

Analisi molecolare delle popolazioni del Mediterraneo attraverso 11 inserzioni Alu

Molecular Analysis of Mediterranean populations through 11 Alu insertions

Carla Maria Calò¹, Ignazio Stefano Piras¹, Pedro Moral², Alessandra Falchi¹⁻³, Maria Elena Ghiani¹, Laurent Varesi³, Giuseppe Vona¹

¹ Dip. di Biologia Sperimentale, Università di Cagliari (Italia)

² Dept. Animal Biology, University of Barcelona (Spain)

³ Faculty of Sciences and Techniques, University of Corse (France)

Per la corrispondenza: Carla M. Calò. Università di Cagliari. Dipartimento di Biologia Sperimentale, Sez. Scienze Antropologiche. SS 554, km 4,500 – 09042 Monserrato (Ca) – Italia

Parole chiave: polimorfismi genetici, inserzioni Alu, popolazioni Mediterranee

Key words: genetic polymorphisms, Alu insertions, Mediterranean populations

Riassunto

In questo lavoro è stata studiata la struttura genetica delle popolazioni del Mediterraneo attraverso 11 inserzioni Alu. Le inserzioni Alu si sono diffuse all'interno del genoma dei primati negli ultimi 65 milioni di anni e rappresentano approssimativamente il 5% del genoma umano. Questi polimorfismi sono ampiamente usati come marcatori genetici negli studi sull'evoluzione umana per la loro rapidità e facilità di tipizzazione, la loro neutralità selettiva e la conoscenza dello stato ancestrale.

Le Alu utilizzate in questa ricerca sono: Sb19.3, Sb19.12, Sb19.10, ACE, Ya5NBC221, Yb8NBC125, Yb8NBC120, HS4.32, HS4.69, CD4 e ApoA1.

I campioni esaminati provengono dalle popolazioni della Sardegna, Sicilia, Corsica, Francia, Turchia, Isole Baleari e Marocco.

Tutte le popolazioni, dopo la correzione di Bonferroni, sono risultate in equilibrio di Hardy-Weinberg per tutti i marcatori, con la sola eccezione dei Turchi per il locus Sb19.3. I risultati hanno rivelato una forte eterogeneità genetica all'interno del bacino del Mediterraneo e una profonda differenziazione della popolazione berbera, turca e della Sardegna centrale. I polimorfismi Alu sono stati in grado di evidenziare un certo grado di eterogeneità all'interno della Sicilia, confermando quanto era emerso in precedenti lavori.

Per verificare l'origine delle inserzioni Alu, è stata inserita nei confronti una popolazione ancestrale ipotetica. La sua localizzazione vicino alla popolazione africana ha permesso di confermare l'origine africana delle inserzioni Alu. In conclusione, le Alu utilizzate in questo lavoro si sono rivelate estremamente utili per un'analisi popolazionistica livello macro- e micro-geografico.

Abstract

In this work 11 Alu polymorphisms have been employed to study the genetic structure of the populations from the Mediterranean. Alu insertion have amplified within the primate genome over the last 65 million years and represent approximately 5% of the human genome. These polymorphisms have been widely used as genetic markers in human evolution due to their rapidity and easiness to type, their selectively neutrality and the knowledge of their ancestral state.

The Alu used in this study are: Sb19.3, Sb19.12, Sb19.10, ACE, Ya5NBC221, Yb8NBC125, Yb8NBC120, HS4.32, HS4.69, CD4 and ApoA1.

The examined populations come from Sardinia, Sicily, Corsica, France, Turkey, Balearic Island, and Morocco.

All the populations, after the Bonferroni correction, were in Hardy-Weinberg equilibrium for the all loci, with the exception of Turkey for the locus Sb19.3.

The results showed a strong genetic heterogeneity within the Mediterranean Basin, and a high differentiation of Berber, Turkish and central Sardinian populations.

Alu polymorphism were also able to detect a certain degree of genetic heterogeneity within Sicily, confirming results of previous works.

An hypothetical ancestral population, characterized by absence of Alu insertion for all loci, have been used to verify the origin of Alu polymorphism. Its localization near the African population, allowed us to confirm the African origin of Alu insertion.

In conclusion, the Alu employed in the study turned out to be extremely useful for populations analysis, for macro- and micro-geographical differentiation.

Introduzione

Gli elementi Alu rappresentano la più grande famiglia di elementi mobili sparsi nel genoma (SINEs), si sono originati negli ultimi 65 milioni di anni e ora rappresentano circa il 5% del genoma umano.

Le inserzioni Alu sono degli importantissimi marcatori genetici per studi popolazionistici ed evolucionistici, poiché rappresentano dei polimorfismi relativamente stabili, con una frequenza di mutazione inferiore a 5×10^{-7} , sono identici per discendenza, ed è noto lo stato ancestrale (assenza di inserzione). Essendo marcatori autosomici, essi riflettono la storia sia paterna sia materna di una popolazione (Nasidze *et al.*, 2001). Inoltre, presentano il grande vantaggio di poter essere analizzati con estrema facilità e rapidità.

I polimorfismi Alu sono stati applicati solo recentemente allo studio della struttura genetica del Mediterraneo Occidentale (Lopez-Alomar *et al.*, 1999; Moral *et al.*, 1999; Comas *et al.*, 2000), ma in particolare i dati sulle sue maggiori isole (Sardegna, Sicilia e Corsica) sono molto limitati. Questo lavoro si propone quindi di aggiungere nuovi dati alla conoscenza della struttura genetica delle popolazioni del Mediterraneo, e sulle loro vicende storico-demografiche con l'utilizzo dei marcatori polimorfici Alu, dal momento che la maggior parte delle 11 inserzioni Alu utilizzate nel presente lavoro non sono ancora state impiegate per lo studio della diversità genetica nel Mediterraneo.

In questo lavoro vengono presentati i risultati relativi allo studio di 11 inserzioni Alu in 10 campioni di 7 diverse popolazioni appartenenti prevalentemente al Mediterraneo Occidentale.

