

Aspetti biogeografici dell'evoluzione del cariotipo: il caso di *Thorectes intermedius* (Costa) (Coleoptera: Geotrupidae).*

M. STELLA COLOMBA*; MICHELE LUZZATTO**; ROBERTO VITTURI* e MARIO ZUNINO*

* *Istituto di Zoologia, Università di Palermo*

** *Dipartimento di Biologia Animale, Università di Torino*

Key words: Karyotype evolution, biogeography, *Thorectes intermedius*, Mediterranean area.

SUMMARY

For the first time in Coleoptera the intraspecific evolution of karyotype is investigated by means of Giemsa staining, AgNOR, C, and G banding techniques. The species we selected for this purpose, *T. intermedius* (Costa), is a common Geotrupid beetle, widespread in continental and insular C Mediterranean area in spite of its quite low dispersion power. Populations from 4 Sicilian and 1 Sardinian sites were investigated. Karyological characters were analyzed by means of cladistic techniques (Wagner Parsimony analysis using PHYLIP 3.5 c). The biogeographical aspects were studied by means of critical analysis of the minimum spanning tree connecting all sampling sites. The results of such analysis are discussed by comparing hypotheses on phylogenetic and biogeographic relationships among the investigated populations.

Il problema affrontato nella ricerca, i cui primi risultati vengono esposti in questa sede, riguarda distribuzioni apparentemente anomale di specie che, pur essendo dotate di un potere di dispersione estremamente basso, occupano vasti areali ampiamente discontinui o disgiunti, anche a causa di barriere ad alta efficacia e notevolmente antiche, con popolazioni che alle comuni analisi tassonomiche (morfologiche, morfometriche ecc.) risultano indifferenziate.

Una situazione di questo tipo è quella del Coleottero *Thorectes intermedius* (Costa), un geotrupide distribuito in un'ampia area del Mediterraneo centrooccidentale, sia nella sua frazione continentale che in quella insulare (fig. 1), spesso rappresentato da popolazioni numericamente molto abbondanti. *T. intermedius* è una specie microttera, l'adulto ha un regime alimentare saprocoprofago, è ampiamente eurifago ma predilige in fase di nidificazione pedotrofica le deiezioni del coniglio selvatico. Una serie di semplici esperimenti preliminari hanno evidenziato che la sua sopravvivenza a contatto con l'acqua marina,

Ricerca effettuata con finanziamenti M.U.R.S.T. 60% e 40%.

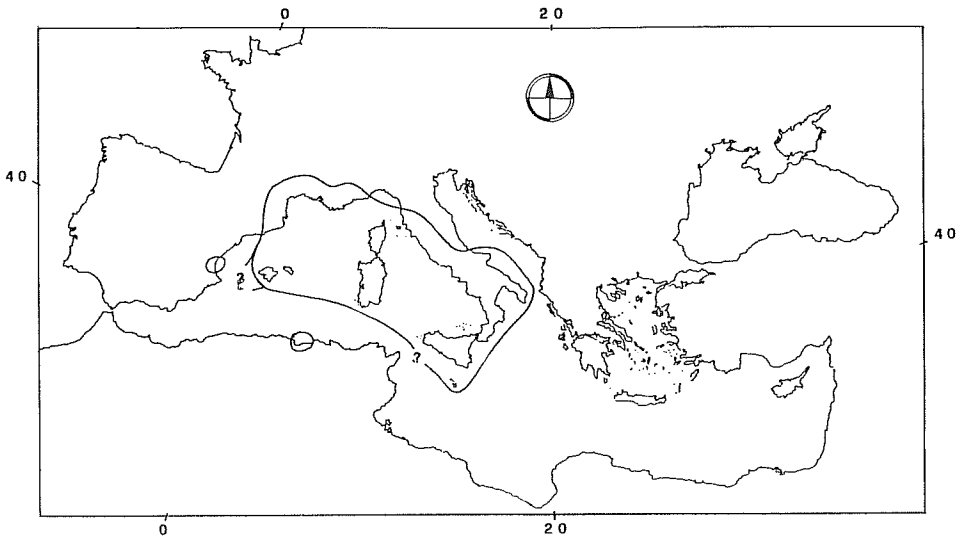


Fig. 1 - Limiti dell'areale di *Thorectes intermedius* (Costa). Modificato da Crovetti, 1970. Dati successivi secondo Baraud, 1985, 1992 e originali inediti.

