

# Struttura genetica e livelli di differenziamento tra popolazioni e specie di *Orchestia* (Amphipoda, Talitridae) del Mediterraneo

DOMENICO DAVOLOS, 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)

Key words: gene flow, genetic distance, *Orchestia*, *Platorchestia*, population genetic structure

## SUMMARY

Allozymic variation at 23 loci was studied in 5 populations of *Orchestia mediterranea* and 10 populations of *O. montagui* mainly from the central Mediterranean basin. Interspecific mean value of genetic distance ( $D$ ) was 0.824. The intraspecific genetic distances ranged from 0.000 to 0.022 in *O. mediterranea* and from 0.000 to 0.008 in *O. montagui*. High indirect estimations of levels of gene flow ( $Nm_g > 1$ ) were detected within both species at the scale of the central Mediterranean: levels of  $Nm_g < 1$  were obtained for few pairwise comparisons. Low levels of genetic variability ( $H_o$ ) were found in *O. mediterranea* ( $H_o = 0.025$ ) and in *O. montagui* ( $H_o = 0.018$ ). In *O. montagui* populations, the relationship between  $Nm_g$  values and geographic distances was tested for the presence of an isolation by distance; an island model is useful to describe the pattern of the spatial genetic variation of 9 populations from Egadi, Pelagian and Maltese Islands (Sicilian Channel).

The  $D$  values were compared with genetic distances previously obtained among other *Orchestia* species and *Platorchestia platensis* from the Mediterranean basin to obtain a dendrogram of the evolutionary relationships.

## INTRODUZIONE

I cambiamenti che in tempi brevi e in maniera consistente si manifestano negli ambienti litorali sono in parte riferibili a processi naturali di erosione e di sedimentazione mentre in misura assai più determinante sono dovuti alla manomissione antropica dell'ambiente di costa e del suo retroterra. Nel Mediterraneo, molti tratti del sopralitorale hanno subito una notevole alterazione antropogenica, in alcuni casi con la scomparsa, totale e definitiva, delle loro biocenosi. Da tempo infatti si registra una forte pressione antropica, che, in modo sempre più rapido e invasivo provoca varie forme di degrado in molte zone costiere mediterranee: basti pensare alla massiccia edilizia costiera, ai grandi stabilimenti balneari, all'ubicazione costiera di attività industriali di vario tipo,

all'inquinamento da greggio, all'escavazione di sabbia e materiale ghiaioso sia direttamente dalle spiagge che dagli alvei dei fiumi (Cassola, 2000).

Da svariati anni si sta tentando di definire il possibile rapporto tra il grado di perturbazione dell'ambiente e le caratteristiche genetiche di popolazioni naturali. Per quanto riguarda l'ambiente sopralitorale, i risultati ottenuti hanno permesso di stabilire che i livelli di variabilità genetica delle popolazioni di talitridi possono essere correlati con il grado di variabilità ambientale (De Matthaeis et al., 1994; 1995; 1996; 1998; 1999; 2000a; Scapini et al., 1995). Inoltre, varie attività connesse con il turismo balneare intensivo su spiagge sabbiose possono causare notevoli contrazioni nel numero di individui in popolazioni del sopralitorale determinando in poche generazioni (equivalenti nei talitridi mediterranei a periodi di pochi anni; Elkaim et al., 1985; Louis, 1980) perdita di diversità genetica (De Matthaeis et al., 2000b).

Per valutare la possibilità di utilizzare la struttura genetica delle popolazioni di talitridi quale potenziale strumento indicativo delle condizioni ambientali di determinati tratti costieri è necessario conoscere l'entità della variazione genetica nell'ambito delle diverse specie su scale geografiche differenti. Nel presente lavoro si riporta l'analisi della struttura genetica di cinque popolazioni di *O. mediterranea* e di dieci popolazioni di *O. montagui*. Quattro popolazioni di *O. mediterranea* sono state campionate sul litorale laziale e una sull'isola di Malta. Le dieci popolazioni di *O. montagui* sono state raccolte sul litorale laziale, sulle coste delle isole Egadi, delle isole Maltesi e dell'isola di Lampedusa. I dati ottenuti vengono confrontati con i risultati già pubblicati su popolazioni di talitridi provenienti da altre aree geografiche del Mediterraneo. In particolare i dati per le popolazioni di *O. montagui* sono comparati con quanto già noto su 19 popolazioni della stessa specie raccolte su sette isole circumsarde e quattro isole dell'Egeo (De Matthaeis et al., 1996; 1998). Il livello di divergenza riscontrato tra *O. mediterranea* e *O. montagui* viene utilizzato per un confronto con i valori di distanza genetica ottenuti in precedenza sia tra altre specie di *Orchestia* che tra queste e *Platorchestia platensis* del Mediterraneo (De Matthaeis et al., 1998; 2000a).

