

# Sistematica biochimica e rapporti evolutivi fra popolazioni e specie del genere *Troglophilus* nella penisola anatolica (Orthoptera)<sup>1</sup>

MARINA COBOLLI\*, VALERIO KETMAIER\*, ELVIRA DE MATTHAEIS\*,  
CLAUDIO DI RUSSO\*\*, DANILA MARSILI\*, MAURO RAMPINI\*

\*Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo (Zoologia),  
Università di Roma "La Sapienza", Viale dell'Università, 32 - I-00185 Roma (Italia)

\*\*Dipartimento di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata",  
Via Orazio Raimondo - I-00173 Roma (Italia)

Key words: speciation, cave crickets, allozymes, *Troglophilus*, paleoenvironment.

## SUMMARY

The cave cricket species belonging to the genus *Troglophilus* (Orthoptera, Rhaphidophoridae) are discontinuously distributed in the East-Mediterranean area. In this study we have used allozyme markers to investigate the levels of genetic differentiation and evolutionary relationships among several cave populations of Anatolian peninsula, from the Taurus mountain between Isparta and Adana towns. The analysis of allozyme polymorphisms allowed us to recognise 4 well distinct gene pools (Nei's genetic distance ranging from 0.45 to 0.83), including the nominal species *T. adamovici* and *T. gajaci* plus two genetically well differentiated forms. Interesting enough is the syntopic co-presence of the latter two forms with the more widespread *T. adamovici*. Genetic relationships among study populations and species are discussed at the light of the paleoenvironment of the Anatolian peninsula.

## INTRODUZIONE

Il genere *Troglophilus* appartiene alla famiglia Rhaphidophoridae, considerata una delle più primitive fra gli Ortoteri Ensiferi (Hubbell e Norton, 1978) e attualmente suddivisa in 5 sottofamiglie. I caratteri di primitività sono individuabili tanto nella morfologia che nel pattern di distribuzione geografica. Da un punto di vista morfologico la caratteristica più evidente è la mancanza delle ali, simpleiomorfia che si deve essere sviluppata a partire dai più antichi Rafidoforidi. La condizione attera deve averne inoltre pesantemente condizionato la possibilità di dispersione, limitandola a una contiguità di terre emerse. Al giorno d'oggi i rappresentanti di questa famiglia sono confinati essenzialmente nelle zone tempera-

<sup>1</sup> Ricerche zoologiche dell'Università di Roma nel vicino Oriente: 190. Questo lavoro è stato svolto grazie ai fondi del Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (MURST 40%) e del Consiglio Nazionale delle Ricerche, CNR (Comitato Ambiente).

te di entrambi gli emisferi (Nuova Zelanda, Australia, Africa, America, Eurasia) e la loro presenza in aree tropicali dell'Estremo Oriente è stata interpretata da Hubbell e Norton (1978) come il risultato di eventi di colonizzazione piuttosto recenti. La spiegazione più plausibile di un simile pattern di distribuzione sarebbe da ricercare in un'origine molto antica, riferibile a un periodo precedente alla frammentazione della Pangea, quindi non dopo l'inizio del Giurassico. In area mediterranea sono attualmente presenti due soli generi (*Dolichopoda* e *Troglophilus*), le cui specie sono tutte più o meno legate all'ambiente sotterraneo. Il passaggio dall'ambiente forestale, considerato tipico dei Rafidoforidi, a quello cavernicolo è stato posto in relazione al progressivo raffreddamento del clima a partire dal Miocene Medio, che avrebbe spinto questi organismi a ricercare nelle grotte le condizioni di umidità e temperatura necessarie alla loro sopravvivenza. Il genere *Troglophilus* presenta una distribuzione mediterranea orientale, con 12 specie nominali presenti dall'Anatolia, alla Grecia insulare, penisola Balcanica, Alpi Dinariche, Alpi Orientali, Prealpi Venete, Lombarde e alla Puglia.

In Turchia la prima citazione riguardante questi ortotteri risale al lavoro di Bolivar (1899), che si riferisce alle raccolte effettuate da Martinez Escalera nel suo viaggio in Asia Minore e descrive la prima specie nota per l'area: *T. escaleraei*. Si dovrà arrivare al lavoro di Us (1973) per ritrovare nella letteratura zoologica notizie sui *Troglophilus* dell'Anatolia; in questa occasione Us descrive due nuove specie, *T. adamovici* e *T. gajaci* e ridescrive *T. escaleraei*, su materiale raccolto però in aree piuttosto distanti dalla località tipica. Negli stessi anni venivano effettuate le prime campagne di ricerca nel Vicino Oriente da parte degli zoologi romani, ma i campioni di Rafidoforidi raccolti sia nel Tauro di Pisidia che più a est non sono mai stati oggetto di pubblicazione. In questo lavoro vengono riportati i dati sui livelli di differenziamento genetico fra diverse popolazioni campionate nell'area anatolica. I risultati si riferiscono a raccolte recenti, effettuate allo scopo di chiarire, mediante l'analisi dei polimorfismi enzimatici, la sistematica e le relazioni evolutive in questo gruppo di ortotteri per l'area anatolica.