anche quando vengono forniti piccoli supporti flottanti, non sembra superare le due ore. Tutto ciò lascia ritenere che il potere di dispersione, attivo e passivo, di *T. intermedius* sia notevolmente basso. L'alto numero di endemiti microareali (cfr. Baraud, 1985; id., 1992) che rappresentano il genere contribuisce a far ritenere quantomeno enigmatica la situazione di *T. intermedius*, e a considerare tale specie come un buon modello biologico per studiare i problemi in questione.

In questa fase della ricerca sono stati studiati campioni provenienti da quattro località siciliane e una sarda. Delle prime, due (Bellolampo e Segesta) sono ubicate nella Sicilia nordoccidentale. Marettimo, la più occidentale delle Egadi, è separata dalla costa siciliana da un braccio di mare di 34 km, interrotto per 12 km dall'interposizione dell'isola di Favignana. La sua storia geologica e biotica è controversa (cfr. Francini Corti e Lanza, 1973; Ruggieri, 1973; Agnesi et al., 1993), soprattutto per quanto concerne la sua antichità e i suoi eventuali rapporti di continuità con Favignana e la terraferma.

Ustica dista dalla costa siciliana 54 km. Si tratta di un'isola vulcanica, separata dalla Sicilia da un braccio di mare anche molto profondo (oltre 2200 m) e non sembra aver avuto mai rapporti di continuità con altre terre emerse (Romano e Sturiale, 1971). Caprera infine, separata dalla costa sarda da un tratto di mare di soli tre chilometri, dista da Ustica ben 420 km.

Un minimo di 11 individui maschi per ogni località è stato studiato dal punto di vista citologico.

I preparati cromosomici sono stati ottenuti dai follicoli testicolari mediante la tecnica dell'air-drying modificata (Vitturi, 1992). Per l'analisi convenzionale