## MATERIALI E METODI

Sono state esaminate cinque popolazioni di *O. mediterranea* Costa 1853 e dieci popolazioni di *O. montagui* Audouin, 1826. Nella Tab. I sono riportati, per ciascuna popolazione, la località, la data di raccolta e la sigla utilizzata nelle analisi successive. Quattro popolazioni di *O. mediterranea* sono state campionate sul litorale laziale; di queste una è stata raccolta nella *banquette* presente vicino Civitavecchia, e tre popolazioni sono state raccolte sulle rive dei laghi costieri pontini. La quinta popolazione di *O. mediterranea* è stata campionata in una zona umida retrodunale dell'isola di Malta. Per quanto riguarda le raccolte di

*O. montagui*, il campionamento sul litorale laziale è stato realizzato in tre anni diversi nella *banquette* presente vicino Civitavecchia. Sempre in *banquettes* sono state effettuate le raccolte a Punta Sottile (Favignana) e a Cala Troia (Marettimo), mentre per tutte le altre località il campionamento è stato effettuato sotto scarsi depositi di *Posidonia oceanica* (Fig. 1). Gli esemplari sono stati raccolti, trasportati al laboratorio e surgelati a  $-80^{\circ}$  C fino al momento delle analisi molecolari.

Tab. I - Località, date di raccolta e sigle delle popolazioni di *O. mediterranea* e *O. montagui* esaminate

Località	Data	Sigla
<i>Orchestia mediterranea</i>		
Civitavecchia, loc. La Frasca	06.06.1993	CIV
L.go Fogliano, Cicerchia (LT)	19.02.1989	FOG
L.go Caprolace (LT)	18.11.1989	CAP
L.go Sabaudia, Ponte Mare (LT)	18.11.1989	SAB
Is. Maltesi - Malta, Salina Marsh	20.09.1994	SAL
<i>Orchestia montagui</i>		
Civitavecchia, loc. La Frasca	16.04.1992	FRA
Civitavecchia, loc. La Frasca	06.06.1993	FRB
Civitavecchia, loc. La Frasca	23.01.1994	FRC
Is. Egadi - Marettimo, Cala Troia	05.04.1990	MCT
Is. Egadi - Favignana, P.ta Sottile	30.04.1990	FPS
Is. Egadi - Approdo Ulisse	30.04.1990	FAU
Is. Maltesi - Gozo, Ramla Bay	18.09.1994	RAM
Is. Maltesi - Malta, Maghtrab	20.09.1994	MAG
Is. Pelagie - Lampedusa, Cala Conigli	01.04.1990	CCO
Is. Pelagie - Lampedusa, Cala Madonna	30.04.1991	CMA
Is. Pelagie - Lampedusa, Cala Francese	01.04.1991	CFR
Is. Pelagie - Lampedusa, Cala Pisana	30.04.1991	CPI

Sono stati studiati, tramite elettroforesi su gel d'amido, ventitré loci enzimatici: *AcpH*, *Ada*, *Amy*, *Aph-2*, *Ca-1*, *Ca-2*, *Est-1*, *Est-2*, *Est-3*, *Got-1*, *Got-2*, *G6pd*, *Hk*, *Lap-1*, *Lap-2*, *Lap-3*, *Ldh*, *Mpi*, *Pep-1*, *Pep-2*, *Pep-3*, *Pgm*, *Phi*. Per i sistemi tampone e le tecniche di colorazione si rimanda a Cobolli et al. (1990) e De Matthaëis et al. (1994; 1995; 1996).

Per stimare quantitativamente il flusso genico ( $Nm$ ) tra le popolazioni di *O. mediterranea* e tra le popolazioni di *O. montagui* è stata usata la formula di Wright (1931; 1965):  $Nm = 1/4[(1/FST)-1]$  in cui  $FST$  è stato calcolato utilizzando il parametro  $\vartheta$  (Weir e Cockerham, 1984). I valori ottenuti sono riportati come  $Nm_{\vartheta}$ . In *O. montagui* l'analisi del flusso genico è stata effettuata su scale geografiche diverse: confrontando popolazioni della stessa isola (Favignana; Lampedusa),