Materiali e Metodi

Sono stati analizzati complessivamente 497 individui provenienti dal bacino del Mediterraneo, precisamente dalla Sardegna centrale (Nuorese, N=50) e meridionale (Campidano di Oristano, N=50), Corsica centrale (Corte, N=51) e sud occidentale (Ajaccio, N=50), Sicilia Orientale (N=51) e Occidentale (N=50), Francia del Sud (N=48), Isole Baleari (N=48), Turchia (N=50), Marocco (Berberi, N=49) (Figura 1).



Figura 1. Localizzazione geografica delle popolazioni esaminate.
Figure 1. Geographic localization of the analyzed populations.

I campioni erano costituiti da individui adulti di entrambi i sessi, non imparentati tra loro, originari della regione in esame, che hanno dato il loro consenso informato per partecipare alla ricerca.

Il DNA genomico è stato estratto mediante la metodica standard del fenolo-cloroformio a partire da sangue intero. L'analisi delle inserzioni Alu è stata condotta mediante PCR, i cui protocolli sono stati descritti precedentemente da altri autori (Tishkoff *et al.*, 1996; Turet *et al.*, 1992; Edwards e Gibbs, 1992; Batzer *et al.*, 1994), e successiva elettroforesi su gel di agarosio al 2%.

I loci analizzati sono stati: Sb19.3, Sb19.12 e Sb 19.10, localizzati nel cromosoma 19; HS 4.69, localizzato nel cromosoma 6; HS4.32 e CD4 nel cromosoma 12; ApoA1 situato nel cromosoma 11; Ya5BCN221, Yb8NBC120 e Yb8NBC125 localizzati nel cromosoma 22; infine l'ACE nel cromosoma 17. Per ognuno di essi sono state calcolate le frequenze alleliche, l'eterozigosità osservata e attesa e i parametri di Nei tramite il programma GENETIX v. 4.03 (Belkhir *et al.*, 2002). L'equilibrio di Hardy Weinberg e il test di Fisher per la differenziazione tra le popolazioni è stato calcolato con l'ausilio del programma Genepop v. 1.2 (Raymond e Rousset, 1995). I confronti tra le popolazioni sono stati effettuati con l'analisi dell'R-matrix (Harpending e Jenkins, 1973). Infine, la quantità relativa di flusso genico per ogni popolazione è stata calcolata in accordo con il modello di Harpending e Ward (1982).

Nel tentativo di spiegare la differenziazione delle popolazioni tenendo conto della loro localizzazione geografica, è stato utilizzato l'indice di autocorrelazione spaziale I di Moran, mediante l'uso del programma SAAP 4.3, che permette di stimare i livelli di affinità genetica tra le popolazioni. Il calcolo del coefficiente viene effettuato raggruppando le popolazioni in classi di distanze geograficamente arbitrarie. L'Indice di Moran varia tra +1 e -1. Il suo valore atteso in assenza di autocorrelazione si approssima a zero. Un valore positivo indica similarità genetica nella classe di distanze analizzate, un valore negativo indica una dissimilarità nelle frequenze dell'allele. Il correlogramma, che riporta i coefficienti di autocorrelazione rispetto alle distanze, descrive l'andamento nello spazio della variazione genetica mostrata per ciascun allele. I correlogrammi sono riconducibili ad alcuni andamenti tipici, ognuno dei quali descrive l'affinità o la diversità genetica delle popolazioni in funzione della localizzazione geografica.

Le popolazioni del nostro studio sono state poi messe a confronto con altre popolazioni precedentemente studiate da altri autori tramite l'analisi dell'R-matrix (Harpending e Jenkins, 1973). Si è dovuto però, nell'analisi di confronto, ridurre il numero dei marcatori poiché non è stato possibile reperire tutte le Alu da noi studiate in un numero congruente di popolazioni. Le popolazioni utilizzate nel confronto sono: Bretoni, Ciprioti greci, Ciprioti turchi, Francia e una

dell'Africa sub-sahariana, appartenente alla famiglia linguistica Nguni (Batzer *et al.*, 1994; Jorde *et al.*, 1995; Arcot *et al.*, 1998; Romualdi *et al.*, 2002). Abbiamo inserito anche una popolazione ipotetica ancestrale con frequenze delle inserzioni per tutte le Alu pari a zero.

Risultati

Dall'analisi delle frequenze alleliche delle 11 inserzioni Alu (Tabella 1) analizzate emergono alcune osservazioni.

	Sardegna (CO _r)	Sardegna (Nu)	Sicilia Or.	Sicilia Oc.	Corsica (Aj)	Corsica (Co)	Sud Francia	Berberi	Baleari	Turchia
Sb19.3										
+	0,910	0,980	0,853	0,830	0,940	0,912	0,883	0,733	0,906	0,830
-	0,090	0,020	0,147	0,170	0,060	0,088	0,117	0,267	0,094	0,171
Sb19.10										
+	0,350	0,210	0,275	0,200	0,350	0,343	0,356	0,170	0,323	0,214
-	0,650	0,790	0,726	0,800	0,650	0,657	0,644	0,830	0,677	0,786
Sb19.12										
+	0,354	0,360	0,314	0,306	0,330	0,255	0,318	0,159	0,148	0,181
-	0,646	0,640	0,686	0,694	0,671	0,745	0,682	0,841	0,852	0,819
HS4.32										
+	0,745	0,816	0,843	0,680	0,776	0,735	0,622	0,714	0,733	0,354
-	0,255	0,184	0,157	0,320	0,225	0,265	0,378	0,286	0,267	0,646
HS4.69										
+	0,564	0,550	0,392	0,458	0,330	0,370	0,441	0,400	0,438	0,705
-	0,436	0,450	0,608	0,542	0,670	0,630	0,560	0,600	0,563	0,296
ACE										
+	0,138	0,208	0,402	0,270	0,395	0,418	0,385	0,366	0,391	0,408
-	0,862	0,792	0,598	0,730	0,605	0,582	0,615	0,634	0,609	0,592
Y8NBC120										
+	0,400	0,180	0,275	0,410	0,344	0,304	0,436	0,296	0,337	0,351
-	0,600	0,820	0,726	0,590	0,656	0,696	0,564	0,704	0,663	0,649
Y8NBC125										
+	0,150	0,140	0,226	0,210	0,180	0,137	0,271	0,143	0,156	0,156
-	0,850	0,860	0,775	0,790	0,820	0,863	0,729	0,857	0,844	0,844
YaNBC221										
+	0,966	0,990	0,922	0,917	0,938	0,941	0,956	0,867	0,967	0,896
-	0,034	0,010	0,784	0,083	0,063	0,059	0,044	0,133	0,033	0,104
CD4										
+	0,786	0,694	0,598	0,700	0,837	0,716	0,722	0,480	0,693	0,745
-	0,214	0,306	0,402	0,300	0,163	0,284	0,278	0,520	0,307	0,255
ApoA1										
+	0,990	0,930	0,958	0,915	0,910	0,961	0,990	0,969	0,957	0,980
-	0,010	0,070	0,042	0,085	0,090	0,039	0,010	0,031	0,046	0,020