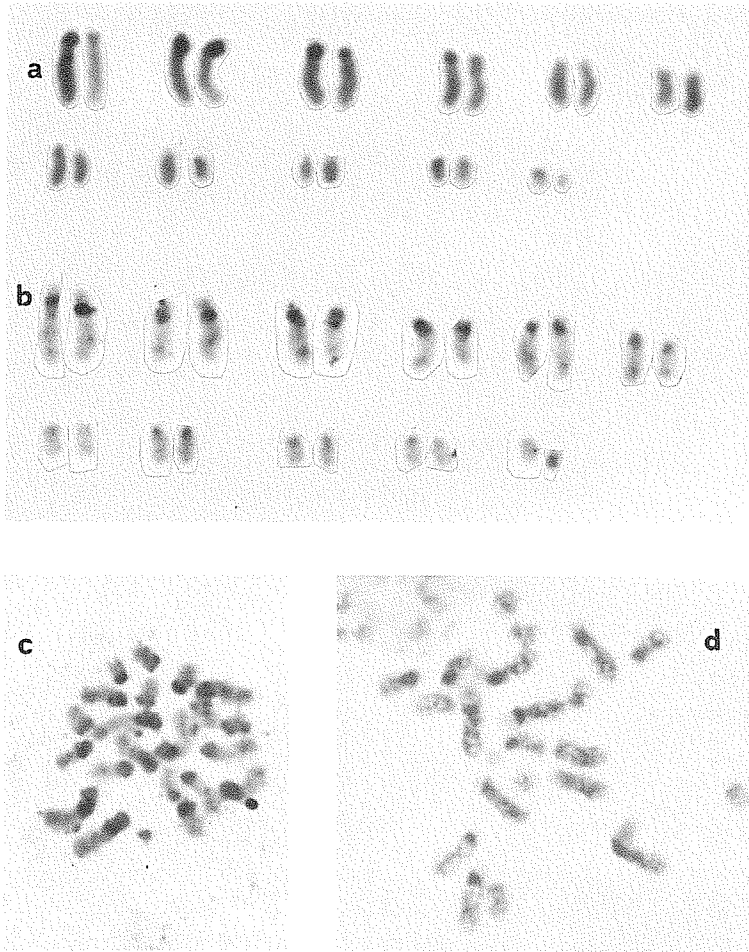


Fig. 2 - *Thorectes intermedius*, popolazione di Ustica. a: cariotipo convenzionale Giemsa; b: cariotipo C; c: metafase spermatogonale bandeggiata NOR; d: metafase spermatogonale bandeggiata G.

delle piastre mitotiche alcuni sono stati colorati direttamente con una soluzione di Giemsa al 5% tamponata a pH 6.8. Le regioni degli organizzatori nucleolari (NORs) sono state evidenziate mediante la tecnica descritta da Howell e Black (1980). Il bandeggio C è stato ottenuto secondo il metodo di Sumner (1972). Per identificare le bande G si è utilizzata la tecnica descritta da Seabright (1971).

I risultati ottenuti sono esemplificati nella fig. 2, relativa alla popolazione di Ustica.

Tali risultati hanno permesso di rilevare 38 caratteri, dei quali 27 binari e 11 multistato (cfr. tab. I). Questi ultimi sono stati trasformati in caratteri binari

Tab. I - Sequenza dei caratteri analizzati e loro codifica.

1	2n=22			(0)			
2	coppia	1	monoarmed	(0)	biarmed	(1)	
3	coppia	2	monoarmed	(0)	biarmed	(1)	
4	coppia	3	monoarmed	(0)	biarmed	(1)	
5	coppia	4	monoarmed	(0)	biarmed	(1)	
6	coppia	5	monoarmed	(0)	biarmed	(1)	
7	cromosoma	X	monoarmed	(0)	biarmed	(1)	
8	cromosoma	Y	submetacentrico	(0)	metac.	(1)	
9	cromosoma	1	Cband centrometrica	(0)	assente	(1)	
10	cromosoma	2	Cband centrometrica	(0)	assente	(1)	
11	cromosoma	3	Cband centrometrica	(0)	assente	(1)	
12	cromosoma	4	Cband centrometrica	(0)	assente	(1)	
13	cromosoma	5	Cband centrometrica	(0)	assente	(1)	
14	cromosoma	6	Cband centrometrica	(0)	assente	(1)	
15	cromosoma	7	Cband centrometrica	(0)	assente	(1)	
16	cromosoma	8	Cband centrometrica	(0)	assente	(1)	
17	cromosoma	9	Cband centrometrica	(0)	assente	(1)	
18	cromosoma	10	Cband centrometrica	(0)	assente	(1)	
19	cromosoma	X	Cband centrometrica	(0)	assente	(1)	
20	cromosoma	1	Cband braccio corto	(0)	assente	(1)	
21	cromosoma	2	Cband braccio corto	(0)	assente	(1)	
22	cromosoma	3	Cband braccio corto	(0)	assente	(1)	
23	cromosoma	4	Cband braccio corto	(0)	assente	(1)	
24	cromosoma	5	Cband braccio corto	(0)	assente	(1)	
25	cromosoma	6	Cband braccio corto	(0)	assente	(1)	
26	cromosoma	1	Cband assente	(0)	centrale	(1)	interstiziale (2)
27	cromosoma	2	Cband assente	(0)	centrale	(1)	interstiziale (2)
28	cromosoma	3	Cband assente	(0)	centrale	(1)	interstiziale (2)
29	cromosoma	4	Cband assente	(0)	centrale	(1)	interstiziale (2)
30	cromosoma	5	Cband assente	(0)	centrale	(1)	interstiziale (2)
31	cromosoma	6	Cband assente	(0)	centrale	(1)	interstiziale (2)
32	cromosoma	7	Cband assente	(0)	centrale	(1)	interstiziale (2)
33	cromosoma	8	Cband assente	(0)	centrale	(1)	interstiziale (2)
34	cromosoma	9	Cband assente	(0)	centrale	(1)	interstiziale (2)
35	cromosoma	10	Cband assente	(0)	centrale	(1)	interstiziale (2)
36	cromosoma	X	Cband assente	(0)	centrale	(1)	interstiziale (2)
37	cromosoma	4	G ass. interb. chiara	(0)	presenza	(1)	
38	cromosoma	4	G ass. doppia banda	(0)	presenza	(1)	