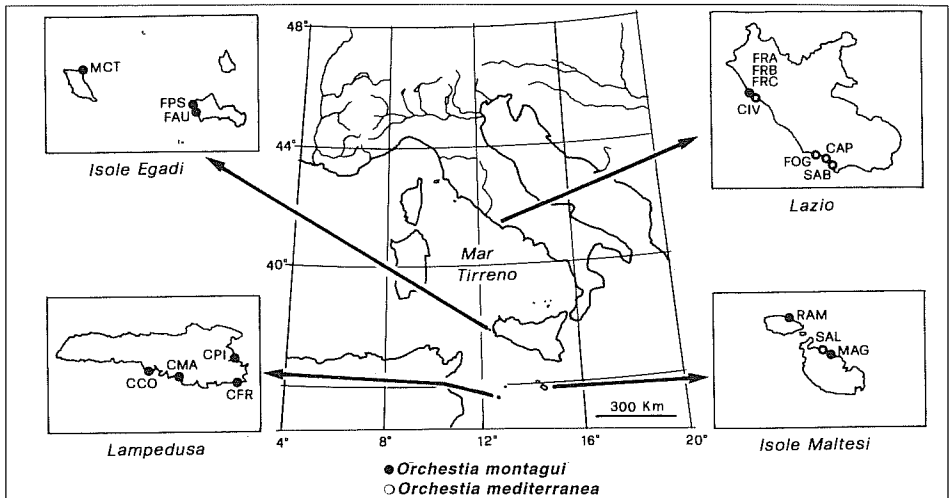


Fig. 1 - Località di raccolta delle popolazioni di *O. mediterranea* e *O. montagui* esaminate

popolazioni di isole diverse (Is. Egadi; Is. Maltesi) e tutte le popolazioni insieme. Per i valori di  $\vartheta$  di *O. montagui* sono stati calcolati gli intervalli di confidenza al 95% su 10.000 repliche di bootstrap (over loci). Se i valori di  $\vartheta$  risultano nulli o prossimi al valore zero (mancanza di differenziamento tra le popolazioni esaminate) si assume  $Nm_{\vartheta} = \infty$  (Slatkin e Barton, 1989). La significatività statistica di  $\vartheta$  ai singoli loci è stata valutata mediante le equazioni riportate in Workman e Niswander (1970). Per determinare la presenza d'isolamento per distanza (Slatkin, 1993; 1994) nelle dieci popolazioni di *O. montagui* è stata condotta un'analisi di regressione fra i valori logaritmici di flusso genico ( $\log Nm_{\vartheta}$ ) e di distanza geografica ( $\log Km$ ), calcolando il coefficiente di regressione ( $R^2$ ). È stato inoltre calcolato il coefficiente dei ranghi di Spearman ( $R$ ) per determinare in che percentuale la varianza delle frequenze alleliche ( $\vartheta$ ) fra coppie di popolazioni conspecifiche fosse spiegabile sulla base della sola distanza geografica ( $Km$ ).

È stato usato il programma Biosys-1 (Swofford e Selander, 1981) per il calcolo delle frequenze alleliche, dell'eterozigosi, della distanza genetica ( $D$ ; Nei, 1978), nonché per la costruzione del dendrogramma col metodo UPGMA (Sneath e Sokal, 1973) sulla base dei valori di  $D$ . Per il calcolo di  $\vartheta$  è stato utilizzato il programma Theta (Ellis, 1993); la significatività statistica di  $R$  e  $R^2$  è stata valutata mediante il programma Statistica 6.0 per Windows.

## RISULTATI

L'analisi elettroforetica di 15 enzimi ha permesso l'identificazione di 23 zone di attività enzimatica, tutte a migrazione anodica, che hanno consentito l'analisi

di altrettanti loci genici. Dieci loci sono risultati monomorfici per lo stesso allele nelle due specie (*Acpb*, *Ada*, *Aph-3*, *Est-1*, *Est-2*, *Est-3*, *G6pd*, *Hk*, *Lap-2*, *Pep-1*). Altri nove loci (*Amy*, *Ca-2*, *Got-1*, *Got-2*, *Lap-1*, *Lap-3*, *Ldh*, *Pep-2*, *Pep-3*) in *O. mediterranea* sono risultati monomorfici per un allele alternativo rispetto a *O. montagui*. La distribuzione delle frequenze alleliche per i loci che sono risultati polimorfici (*Amy*, *Ca-1*, *Got-1*, *Got-2*, *Mpi*, *Pgm*, *Phi*) in almeno una popolazione e i valori di eterozigosi osservata (*Ho*) e attesa (*He*) sono riportati nelle Tab. II (*O. mediterranea*) e Tab. III (*O. montagui*).

### *O. mediterranea*

I valori di *D* tra tutte le coppie di popolazioni sono risultati compresi tra 0.000 e 0.022. I valori più alti di *D* sono stati riscontrati tra la popolazione SAL (Malta) verso le quattro popolazioni del litorale laziale.

Tab. II - Frequenze alleliche ai loci polimorfici e valori di eterozigosi osservata (*Ho*) ed attesa (*He*) nelle popolazioni di *O. mediterranea* esaminate. (N = n° di individui analizzato)

Locus Allele*	Popolazioni				
	CIV	FOG	CAP	SAB	SAL
<i>Ca-1</i>					
(N)	12	40	12	15	12
E	0.000	0.050	0.083	0.300	0.000
F	1.000	0.950	0.917	0.700	1.000
<i>Mpi</i>					
(N)	12	42	12	15	12
C	0.000	0.119	0.000	0.100	0.542
D	1.000	0.881	1.000	0.900	0.458
<i>Pgm</i>					
(N)	12	43	13	15	12
A	0.458	0.767	0.692	0.733	0.917
B	0.542	0.233	0.308	0.267	0.083
<i>Phi</i>					
(N)	12	40	13	13	12
E	1.000	0.975	1.000	0.962	1.000
K	0.000	0.025	0.000	0.038	0.000
<i>Ho</i>	0.017	0.019	0.034	0.038	0.017
<i>He</i>	0.022	0.031	0.026	0.048	0.028

\*per le lettere attribuite agli alleli si rimanda a De Mattheis et al., 1996; 1998; 1999.

