des del punt de vista de la variació aleatòria que el mecanisme de l'herència mendeliana comporta en la transmissió al llarg de les generacions. Concloué que la distribució de Poisson és l'adequada per a expressar aquest fenomen. No obstant això, ha estat SEWALL WRIGHT¹⁹ qui ha donat més importància a la possibilitat de fixació casual d'allels, tant neutres com no, amb relació a la selecció natural, com a factor important de l'evolució. Per a aquest autor, una combinació de la selecció natural amb la deriva genètica, que és com hom anomena la variació casual de les freqüències gèniques (alguns autors en diuen «efecte Sewall Wright» en honor de l'investigador que li ha donat importància), constitueix l'òptim perquè es produeixi evolució. A més, des de fa temps hom discuteix entre els especialistes de genètica de poblacions si realment existeix variabilitat neutra des del punt de vista de la selecció natural o no. Són molt coneguts casos com els de les diferències entre poblacions, en les freqüències de les variants del color de la closca de *Cepaea nemoralis*. Segons Lamotte, que ha estudiat poblacions franceses d'aquest cargol, les diferències deuen ésser degudes a deriva genètica. Altrament, Sheppard i altres autors anglesos expliquen diferències semblants per selecció. La variació natural de les quetes abdominals de *Drosophila* és considerada per molts autors sense valor selectiu. Les característiques de la variabilitat a les proteïnes han vingut a reviscolar aquesta antiga discussió sobre l'existència de caràcters neutres i del significat de la deriva genètica. Sewall Wright, i en especial el seu deixeble Kimura, han elaborat models matemàtics adaptats a la situació que sembla posar-se de manifest en la variabilitat de les proteïnes. En l'aplicació d'aquests models a les dades d'observació de les poblacions naturals, hom es troba amb dificultats, com en el cas dels caràcters morfològics. Els casos que interessa de distingir, és a dir els allels amb valors selectius petits dels que són neutres, no és possible de resoldre'ls experimentalment. Hom no pot mesurar diferències d'eficàcia biològica tan petites. Per tant, cal recórrer, com fan ARNHEIM I TAYLOR¹, al significat funcional que semblen tenir les substitucions dels aminoàcids a les proteïnes. És a dir, la via per a resoldre la qüestió és la mateixa que fem quan volem demostrar que la variabilitat en el nombre de quetes abdo-

minals a *Drosophila* és neutra, perquè des del punt de vista funcional sembla que és així. No obstant això, l'enfocament d'aquesta qüestió al nivell molecular és esperançador, car en aquest nivell hom es planteja el problema en termes més simples i analítics. Sembla més probable que hom arribi abans a conèixer completament el significat funcional dels components d'una molècula que no pas el de la presència d'una queta de més o de menys en l'abdomen d'una mosca.

És convenient d'assenyalar que, al nivell de l'ADN, hom admet l'existència d'allels neutres. Els canvis en els codons que donen lloc a tripletes que es tradueixen per al mateix aminoàcid, sembla clar que deuen condicionar allels neutres, almenys a curt termini. A llarg termini, en ésser diferents les constitucions de dues tripletes, tenen diferents possibilitats mutacionals, les quals poden tenir un cert valor selectiu.

L'EVOLUCIÓ RECENTMENT QUALIFICADA DE NO DARWINIANA

L'existència d'allels neutres al nivell de l'ADN i la probabilitat gran que siguin bastant freqüents al nivell de les proteïnes, ha determinat últimament l'aparició d'alguns treballs (KING I JUKES⁹, ARNHEIN I TAYLOR¹) molt interessants, en conjunt, per llur contingut, però que parteixen, com indica ja el títol, d'un enfocament confús del significat que tenen els allels neutres per a l'evolució. En aquests treballs hom qualifica els canvis que per deriva genètica es poden produir en les variants proteïques selectivament neutres, d'evolució no darwiniana.

La teoria de l'evolució per selecció natural consta de dos punts: En les espècies existeix una gran variabilitat entre els individus; i la selecció natural aprofita aquesta variabilitat per a, mitjançant el procés de l'adaptació, produir l'evolució. Darwin analitzà possibles causes de la variabilitat, però (com en el cas dels mecanismes de l'herència) no tenia coneixements adequats per a fer-ho eficaçment. El descobriment dels mecanismes de l'herència en iniciar-se el desenrotllament de la genètica, a principi de segle, produí un moviment antidarwinianà. Però, transcorregut algun temps i centrades les idees, hom veié que precisament el coneixement del mecanisme mendelià de l'herència era una de les bases que mancaven a Darwin, ja que explicava com pot mantenir-se la variabilitat a les poblacions per segregació dels gens o factors mendelians. El descobriment d'una variabilitat neutra al nivell molecular, si és confirmat, constituirà un nou pas en el mateix sentit. La selecció natural, com hem analitzat recentment (PREVOSTI¹⁶), és un procés determinatiu de l'evolució. Ja FISHER² en el seu teorema fonamental de la selecció natural trobà que la taxa d'augment en l'eficàcia biològica d'una espècie és igual a la variança genètica de l'eficàcia biològica. Una conseqüència de la