utilizzando il Programma Factor contenuto nel pacchetto informatico PHY-LIP 3.5c (Felsenstein, 1993). Si è quindi ricavata una matrice binaria (tab. II), che è stata sottoposta ad analisi di parsimonia secondo Wagner utilizzando il programma Mix dello stesso pacchetto informatico e l'opzione Jumble per ripetere l'analisi più volte (10), randomizzando l'ordine delle località. Dei 49 caratteri binari, solo 9 sono risultati effettivamente informativi ai fini dell'analisi, gli altri essendo costanti o autoapomorfie. Il cladogramma così ottenuto è stato confrontato con l'albero di massima propinquità che connette le località indagate (fig. 3). Si è preferito utilizzare questo tipo di grafo, in accordo con le idee di Rapoport (1975), perché essendo basato esclusivamente sui rapporti di vicinanza, sembra più adeguato di altri, come gli alberi di Steiner (cfr. Zunino et al., 1995; Zunino e Zullini, 1995) per l'analisi di relazioni fra popolazioni conspecifiche.

Da tale confronto si può ricavare quanto segue:

Tab. II - a: matrice contenente i 38 caratteri originali; b: matrice binaria derivata dalla precedente.

a				
Marettimo	000000000	000000001	1111111211	11120101
Segesta	010001000	000000000	0000011110	10000100
Bellolampo	000000000	000000000	0000011110	10000100
Ustica	001100000	000000001	1100011110	11021100
Caprera	011000000	000000000	0000011111	11121110

b					
Marettimo	000000000	000000001	1111110100	1101010101	001001001
Segesta	010001000	000000000	0000010101	0100010000	000001000
Bellolampo	000000000	000000000	0000010101	0100010000	000001000
Ustica	001100000	000000001	1100010101	0100010100	001101000
Caprera	011000000	000000000	0000010101	0101010101	001101010

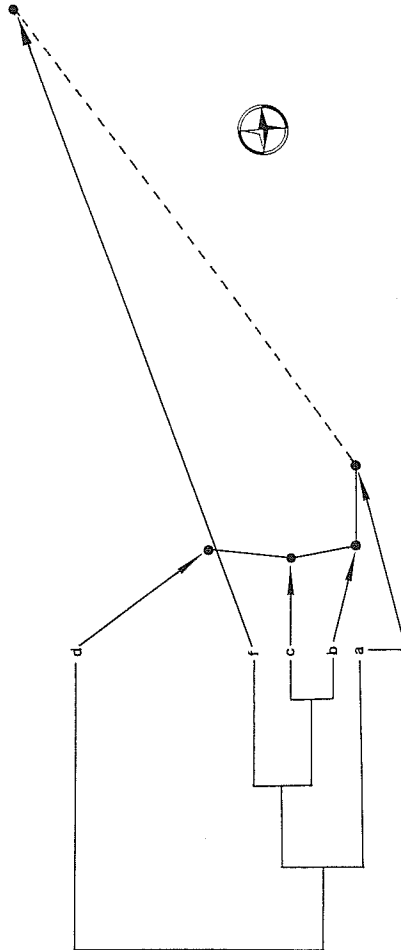


Fig. 3 - Proiezione del cladogramma delle possibili relazioni fra le popolazioni indagate sul diagramma dei rapporti spaziali fra le rispettive stazioni. a=Ustica; b=Bellolampo; c=Segesta; d=Marettimo; f=Caprera.