Tab. III - Frequenze alleliche ai loci polimorfici e valori di eterozigosi osservata ( $H_o$ ) ed attesa ( $H_e$ ) nelle popolazioni di *O. montagui* esaminate. (N=n° di individui analizzato)

Locus Allele*	Popolazioni											
	FRA	FRB	FRC	MCT	FPS	FAU	RAM	MAG	CCO	CMA	CFR	CPI
<i>Amy</i>												
(N)	18	56	108	20	20	20	30	43	19	30	10	15
A	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
B	1.000	1.000	1.000	0.975	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Got-1</i>												
(N)	77	56	108	20	20	20	30	45	19	30	10	15
B	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
E	0.916	0.982	1.000	1.000	1.000	1.000	0.783	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
H	0.084	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.217	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Got-2</i>												
(N)	77	56	108	20	20	20	30	45	19	30	10	15
B	0.903	0.813	0.815	0.975	1.000	1.000	0.850	0.933	1.000	1.000	1.000	0.967
F	0.097	0.187	0.185	0.025	0.000	0.000	0.150	0.067	0.000	0.000	0.000	0.033
<i>Mpi</i>												
(N)	77	56	108	20	20	20	30	45	19	30	10	15
A	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
B	0.909	0.830	0.787	1.000	0.950	0.950	0.917	0.822	1.000	0.983	1.000	0.933
D	0.058	0.116	0.162	0.000	0.050	0.025	0.033	0.000	0.000	0.017	0.000	0.067
G	0.032	0.054	0.051	0.000	0.000	0.000	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
H	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.178	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Pgm</i>												
(N)	77	56	108	20	20	20	30	43	19	30	10	15
B	0.097	0.098	0.051	0.025	0.000	0.250	0.000	0.012	0.184	0.217	0.000	0.000
G	0.844	0.786	0.880	0.975	1.000	0.500	0.850	0.860	0.816	0.783	1.000	1.000
I	0.058	0.089	0.046	0.000	0.000	0.250	0.150	0.128	0.000	0.000	0.000	0.000
K	0.000	0.027	0.023	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Phi</i>												
(N)	77	56	108	20	20	20	30	43	19	30	10	15
A	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
D	0.961	0.939	0.963	1.000	1.000	0.900	0.967	0.953	1.000	1.000	1.000	1.000
E	0.006	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
F	0.006	0.000	0.005	0.000	0.000	0.050	0.000	0.012	0.000	0.000	0.000	0.000
G	0.013	0.061	0.032	0.000	0.000	0.050	0.033	0.035	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Ho</i>	0.027	0.036	0.035	0.006	0.004	0.042	0.025	0.027	0.015	0.017	0.000	0.008
<i>He</i>	0.036	0.047	0.040	0.006	0.004	0.039	0.045	0.032	0.013	0.016	0.000	0.008

\*per le lettere attribuite agli alleli si rimanda a De Matthaeis et al., 1996; 1998; 1999.

Nella Tab. IV sono riportati i valori di  $\vartheta$  e i corrispondenti valori di  $Nm_{\vartheta}$  calcolati sia sulle cinque popolazioni sia sulle sole popolazioni laziali. Il livello medio

di  $Nm_g$  è risultato sempre  $> 1$ , mentre in alcuni confronti a coppia i valori di  $Nm_g$  sono risultati  $< 1$ : SAL vs CIV, SAB e CAP (0.322, 0.834 e 0.502 rispettivamente).

Il valore medio di eterozigosi osservata ( $H_o$ ) è risultato essere pari a 0.025 (Tab. II).

### *O. montagui*

Nella località Civitavecchia “La Frasca” il campionamento è stato effettuato in tre diversi anni (Tab. I) ma non sono state trovate fluttuazioni significative nelle frequenze alleliche (Tab. III). Nelle analisi successive è stata utilizzata la popolazione campionata nel 1994 (FRC) poiché per quest’ultima sono stati analizzati un maggior numero di individui.

I valori di  $D$  tra tutte le coppie di popolazioni sono risultati compresi tra 0.000 e 0.008. I maggiori livelli di divergenza genetica sono stati riscontrati tra FAU (Favignana) e tutte le altre popolazioni.

