

Strutturazione genetica e dispersione in popolazioni mediterranee di *Cerastoderma glaucum* (Bivalvia: Cardiidae)

STEFANO MARIANI, VALERIO KETMAIER, MARINA COBOLLI,
ELVIRA DE MATTHAEIS

Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo, Università di Roma "La Sapienza",
Viale dell'Università 32 - I-00185 Roma (Italia)
e-mail: Stefano.Mariani@uniroma1.it

SUMMARY

Genetic variation at 16 enzyme loci was analysed in 20 Mediterranean and 1 Baltic *Cerastoderma glaucum* populations, as well as in 3 Atlantic *C. edule* populations. Genetic divergence between taxa was estimated (*C. edule*/*C. glaucum*, $D_{Na}78 @ 0.9$). Spatial genetic variation at different geographic scales was investigated in *C. glaucum*. The degree of genetic structuring at Mediterranean scale (over all loci $\bar{D} = 0.088$), in spite of the fragmentary nature of the habitat of cockles, resulted moderate if compared with previous experimental data. Results are discussed taking into account the intrinsic and extrinsic factors which are most likely to affect the patterns of genetic structuring in coastal marine animals.

INTRODUZIONE

I livelli di flusso genico tra popolazioni naturali possono variare ampiamente anche tra specie congeneri. Alcune specie presentano tassi sufficientemente elevati da poter essere considerate panmittiche; in altre i livelli di flusso genico sono estremamente bassi; in tali casi la selezione naturale e la deriva genetica possono agire, in ciascun deme, indipendentemente l'una dall'altra (Slatkin, 1981). In ogni caso, il flusso genico dipende dai tassi di migrazione tra una popolazione e l'altra, e i fenomeni migratori sono legati alle capacità dispersive delle singole specie.

Gran parte delle specie marine, e soprattutto i bivalvi, presentano tassi di dispersione potenzialmente molto alti, grazie all'esistenza di stadi larvali planctonici. La presenza di tali stadi è stata a lungo considerata una strategia adattativa per il mantenimento dell'omogeneità del pool genico di una specie attraverso il suo areale (Scheltema, 1971; Buroker, 1983); ciononostante, vari studi hanno messo in luce come diverse specie marine possano presentare livelli significativi di eterogeneità genetica, su scale spaziali diverse (Koehn et al., 1984; McDonald e Siebenaller, 1989; Hummel et al., 1994 e 1995; Benzie e Williams, 1997).

La specie *Cerastoderma glaucum* (Poiret, 1789) è un bivalve di fondi mobili che popola ecosistemi costieri confinati caratterizzati da minime escursioni di marea e scarso idrodinamismo, come le lagune e gli stagni costieri (Kingston, 1974). Nonostante una parziale sovrapposizione di nicchia tra questa specie e *C. edule*, *C. glaucum* presenta una maggiore eurialinità e una più spiccata euritermia, inoltre, proprio a causa della sua incapacità di tollerare un'intensa azione delle onde (Boyden e Russell, 1972) e prolungate esposizioni all'aria durante la bassa marea (Russell, 1971), questa specie non è in grado di colonizzare aree costiere aperte, come le zone di risacca (Brock, 1991). Tali caratteristiche ecologiche rendono *C. glaucum* una specie estremamente interessante sulla quale studiare i modelli di strutturazione spaziale della diversità genetica.

La maggioranza degli studi genetici su *Cerastoderma* sono stati volti all'identificazione di marcatori diagnostici per distinguere specie affini (Jelnes et al., 1971; Brock, 1991; Hummel et al., 1994; Machado e Costa, 1994), piuttosto che alla caratterizzazione della struttura genetica a livello intraspecifico. Conseguentemente, esiste attualmente scarsa informazione sulla natura della variazione genetica interpopolazione in *C. glaucum* (Hummel et al., 1994; Ketmaier et al., 1997); in particolare, non si ha una dettagliata conoscenza dei livelli di strutturazione genetica e dei modelli di flusso genico, soprattutto per quanto concerne il bacino del Mediterraneo.

In questo lavoro riportiamo dati sulla variazione genetica di *C. glaucum* su scala mediterranea, indagata mediante l'analisi dei polimorfismi enzimatici, individuando e discutendo, complessivamente, le caratteristiche salienti della struttura genetica della specie, gettando uno sguardo su alcuni aspetti puntuali che emergono dall'analisi su scala più ridotta.

MATERIALI E METODI

Mediante un retino con imboccatura da 50 × 40 cm (luce di maglia: 1 cm) sono state campionate 21 popolazioni di *C. glaucum* e 3 popolazioni di *C. edule*. Le popolazioni di *C. glaucum* provengono da: 7 lagune greche (Keramoti, KER; Agia Triada, ATR; Avlaki, AVL; Klissova, KLI; Etolikon, ETO; Mazoma, MAZ; Salaora, SAL); 5 lagune italiane (Lesina, LES; Chioggia, CHI; Venezia, VEN; Orbetello, ORB; Calich, CAL); una laguna in Finlandia (Tvaarminne, BAL). Sono state inoltre raccolte popolazioni del delta del Po (Sacca di Goro-Volano; VOL; Sacca di Goro-Porto, GOP) e del delta dell'Ebro (EBR); in Italia centrale provengono da tre laghi costieri (Sabaudia, SÁB; Caprolace, CAP e CPP; Fogliano, FOG) e dalla foce del Mignone (FOM). Le popolazioni di *C. edule* provengono da due località in Spagna meridionale (foce del Rio San Pedro, RSP e del Guadalquivir, SLU) e dalla laguna di Aveiro in Portogallo (AVE).

Gli animali, vivi, sono stati trasportati al laboratorio e ivi congelati a -70°C.

Prima di sottoporre i campioni a elettroforesi, le parti molli di ciascun individuo sono state omogenate e centrifugate a 15.000 RPM per 60 secondi a 4°C.

I campioni sono stati poi sottoposti a elettroforesi orizzontale su gel di amido al 10,5, 11 e 12%. Le analisi elettroforetiche sono state condotte a 4°C, con tempi di corsa compresi tra 2,5 e 5,5 ore secondo i sistemi enzimatici saggiati. Le procedure di colorazione sono avvenute a 37°C. 11 proteine, su 26 testate, hanno restituito pattern polimorfici interpretabili. Per i dettagli sulle procedure analitiche impiegate si rimanda a Beaumont et al. (1980), Pasteur et al. (1988) e De Matthaëis et al. (1994).