## MATERIALI E METODI

Sono stati studiati i polimorfismi enzimatici, mediante elettroforesi orizzontale su gel d'amido, di 6 campioni provenienti da altrettante grotte anatoliche. Fra questi, 5 erano a priori ascrivibili a *T. adamovici* (comprendendo la Grotta Zindan, località tipica della specie e 4 stazioni limitrofe), mentre il sesto proveniva dalla grotta Cennet, località tipica di *T. gajaci* (Fig. 1; Tab. I). L'analisi dei polimorfismi enzimatici è stata condotta su di un lotto di 14 proteine enzimatiche: Fosfatasi acida (ACPH; E.C.N° 3.1.3.2);  $\alpha$ -Amilasi ( $\alpha$ -AMY; E.C.N° 3.2.1.1); Aldeide ossidasi (AO; E.C.N° 1.2.3.1); Carbonico anidrasi (CA; E.C.N° 4.2.1.1); Creatina chinasi (CK; E.C.N° 2.7.3.2); Esterasi (EST; E.C.N° 3.1.1.1); Esochinasi (HK;

E.C.N°.2.7.1.1); Isocitrato deidrogenasi (IDH; E.C.N.1.1.1.42); Lattato deidrogenasi (LDH; E.C.N°.1.1.1.27); Mannosio fosfato isomerasi (MPI; E.C.N°.5.3.1.8); Peptidasi (PEP; E.C.N°.3.4.13); Fosfoglucomutasi (PGM; E.C.N°.2.7.5.1); Fosfoesosoisomerasi (PHI; E.C.N°.5.3.1.9); Tetrazolium ossidasi (TO; E.C.N°.1.15.1.1). Dettagli sui tamponi e le tecniche di colorazione utilizzate sono riportati in Cobolli Sbordoni et al. (1996) e De Matthaeis et al. (1998).

Il grado di variabilità genetica delle popolazioni studiate è stato stimato con i seguenti parametri:  $A$ = numero medio di alleli per locus;  $P$ = percentuale di loci polimorfici (criterio del 99%);  $H_o$ = eterozigosi media osservata e  $H_a$ = eterozigosi media attesa all'equilibrio di Hardy-Weinberg. Per ciascun parametro è stato calcolato l'errore standard ( $E.S.$ ).

Tab. I - Località di raccolta e sigla delle popolazioni di *Troglophilus* studiate.

Grotta	Sigla	Località	Quota (s.l.m.)	Data di raccolta
Zindan*	ADA1	Egirdir (Vil. Isparta)	1200 m	13/10/96; 26/9/98
Ferzene	ADA2	Seydisehir (Vil. Konya)	1450 m	12/10/96; 27/9/98
Tinaztepe	ADA4	Seydisehir (Vil. Konya)	1550 m	9/10/96; 27/9/98
Balatini	ADA3	Beysehir (Vil. Konia)	1350 m	10/10/96; 28/9/98
Korukini	ADA5	Beysehir (Vil. Konya)	1250 m	8/10/96
Cenner**	GAI	Silifke (Vil. Icel)	150 m	13/10/96

\* località tipica di *T. adamovici*; \*\* località tipica di *T. gajaci*.