Nella Tab. V sono riportati i valori di  $\vartheta$  e i corrispondenti valori di  $Nm_g$ . I livelli di flusso genico sono risultati relativamente alti ( $Nm_g > 1$ ) considerando sia le nove popolazioni insulari che aggiungendo a questo gruppo la popolazione del litorale di Civitavecchia (Tab. V). Livelli di flusso genico alti ( $Nm_g > 1$ ) sono stati riscontrati sia tra le due popolazioni delle isole Maltesi (Gozo, Malta) che tra le quattro popolazioni dell’isola di Lampedusa (Tab. V), mentre livelli bassi ( $Nm_g < 1$ ) sono stati riscontrati tra le popolazioni delle Egadi (Tab. V), anche quando il confronto è stato effettuato tra le due popolazioni dell’isola di Favignana ( $Nm_g = 0.697$ ). Valori di  $Nm_g < 1$  sono emersi nei confronti a coppia tra FAU vs MCT, CFR e CPI (0.804, 0.890 e 0.851 rispettivamente).

Il valore medio di eterozigosi osservata ( $H_o$ ) è risultato essere pari a 0.018 (Tab. III).

Esaminando le nove popolazioni insulari non è stata evidenziata una relazione significativa tra il  $\log Nm_g$  e il  $\log Km$  ( $R^2 = 0.004$ , n.s.;  $R = -0.068$ , n.s).

## DISCUSSIONE

Il valore medio di distanza genetica ( $D$ ) tra le due specie di *Orchestia* esaminate (*O. mediterranea* e *O. montagui*) è risultato essere pari a 0.824. Utilizzando i valori medi di  $D$  riscontrati tra quattro specie di *Orchestia* (*O. gammarellus*, *O. mediterranea*, *O. montagui*, *O. stephenseni*) e *P. platensis*, riportati in Tab. VI e in parte precedentemente pubblicati (De Matthaëis et al., 1998; 2000a), è stato ricavato un dendrogramma UPGMA (Fig. 2). Le quattro specie di *Orchestia* si raggruppano in due cluster: il primo comprende *O. gammarellus* e *O. mediterranea* ( $D = 0.487$ ) e nel secondo si pone la coppia *O. montagui* e *O. stephenseni* ( $D = 0.505$ ). I due cluster si uniscono a un livello di  $D = 0.862$ . *P.*

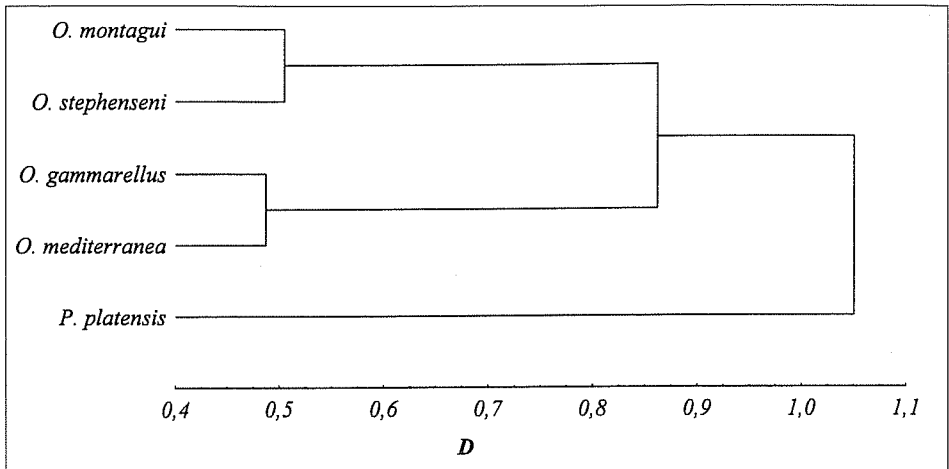


Fig. 2 - Dendrogramma UPGMA costruito sui valori di distanza genetica media  $D$  (Nei, 1978) riportati in Tab. VI

*platensis* è risultata maggiormente differenziata ( $D = 1.050$ ). È interessante evidenziare che di recente tra una popolazione di *O. gammarellus* e una di *O. mediterranea* dell'isola di Man (UK) è stato riscontrato un valore di distanza genetica ( $D = 0.580$ ; Conceição et al., 1998) confrontabile col valore riportato in Tab. VI tra le due stesse specie.

In *O. mediterranea* l'analisi dei valori di  $D$  e di  $Nm_s$  (Tab. IV) mette in evidenza un basso differenziamento genetico tra le popolazioni esaminate. La popolazione di Malta (SAL) è risultata la più differenziata; tale risultato può essere attribuito in gran parte al contributo del locus *Mpi* (Tab. II, Tab. IV). Su scala geografica minore la popolazione di Civitavecchia (CIV) mostra un certo grado di differenziamento verso le popolazioni dei laghi costieri laziali.

Per quanto riguarda la variabilità genetica, il valore medio di eterozigosi, calcolato per le popolazioni di *O. mediterranea* ( $H_o = 0.025$  su 23 loci; Tab. II), è risultato confrontabile con le stime ottenute per la medesima specie rispettivamente in due popolazioni di aree paludose veneziane ( $H_o = 0.058$  su 16 loci; Biasiolo et al., 1989) e in una popolazione dell'isola di Man ( $H_o = 0.030$  su 21 loci; Conceição et al., 1998).