Per ogni popolazione sono state calcolate le frequenze alleliche, mentre la variabilità genetica è stata stimata attraverso le seguenti misure: Numero medio di alleli per locus (N_{ALL}), Percentuale di loci polimorfici ($\%L_{POL}$, con il criterio del 95%), Eterozigosi media osservata (H_O) e Eterozigosi attesa in base all'equilibrio di Hardy-Weinberg (H_E).

I livelli di divergenza genetica tra specie e popolazioni sono stati calcolati utilizzando gli indici di distanza di Nei (1978, D_N) e di Cavalli-Sforza e Edwards (1967, D_C). Sulla matrice D_C è stato costruito un dendrogramma attraverso l'algoritmo UPGMA (Sneath e Sokal, 1973).

La struttura genetica delle popolazioni studiate è stata analizzata anche mediante la statistica-F di Wright (1965), utilizzando gli indici di Weir e Cockerham (1984) f , F e θ . La significatività degli indici è stata testata attraverso le procedure di *jack-knife* e *bootstrap over-loci*, assumendo un intervallo di confidenza del 95%. La significatività delle deviazioni dall'equilibrio di Hardy-Weinberg espresse dall'indice f sono state testate mediante l'"exact test" di Raymond e Rousset (1995).

Una stima indiretta del flusso genico (Nm) è stata ottenuta, partendo dai valori di θ , attraverso la formula di Wright (1931):

$$Nm = 1/4[(1/\theta)-1]$$

dove N = dimensione effettiva della popolazione; m = tasso di migrazione; Nm = numero effettivo di migranti per generazione.

Eventuali effetti della selezione sul set di loci esaminati sono stati valutati mediante il test di neutralità di Ewens-Watterson (Manly, 1985).

Per indagare la relazione tra la struttura genetica delle popolazioni e la loro distribuzione spaziale, è stata impiegata la tecnica del Multidimensional Scaling (MDS), come descritto in Lessa (1990); tale metodo permette, partendo da una matrice di distanza metrica (nel nostro caso la D_C), di ordinare le osservazioni (le popolazioni campionate) in uno spazio bidimensionale che sintetizza al meglio le relazioni (nel nostro caso genetiche) tra gli oggetti rappresentati nel piano. Nello studio della struttura genetica di un insieme di popolazioni di una specie, questa tecnica risulta particolarmente vantaggiosa quando si vuole confrontare l'ordinamento ottenuto con la distribuzione geografica delle popolazioni stesse,

e valutare se, e in che misura, le due distribuzioni (spaziale e genetica) siano sovrapponibili.

Per l'analisi dei dati sono stati utilizzati i seguenti programmi: BIOSYS (ver. 2, Swofford e Selander, 1981), F-STAT (ver. 1.2, Goudet, 1995), NT-SYS (ver. 1.80, Rohlf, 1988), GENEPOP 1.2 (Raymond e Rousset, 1995), POPGENE (Yeh e Boyle, 1997) e STATISTICA (ver. 5.1, StatSoft Inc., 1996).

RISULTATI

Sono stati interpretati i pattern allozimici relativi a 16 loci: *Aph*, *Ca1*, *Ca2*, *Est1*, *Est2*, *Gpi*, *Lap1*, *Lap2*, *Mpi*, *Octdh*, *Pep1*, *Pep2*, *Pep3*, *Pgm*, *Sod*, *Xdh*. Nessun locus è risultato discostarsi significativamente dall'ipotesi di neutralità, secondo il test di Ewens-Watterson (Yeh e Boyle, 1997).

Est1 è risultato monomorfico in tutte le popolazioni di *C. glaucum*, mentre *Est1*, *Pep1* e *Sod* si sono rivelati monomorfici nelle tre popolazioni di *C. edule*. I loci *Lap2*, *Octdh*, *Pep1*, *Pep2*, *Pep3*, *Pgm*, *Sod* e *Xdh* sono risultati validi marcatori per distinguere geneticamente le due specie.

Nella Fig. 1 sono riportati i valori dei principali indici di variabilità genetica in *C. glaucum*. N_{ALL} è compreso tra 2,1 and 2,9 a eccezione di BAL (1,8); anche i valori di H_O presentano un minimo in BAL ($H_O < 0,1$). In generale si osserva un marcato deficit di eterozigoti (a eccezione di FOM), come anche successivamente rivelato dall'applicazione della statistica-F. La percentuale di loci polimorfici è risultata in tutti i casi ben al di sopra del 60% tranne che in SAL (50%) e BAL (37,5%).

La distanza genetica media di Nei (D_N) tra *C. glaucum* e *C. edule* è risultata essere di 0,9 (Tab. I). Il valore medio di D_N tra le popolazioni di *C. glaucum* è

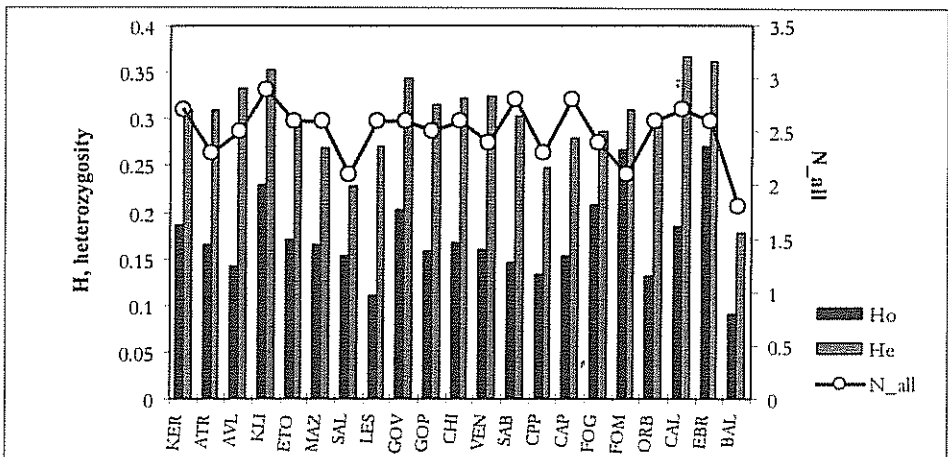


Fig. 1 - Principali indici di variabilità genetica. N_{all} : numero medio di alleli per locus; H_O : eterozigosi media osservata; H_e : eterozigosi media attesa secondo il modello di Hardy-Weinberg. La percentuale di loci polimorfici è risultata in tutte le popolazioni abbondantemente superiore al 60%, tranne in SAL (50%) e BAL (37,5%)