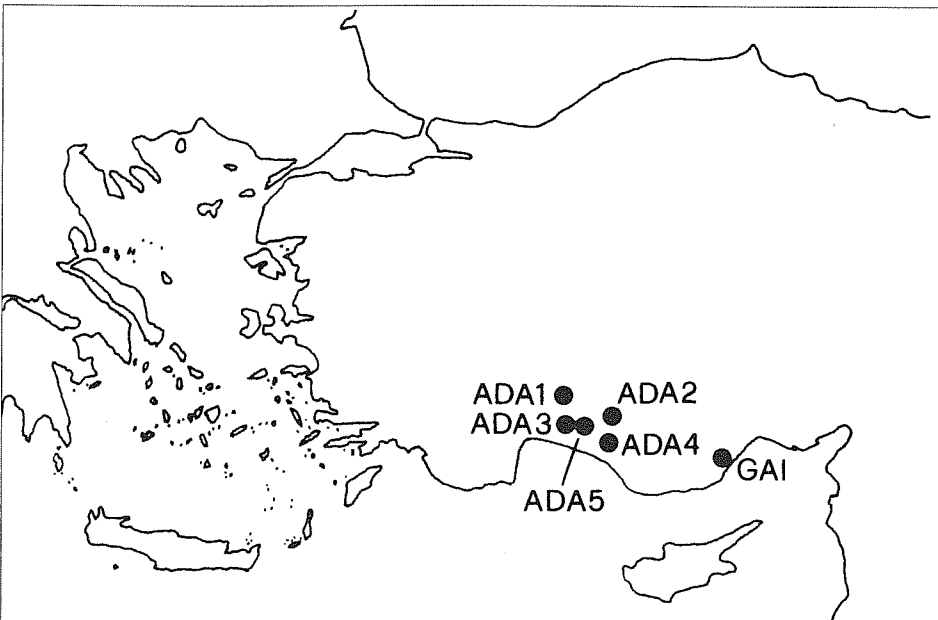


Fig. 1 - Località di raccolta dei campioni di *Troglophilus* anatolici studiati.

È stata condotta un'Analisi delle Componenti Principali sui profili genotipici multilocus di tutti gli individui saggiati. La matrice dei dati in entrata è stata preparata in modo tale che le righe rappresentassero i singoli individui e le colonne i differenti alleli ai singoli loci. Ciascun individuo viene quindi descritto dalla presenza (codificata come 1) o dall'assenza (0) di un insieme di variabili (alleli) a tutti i loci studiati. In questo modo si può evitare un'assegnazione a priori di un dato individuo a una certa specie.

È importante sottolineare che i caratteri specie-specifici in questo gruppo di ortotteri sono evidenti solo negli adulti mentre i sub-adulti non consentono una discriminazione sicura; data l'esigua dimensione delle popolazioni cavernicole non sempre è stato possibile reperire individui adulti da sottoporre all'analisi genetica.

Il differenziamento genetico fra le popolazioni e specie studiate è stato quantificato mediante l'indice di distanza genetica  $D$  (Nei, 1978). I rapporti fra le popolazioni analizzate sono stati rappresentati graficamente, sulla base dei valori di  $D$ , mediante il metodo UPGMA (Sneath e Sokal, 1973).

I programmi utilizzati nelle analisi dei dati sono BIOSYS-1 (Swofford e Selander, 1981) e STATISTICA per Windows.

## RISULTATI

I 14 enzimi saggiati hanno consentito la lettura di 19 zone di attività interpretate come altrettanti loci strutturali (*Acph*;  $\alpha$ -*Amy*; *Ao-1*; *Ao-2*; *Ca-1*; *Ca-2*; *Ca-3*; *Ck*; *Est-1*; *Est-2*; *Hk*; *Idh*; *Ldh*; *Mpi*; *Pep-1*; *Pep-2*; *Pgm*; *Phi*; *To*). Di questi, sei sono risultati polimorfici in almeno una popolazione ( $\alpha$ -*Amy*; *Ao-1*; *Ca-1*; *Idh*; *Mpi*; *Pep-2*), mentre quattro sono fissati per lo stesso allele in tutte le popolazioni (*Est-1*; *Est-2*; *Ldh*; *To*). I fenotipi elettroforetici per nove dei 19 loci saggiati (*Acph*; *Ca-1*; *Ca-2*; *Ck*; *Idh*; *Mpi*; *Pep-1*; *Pep-2*; *Phi*) hanno evidenziato una notevole eterogeneità allozimica nei campioni ADA2 e ADA3, con la coesistenza di individui caratterizzati da genotipi fissati per alleli diversi, senza eterozigoti; questa osservazione ha indotto a separare i campioni in due sottocampioni, ADA2a-ADA2b e ADA3a-ADA3b che sono stati quindi analizzati separatamente.

I livelli di variabilità genetica sono risultati piuttosto difformi:  $P$  varia da 0.0 (ADA1; ADA2a) a 21.1 (GAI),  $H_o$  è compresa fra 0.000 (ADA1; ADA2a; ADA5) e  $0.110 \pm 0.072$  (ADA2b) infine  $H_a$  varia da 0.000 (ADA1; ADA2a) a  $0.076 \pm 0.042$  (ADA2b). Le frequenze alleliche e le stime di variabilità genetica sono riportate in Tab. II.

La suddivisione in due sottocampioni di ADA2 e ADA3 è stata confermata anche dall'analisi dei valori di  $D$  riportati in Tab. III:  $D$  è risultata infatti pari a 0.708 fra ADA2a e ADA2b e pari a 0.457 fra ADA3a e ADA3b. Il valore più elevato di  $D$  (0.827) è comunque emerso dal confronto fra la popolazione tipi-

Tab. II - Frequenze alleliche e stime di variabilità genetica nelle popolazioni studiate. N è il numero di esemplari saggiati, le lettere indicano i singoli alleli ai diversi loci. Per le sigle dei parametri di variabilità vedi Materiali e Metodi.