formulació de Fisher és que la selecció natural té per efecte una disminució de la variabilitat de l'eficàcia biològica i, per tant, mena a una fixació de caràcters. La realitat, a les poblacions naturals, és que es conserva molta variabilitat. A més, per tal que el procés de la solució natural pugui continuar, cal també que es conservi la variabilitat. Aquest dilema entre els efectes que, segons la teoria matemàtica de la selecció natural aquesta ha de tenir, i la necessitat que aquests efectes no es compleixin per tal que la selecció pugui continuar actuant i continuï l'evolució, és el cavall de batalla, des de fa temps, de la genètica de poblacions i del neodarwinisme. Si al nivell molecular admetem una primera matèria neutra, que al llarg del procés evolutiu, a mesura que la selecció va utilitzant els materials de què disposa, pot ésser modelada en els caràcters funcionals dels organismes, sembla que podríem resoldre el dilema abans esmentat. De fet, no solament la variabilitat neutra, sinó també la selectivament negativa o deletèria, constitueix la base perquè la selecció natural no condueixi a una extinció de l'evolució. I és que els factors indeterminístics, mutació a l'atzar i deriva genètica, són la base perquè la selecció pugui explotar noves vies evolutives i ésser creadora.

BIBLIOGRAFIA

1. ARNHEIM, N., i TAYLOR, C. E. — *Non-Darwinian Evolution: Consequences for neutral allelic variation*. «Nature», 223: 900-903 (1969).
2. FISHER, R. — *The genetical theory of natural selection*. Clarendon Press. Oxford, 1930.
3. HALDANE, J. B. S. — *The genetics of migrant and isolate populations*. «Proceedings of a Conference on Human Population Genetics in Israel held at the Hebrew University, Jerusalem». Ed. E. Goldschmidt. The Williams and Wilkins Co. New York (1963).
4. INGRAM, V. M. — *The hemoglobins in Genetics and Evolution*. Columbia University Press. New York (1963).
5. JUKES, TH. H. — *Molecules and Evolution*. Columbia University Press. New York (1966).
6. KIMURA, M., i CROW, J. F. — *The number of alleles that can be maintained in a finite population*. «Genetics», 49: 725-738 (1964).
7. KIMURA, M. — *Genetic variability maintained in a finite population due to mutational production of neutral and nearly neutral isoalleles*. «Genet. Res. Camb.», 11: 247-269 (1968).
8. KING, J. L. — *Continuously distributed factors affecting fitness*. «Genetics», 55: 483-492 (1967).
9. KING, J. L., i JUKES, T. H. — *Non-Darwinian Evolution*. «Science», 164: 788-798 (1969).
10. KOJIMA, K., i YARBROUGH, K. M. — *Frequency-dependent selection at the esterase 6 locus in "Drosophila melanogaster"*. «Proc. Nat. Acad. Sciences U.S.A.», 57: 645-649 (1967).
11. LEWONTIN, R. C., i HUBBY, J. L. — *A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of*

- heterozygosity in natural populations of "Drosophila pseudobscura". «Genetics», 54: 595-609 (1966).*
12. MILKMAN, R. D. — *Heterosis as a major cause of heterozygosity in nature. «Genetics», 55: 493-495 (1967).*
 13. O'BRIEN, S. J., i MAC INTYRE, R. J. — *An analysis of gene enzyme variability in natural populations of "Drosophila melanogaster" and "Drosophila simulans". «American Naturalist», 103: 97-113 (1969).*
 14. PLANAS, J. — *Haptoglobinas animales. Comunicació presentada al I Simposi Internacional sobre Zoofilogènia. Salamanca, 1969.*
 15. PRAKASH i col. — *A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. IV. Patterns of genic variation in central, marginal and isolated populations of "Drosophila pseudobscura". «Genetics», 61: 841-858 (1969).*
 16. PREVOSTI, A. — *La selección natural. «Memorias de la Real Academia de Ciencias y Artes de Barcelona», 39: 341-453 (1969).*
 17. SMITHIES, O. — *Chromosomal rearrangements and Protein structure. «Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology», 29: 309-319 (1964).*
 18. SVED, J. A.; REED, T. E., i BODMER, W. F. — *The number of balanced polymorphisms that can be maintained in a natural population. «Genetics», 55: 469-481 (1967).*
 19. WRIGHT, S. — *Polyallelic random drift in relation to evolution. «Proc. U. S. Nat. Academy of Sciences», 55: 1074-1081 (1966).*
 20. YARBROUGH, K. M., i KOJIMA, K. — *The mode of selection at the polymorphic esterase 6 locus in cage populations of "Drosophila melanogaster". «Genetics», 57: 677-686 (1967).*