Tab. 1 - Matrice delle distanze genetiche di Nei (1978, sotto la diagonale) e di Cavalli-Sforza e Edwards (1967, sopra la diagonale)

	KER	ATR	AVL	NLI	ETO	MAZ	SAL	LES	GOV	GOP	CHI	VEN	SAI	CPP	CAP	FOG	FOM	ORB	CAL	EBR	BAL	RSP	SLU	AVE
KER		0.151	0.147	0.209	0.155	0.180	0.200	0.184	0.221	0.195	0.181	0.188	0.192	0.206	0.204	0.229	0.219	0.181	0.213	0.277	0.264	0.672	0.704	0.675
ATR	0.013		0.143	0.239	0.188	0.229	0.241	0.207	0.244	0.211	0.213	0.224	0.221	0.226	0.234	0.258	0.240	0.214	0.226	0.255	0.245	0.688	0.721	0.694
AVL	0.014	0.008		0.240	0.201	0.213	0.239	0.206	0.231	0.191	0.200	0.213	0.219	0.241	0.224	0.238	0.233	0.210	0.233	0.250	0.274	0.688	0.721	0.684
NLI	0.045	0.052	0.039		0.156	0.177	0.199	0.240	0.232	0.210	0.182	0.201	0.223	0.272	0.229	0.241	0.262	0.225	0.215	0.294	0.306	0.693	0.713	0.674
ETO	0.019	0.033	0.025	0.010		0.142	0.154	0.211	0.229	0.200	0.175	0.204	0.212	0.226	0.213	0.227	0.252	0.214	0.244	0.306	0.282	0.680	0.712	0.676
MAZ	0.026	0.056	0.038	0.028	0.010		0.165	0.205	0.250	0.205	0.204	0.189	0.226	0.257	0.219	0.240	0.243	0.207	0.269	0.344	0.311	0.724	0.757	0.706
SAL	0.018	0.047	0.031	0.025	0.008	0.005		0.213	0.235	0.201	0.196	0.206	0.216	0.249	0.220	0.252	0.272	0.218	0.293	0.349	0.277	0.723	0.752	0.705
LES	0.034	0.033	0.042	0.066	0.044	0.051	0.033		0.174	0.179	0.148	0.158	0.175	0.210	0.165	0.278	0.193	0.167	0.216	0.262	0.211	0.683	0.718	0.681
GOV	0.042	0.037	0.029	0.048	0.037	0.037	0.035	0.022		0.158	0.158	0.159	0.150	0.229	0.180	0.226	0.208	0.193	0.229	0.204	0.259	0.676	0.694	0.672
GOP	0.039	0.029	0.014	0.036	0.030	0.048	0.036	0.038	0.008		0.162	0.153	0.146	0.259	0.168	0.226	0.210	0.159	0.239	0.263	0.244	0.712	0.738	0.697
CHI	0.032	0.029	0.028	0.028	0.020	0.046	0.028	0.011	0.014	0.022		0.152	0.161	0.228	0.159	0.240	0.184	0.163	0.184	0.254	0.248	0.685	0.708	0.669
VEN	0.021	0.027	0.017	0.023	0.017	0.022	0.018	0.020	0.011	0.007	0.013		0.170	0.249	0.176	0.204	0.177	0.147	0.227	0.258	0.258	0.703	0.724	0.685
SAB	0.037	0.029	0.031	0.041	0.033	0.059	0.045	0.036	0.023	0.016	0.023	0.017		0.209	0.115	0.213	0.155	0.117	0.224	0.238	0.244	0.693	0.723	0.690
CPP	0.033	0.040	0.051	0.073	0.039	0.064	0.045	0.036	0.023	0.016	0.023	0.017	0.017		0.235	0.258	0.242	0.218	0.221	0.304	0.286	0.706	0.742	0.728
CAP	0.041	0.035	0.043	0.051	0.036	0.045	0.041	0.030	0.026	0.019	0.019	0.010	0.067	0.067		0.223	0.227	0.264	0.308	0.335	0.698	0.724	0.698	
FOG	0.040	0.039	0.045	0.045	0.039	0.040	0.041	0.068	0.059	0.051	0.067	0.031	0.051	0.058	0.066		0.156	0.243	0.304	0.280	0.698	0.730	0.682	
FOM	0.024	0.023	0.020	0.040	0.030	0.054	0.047	0.028	0.020	0.016	0.014	0.005	0.000	0.060	0.014	0.044		0.221	0.275	0.239	0.707	0.732	0.691	
ORB	0.027	0.023	0.024	0.041	0.034	0.045	0.037	0.026	0.031	0.020	0.026	0.009	0.008	0.053	0.009	0.048	0.006		0.218	0.270	0.683	0.712	0.688	
CAL	0.055	0.039	0.054	0.048	0.036	0.091	0.065	0.059	0.072	0.072	0.043	0.061	0.068	0.065	0.084	0.101	0.057	0.057		0.259	0.670	0.683	0.676	
EBR	0.097	0.046	0.082	0.129	0.122	0.158	0.141	0.089	0.105	0.070	0.088	0.085	0.093	0.105	0.086	0.136	0.098	0.086	0.080		0.259	0.670	0.683	0.676
BAL	0.067	0.035	0.062	0.106	0.089	0.112	0.084	0.044	0.066	0.039	0.059	0.070	0.067	0.097	0.052	0.140	0.079	0.051	0.065	0.036		0.713	0.739	0.692
RSP	0.856	0.854	0.858	0.964	0.887	0.987	0.971	0.865	0.899	0.890	0.857	0.883	0.891	0.917	0.912	0.917	0.844	0.928	0.911	0.798	0.900		1.862	2.267
SLU	0.992	0.994	0.984	1.050	1.006	1.135	1.104	1.007	0.891	1.008	0.962	0.992	1.014	1.047	1.020	1.022	0.966	1.045	1.057	0.863	1.030	0.925		0.626
AVE	0.776	0.797	0.740	0.777	0.765	0.831	0.816	0.764	0.713	0.743	0.718	0.728	0.765	0.925	0.773	0.848	0.701	0.779	0.821	0.816	0.785	0.062	0.068	

pari a 0.046, e raggiunge il massimo tra EBR e MAZ (0,158). La distanza media di Nei tra BAL e le popolazioni mediterranee è pari a 0,073, corrispondente al valore di identità genetica (I_N) di 0,93.

