

GORTANIA - Atti Museo Friul. Storia Nat.	9('87)	227-236	Udine, 31.VII.1988	ISSN: 0391-5859
--	--------	---------	--------------------	-----------------

M.G. FILIPPUCCI, L. LAPINI

PRIMI DATI SUL DIFFERENZIAMENTO GENETICO
TRA *ERINACEUS EUROPAEUS* LINNAEUS, 1758
ED *ERINACEUS CONCOLOR* MARTIN, 1838
NELL'ITALIA NORD-ORIENTALE
(MAMMALIA, INSECTIVORA, ERINACEIDAE)*

FIRST DATA ON THE GENETIC DIFFERENTIATION BETWEEN
ERINACEUS EUROPAEUS LINNAEUS, 1758
AND *ERINACEUS CONCOLOR* MARTIN, 1838 IN NORTH-EASTERN ITALY
(MAMMALIA, INSECTIVORA, ERINACEIDAE)

Riassunto breve — Viene valutato il differenziamento genetico di due popolazioni simpatiche di *E. europaeus* ed *E. concolor*. Le due specie sono risultate geneticamente ben differenziate e riproduttivamente isolate.

Parole chiave: Differenziamento genetico, *Erinaceus europaeus*, *Erinaceus concolor*.

Abstract — The Authors examined the genetic differentiation between two populations of *E. concolor* and *E. europaeus* in north-eastern Italy. The results suggest that there is no introgression between the two species in this area.

Key words: Allozyme differentiation, *Erinaceus europaeus*, *Erinaceus concolor*.

1. Introduzione

Lo status tassonomico di *Erinaceus concolor* MARTIN, 1838, proprio dell'Asia Minore nord-orientale e del Sud-Est europeo, è da tempo oggetto di discussione.

Questo taxon è stato a lungo considerato sottospecie di *E. europaeus*

* La ricerca è stata finanziata con fondi M.P.I. per "Ricerche faunistiche nel Mediterraneo occidentale".

(ELLERMANN & MORRISON-SCOTT, 1951; CORBET, 1978; GUREEV, 1979; GROMOV & BARANOVA, 1981).

Altri autori (HERTER, 1938; KRATOCHVIL, 1966; WOLFF, 1976; SKOUDLIN, 1978; CORBET & OVENDEN, 1980; GIAGIA & ONDRIAS, 1980; HONACKI et al., 1982; KRYŠTUFK, 1983; LAPINI & PERCO, 1987) considerano invece queste due entità specie distinte.

E. europaeus e *E. concolor* presentano entrambi un numero cromosomico diploide di 48 cromosomi. Alcune differenze sono state però osservate nel cariotipo; queste sono legate alla diversa distribuzione di blocchi terminali di eterocromatina e alla diversa posizione della regione nucleolo organizzatrice sulla ventunesima coppia di cromosomi (KRAL, 1976; MANDAH, 1979). Il cariotipo di *E. concolor* corrisponde invece a quello del taxon *roumanicus* BARRETT-HAMILTON, 1900. Infatti recenti studi cariologici, condotti su materiali del Sud-Est europeo (DULIC & TVRTOVIČ, 1979; GIAGIA & ONDRIAS, 1980), non hanno evidenziato differenze significative tra il cariotipo dei ricci dell'Europa centro-orientale e quelli del Sud-Est europeo. La forma *roumanicus*, descritta per l'Europa centro-orientale, è stata per lungo tempo considerata una sottospecie di *E. europaeus* (ELLERMANN & MORRISON-SCOTT, 1951; CORBET, 1978) o specie distinta (OGNEV, 1928; ORLOV, 1969; MARKOV & DOBRIJANOV, 1974; MANDAH, 1979), ma recentemente è stata posta in sinonimia con *E. concolor* e considerata sottospecie di quest'ultima (HONACKI et al., 1982; PODUSCHKA & PODUSCHKA, 1983; KRYŠTUFK, 1983; LAPINI & PERCO, 1987).

Gli areali di *E. europaeus* e di *E. concolor* si sovrappongono in un'area che va dalla Polonia occidentale all'Adriatico settentrionale (CORBET & OVENDEN, 1980), ma la distribuzione di queste due specie deve ancora essere definita con chiarezza in Italia nord-orientale ed in Austria meridionale (LAPINI & PERCO, 1987).

L'esistenza di aree di contatto fra le due specie in Friuli-Venezia Giulia costituisce la situazione ideale per verificare lo status tassonomico di *E. europaeus* e di *E. concolor* e l'eventuale presenza in questa area di fenomeni di ibridazione naturale ed introgressione.

L'applicazione di tecniche elettroforetiche allo studio di sistemi gene-enzima, oltre a fornire una stima del differenziamento genetico ai vari livelli tassonomici (popolazioni locali, sottospecie, specie e generi), consente il riconoscimento di specie gemelle, non sempre facilmente distinguibili su base morfologica.

Scopo della presente ricerca è l'analisi preliminare del differenziamento genetico e dell'eventuale presenza di fenomeni introgressivi fra popolazioni simpatiche

di *E. concolor* ed *E. europaeus*, tramite analisi elettroforetica della variabilità allozimica a 25 loci genici. Lo status tassonomico e le relazioni filogenetiche tra questi due taxa sono discussi alla luce dei risultati ottenuti.