Locus/Pop.	ADA1	ADA2a	ADA2b	ADA3a	ADA3b	ADA4	ADA5	GAI
<i>Acpb</i>								
N	11	11	13	13	13	18	13	19
A	1.000	1.000	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
B	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i><math>\alpha</math>-Amy</i>								
N	17	14	10	3	12	16	12	3
A	0.000	0.000	0.500	0.333	0.000	0.000	0.000	0.333
B	1.000	1.000	0.500	0.667	1.000	1.000	1.000	0.667
<i>Ao-1</i>								
N	13	23	5	14	12	8	2	19
A	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
B	0.000	0.000	0.500	0.000	0.000	0.313	0.500	0.000
C	1.000	1.000	0.500	1.000	1.000	0.687	0.500	0.000
<i>Ao-2</i>								
N	14	14	15	17	13	18	12	19
A	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
B	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Ca-1</i>								
N	13	17	11	17	13	14	13	14
A	1.000	1.000	0.000	1.000	0.000	1.000	1.000	0.321
B	0.000	0.000	1.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.679
<i>Ca-2</i>								
N	15	17	14	17	13	14	13	14
A	1.000	1.000	0.000	1.000	0.000	1.000	1.000	0.000
B	0.000	0.000	1.000	0.000	1.000	0.000	0.000	1.000
<i>Ca-3</i>								
N	19	16	16	14	13	13	18	14
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Ck</i>								
N	17	12	17	16	13	14	17	16
A	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000
B	1.000	1.000	0.000	1.000	0.000	1.000	1.000	0.000
C	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
<i>Est-1</i>								
N	22	12	17	17	13	18	13	19
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Est-2</i>								
N	22	12	17	17	13	18	13	19
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Hk</i>								
N	16	11	15	16	13	14	13	15
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Idlb</i>								
N	16	11	13	17	3	14	13	15
A	1.000	1.000	0.000	1.000	0.000	1.000	1.000	0.000
B	0.000	0.000	1.000	0.000	0.500	0.000	0.000	1.000
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500	0.000	0.000	0.000
<i>Ldlb</i>								
N	18	11	13	17	13	18	13	15
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Tab. II - Frequenze alleliche e stime di variabilità genetica nelle popolazioni studiate. N è il numero di esemplari saggiati, le lettere indicano i singoli alleli ai diversi loci. Per le sigle dei parametri di variabilità vedi Materiali e Metodi (segue).

Locus/Pop.	ADA1	ADA2a	ADA2b	ADA3a	ADA3b	ADA4	ADA5	GAI
<i>Mpi</i>								
N	14	12	12	16	16	14	13	12
A	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.208
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.792
C	1.000	1.000	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
D	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
E	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
F	0.000	0.000	0.792	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Pep-1</i>								
N	22	11	13	15	13	18	11	19
A	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
B	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000	1.000	1.000	0.000
C	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000
<i>Pep-2</i>								
N	22	11	15	17	13	18	13	19
A	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.053
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.947
C	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
D	1.000	1.000	0.000	1.000	0.000	1.000	1.000	0.000
E	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000
<i>Pgm</i>								
N	13	12	15	17	13	18	17	17
A	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
B	0.000	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
C	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
D	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
<i>Phi</i>								
N	17	12	19	17	13	18	13	14
A	1.000	1.000	0.000	1.000	0.000	1.000	1.000	0.000
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
C	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
D	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000
<i>To</i>								
N	20	11	15	17	13	18	12	19
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>A</i>	1.000	1.000	1.2±0.1	1.1±0.1	1.1±0.1	1.1±0.1	1.1±0.1	1.2±0.1
<i>P</i>	0.000	0.000	15.8	5.3	5.3	5.3	5.3	21.1
<i>Ho</i>	0.000	0.000	.11±.072	.035±.035	.018±.018	.007±.007	0.000	.037 ±.023
<i>Ha</i>	0.000	0.000	.076±.042	.028±.028	.032±.032	.024±.024	.035±.035	.075±.039

ca di *T. adamovici* (ADA1) e la popolazione tipica di *T. gajaci* (GAI), mentre il valore più basso (0.000) è risultato dal confronto fra ADA4 e ADA5.