Il dendrogramma UPGMA fornisce una visione sintetica delle relazioni genetiche tra i campioni analizzati (Fig. 2). CAL, EBR e BAL risultano le popolazioni più differenziate; FOG e CPP si mantengono all'esterno del gruppo tirrenico. Più internamente, si raggruppano in due cluster, da un lato i campioni ionici, dall'altro quelli dell'Egeo; infine, i campioni adriatici e quattro di quelli tirrenici sono raggruppati in due distinti sotto-gruppi all'interno dello stesso cluster.

Ulteriori informazioni sulla struttura genetica delle popolazioni di *C. glaucum* sono state ottenute attraverso l'applicazione della statistica-F. Gli indici calcolati sono riportati in Tab. II, con i relativi valori di jack-knife e bootstrap. I valori di f esprimono un significativo e generalizzato discostamento dall'equilibrio di Hardy-Weinberg che rivela un netto deficit di eterozigoti (over all loci: $f = 0,439$) su quasi tutti i loci (eccezioni: *Ca2*, *Est2* e *Gpi*). Il valore di θ su tutti i loci è risultato pari a 0,088. I valori di F sono di poco più elevati di quelli di f . Dai valori di θ sono state inoltre ricavate le stime di flusso genico (Nm) tra le popolazioni e i bacini studiati. Nel complesso (Fig. 3) si osserva che l'intensità del flusso genico tra ciascun bacino e il resto delle popolazioni decresce nettamente allorché si passa dal bacino tirrenico a quello balearico (CAL e EBR).

Un'analisi gerarchica sul pattern di strutturazione genetica spaziale delle popolazioni studiate è stata condotta mediante il Multidimensional Scaling. Sono stati ottenuti gli ordinamenti dei campioni esaminati su diverse scale geografiche (Fig. 4): l'ordinamento complessivo che prende in considerazione l'intero set di popolazioni (ad esclusione di CPP e FOG) presenta una regionalizzazione dei gruppi geografici in accordo con il dendrogramma UPGMA (4a). Il set di campioni è stato

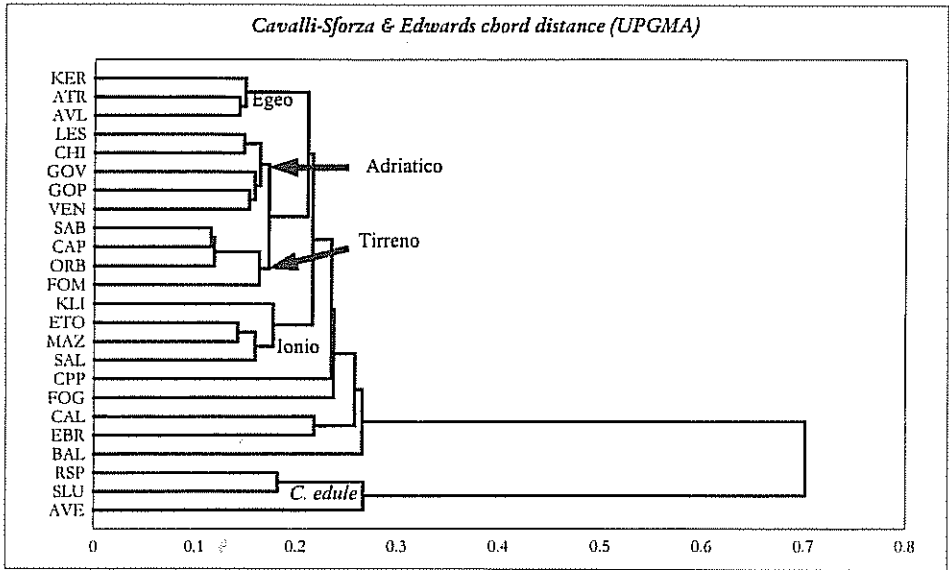


Fig. 2 - Dendrogramma UPGMA costruito sulla matrice di distanza genetica di Cavalli-Sforza e Edwards (1967)

Tab. II - Valori di f , F e q per *C. glaucum* a ogni locus e su tutti i loci. (i valori in grassetto sono significativi con almeno $p < 0.01$). Nell'ultima colonna sono riportati i livelli di significatività dei valori di f , secondo l'"exact test" di Raymond e Rousset

<i>C. glaucum</i>				
	statistica-F			H-W exact test
	f	F	q	$p-f$
<i>Aph</i>	0.661	0.677	0.048	<0.001
<i>Ca-1</i>	0.569	0.682	0.262	0.002
<i>Ca-2</i>	-0.368	-0.056	0.228	1.000
<i>Est-2</i>	-0.113	0.022	0.121	0.819
<i>Gpi</i>	0.048	0.078	0.031	0.060
<i>Lap-1</i>	0.684	0.720	0.112	<0.001
<i>Lap-2</i>	0.474	0.503	0.054	<0.001
<i>Mpi</i>	0.255	0.340	0.114	<0.001
<i>Octdb</i>	0.446	0.484	0.067	<0.001
<i>Pep-1</i>	0.647	0.682	0.100	<0.001
<i>Pep-2</i>	0.215	0.259	0.056	<0.001
<i>Pep-3</i>	0.929	0.930	0.023	<0.001
<i>Pgn</i>	0.507	0.525	0.038	<0.001
<i>Sod</i>	0.447	0.454	0.013	0.001
<i>Xldb</i>	0.790	0.809	0.089	<0.001
Over all loci	0.439	0.488	0.088	<0.001
Jack-knife	0.441	0.490	0.088	
Bootstrap	0.285	0.352	0.066	
95% C.I.	0.569	0.606	0.112	