Tabella 1. Frequenze alleliche delle 11 inserzioni polimorfiche Alu nelle popolazioni esaminate.

Table 1. Allelic frequencies of the 11 Alu polymorphic insertions in the analyzed populations.

Tutti i loci sono apparsi polimorfici e per 5 marcatori (Sb19.12, Sb19.10, Yb8NBC125, Yb8NBC120 e ACE) l'allele più frequente è risultato in tutte le popolazioni l'assenza inserzione, mentre per altre 5 Alu (Sb19.3, Ya5NBC221, HS4.32, CD4 e ApoA1) è prevalente la presenza di inserzione. Solo l'Alu HS4.69 mostra un diverso andamento nelle popolazioni, infatti in Sardegna e in Turchia la presenza dell'inserzione ha una frequenza maggiore, mentre nelle altre popolazioni prevale l'assenza di inserzione.

Tramite la catena di Markov è stato verificato l'equilibrio di Hardy-Weinberg. Su 110 tests 10 risultano fuori equilibrio, ma dopo la correzione di Bonferroni solo le frequenze dell'Alu Sb19.3 nella popolazione turca risulta fuori equilibrio per eccesso di omozigoti osservati.

L'eterozigosità media attesa in base alla legge di Hardy Weeinberg per ciascun locus mostra valori che variano da 0,082 per il locus ApoA1 a 0,475 per HS4.69. I valori di eterozigosità per

HS4.69, ACE, Yb8NBC120 si avvicinano ai valori massimi teorici dei marcatori biallelici, pari a 0,5. L'eterozigosità media per ciascuna popolazione (tabella 2) evidenzia la peculiarità della popolazione di Nuoro, che si contraddistingue per un basso valore di eterozigosità. Il valore più elevato è mostrato dal campione della Francia del Sud.

	eterozigosità
Sardegna (Nu)	0,271
Baleari	0,316
Sardegna (CO _r)	0,317
Corsica (Co)	0,321
Corsica (Aj)	0,322
Turchia	0,331
Sicilia Or.	0,341
Sicilia Oc.	0,347
Berberi	0,349
Francia (sud)	0,357

Tabella 2. Valori medi dell'eterozigosità per singola popolazione.

Table 2. Average values of heterozygosity in each population.

locus	HS	HT	GST
Sb19.3	0,206	0,215	0,040
Sb19.10	0,393	0,402	0,024
Sb19.12	0,384	0,396	0,030
HS4.32	0,384	0,418	0,081
HS4.69	0,475	0,497	0,045
ACE	0,430	0,448	0,038
Yb8NBC120	0,434	0,444	0,023
Yb8NBC125	0,288	0,291	0,012
Yb5NBC121	0,118	0,120	0,020
CD4	0,405	0,422	0,041
ApoA1	0,083	0,084	0,018
totale	0,327	0,340	0,037

Tabella 3. Valori dei parametri di Nei per i loci esaminati.

Table 3. Values of Nei parameters.

Sono stati calcolati anche i parametri di Nei (Tabella 3).

I valori dell'eterozigosità calcolata sia all'interno di ogni campione (HS), sia per il campione globale (HT), rispecchiano i risultati della precedente elaborazione, presentando il valore minimo per ApoA1 e quello massimo per HS4.69. Il G_{st} calcolato per ogni singolo locus varia da un valore minimo di 0,012 per il locus Yb8NBC125 ad un valore massimo di 0,0814 per HS4.32. Il G_{st} globale è risultato 0,037. Tale valore di G_{st} indica che solo il 3,7% della varianza totale delle frequenze alleliche è attribuibile alla variabilità tra le popolazioni, mentre il 96,3% è imputabile alla varianza intra-popolazione.

Con il test esatto di Fisher è stata testata la differenziazione tra le popolazioni, globale, a coppie e locus per locus. Le popolazioni sono apparse sostanzialmente eterogenee ($p < 0,01$) per tutti i loci ad eccezione del Yb8NBC125. Analizzando poi i confronti a coppie di popolazione è stato possibile osservare che le popolazioni di Nuoro, berbera e turca sono quelle che si differenziano maggiormente dalle altre, presentando un numero di confronto significativi maggiore (dati non mostrati).

I risultati dei confronti a coppie sono riportati in tabella 4.