In Fig. 2 è mostrata una rappresentazione grafica dell'ordinamento ottenuto mediante Analisi delle Componenti Principali sui profili multilocus di tutti gli individui saggiati. Il pattern di ordinamento è stato ottenuto dai primi due assi dell'Analisi delle Componenti Principali, che insieme spiegano il 78.79% della varianza totale dei dati. Si evidenzia il netto differenziamento degli individui caratterizzati da un profilo genotipico "non-adamovici" (ADA2b e ADA3b)

Tab. III - Stime di distanza genetica  $D$  (Nei, 1978) fra le popolazioni e specie di *Troglophilus* studiate.

Pop.	ADA1	ADA2a	ADA2b	ADA3a	ADA3b	ADA4	ADA5	GAI
ADA1	****							
ADA2a	0.111	****						
ADA2b	0.825	0.708	****					
ADA3a	0.117	0.059	0.588	****				
ADA3b	0.626	0.530	0.446	0.457	****			
ADA4	0.118	0.059	0.590	0.008	0.458	****		
ADA5	0.123	0.064	0.584	0.013	0.468	0.000	****	
GAI	0.827	0.709	0.452	0.708	0.505	0.697	0.691	****

rispetto ai rimanenti campioni, geneticamente piuttosto omogenei e ascrivibili quindi a *T. adamovici* (ADA1, ADA2a; ADA3a; ADA4; ADA5).

In Fig. 3 è riportato il dendrogramma UPGMA costruito sulla base dei valori di distanza genetica  $D$ . Si possono individuare due sottocluster principali, il primo comprendente la popolazione di *T. gajaci* (GAI) cui si legano, a un valore di  $D$  pari a 0.478, ADA2b e ADA3b, separate fra loro da un valore di  $D = 0.446$  e un secondo che riunisce le popolazioni di *T. adamovici* (ADA1, ADA2a, ADA3a, ADA4 e ADA5). Fra queste ultime ADA1 è risultata la più differenziata, con un valore medio di  $D$  pari a 0.117, dovuto alla presenza di due alleli alternativi fissati ai loci *Ao-2* e *Pgm*.

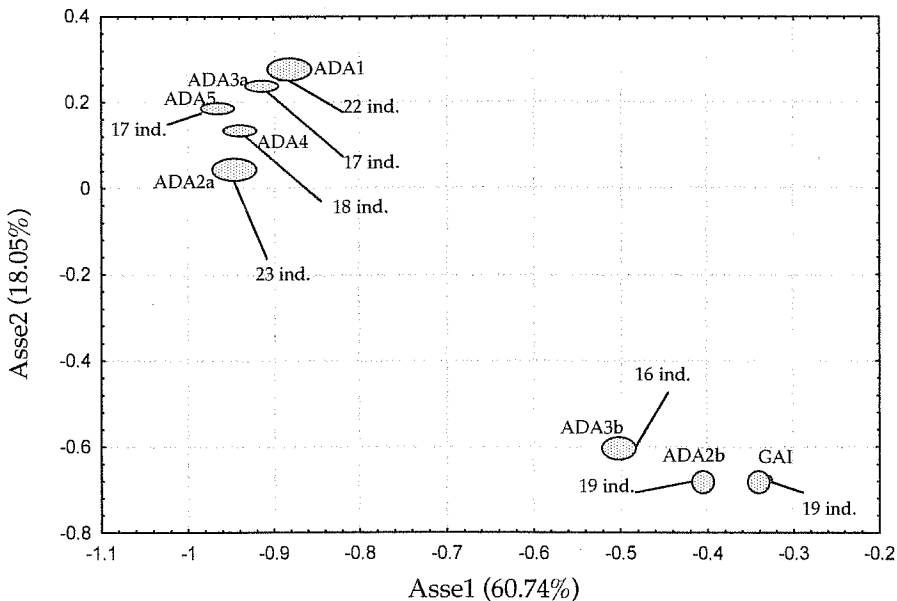


Fig. 2 - Pattern di ordinamento ottenuto mediante Analisi delle Componenti Principali condotta sui profili genotipici multilocus di tutti gli individui analizzati. Sono mostrati i primi due assi.