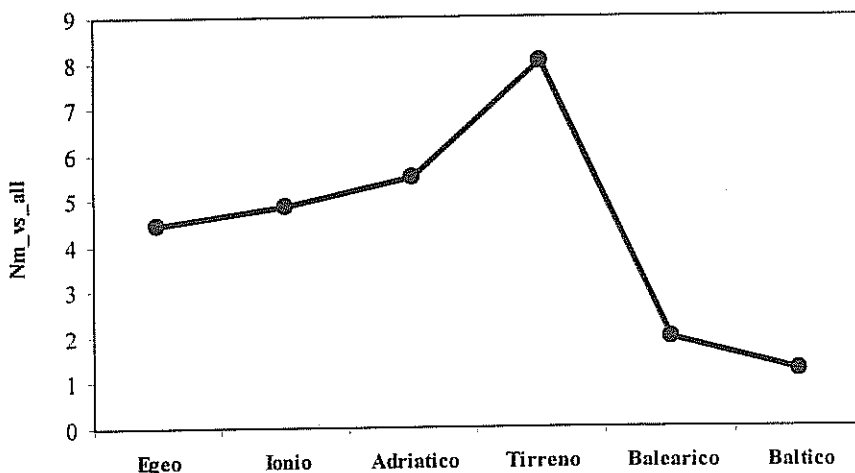


Fig. 3 - Stima indiretta dell'intensità del flusso genico (Nm_vs_all) tra ogni bacino e tutto il resto delle popolazioni

poi suddiviso in due sottogruppi, orientale (con i bacini Egeo, Ionio e Adriatico) e occidentale (con il bacino tirrenico, CAL, EBR e BAL); in 4b e 4c sono rappresentati tali ordinamenti; all'interno di ciascuno di essi è possibile osservare la distribuzione relativa dei campioni a livello di ciascun singolo bacino (Egeo, Ionio, Adriatico, Tirreno). Su questa scala, l'unico bacino in cui l'ordinamento delle popolazioni appare congruente con la loro reale distribuzione spaziale è quello egeo.

DISCUSSIONE

Brock (1991) e Hummel et al. (1994) hanno rilevato un grado di divergenza, tra le popolazioni mediterranee e quelle atlantiche di *C. glaucum*, tale da ipotizzare l'esistenza di due sottospecie. I dati in nostro possesso sono invece in lieve contrasto con i suddetti studi, infatti il valore medio di identità genetica tra BAL e le popolazioni mediterranee è pari a circa 0,93. Tale valore si trova al di sopra della soglia empirica ($I = 0,90$) al di sotto della quale è probabile che due entità tassonomiche rappresentino delle sottospecie (Avice, 1974; Thorpe, 1983). In effetti, il Mar Baltico ha assunto le sue caratteristiche attuali relativamente di recente (6-7.000 anni fa), e tale intervallo di tempo sembra essere troppo breve perché si sia accumulata una sostanziale divergenza tra due popolamenti. Comunque sia, lo stock di *Cerastoderma* baltico è assai probabilmente il risultato di un recente evento di colonizzazione che ha portato alcuni contingenti nord-atlantici a disperdersi e adattarsi in un ambiente particolarmente rigoroso; i bassi livelli di variabilità genetica osservati in BAL (Fig. 1) potrebbero essere sia il risultato di una pressione selettiva esercitata dall'estrema instabilità ambientale, sia l'effetto di un fenomeno di deriva genetica verificatosi all'interno del bacino del Baltico.