Il locus che ha mostrato la percentuale più alta di confronti significativi è stato il Sb19.13, seguito da Sb19.10 e ACE, mentre l'Yb8NBC125 è risultato il marcatore con la percentuale più bassa. Nel confronto operato esclusivamente tra le popolazioni da noi esaminate tramite l'analisi dell'R-matrix, la popolazione che contribuisce maggiormente alla variabilità totale risulta la popolazione Turca, seguita dai Berberi. Il grafico in figura 2 mostra la proiezione su un piano dei primi due eigenvectors, che complessivamente spiegano circa il 64,2% della variabilità totale, precisamente il 37,7% il primo e il 26,5% il secondo. Rispetto alla prima componente le

popolazioni ai due estremi della variabilità risultano quella sarda del Nuorese e quella turca. La seconda componente mostra agli estremi ancora la Turchia e in posizione opposta i Berberi. Le popolazioni studiate formano un cluster abbastanza uniforme, entro il quale si osserva una certa differenziazione all'interno della Sicilia e tra la Francia e la Corsica. Da questo cluster si differenziano nettamente la popolazione della Turchia e quella Berbera.

locus	% di confronti significativi
Sb19.12	40,00%
Sb19.10	37,78%
ACE	37,78%
HS4.32	33,33%
CD4	33,33%
HS4.69	31,11%
Sb19.3	28,89%
Yb5NBC121	17,78%
Yb8NBC120	15,56%
ApoA1	13,33%
Yb8NBC125	6,67%

Tabella 4. Percentuali di confronti a coppie significativi ($p < 0,05$).
Table 4. Percentages of significative comparisons ($p < 0,05$).

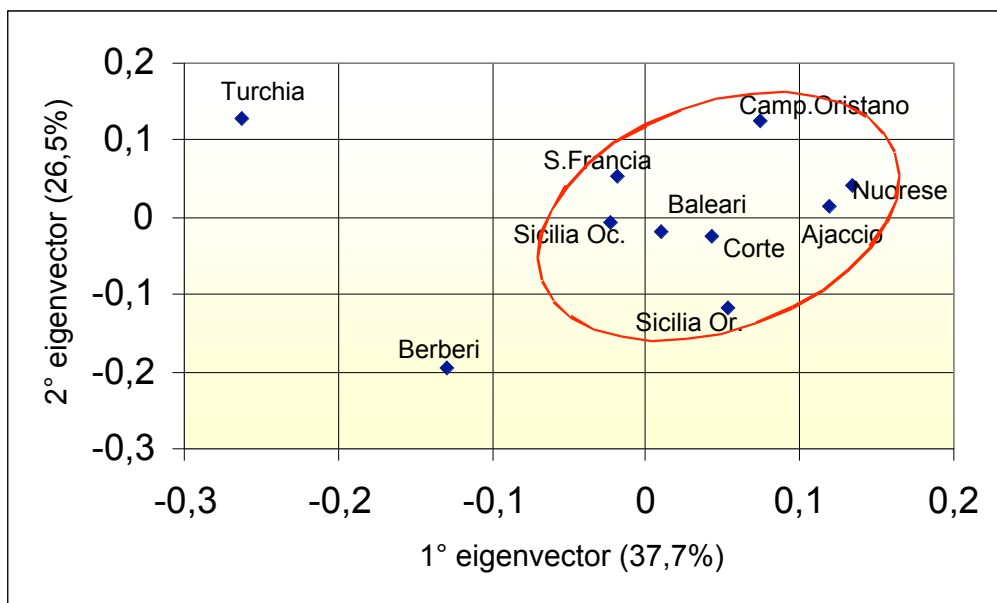


Figura 2. Analisi dell'R-matrix per le popolazioni in esame: plot dei primi due eigenvectors.
Figure 2. R-matrix analysis for the populations analyzed: plot of the first two eigenvectors.

Per valutare se la struttura genetica attuale delle popolazioni in esame fosse il risultato di un isolamento genetico o un flusso genico all'interno delle popolazioni in esame è stato applicato il modello di Harpending e Ward (1982), che proietta l'eterozigosità contro le distanze dal centroide. La retta rappresenta la relazione lineare ipotetica che ci si attende tra eterozigosità e distanze genetiche dal centroide. Le popolazioni che esibiscono una maggiore eterozigosità in base al suddetto modello (sopra la retta) si ritiene che abbiano subito un forte flusso genico da parte di altre popolazioni non incluse nell'analisi. Viceversa quelle al di sotto della retta dovrebbero essere particolarmente isolate.

Come è evidente dalla figura 3, la popolazione del Nuorese si discosta in modo evidente dalla retta, denotando un forte grado di isolamento. I risultati indicano un modesto grado di isolamento anche per la popolazione corsa di Corte e per le Baleari. Le popolazioni che invece si

collocano superiormente alla retta in posizione abbastanza distante da fare ipotizzare un flusso genico importante da parte di popolazioni esterne sono le popolazioni siciliane, francese, berbera e turca.