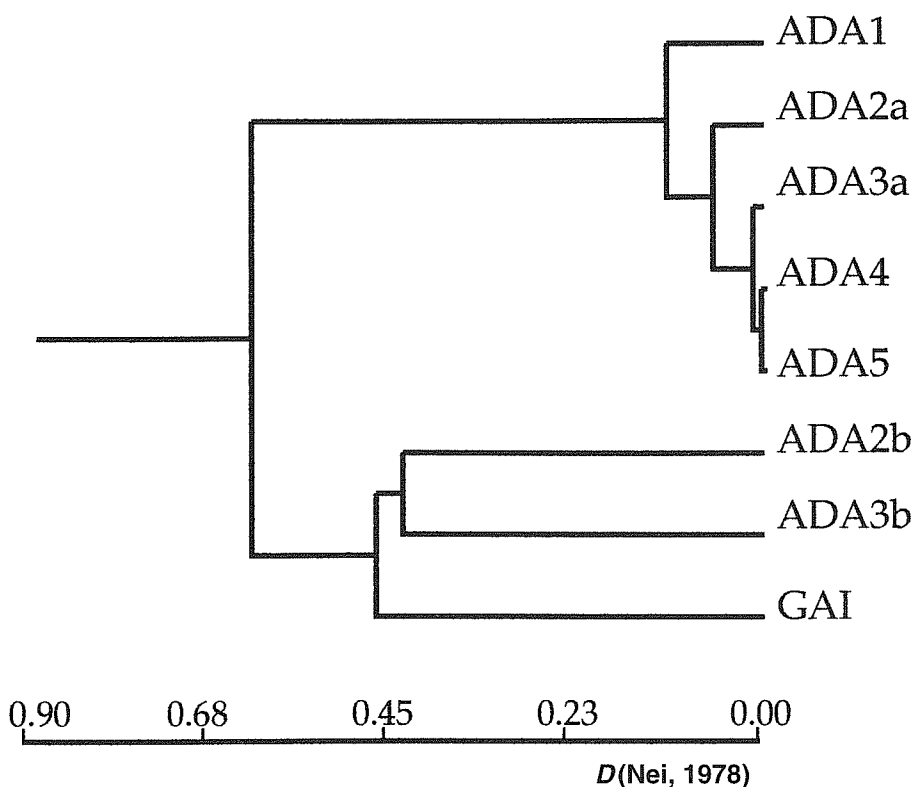


Fig. 3 - Dendrogramma UPGMA basato sulle distanze genetiche  $D$  (Nei, 1978) fra le popolazioni e specie studiate.

## DISCUSSIONE

I Rafidoforidi sono stati ampiamente utilizzati per tentare di chiarire i processi microevolutivi di adattamento e speciazione legati alla colonizzazione dell'ambiente cavernicolo. La maggior parte degli sforzi si sono concentrati sul genere *Dolichopoda* (Sbordoni et al., 1991), utilizzato come organismo guida nella comprensione della dinamica del popolamento delle grotte. In particolare, dati esaustivi sono disponibili per le specie italiane di *Dolichopoda*: in Sbordoni (1982) è riportato un valore medio di  $D_{\text{Nei, 1978}}$  (0.281) per quattro specie centro-italiane, mentre in Allegrucci et al. (1992a) il confronto è allargato a una quinta specie per un valore medio di  $D_{\text{Nei, 1978}}$  pari a 0.529. Molto meno abbondante è la letteratura riguardante studi genetici per il genere *Troglophilus*, essendo limitata a un unico lavoro (Sbordoni et al., 1981). In quella sede venivano confrontate popolazioni appartenenti a due specie italiane, *T. andreinii*, limitato alla Puglia e *T. cavicola*, specie a più ampia distribuzione (Baccetti, 1982). Il valore medio di  $D_{\text{Nei, 1978}}$  fra queste due specie è risultato pari a 0.374. Infine dati elet-