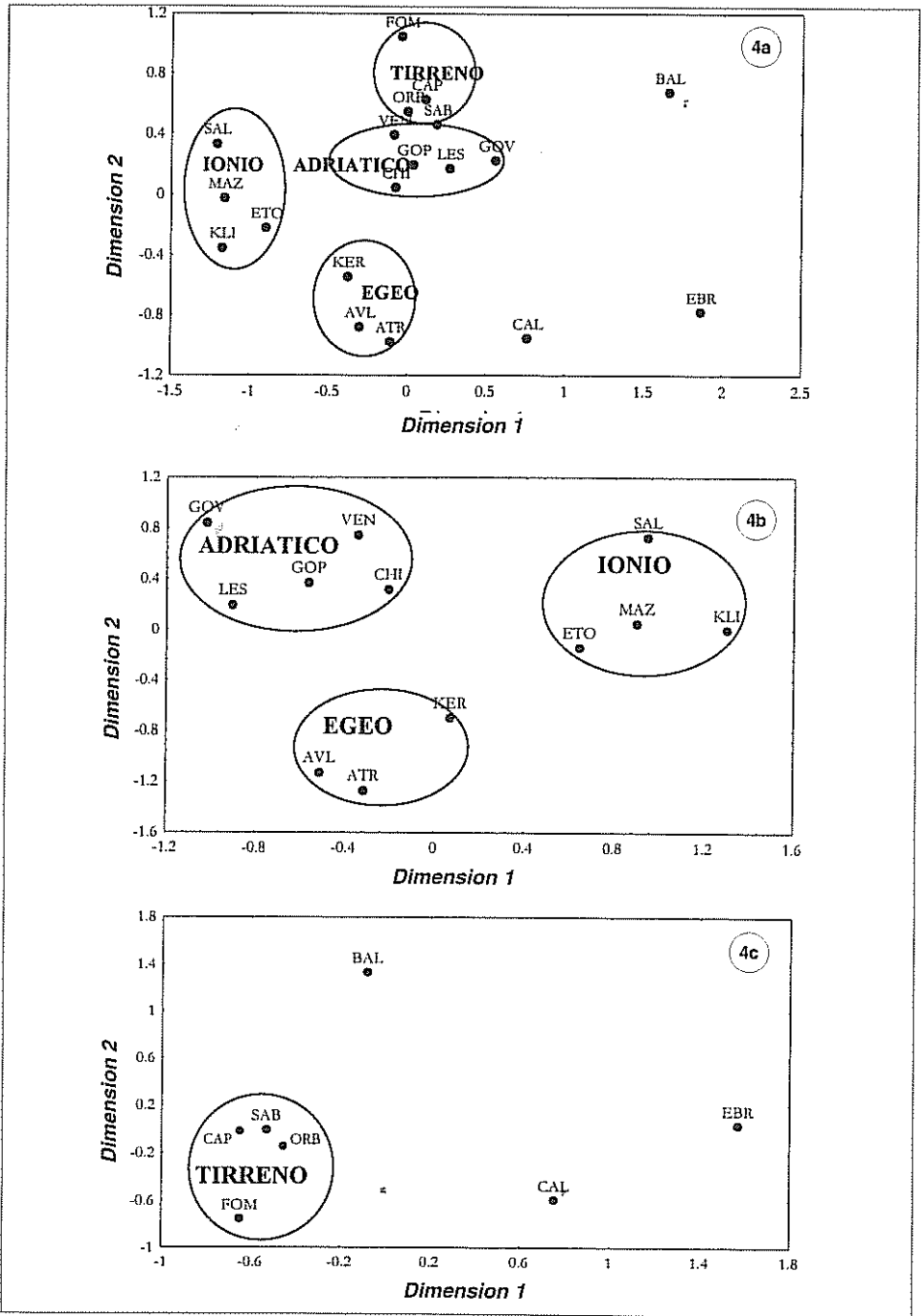


Fig. 4 - Ordinamenti MDS relativi: 4a) all'intero set di campioni (FOM e CPP esclusi), 4b) al set di campioni adriatici, ionici ed egei, 4c) al set di campioni tirrenici insieme con CAL, EBR e BAL

L'esistenza di inattese discontinuità tra i livelli di flusso genico all'interno di bacini marini per i quali ci si aspetterebbe una generale omogeneità sembra essere un fenomeno più frequente di quanto si pensasse in passato (Benzie e Ballment, 1994; Quesada et al., 1995; Benzie e Williams, 1997). In questi casi, è stato dimostrato che eventi ciclici di isolamento e connessione geografica (causati da fenomeni climatici e/o geologici) possono determinare, in una certa misura, l'effettivo grado di affinità tra le popolazioni, tanto che gli attuali modelli dispersivi lungo le principali correnti superficiali non sono sufficienti a spiegare la struttura genetica osservata (Benzie e Williams, 1997). Pertanto, il pattern di flusso genico tra popolazioni di *Cerastoderma* provenienti da diversi sub-bacini mediterranei (Fig. 3) potrebbe in parte riflettere eventi di dispersione/isolamento avvenuti nel passato (es. quando la placca sardo-corsa ha mantenuto il Tirreno relativamente separato dal bacino balearico) che non sono stati ancora del tutto rimodellati dal pattern attuale di dispersione della specie.

Il livello di strutturazione genetica tra popolazioni di *C. glaucum*, rivelato da \mathfrak{D} , è risultato moderatamente più elevato rispetto a quanto si riscontra di solito nei bivalvi marini (Skibinski et al., 1983; Grady et al., 1989; Dillon e Manzi, 1992; Saavedra et al., 1993; Borsa et al., 1994; Beaumont e Pether, 1996). Tale evidenza è senz'altro da attribuire alla natura frammentata dell'habitat di questa specie: *C. glaucum*, infatti, colonizza ecosistemi costieri confinati e relativamente chiusi, il cui parziale isolamento limita l'effetto del flusso genico tra le popolazioni. Ciononostante, il valore di $\mathfrak{D} = 0,088$ è decisamente minore rispetto allo 0,170 trovato da Hummel et al. (1994) nella stessa specie (Tab. III).

Una simile discrepanza può in parte essere attribuita alla grande differenza di loci impiegati negli esperimenti (Hummel e collaboratori hanno basato le loro analisi su 7 loci). Parallelamente, ci sembra assai probabile che le differenze di strutturazione osservate possano essere spiegate chiamando in causa la tipologia delle aree geografiche ove i due studi sono stati condotti. Infatti, mentre il presente studio si è svolto in ambito mediterraneo (con l'eccezione di una sola popolazione

Tab. III - Livelli di strutturazione genetica. Confronto tra i valori di \mathfrak{D} riscontrati in bivalvi marini costieri su scale geografiche comparabili al bacino del Mediterraneo (a valori di \mathfrak{D} maggiori corrispondono maggiori livelli di differenziamento interpopolazione)

Specie	Riferimento	Valori di \mathfrak{D}
<i>Tapes decussatus</i>	Borsa et al., 1994	0.015
<i>Macoma balthica</i>	Hummel et al., 1995	0.030
<i>Cerastoderma edule</i>	Beaumont e Pether, 1996	0.040
<i>Anomalocardia brasiliana</i>	Da Silva e Solé-Cava, 1994	0.069
<i>Tridacna maxima</i>	Benzie e Williams, 1997	0.074
	Benzie e Williams, 1997	0.068
<i>Cerastoderma glaucum</i>	Hummel et al., 1994	0.170
<i>C. glaucum</i>	presente lavoro	0.088

baltica), Hummel et al. (1994) si sono occupati del nord-Atlantico, (con l'eccezione di una popolazione mediterranea). Come sottolineato in precedenza, *C. glaucum* non è in grado di resistere a prolungate esposizioni all'aria durante la bassa marea (Russell, 1971) né tantomeno di tollerare una sostenuta azione delle onde (Boyden e Russell, 1972), pertanto, le limitate escursioni di marea mediterranee garantiscono una linea di costa dinamicamente più omogenea, con maggiori probabilità di fornire dei micro-habitat idonei all'insediamento delle larve. All'opposto, le coste atlantiche sono caratterizzate da escursioni di marea straordinariamente più elevate, condizione questa che potrebbe determinare la distribuzione frammentata di *C. glaucum* lungo queste coste. A questo va aggiunto che il Mediterraneo è comunque un sistema più chiuso e che, trovandosi a latitudini minori, presenta delle condizioni climatiche più miti del nord-Atlantico. Ciò permette a *Cerastoderma* di avere fino a tre periodi riproduttivi l'anno, laddove in Atlantico ne presenta soltanto uno, all'inizio dell'estate (Ivell, 1979a e 1979b). Pertanto, un più frequente rilascio di uova e larve nel corso dell'anno può intensificare i livelli di flusso genico e determinare, di conseguenza, una minore strutturazione delle popolazioni.