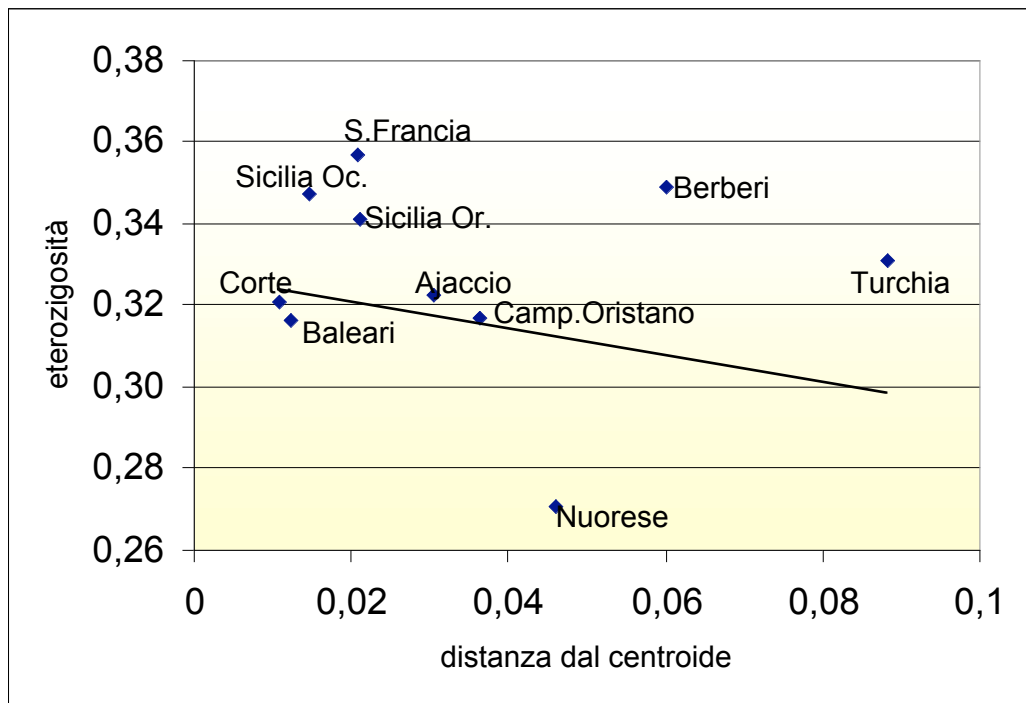


Figura 3. Proiezione dell'eterozigosità media contro la distanza dal centroide. La linea rappresenta la linea di regressione attesa secondo il modello di Harpending e Ward (1982).

Figure 3. Projection of the medium heterozygosity against the distance from the centroid. The line represents the expected regression according to the model of Harpending and Ward (1982).

Per verificare se esiste una correlazione spaziale per gli alleli dei marcatori Alu qui analizzati tra le popolazioni prese in esame è stato calcolato l'Indice di Moran (I). Tale indice è risultato significativo per i soli marcatori Sb19.3 e Cd4. I correlogrammi costruiti sui coefficienti di correlazione di questi due marcatori e della media di tutti i marcatori (Figura 4) mostrano chiaramente la presenza di una depressione a media distanza, che generalmente rappresenta la somma di due gradienti che convergono verso un punto intermedio.

E' stato attuato un confronto con altre popolazioni utilizzando solo 7 degli marcatori, precisamente: Sb19.3, Sb19.10, Sb19.12, HS4.32, HS4.69, ACE e ApoA1.

La rappresentazione che emerge dall'analisi dell'R-matrix (Figura 5) mostra che la prima componente (83.4%) discrimina nettamente sia la popolazione ancestrale sia la popolazione africana che si collocano, infatti, nella parte di piano delimitato dai valori negativi, mentre tutte le altre popolazioni presentano valori positivi della prima componente. Appare degno di nota come la popolazione berbera appare più vicina alle popolazioni europee che a quelle africane. La seconda che però ha un basso valore di discriminazione (5,8%) determina una separazione all'interno del cluster delle popolazioni euro-mediterranee, separando oltre che la popolazione ancestrale e quella africana, anche Turchi, Sardegna e Sicilia Occidentale dalle rimanenti popolazioni.

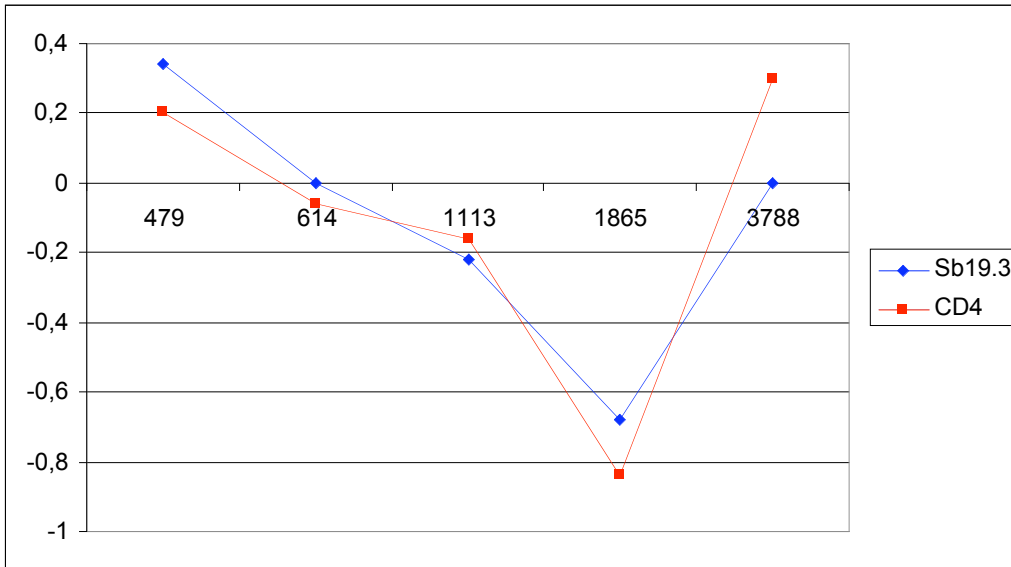


Figura 4. Correlogramma degli alleli con autocorrelazione significativa.

Figure 4. Correlogram of the alleles with significant autocorrelation.

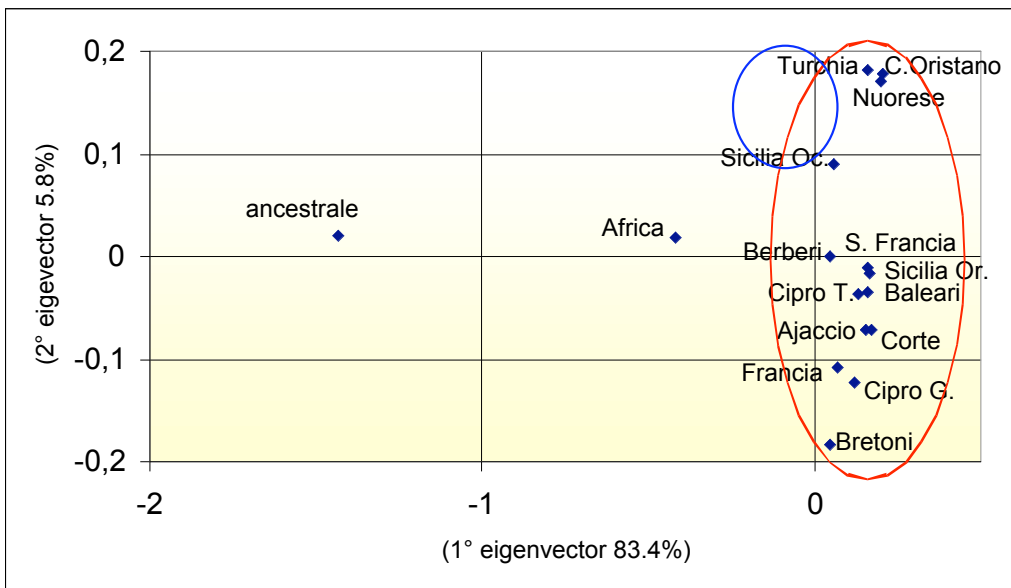


Figura 5. Analisi dell'R-matrix per le popolazioni in esame e quelle di confronto: plot dei primi due eigenvectors.