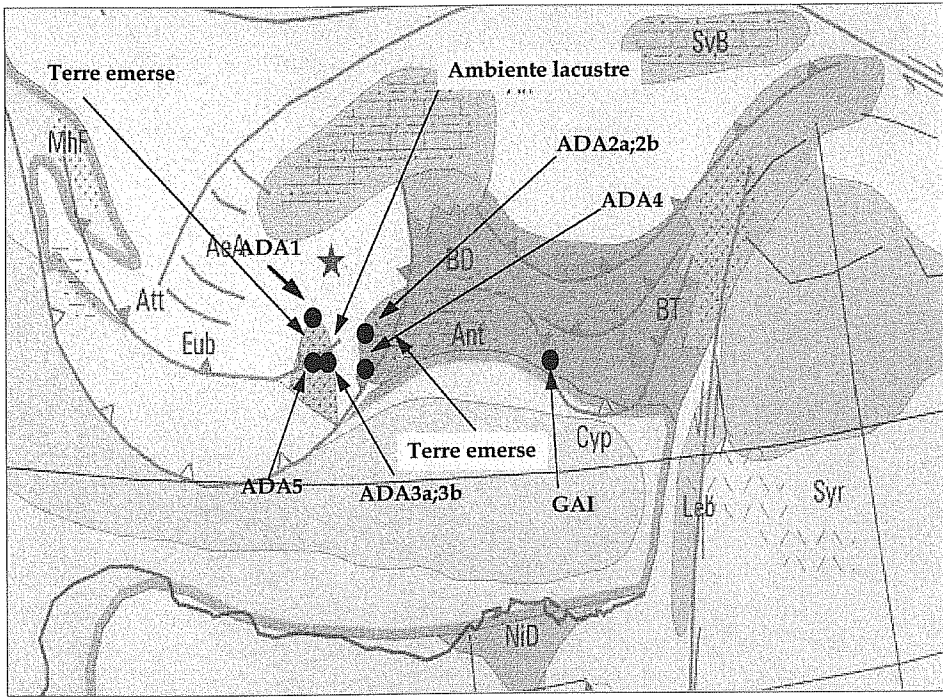


Fig. 4 - Ricostruzione del paleoambiente della penisola anatolica nel Miocene con la localizzazione delle grotte in cui sono state campionate le popolazioni di *Troglophilus* studiate (ridisegnato da Orszag-Sperber et al., 1993).

trofretici su sei specie appartenenti a due generi di Rafidoforidi Nord-Americani (*Euhadenoecus* e *Hadenoecus*), vicarianti ecologici dei generi *Dolichopoda* e *Troglophilus*, hanno fornito un valore medio di  $D_{\text{Nei}, 1972}$  pari a 1.029 (Caccone e Sbordoni, 1987).

Utilizzando quindi i dati sopra riportati come riferimento si possono trarre alcune conclusioni sui *Troglophilus* dell'Anatolia da noi studiati. I dati genetici convalidano la separazione a livello specifico di *T.adamovici* e *T.gajaci*, descritti su base morfologica da Us (1973); la distanza genetica media fra le rispettive popolazioni (0.584) è di un ordine di grandezza che rientra ampiamente nel range di variazione inter-specifico osservato in diversi generi di Rafidoforidi. Discorso analogo può essere fatto per i due campioni ADA2b e ADA3b, sintopici con le rispettive popolazioni di *T.adamovici*. Il livello di divergenza genetica sia fra loro che nei confronti di tutte le altre popolazioni studiate ne evidenzia un sostanziale differenziamento, indice di un processo di speciazione compiuto. A riprova che ADA2b e ADA3b debbano essere considerate a tutti gli effetti specie distinte può essere considerata la mancanza di evidenze di introgressione. Ai loci diagnostici non sono mai stati osservati pattern elettroforetici "ibridi", con eterozigoti fra alleli "*adamovici*" e alleli "*non-adamovici*", inoltre nelle analisi di ordinamento gli individui appartenen-

ti alle popolazioni ADA2b e ADA3b non si dispongono nello spazio bidimensionale in posizione intermedia rispetto alle rimanenti popolazioni di *T. adamovici*, così come atteso nel caso di zone ibride (Allegrucci et al., 1992b).

Dall'analisi della struttura genetica delle popolazioni studiate emerge un quadro più complesso di quanto previsto, che, se da una parte, conferma quanto ipotizzato su base morfologica, dall'altra suggerisce la necessità di un maggiore approfondimento della sistematica di questo gruppo di ortotteri. È in corso lo studio dei caratteri morfologici tradizionalmente utilizzati nella sistematica del gruppo per i campioni ADA2b e ADA3b. Durante le raccolte da noi effettuate non è stato possibile campionare nella località tipica di *T. escalerai*, altra specie nota per l'area anatolica (Bolivar, 1899; Us, 1973). Sarebbe auspicabile disporre di esemplari tipici per delineare un quadro completo dei rapporti sistematici ed evolutivi fra le specie di *Troglophilus* dell'area anatolica.

A prescindere da considerazioni strettamente sistematiche può essere interessante ricercare le possibili cause che hanno determinato i processi di differenziamento evidenziati fra le popolazioni studiate. Una possibile spiegazione di questi fenomeni potrebbe tenere in considerazione non solo la paleogeografia, ma anche il paleo-ambiente dell'area in studio. In Fig. 4 è riportata una ricostruzione dell'ambiente che caratterizzava la penisola anatolica tra la metà e la fine del Miocene. Si può notare come le località di raccolta delle popolazioni studiate siano situate in aree circondate, all'epoca, da estesi ambienti lacustri. Questi ultimi potrebbero aver agito da barriera geografica per i *Troglophilus*, favorendo fenomeni di differenziamento locali. L'attuale situazione di simpatria e sintopia di specie geneticamente ben differenziate può essere spiegata come il risultato di ripetuti fenomeni di contatto secondario. In particolare, le fluttuazioni climatiche del Plio-Pleistocene, determinando l'espandersi, anche a latitudini relativamente basse, della foresta temperata, potrebbero aver facilitato la dispersione di questi ortotteri, che, in condizioni climatiche idonee, hanno la capacità di spostarsi da una grotta all'altra, analogamente con quanto evidenziato in *Dolichopoda* (Sbordoni et al., 1991). Per il genere *Troglophilus* situazioni di simpatria fra specie ben differenziate non sono un'eccezione legata alla sola penisola anatolica, ma si ripetono in tutto l'areale, ad esempio lungo la penisola balcanica e in Nord-Italia.