Su grande scala, la natura della variazione genetica spaziale in *C. glaucum* si è rivelata, a grandi linee, in accordo con la distribuzione geografica delle popolazioni (Figg. 2 e 4). Osservando però gli ordinamenti dei campioni su piccola scala, ovvero concentrandosi sui singoli sub-bacini, viene rilevato che soltanto i rapporti tra le popolazioni egee sono in accordo con la loro distribuzione geografica, e che sia all'interno dello Ionio, che nell'Adriatico e nel Tirreno, la distribuzione dei campioni appare caotica e non interpretabile in base alla distanza fisica tra essi. Questo fatto implica che la natura della diversità genetica su piccola scala, in *C. glaucum*, sia influenzata da altri fattori.

Su grande scala, infatti, la distanza geografica (e in alcuni casi, come detto, eventi climatici e/o geologici avvenuti nel passato) contribuisce a mantenere distinti, in una certa misura, gruppi di popolazioni distanti tra loro diverse centinaia o addirittura migliaia di chilometri, in virtù del fatto che all'aumentare della distanza diminuisce la probabilità di dispersione delle larve tra le popolazioni. Su scale minori, però, le capacità dispersive di *C. glaucum* sarebbero sufficienti a mantenere una generale omogeneità genetica, potendo, le larve, essere trasportate dalla corrente per più di una settimana, per decine, a volte centinaia, di chilometri (Barnes, 1973). Per questa ragione, debbono esistere, su scala geografica minore, altri fattori che concorrono a determinare la variazione genetica di questa specie, su piccola scala. Senz'altro possiamo ipotizzare che la morfologia e le correnti specifiche di ciascun bacino e/o laguna possano giocare un ruolo importante nel determinare l'effettivo reclutamento delle larve nei diversi ecosistemi. Oltre a questo, laddove particolari lagune o stagni costieri si trovino molto isolati dall'influenza delle principali correnti, esiste un'alta probabilità che la popolazione ivi presente cominci a divergere dalle altre a causa

di fenomeni di deriva genetica. Infine, malgrado attraverso il test di neutralità non sia stata evidenziata una significativa presenza di pressioni selettive sui loci esaminati, non si può escludere che, conducendo dei test *post hoc* di correlazione tra le frequenze alleliche di alcuni loci e alcuni parametri ambientali, non si possa eventualmente mettere in luce una qualche relazione significativa.

RINGRAZIAMENTI

Ringraziamo il prof. P.M. Bisol, Università di Padova, i dottori A. Arias e P. Drake, ICMAN-Cadice, il prof. F. Carvalho, Università di Oporto, R. Nikula, Università di Helsinki, A. Papalexopoulou, Università di Roma "La Sapienza", lo staff della cooperativa A.GE.I. e il Parco Nazionale del Circeo, che ci hanno aiutato a ottenere un ampio set di campioni di *Cerastoderma* da analizzare.

S.M. ha beneficiato, per i suoi studi di dottorato, di una borsa triennale messa a disposizione dal dipartimento ENEA-AMB della Casaccia (Roma).

BIBLIOGRAFIA

- AVISE J.C. 1974 - Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.*, 23: 465-481.
- BARNES R.S.K. 1973 - The intertidal lamellibranchs of Southampton water, with particular reference to *Cerastoderma edule* and *C. glaucum*. *Proc. Malac. Soc. Lond.*, 40: 413-433.
- BEAUMONT A.R. 1991 - Genetic studies of laboratory reared mussels, *Mytilus edulis*: heterozygote deficiencies and growth. *Biol. J. Linn. Soc.*, 44: 273-285.
- BEAUMONT A.R., PEITHER S.M.J. 1996 - Allozyme variation and gene flow between cockle *Cerastoderma edule* populations in southern United Kingdom. *Fis. Res.*, 28: 263-275.
- BEAUMONT A.R., DAY T.R., GÄDE G. 1980 - Genetic variation at the octopine dehydrogenase locus in the adductor muscle of *Cerastoderma edule* (L.) and six other bivalve species. *Mar. Biol. Lett.*, 1: 137-148.
- BENZIE J.A.H., BALLMENT E. 1994 - Genetic differences among black-lipped pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) populations in the western Pacific. *Aquaculture*, 127: 145-156.
- BENZIE J.A.H., WILLIAMS S.T. 1997 - Genetic structure of giant clam (*Tridacna maxima*) populations in the West Pacific is not consistent with dispersal by present-day ocean currents. *Evolution*, 51: 768-783.
- BORSA P., JARNE P., BELKHIR K., BONHOMME F. 1994 - Genetic structure of the palourde *Ruditapes decussatus* L., in the Mediterranean. In: A.R. Beaumont (ed.), *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*, Chapman & Hall, London, pp. 103-113.
- BOYDEN C.R., RUSSELL P.J.C. 1972 - The distribution and habitat range of the brackish water cockle (*Cardium (Cerastoderma) glaucum*) in the British isles. *J. Anim. Ecol.*, 41: 719-734.
- BROCK V. 1991 - An interdisciplinary study of evolution in the coelodes *Cardium (Cerastoderma) edule*, *C. glaucum* and *C. lamarecki*. Vestjydsk Forlag, 7830, Vinderup.
- BUROKER N.E. 1983 - Populations genetics of the American oyster *Crassostrea virginica* along the Atlantic coast and the Gulf of Mexico. *Mar. Biol.*, 7: 99-112.
- CAVALLI-SFORZA L.L., EDWARDS A.W.F. 1967 - Phylogenetic analysis: model and stimation procedures. *Evolution*, 21: 550-570.
- DA SILVA E.P., SOLÉ-CAVA A.M. 1994 - Genetic variation and population structure in the tropical marine bivalve *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin) (Veneridae). In: A.R. Beaumont (ed.), *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*, Chapman & Hall, London, pp. 159-167.
- DE MATTHAÏS E., COBOLLI M., MATTOCCIA M., SACCOCCIO P., SCAPINI F. 1994 - Genetic divergence between natural populations of Mediterranean sandhoppers (Crustacea, Amphipoda). In: A.R. Beaumont (ed.), *Genetics and evolution of aquatic organisms*, Chapman & Hall, London, pp. 15-29.
- DILLON R.T., MANZI J.J. 1992 - Population genetics of the hard clam *Mercentaria mercenaria* at the northern limit of its range. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49: 2574-2578.
- GAFFNEY P.M., SCOTT T.M., KOHEN R.K., DIEHL W.J. 1990 - Interrelationships of heterozygosity, growth rate and heterozygote deficiencies in the coot clam, *Mulinia lateralis*. *Genetics*, 124: 687-699.