Figure 5. R-matrix analysis for the populations analyzed: plot of the first two eigenvectors.

Discussione

Sono state studiate nel presente lavoro le frequenze di 11 diverse Alu, situate in cromosomi differenti. L'analisi riguarda campioni provenienti da differenti popolazioni del Mediterraneo. I risultati ottenuti nel presente lavoro appaiono in buon accordo con quelli di precedenti ricerche (Watkins *et al.*, 2003).

Le Alu che sono state da noi studiate hanno frequenze dell'inserzione che in generale superano, salvo qualche rara eccezione, la frequenza del 10%. Per più della metà di esse si hanno frequenze dell'inserzione oltre il 50%. Tale risultato, osservato anche per altre tipi di Alu (Nasidze *et al.*, 2001), è stato interpretato con il fatto che questi polimorfismi predatino l'espansione Out-of-Africa dell'uomo anatomicamente moderno (Goldstein *et al.*, 1995).

Dai nostri dati emerge che la popolazione africana ha una distanza minore dalla popolazione ancestrale rispetto a quelle che presentano le popolazioni euro-mediterranee, compresa quella del nord Africa. Già altri autori (Stoneking *et al.* 1997; Watkins *et al.*, 2001) avevano sottolineato che i polimorfismi Alu discriminavano perfettamente le popolazioni africane dalle popolazioni non-africane. La netta differenziazione è stata interpretata con l'origine delle Alu nel continente africano, anteriormente alla diffusione dell'uomo moderno (Batzer *et al.*, 1994; Stoneking *et al.*, 1997).

E' anche vero che i polimorfismi più antichi possono fornire una risoluzione più limitata della storia recente delle popolazioni (Watkins *et al.*, 2003). Per questo, mentre emerge una differenziazione marcata tra le popolazioni ancestrale e africana da una parte e le popolazioni euro-mediterranee dall'altra, la variabilità tra queste ultime risulta di un ordine di grandezza inferiore. Tuttavia è presente una significativa eterogeneità genetica all'interno del bacino del Mediterraneo, evidenziata sia dal test di Fisher sia dai parametri di Nei. Il valore del G_{st} totale (0,037) è, infatti, maggiore di quello riscontrato da altri autori (Stoneking *et al.*, 1997) tramite le Alu per un gruppo di popolazioni provenienti dai vari continenti. Limitando la nostra analisi alla sola Europa il valore di G_{st} scende a 0,024, ma anche in questo caso risulta superiore a quello riscontrato sempre da Stoneking *et al.* (1997) per l'Europa (0,011).

Precedenti lavori avevano rivelato l'assenza di una correlazione tra distanze geografiche o linguistiche e distanze genetiche tra le popolazioni caucasiche (Nasidze *et al.*, 2001). Nel presente studio vengono confermati tali risultati, poiché solo due marcatori (Sb19.3 e CD4), che non erano stati presi in esame nel lavoro di Nasidze *et al.* (2001), hanno mostrato valori di autocorrelazione significativi. Il correlogramma di ambedue i marcatori sembra indicare per ognuno di essi l'esistenza di due gradienti che si muovono in direzioni opposte che, osservando le frequenze, potrebbero avere origine uno ad oriente e l'altro ad occidente del bacino del Mediterraneo.

Rispetto alle singole popolazioni che sono state prese in esame nella presente ricerca, preme mettere in risalto alcuni particolari che sono emersi dai risultati. Questi mostrano che la popolazione sarda del Nuorese si contraddistingue per un basso valore dell'eterozigosità, che, insieme alla posizione assunta nel grafico ottenuto in base al modello di Harpending e Ward (1982), attesta ancora una volta l'elevato grado di isolamento di questa popolazione. Questo dato conferma quanto era emerso da precedenti lavori sui marcatori classici (Cappello *et al.*, 1996) sul cromosoma Y (Ghiani e Vona, 2002) e l'analisi della struttura matrimoniale caratterizzata da elevati tassi di endogamia e di consanguineità (Gatti, 1990).

Infatti, secondo il lavoro di Cappello *et al.* (1996) il Nuorese è incluso nell'area che viene definita come "arcaica" e proto-sarda, cioè una delle parti più conservative sotto l'aspetto genetico della popolazione sarda.

Un'altra osservazione riguarda la Sicilia. Attraverso le Alu viene confermata la differenziazione tra l'area orientale e quella occidentale della Sicilia precedentemente evidenziata in altri lavori (Piazza *et al.*, 1988; Guglielmino *et al.*, 1991; Ghiani *et al.*, 2002). Attraverso lo studio dei cognomi Guglielmino *et al.* (1991) avevano identificato quattro differenti aree e una separazione importante nella direzione est-ovest dell'isola. Barriere genetiche interne alla Sicilia, che in parte coincidono con quelle indicate da Guglielmino *et al.* (1991), erano state identificate da Ghiani *et al.* (2002) in un recente lavoro sui marcatori classici.

La Sicilia è stata nel corso della sua storia teatro di numerose invasioni e dominazioni con influssi culturali e genetici di popolazioni diverse. Nell'area orientale ancora oggi è possibile rintracciare influssi genetici derivanti dalla dominazione greca (Piazza, 1991), mentre nella parte occidentale si conservano tracce della presenza dei Fenici e dei Normanni. Non va inoltre trascurata l'influenza della dominazione araba (Vona *et al.*, 1998). I valori di eterozigosità, tra i più elevati, e la posizione nel grafico della distanza dal centroide trovano una valida spiegazione nella storia della Sicilia che è stata sempre, per la sua posizione geografica, un punto di passaggio e di incontro di gruppi mediterranei con effetti però diversi all'interno dell'isola.