a) i campioni della terraferma siciliana (Segesta e Bellolampo) sono così affini, da far ritenere che non ci si trovi in presenza di due popolazioni, bensì di frazioni di un'unica popolazione. Benché si renda necessaria l'analisi di un più abbondante materiale, tale ipotesi è suffragata anche dal fatto che le due stazioni, pur distando fra loro di più che Segesta da Marettimo, non sono separate da fasce di anisotropia negativa ad alta efficacia per la specie.

b) il campione di Caprera, che per motivi evidenti potrebbe risultare omogeneo almeno con la frazione settentrionale del popolamento della terraferma sarda, dimostra le maggiori affinità con il materiale siculo.

c) la popolazione di Ustica è risultata più affine al complesso delle precedenti, che direttamente a quella della terraferma siciliana. Da un punto di vista teorico comunque, ciò non presenta gravi problemi di interpretazione, in quanto il popolamento di *Thorectes intermedius* di tale isola non può essere che il risultato di un fenomeno di dispersione aleatoria. Il suo differenziamento cariotipico potrebbe quindi essere imputato ad un effetto fondatore, e/o a fattori di ordine cronologico.

d) la separazione, relativamente cospicua, della popolazione di Marettimo, che presenta fra l'altro ben cinque caratteri possibilmente autoapomorfi, si presta ad interpretazioni diverse. Potrebbe rappresentare l'esito di un'antica colonizzazione da parte di uno stock proveniente dall'area occidentale sicula, o quello di una colonizzazione più recente, a partire dalla popolazione di Favignana, derivata a sua volta da quella siciliana. Una duplice dispersione aleatoria, nei cui esiti oggi valutabili sarebbero implicati due successivi effetti fondatore. Entrambe tali interpretazioni non contrastano con le ipotesi paleogeografiche relative all'isola in questione, e più in generale a rapporti paleogeografiche relative all'isola in questione, e più in generale a rapporti fra le Egadi e la terraferma siciliana. Infatti, sia che si accetti l'ipotesi di Ruggieri (cit.) di una Marettimo «corpo estraneo» nell'area siciliana, di antica origine ma che ebbe contatti secondari con la terraferma sicula, sia che si ritenga con Agnesi et al. (cit.) che tali contatti non si sono avuti, l'ipotesi di una dispersione di origine sicula rimane vigente. Una terza ipotesi possibile è che si tratti invece di una popolazione ampiamente plesiomorfa, a carattere relitto e insediata in situ da tempi relativamente remoti. Tale ipotesi non contrasta con i risultati dell'analisi cladistica: in questa fase della ricerca infatti, per motivi evidenti, gli stati dei caratteri considerati non sono ordinati e l'albero che ne risulta non è radicato. Dal punto di vista paleogeografico, tale ipotesi si accorderebbe con l'idea di Ruggieri (cit.) e con le affermazioni di Francini e Lanza (cit.) sulle relazioni africane del popolamento di Marettimo. In tal caso, evidentemente, un processo di dispersal di verso opposto a quello invocato nelle ipotesi precedenti potrebbe essere all'origine del popolamento della terraferma siciliana.

È palese che allo stato attuale le ipotesi appena riportate sono altamente speculative, così come qualsiasi supposizione sulle cause delle strette relazioni che emergono, in base ai dati disponibili, fra il popolamento sardo e quello siciliano di *Thorectes intermedius*. Un coinvolgimento delle microzolle della

placca di Alboran (cfr. La Greca, 1990) sembra poco probabile, in quanto i tempi richiesti appaiono sufficienti per provocare fenomeni di divergenza specifica nei Geotrupidae (cfr. Zunino et al., in stampa).