In *O. montagui* l'analisi dei valori di  $D$  e di  $Nm_s$  (Tab. V) rivela un basso livello di differenziamento genetico anche se una certa eterogeneità nelle frequenze alleliche è presente ai loci *Got-1*, *Got-2*, *Mpi* e *Pgm* (Tab. V). È possibile riscontrare una maggiore affinità genetica sia tra le due popolazioni delle isole Maltesi (Gozo, Malta) che tra le quattro popolazioni dell'isola di Lampedusa (Tab. V). Livelli di flusso genico bassi ( $Nm_s < 1$ ) sono stati riscontrati tra le popolazioni delle Egadi (Tab. V), anche quando il confronto è stato effettuato tra le due popolazioni dell'isola di Favignana ( $Nm_s = 0.697$ ). Questo risultato può essere attribuito in gran parte al



contributo del locus *Pgm* (Tab. V). La differenziazione di FAU è tanto più interessante se confrontata con i valori di flusso genico ottenuti per popolazioni della stessa specie in aree insulari paragonabili (Tab. VII): sia per diverse isole circumsarde che per un'isola dell'Egeo i valori di  $Nm_{\vartheta}$  sono risultati compresi tra 3.6 e  $\infty$ .

Tab. IV - Valori medi di  $\vartheta$  e di flusso genico ( $Nm_{\vartheta}$ ) calcolati per gruppi geografici di *O. mediterranea* (\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ )

Gruppo geografico (n° popolazioni)	Civitavecchia, Laghi costieri laziali, Is. Malta (5 popolazioni)		Civitavecchia, Laghi costieri laziali (4 popolazioni)	
	$\vartheta$	$Nm_{\vartheta}$	$\vartheta$	$Nm_{\vartheta}$
<i>Ca-1</i>	0.150***	1.411	0.149***	1.418
<i>Mpi</i>	0.248***	0.755	0.017	14.397
<i>Pgm</i>	0.064*	3.604	0.044	5.420
<i>Phi</i>	-0.013	$\infty$	-0.013	$\infty$
Over loci	0.133	1.619	0.060	3.884

Tab. V - Valori medi di  $\vartheta$  e di flusso genico ( $Nm_{\vartheta}$ ) calcolati per gruppi geografici di *O. montagui* (\*\*\* $p < 0.001$ ; 10.000 repliche di bootstrap)

Gruppo geografico (n° popolazioni)	Civitavecchia, Is. Egadi, Is. Maltesi, Lampedusa (10 popolazioni)		Favignana, Marettimo (3 popolazioni)		Gozo, Malta (2 popolazioni)		Lampedusa (4 popolazioni)	
	$\vartheta$	$Nm_{\vartheta}$	$\vartheta$	$Nm_{\vartheta}$	$\vartheta$	$Nm_{\vartheta}$	$\vartheta$	$Nm_{\vartheta}$
<i>Amy</i>	0.011	21.874	-0.020	$\infty$	-	-	-	-
<i>Got-1</i>	0.209***	0.942	-	-	0.239***	0.795	-	-
<i>Got-2</i>	0.073***	3.148	0.017	14.450	0.019	12.438	0.009	26.823
<i>Mpi</i>	0.077***	2.988	0.001	248.3	0.066***	3.487	0.014	16.591
<i>Pgm</i>	0.099***	2.252	0.331***	0.504	-0.013	$\infty$	0.087	2.610
<i>Phi</i>	0.005	43.293	0.050	4.500	-0.012	$\infty$	-	-
Over loci	0.086	2.655	0.246	0.762	0.063	3.708	0.073	3.131
Bootstrap over loci								
SD 95%	0.086		0.182		0.056		0.073	
	0.007		0.076		0.019		0.004	

Nell'ambito di *O. montagui* è stata riscontrata una variazione geografica nelle frequenze alleliche al locus *Mpi* per 14 popolazioni di sette isole circumsarde (De Mattheis et al., 1996; 2000a), e, sempre per questo locus, il valore di  $\vartheta$  è risultato significativo e maggiore rispetto ad altri loci per cinque popolazioni di quattro isole dell'area egea (De Mattheis et al., 1998); nel presente lavoro al locus *Mpi* sono emersi valori di  $\vartheta$  significativi (Tab. V), e inoltre sia FAU che MAG presentano alleli privati allo stesso locus (Tab. III). È da evidenziare che una variazione

significativa nelle frequenze alleliche al locus *Mpi* per l'anfipode *Hyale plumulosa* e per i talitridi *O. grillus* e *P. platensis* della costa atlantica occidentale è risultata correlata alle condizioni meteo-marine del sito (McDonald, 1987; 1991).