I due campioni che rappresentano la popolazione della Corsica mostrano una certa differenziazione dalla Francia. Anche questo confronto conferma le osservazioni sui rapporti genetici tra queste popolazioni, sottolineati da precedenti lavori (Harich *et al.*, 2002; Vona *et al.*, 2002; Vona *et al.*, 2003). Nonostante l'importante ruolo svolto sul piano politico dalla Francia

nella storia e nelle relazioni attuali con la Corsica, le due popolazioni appaiono marcatamente distinte sotto l'aspetto genetico.

La collocazione dei Berberi del Marocco nel plot dell'R-matrix e nel grafico dell'eterozigosità rispetto al centroide non sorprende, in quanto anche precedenti studi (Harich *et al.*, 2002; Gonzalez-Perez *et al.*, 2003) sulle popolazioni dell'area mediterranea avevano proposto una differenziazione dei Berberi dalle popolazioni nord africane in genere e rispetto alle altre popolazioni euro-mediterranee in particolare. L'elevata eterozigosità potrebbe essere l'effetto degli scambi che i Berberi hanno avuto con le altre popolazioni del nord Africa, specialmente con quelle di lingua araba (Harich *et al.*, 2002).

Lo studio di alcuni marcatori del cromosoma Y (Cinnioglu *et al.*, 2004) aveva posto in evidenza come la Turchia possa considerarsi sia un punto di partenza sia un punto di arrivo di flussi genici diversi. Questa osservazione può rendere ragione della particolare posizione occupata dalla Turchia nel novero delle popolazioni del nostro lavoro. Un lavoro sul sistema HLA (Arnaiz-Villena *et al.*, 2001) aveva già messo in evidenza una forte caratterizzazione dei Turchi rispetto alle popolazioni Mediterranee, che viene ribadita dai nostri risultati.

Dai risultati ottenuti e dalle conferme che ne derivano scaturisce un'osservazione generale: le Alu possono considerarsi dei buoni marcatori da impiegare nelle analisi popolazionistiche non solo a livello continentale, ma anche a livello microgeografico.

Ringraziamenti. Il lavoro è stato finanziato con i fondi PIC-INTERREG III (V.G. e V.L.) e fondi ex 60 % dell'Università di Cagliari (V.G. e C.M.C.).

Bibliografia

- Arcot, S.S., Adamson, A.W., Risch, G.W., LaFleur, J., Robichaux, M.B., Lamerdin, J.E., Carrano, A.V., e Batzer, M.A., 1998, High-resolution cartography of recently integrated human chromosome 19-specific Alu fossils. *J. Mol. Biol.*, 281, 843-56.
- Arnaiz-Villena, A., Karin, M., Bendikuze, N., Gomez-Casado, E., Moscoso, J., Silvera, C., Oguz, F.S., Sarper Diler, A., de Pacho, A., Allende, L., Guillen, J., e Martinez Lazo, J., 2001, HLA alleles and haplotypes in the Turkish population: relatedness to Kurds, Armenians and other Mediterraneans. *Tissue Antigens*, 57, 308-317.
- Batzer, M., Stoneking, M., Alegria-Hartman, M., e Bazan, H., 1994, African origin of human-specific polymorphic Alu insertions. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91, 12288-12292.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., e Bonhomme, F., 2002, GENETIX 4.03, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Cappello, N., Rendine, S., Griffio, R., Mameli, G.E., Succa, V., Vona, G., e Piazza, A., 1996, Genetic analysis of Sardinia: I. Data in 12 polymorphisms in 21 linguistic domains. *Ann. Hum. Genet.*, 60, 125-141.
- Cavalli Sforza, L.L., e Edwards, A.W.F., 1967, Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Am. J. Hum. Gen.*, 19, 233-257.
- Cinnioglu, C., King, R., Kivisild, T., Kalfoglu, E., Atasoy, S., Cavalleri, G.L., Lillie, A.S., Roseman, C.C., Lin, A.A., Prince, K., Oefner, P., Shen, P., Semino, O., Cavalli-Sforza, L.L., e Underhill, P.A., 2004, Excavating Y-chromosome haplotype strata in Anatolia. *Hum. Genet.*, 114, 127-148.
- Comas, D., Calafell, F., Benchemsi, N., Helal, A., Lefranc, G., Stoneking, M., Batzer, M.A., Bertranpetit, J. e Sajantila, A., 2000, Alu insertion polymorphisms in NW Africa and the Iberian Peninsula: evidence for a strong genetic boundary through the Gibraltar Straits. *Hum. Genet.*, 107, 312-319.
- Edwards, M., e Gibbs, R.A., 1992, A human dimorphism resulting from loss of an Alu. *Genomics*, 14, 590-597.
- Gatti, A.M., 1990. L'area degli scambi matrimoniali in Sardegna tra il XVII e il XX secolo. In *Famiglia e matrimonio nella società sarda tradizionale*. A cura di A. Oppo, (Cagliari: La Tarantola) p. 171.