Riteniamo comunque che la linea di ricerca, i cui primi risultati abbiano sintetizzato in questa sede, sia suscettibile di sviluppi interessanti, soprattutto in quanto l'indagine cariologica ha dimostrato non soltanto di permettere di discriminare popolazioni conspecifiche difficilmente o affatto separabili con le tecniche usuali, ma soprattutto di fornire una quantità di caratteri passibili di essere sottoposti con relativa facilità ad analisi cladistica, e di permettere di conseguenza un'indagine biogeografico-storica in quest'ordine di problemi. Per quanto concerne direttamente *Thorectes intermedius*, le indagini sinora condotte fanno emergere sia l'opportunità di estendere la ricerca ad un più alto numero di popolazioni, provenienti da stazioni che rappresentino l'intero areale della specie, sia la necessità di disporre di un out-group, di un campione di una specie strettamente affine, che consenta l'ordinamento degli stati dei caratteri e il radicamento del cladogramma.

RINGRAZIAMENTI

Al Prof. Achille Casale (Sassari) dobbiamo l'aver potuto studiare il materiale sardo, alla Dr. Claudia Palestrini (Torino) la disponibilità dei programmi di cladistica utilizzati in questa ricerca.

BIBLIOGRAFIA

- AGNESI V., MACALUSO T., ORRÙ P. e ULZEGA A., 1993 - Paleogeografia dell'arcipelago delle Egadi (Sicilia) nel Pleistocene superiore - Olocene. *Naturalista sicil.*, S. 4, 17 (1-2): 3-22.
- BARAUD J., 1985 - Coléoptères Scarabaeoidea. Faune du Nord de l'Afrique, du Maroc au Sinaï. Lechevalier, Paris, 650 pp.
- BARAUD J., 1992 - Coléoptères Scarabaeoidea d'Europe. Sté Linnéenne, Lyon, 856 pp.
- CROVETTI A., 1970 - Contributo alla conoscenza dei Coleotteri Scarabeidi. III: I *Thorectes* Mulsant della Sardegna (Coleoptera, Geotrupidae). *Studi sassaresi. Sez. III. Ann. Fac. Agraria*, 18 (1): 1-46.
- FELSENSTEIN J., 1993 - PHYLIP phylogeny inference package (vers. 3.5c). Distributed by the Author. Dept. of Genetics, Univ. of Washington, Seattle.
- FRANCINI CORTI E. e LANZA B., 1973 - XVIII Congresso della Società Italiana di Biogeografia: note conclusive sulla storia del popolamento animale e vegetale delle isole circumsiciliane. *Lavori S.I.B., N. S.*, 3: 911-918.
- HOWELL W.M. e BLACK D.A., 1980 - Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36: 1014-1015.
- LA GRECA M., 1990 - The insect biogeography of West Mediterranean iles. *Atti Acc. Naz. Lincei*, 85: 469-491.
- RAPOPORT E.H., 1975 - Areografia. Estrategias geográficas de las especies. F.C.E., México, 175 pp.
- ROMANO R. e STURIALE C., 1971 - L'isola di Ústica (Studio geovulcanologico e magmatologico). *Riv. Min. sic.*, 127: 21-79.
- RUGGIERI G., 1973 - Due parole sulla paleogeografia delle isole minori a ovest e a nord della Sicilia. *Lavori S.I.B., N.S.*, 3: 5-12.
- SEABRIGHT M., 1971 - A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet*, ii: 971-972.
- SUMNER A.T., 1972 - A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Expl. Cell Res.*, 75: 304-306.
- VITTURI R., 1992 - Conventionally stained chromosomes, constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Milax nigricans* (Gastropoda, Pulmonata). *Chromatine*, 1: 147-155.

ZUNINO M., BUFFA E., BARBERO E., PALESTRINI C. e ROGGERO A., 1995 - Ipotesi biogeografiche *versus* ipotesi filogenetiche. Il genere *Typhaeus* L. (Coleoptera: Geotrupidae) e il popolamento dell'area sarda. *Biogeographia*, **18**: 375-377.

ZUNINO M. e ZULLINI A., 1995 - Biogeografia. La dimensione spaziale dell'evoluzione. Ambrosiana, Milano, 310 pp.