Sono attualmente in corso ricerche volte allo studio dei livelli di differenziamento genetico fra specie campionate in tutto l'areale del genere, nel tentativo di verificare la congruenza fra le relazioni filetiche ricostruite mediante i marcatori allozimici e i modelli paleogeografici disponibili per l'area est-mediterranea.

#### RINGRAZIAMENTI

Desideriamo ringraziare Marco Lucarelli, Leonardo Latella e Marco Di Domenico per l'aiuto nei campionamenti.

## BIBLIOGRAFIA

- ALLEGRUCCI G., CACCONE A., CESARONI D., SBORDONI V. 1992a - Evolutionary divergence in *Dolichopoda* cave crickets: a comparison of single copy DNA hybridisation data with allozymes and morphometric distances. *J. Evol. Biol.*, 5: 121-148.
- ALLEGRUCCI G., BALDARI F., CESARONI D., THORPE R.S., SBORDONI V. 1992b - Morphometric analysis of interspecific and microgeographic variation of crayfish from Mexican cave. *Biol. J. Linn. Soc.*, 47: 455-468.
- BACCETTI B. 1982 - Ortoteri cavernicoli italiani (Notulae orthopterologicae. XXXVI). *Lav. Soc. It. Biogeogr.*, 7 (n.s.): 195-206.
- BOLIVAR I. 1899 - Orthopteres du voyage de M. Martinez Escalere dans l'Asie Mineure. *Ann. Soc. Entomol. Belgique*, 43: 583-607.
- CACCONE A., SBORDONI V. 1987 - Molecular evolutionary divergence among North-American cave crickets. I. Allozyme variation. *Evolution*, 41: 1198-1214.
- COBOLLI SBORDONI M., DE MATTHAEIS E., MATTOCCIA M., BERTI R., SBORDONI V. 1996 - Genetic variability and differentiation of hypogean Cyprinid fishes from Somalia. *J. Zoo. Syst. Evol. Res.*, 34: 75-84.
- DE MATTHAEIS E., DAVOLOS D., COBOLLI M. 1998 - Genetic divergence between populations and species of talitrids from Aegean islands. *J. Hered.*, 89: 37-43.
- HUBBEL T.H., NORTON R.M. 1978- The systematics and biology of the cave-crickets of the North-American tribe Hadenocini (Orthoptera Saltatoria: Rhaphidophoridae: Dolichopodinae). *Mus. Zool., Univ. Michigan*, 156: 1-8, 81-85.
- NEI M. 1978- Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583- 590.
- ORSAG-SPERBER F., BUTTERLIN J., CAVELIER C., CLERMONT J., COLCHEN M., GUIRAUD R., BELLION Y., POISSON A., VRIELYNCK B. 1993- Tortonian (11.5-6 Ma). In: J. Dercourt, B. Vrielynck (eds.), *Atlas Tethys Palaeoenvironmental maps. Maps*.
- SBORDONI V. 1982- Advances in speciation in cave animals. In: C. Barigozzi (ed.), *Mechanisms of speciation*. Alan R. Liss, New York.
- SBORDONI V., ALLEGRUCCI G., CACCONE A., CESARONI D., COBOLLI SBORDONI M., DE MATTHAEIS E. 1981- Genetic variability and divergence in cave populations of *Troglophilus cavicola* and *T. andreinii* (Orthoptera, Rhaphidophoridae). *Evolution*, 35: 226-233.
- SBORDONI V., ALLEGRUCCI G., CESARONI D. 1991- A multidimensional approach to the evolution and systematics of *Dolichopoda* cave crickets. In: G. Hewitt (ed.), *Molecular techniques in taxonomy*, NATO Asi Series Vol. H 57. Springer Verlag, Berlin, New York.
- SNEATH P.H.A., SOKAL R.R. 1973- Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. W.H. Freeman & Co., San Francisco.
- SWOFFORD D.L., SELANDER R.B. 1981- BIOSYS-1: a computer program for the analysis of allelic variation in genetics. University of Illinois. Urbana.
- US P.A. 1973- Cave Orthoptera (Saltatoria: Rhaphidophoridae and Gryllidae) collected by Dr. Jean Gajac in Yugoslavia, Greece and Turkey. *Entomol. Month. Mag.*, 110: 182-192.