- Ghiani, M.E., Calò, C.M., Autuori, L., Mameli, G.E., Succa, V., Vacca, L., Cerutti, N., Rabino Massa, E., e Vona, G., 2002, New data on the genetic structure of the population of Sicily: Analysis of the Alia population (Palermo, Italy). *Am. J. Hum. Biol.*, 14, 1-11.
- Ghiani, M.E., e Vona, G., 2002, Y-chromosome-specific microsatellite variation in a population sample from Sardinia (Italy). *Coll. Antropol.*, 26, 287-401.
- Goldstein D. B., Linares A. R., Cavalli-Sforza L. L., and Feldman M. W., 1995. Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 92:6723-6727.
- Gonzalez-Perez, E., Via, M., Esteban, E., Lopez-Alomar, A., Mazieres, S., Harich, N., Kandil, M., Dugoujon, J.M., e Moral, P., 2003, Alu insertions in the Iberian Peninsula and north west Africa--genetic boundaries or melting pot? *Coll. Antropol.*, 27, 491-500.
- Guglielmino, C.R., Zei, G., e Cavalli-Sforza, L.L., 1991, Genetic and cultural transmission in Sicily as revealed by names and surnames. *Hum. Biol.*, 63, 607-627.
- Harich, N., Esteban, E., Chafik, A., Lopez-Alomar, A., Vona, G., e Moral, P., 2002, Classical polymorphisms in Berbers from Moyen Atlas (Morocco): genetics, geography, and historical evidence in the Mediterranean peoples. *Ann. Hum. Biol.*, 29, 473-487.
- Harpending, H.C., e Jenkins, T., 1973, Genetic distance among southern African populations. In: *Methods and theories in anthropological genetics*, M.H. Crawford e P.L. Workman editors (New Mexico: Albuquerque University) p. 177.
- Harpending, H.C., e Ward, R.H., 1982, Chemical systematics and human populations. In: *Biochemical aspects of evolutionary biology*, M. Nitecki editor (Chicago: University of Chicago Press) p. 213.
- Jorde, L.B., Bamshad, M.J., Watkins, W.S., Zenger, R., Fraley, A.E., Krakowiak, P.A., Carpenter, K.D., Soodyall, H., Jenkins, T., e Rogers, A.R., 1995, Origins and affinities of modern humans: a comparison of mitochondrial and nuclear genetic data. *Am. J. Hum. Genet.*, 57, 523-538.
- Lopez-Alomar, A., Esteban, E., Valveny, N., Via, M. Gonzalez, E., Bao, M., de Grado, M., Harich, N., Kandil, M., Zaoui, D. e Moral P., 1999, Distribución de inserciones Alu polimórficas en seis poblaciones del Mediterráneo occidental. En: *Investigaciones en Biodiversidad Humana*, editor T.A. Varala. (Universidad de Santiago de Compostela) p. 739-745.
- Moral, P., Bao, M., Gonzalez, E., Lopez-Alomar, A., Varesi, L., Memmi, M. e Vona, G., 1999, Alu polymorphisms in Corsica and Sardinia: new evidence for the genetic position of Corsican population within western Mediterranean. *Antropologia contemporanea monografia*, 77-85.
- Nasidze, I., Risch, G.M., Robichaux, M., Sherry, S.T., Batzer, M.A., e Stoneking, M., 2001, Alu insertion polymorphisms and the genetic structure of human populations from the Caucasus. *Europ. J. Hum Genet.*, 9, 267-272.
- Piazza, A., Cappello, E.N., Olivetti, E., e Rendine, S., 1988, A genetic history of Italy. *Ann. Hum. Genet.*, 52, 203-213.
- Piazza, A., 1991, L'eredità genetica nell'Italia antica. *Le Scienze*, 278, 62-69.
- Raymond, M., e Rousset. F., 1995, Genepop (ver. 1.2): a population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.*, 86, 248-249.
- Romualdi, C., Balding, D., Nasidze, I.S., Risch, G., Robichaux, M., Sherry, S.T., Stoneking, M., Batzer, M.A., e Barbujani, G., 2002, Patterns of human diversity, within and among continents, inferred from Biallilic DNA polymorphisms. *Genome Res*, 12, 602-612.
- Stoneking, M., Fontius, J.J., Clifford, S.L., Soodyall, H., Arcot, S.S., Saha, N., Jenkins, T., Tahir, M.A., Deinger, P.L., e Batzer, M.A., 1997, Alu insertion polymorphism and human evolution: evidence for a larger population size in Africa. *Genome Res.*, 7, 1061-1071.
- Tiret, L., Rigat, B., Visvikis, S., Breda, C., Corvol, P., Cambien, F., e Soubrier F., 1992, Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I- converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am. J. Hum. Genet.*, 51, 197-205.

- Tishkoff, S.A., Dietzsch, E., Speed, W., Pakstis, A.J., Kidd, J.R., Cheung, K., Bonne-Tamir, B., Santachiara-Benerecetti, A.S., Moral, P., e Krings, M., 1996, Global patterns of linkage disequilibrium at the CD4 locus and modern human origin. *Science*, 271, 1380-1397.
- Vona, G., Calò, C.M., Autuori, L., Mameli, G.E., Lixi, M.F., Ghiani, M.E., e Di Gaetano, C., 1998, Genetic structure of western Sicily. *Int. J. Anthropol.*, 2, 137-147.
- Vona, G., Memmi, M., Calò, C.M., Latini, V., Vacca, L., Succa, V., Ghiani, M.E., Moral, P., e Varesi, L., 2002, Genetic structure of the Corsican population (France): a review. In *Recent Res. Devel. Human Genet, Research Signpost*, 1, 147-164.
- Vona, G., Moral, P., Memmi, M., Ghiani, M.E., Varesi, L., 2003, Genetic structure and affinities of the Corsican population (France): Classical genetic markers analysis. *Am. J. Hum. Biol.*, 15, 151-163.
- Watkins, W.S., Ricker, C.E., Bamshad, M.J., Carroll, M.L., Nguyen, S.V., Batzer, M.A., Harpending, H.C., Rogers, A.R., Jorde, L.B., 2001, Patterns of ancestral human diversity: an analysis of Alu-insertion and restriction-site polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 68: 738-752.
- Watkins, W.S., Rogers, A.R., Ostler, C.T., Wooding, S., Bamshad, M.J., Brassington, A.M.E., Carroll, M.L., Nguyen, S.V., Walker, J.A., Ravi Prasad, B.V., Reddy, P.G., Das, P.K., Batzer, M.A., e Jorde, L.B., 2003, Genetic variation among world populations: inferences from 100 Alu Insertion Polymorphisms. *Genome Res.*, 13, 1607-1618.