Tab. VI - Matrice dei valori medi di distanza genetica (D; Nei, 1978) inter ed intraspecifici tra 4 specie di *Orchestia* e *Platorchestia platensis*

Specie	<i>O. gammarellus</i>	<i>O. mediterranea</i>	<i>O. montagui</i>	<i>O. stephenseni</i>	<i>P. platensis</i>
<i>O. gammarellus</i>	-				
<i>O. mediterranea</i>	0.487 (0.456-0.541)	0.007 (0.000-0.022)			
<i>O. montagui</i>	0.594 (0.555-0.600)	0.824 (0.774-0.90)	0.028 (0.000-0.076)		
<i>O. stephenseni</i>	0.972 (0.964-0.982)	1.058 (0.966-1.11)	0.505 (0.435-0.64)	0.050 (0.000-0.120)	
<i>P. platensis</i>	0.957 (0.950-0.960)	1.058 (1.032-1.07)	0.941 (0.867-1.08)	1.247 (1.169-1.452)	0.007 (0.000-0.019)

(valori minimi e massimi in parentesi)

Tab. VII - Valori medi di flusso genico ( $Nm_g$ ) in popolazioni di *O. montagui* provenienti dalla stessa isola in aree diverse del Mediterraneo

Isola	(n° pop.)	$Nm_g$
Asinara	(3)*	$\infty$
Maddalena	(4)*	6.160
Sant'Antioco	(3)*	$\infty$
Favignana	(2)	0.697
Lampedusa	(4)	3.131
Tilos	(2)**	3.600

\* da De Matthaëis et al. (1996); \*\* da De Matthaëis et al. (1998)

Per quanto riguarda il livello medio di variabilità genetica nelle popolazioni insulari di *O. montagui* del presente lavoro, il valore medio di eterozigosi ( $H_o = 0.016 \pm 0.012$ ) è risultato intermedio tra le stime ottenute in due gruppi geografici della medesima specie formati, rispettivamente, da popolazioni di isole circumsarde ( $H_o = 0.034 \pm 0.010$ ; De Matthaëis et al., 1996) e da popolazioni di isole egee ( $H_o = 0.011 \pm 0.006$ ; De Matthaëis et al., 1998).

Per le nove popolazioni insulari di *O. montagui* del presente lavoro non è stata evidenziata una relazione significativa tra il  $\log Nm_g$  e il  $\log Km$  ( $R^2 = 0.004$ , n.s.;

$R = -0.068$ , n.s.). Il pattern di variazione allozimica della specie nell'area in esame non è spiegabile sulla base della sola distanza geografica, ma può essere descritto dal modello insulare (Wright, 1943, 1946; Slatkin, 1993). In modo analogo la strutturazione spaziale dell'eterogeneità genetica per popolazioni insulari di *O. montagui*, *O. stephenseni* e *Talitrus saltator* dell'Egeo è risultata congruente con un modello insulare (De Matthaëis et al., 1999; 2000a). L'analisi dei livelli di flusso genico tra le popolazioni di *O. montagui* delle isole circumsarde (De Matthaëis et al., 1996; 2000a) ha consentito di ottenere, invece, risultati interpretabili sulla base del modello di isolamento per distanza (Kimura e Weiss, 1964; Slatkin, 1993). L'andamento delle correnti marine superficiali (principali artefici della dispersione dei talitridi) risulta essere relativamente costante intorno alle aree sarde, mentre è piuttosto variabile e soggetto a notevoli variazioni stagionali sia nell'area egea che nel canale di Sicilia. Il parallelismo tra la regolarità dell'andamento delle correnti marine superficiali e la presenza di correlazione tra differenziamento genetico e distanza geografica permette di dare una reale interpretazione geografica alle differenze riscontrate e apre una prospettiva interessante sulle possibilità applicative di tali metodologie di analisi.

#### RINGRAZIAMENTI

Ringraziamo N. Falchi, S. Mariani, P. Schembri e P. Romanelli per l'aiuto dato alla realizzazione del lavoro che è stato svolto grazie a contributi del Ministero dell'Università e Ricerca Scientifica, del Consiglio Nazionale delle Ricerche e dell'Unione Europea (contract ERB IC-18-CT-98-0270). I campionamenti sono stati in parte realizzati durante le campagne oceanografiche effettuate nell'ambito del Progetto "Biogeografia insulare del Mediterraneo" (CNR).