- GOUDET J. 1995 - F-stat version 1.2: a computer programme to calculate F-statistics. *J. Hered.*, 86 (6): 485-486.
- GRADY J.M., SONIAT T.M., ROGERS J.S. 1989 - Genetic variability and gene flow in populations of *Crasostrea virginica* (Gmelin) from the northern Gulf of Mexico. *J. Shellfish. Res.*, 8 (1): 227-232.
- HUMMEL H., BOGAARDS R.H., AMIARD-TRIQUET C., BACHELET G., DESPREZ M., MARCHAND J., RYBARCZYK H., SYLVAND B., DE-WIT Y., DE-WOLF L. 1995 - Uniform variation in genetic traits of a marine bivalve related to starvation, pollution and geographic clines. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 191 (2): 133-150.
- HUMMEL H., WOLOWICZ M., BOGAARDS R.H. 1994 - Genetic variability and relationships for populations of *Cerastoderma edule* and *C. glaucum* complex. *Neth. J. Sea Res.*, 33 (1): 81-89.
- IVELL R. 1979a - The biology and ecology of a brackish lagoon bivalve, *C. glaucum*, in Lago Lungo, Italy. *J. Moll. Studs.*, 45: 364-382.
- IVELL R. 1979b - The biology and ecology of a brackish lagoon bivalve, *C. glaucum*, in an English lagoon, the Midwater, Sussex. *J. Moll. Studs.*, 45: 383-400.
- JELNES J.E., HOPNER PETERSEN G., RUSSELL P.J.C. 1971 - Isozyme taxonomy applied to four species of *Cardium* from Danish and British waters with a short description of the distribution of the species (Bivalvia). *Ophelia*, 9: 15-19.
- KETMAIER V., DE MATTHAEIS E., LACONI F., PAOLES L., COBOLLI M. 1997 - Genetic diversity in *Cerastoderma glaucum* from different Italian lagoons. *S. It. E. Atti*, 18: 239-242.
- KINGSTON P.F. 1974 - Studies on the reproductive cycles of *C. edule* and *C. glaucum*. *Mar. Biol.*, 28: 317-323.
- KOEHN R.K., HALL J.C., INNES D.J., ZERA A.J. 1984 - Genetic differentiation of *Mytilus edulis* in eastern North America. *Mar. Biol.*, 79: 117-126.
- LESSA E.P. 1990 - Multidimensional analysis of geographic genetic structure. *Syst. Zool.*, 39: 242-252.
- MACHADO M.M., COSTA A.M. 1994 - Enzymatic and morphological criteria for distinguishing between *Cardium edule* and *C. glaucum* of the Portuguese coast. *Mar. Biol.* 120: 535-544.
- MANLY B.F.J. 1985 - The statistics of natural selection in animal populations. London, Chapman & Hall.
- MCDONALD J.H., SIEBENLEER J.F. 1989 - Similar geographic variation at the Lap locus in the mussels *Mytilus trossolus* and *M. edulis*. *Evolution*, 43: 228-231.
- NEI M. 1978 - Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.
- PASTEUR N., PASTEUR G., BONHOMME F., CATALAN J., BRUTTON-DAVIDIAN J. 1988 - Practical isozyme genetics. Ellis, Horwood, Chichester, pp. 215.
- QUESADA H., ZAPATA C., ALVAREZ G. 1995 - A multilocus allozyme discontinuity in the mussel *Mytilus galloprovincialis*: the interaction of ecological and life-history factors. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 116: 99-115.
- RAYMOND M., ROUSSET F. 1995 - GENEPOP (version 1.2): a population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.*, 86: 248-249.
- ROHLF F.J. 1988 - Ntsys-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 1.80. Applied Biostatistics, New York.
- RUSSELL P.J.C. 1971 - A reappraisal of the geographical distributions of the cockles *Cardium edule* L. and *C. glaucum* Bruguière. *J. Conch.*, 27: 225-234.
- SAAVEDRA C., ZAPATA C., GUERRA A., ALVAREZ G., 1993 - Allozyme variation in European populations of the oyster *Ostrea edulis*. *Mar. Biol.*, 115: 85-95.
- SCHELTEMA R.S. 1971 - Larval dispersal as a means of genetic exchange between geographically separated populations of shallow-water marine gastropods. *Biol. Bull.*, 140: 284-322.
- SKIBINSKI D.O.F., BEARDMORE J.A., CROSS T.F. 1983 - Aspects of the population genetics of *Mytilus* (Mytilidae; mollusca) in the British Isles. *Biol. J. Linn. Soc.*, 19: 137-183.
- SLATKIN M., 1981 - Estimating levels of gene flow in natural populations. *Genetics*, 99: 323-335.
- SNEATH P.H.A., SOKAL R.R. 1973 - Numerical taxonomy - the principles and practice of numerical classification. W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 573.
- SWOFFORD D.L., SELANDER R.B. 1981 - Biosys-1: a fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *J. Hered.*, 72: 281-283.
- THORPE J.P. 1983 - Enzyme variation, genetic distance and evolutionary divergence in relation to levels of taxonomic separation. In: G.S. Oxford, D. Rollinson (eds), Protein polymorphism: adaptive and taxonomic significance, Academic Press, London, pp. 131-152.
- WEIR B.S., COCKERHAM C.C. 1984 - Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38 (6): 1358-1370.
- WRIGHT S. 1931 - Evolution in mendelian populations. *Genetics*, 16: 97-159.
- WRIGHT S. 1965 - The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19: 395-420.
- YEH F.C., BOYLE T.J.B. 1997 - Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Bel. J. Bot.*, 129: 157.
- ZOUROS E., FOLTZ D.W. 1984 - Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs. *Malacologia*, 25(2): 583-591.