#### BIBLIOGRAFIA

- BIASIOLO A., BISOL P.M., BATTAGLIA B. 1989 - Indagini sui polimorfismi proteici in Anfipodi del genere *Orchestia*. I. *O. mediterranea* Costa della laguna di Venezia. Atti Acc. Lincei Rend. Fis., **83** (8): 299-305.
- Cassola F. 2000 - XXXIII Congresso S.I.B. Biogeografia degli ambienti costieri italiani mediterranei. Cefalù, 3-7 Ottobre 2000. Abstracts, p. 14.
- COBOLLI SBORDONI M., MATTOCCIA M., LA ROSA G., DE MATTHAEIS E., SBORDONI V. 1990 - Secondary sympatric occurrence of sibling species of subterranean shrimps in the Karst. Int. J. Speleol., **19**: 9-27.
- CONCEIÇÃO M.B., BISHOP J.D.D., THORPE J.P. 1998 - Genetic relationships between ecologically divergent species of talitrid amphipod (Crustacea). Mar. Ecol. Prog. Ser. **165**: 225-233.
- DE MATTHAEIS 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 and Hall, London, pp. 15-29.
- DE MATTHAEIS E., COBOLLI M., MATTOCCIA M., SCAPINI F. 1995 - Geographical variation in *Talitrus saltator* (Crustacea, Amphipoda): biochemical evidence. Boll. Zool., **62**: 77-84.
- DE MATTHAEIS E., COBOLLI M., DAVOLOS D., MATTOCCIA M. 1996 - Stime di flusso genico tra popolazioni di *Orchestia montagui* (Amphipoda, Talitridae) delle isole circumsarde. Biogeographia, **18**: 249-260.
- DE MATTHAEIS E., DAVOLOS D., COBOLLI M. 1998 - Genetic divergence between populations and species of talitrids from Aegean islands. J. Hered., **89**: 37-43.
- DE MATTHAEIS E., KETMAIER V., DAVOLOS D., COBOLLI M. 1999 - Strutturazione genetica e pattern di flusso genico in quattro specie di Talitridi sopralitorali dell'Egeo. Biogeographia, **20**: 95-104.

- DE MATTHAEIS E., DAVOLOS D., COBOLLI M., KETMAIER V. 2000a - Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations of four talitrids species in the Mediterranean sea. *Evolution*, 54 (5): 1606-1613.
- DE MATTHAEIS E., KETMAIER V., DAVOLOS D., SCHEMBRI P.J. 2000b - Patterns of genetic diversity in Mediterranean supralittoral amphipods (Crustacea, Amphipoda). *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 47: 473-487.
- ELKAIM B., IRLINGER J.P., PICHARD S. 1984 - Dynamique de la population d'*Orchestia mediterranea* L. (Crustacé, Amphipode) dans l'estuaire du Bou Regreg (Maroc). *Can. J. Zool.* 63: 2800-2809.
- ELLIS W.N. 1993 - Theta v. 2.0; a program for the analysis of population structure and the estimation of  $Nm$  (Weir and Cockerham, 1984). Institute of Taxonomic Zoology, Entomology Department, Plantage Middenlaan 64, 1018 DH Amsterdam.
- KIMURA M., WEISS G.H. 1964 - The stepping stone model of population structures and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics*, 49: 561-576.
- LOUIS M. 1980 - Etude d'un peuplement mixte d'*Orchestia montagu*i Audin et d'*Orchestia deshayesi* Audin dans la baie de Bou Ismail (Algerie). *Bull. Ecol.*, 11: 97-111.
- MCDONALD J.H. 1987 - Repeated geographic variation at three enzyme loci in the amphipod *Platorchestia platensis*. *Evolution*, 41: 438-441.
- MCDONALD J.H. 1991 - Contrasting amounts of geographical variation as evidence for direct selection: the  $Mpi$  and  $Pgm$  loci in eight crustacean species. *Heredity*, 67: 215-219.
- NEI M. 1978 - Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.
- SCAPINI F., BUIATTI M., DE MATTHAEIS E., MATTOCCIA M. 1995 - Orientation behaviour and heterozygosity of sandhopper populations in relations to stability of beach environment. *J. Evol. Biol.*, 8: 43-52.
- SLATKIN M. 1993 - Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, 47 (1): 264-279.
- SLATKIN M. 1994 - Gene flow and population structure. In: A.R. Leslie (ed.), *Ecological Genetics*; Princeton University Press, Princeton, New Jersey, pp. 3-17.
- SLATKIN M., BARTON N.H. 1989 - A comparison of three in direct methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution*, 43 (7): 1349-1368.
- SNEATH P.H.A., SOKAL R.R. 1973 - *Numerical Taxonomy*, San Francisco, W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- SWOFFORD D.L., SELANDER R.B. 1981 - Biosys-1: a Fortran computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and systematics. *J. Hered.*, 72: 281-283.
- WEIR B.S., COCKERHAM C.C. 1984 - Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38 (6): 1358-1370.
- WORKMAN P.L., NISWANDER J.D. 1970 - Population studies on Southwestern Indian tribes. II. *Am. J. Hum. Genet.*, 22: 24-49.
- WRIGHT S. 1931 - Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, 6: 97-159.
- WRIGHT S. 1943 - Isolation by distance. *Genetics*, 28: 139-156.
- WRIGHT S. 1946 - Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics*, 31: 39-59.
- WRIGHT S. 1965 - The interpretation of population structure by F-statistics with regard to system of mating. *Evolution*, 19: 395-420.