2. Materiali e metodi

Sono stati analizzati 30 esemplari appartenenti alle specie *E. europaeus italicus* (21) ed *E. concolor roumanicus* (9) provenienti da varie località del Friuli-Venezia Giulia (fig. 1), in una fascia di ampio contatto fra gli areali di questi due taxa larga circa km 70 e lunga km 110. Il materiale analizzato era stato utilizzato in precedenza per una sintesi faunistica delle conoscenze sulla distribuzione delle due specie nel Nord-

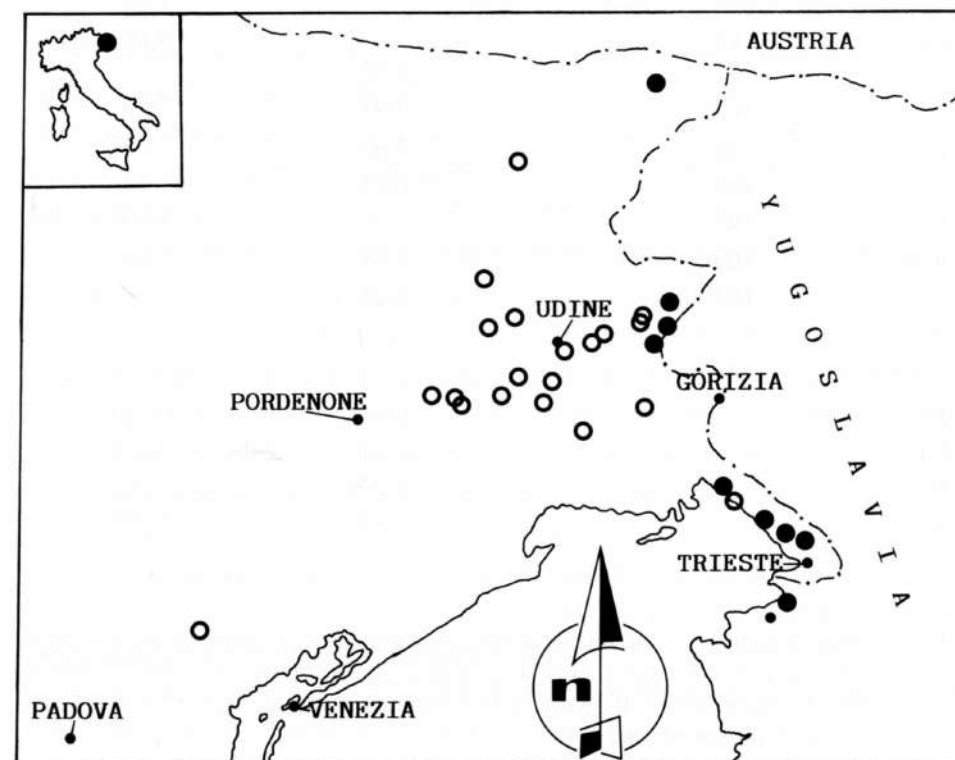


Fig. 1 - Distribuzione dei materiali analizzati nell'Italia nord-orientale.
 - Distribution of the samples analyzed from North eastern Italy.
 ○: *Erinaceus europaeus* ●: *Erinaceus concolor*

Loci	Alleli	<i>E. europaeus</i>	<i>E. concolor</i>
α -Gpdh	100	1.00	—
	103	—	1.00
Mdh-2	90	0.26	—
	100	0.74	1.00
Me	100	1.00	—
	105	—	1.00
Idh-1	100	0.73	0.72
	104	0.27	0.28
Np	100	0.98	1.00
	103	0.02	—
Got-1	100	1.00	—
	105	—	1.00
Got-2	90	—	0.81
	97	0.07	—
	100	0.93	0.19
Est-3	96	0.07	—
	100	0.93	—
	103	—	1.00
Mpi	100	0.98	1.00
	103	0.02	—
Ho		0.032	0.019
He		0.045	0.028
P		0.240	0.080
A		1.240	1.080

Tab. I - Frequenze alleliche osservate nei loci risultati polimorfici o differenziati in *E. europaeus* ed in *E. concolor* e stime di variabilità genetica (Ho: eterozigosi osservata; He: eterozigosi attesa; P: percentuale di loci polimorfici, criterio 1%; A: numero medio di alleli per locus).

- Allelic frequencies observed in polymorphic or differentiated loci among *E. europaeus* and *E. concolor* and valuation of genetic variability (Ho: observed heterozygosity; He: expected heterozygosity; P: % of polymorphic loci, 1% method; A: mean alleles number per locus).

Est italiano (LAPINI & PERCO, 1987). In questo lavoro era stata operata una discriminazione dei due taxa su base soltanto morfologica (soprattutto sensu WOLFF, 1976) ed i reperti esaminati provenivano nella loro totalità da investimenti stradali o da collezioni museali.

Lo studio è stato effettuato mediante elettroforesi orizzontale su gel d'amido. L'analisi elettroforetica è stata condotta separatamente su porzioni di muscolo e di rene (per SDH e HK), omogenate meccanicamente in H₂O distillata.

Ogni esemplare è stato analizzato per 25 loci, che codificano per i seguenti sistemi enzimatici: α -Glicerofosfato deidrogenasi (E.C. 1.1.1.8; α -Gpdh), Sorbitolo deidrogenasi (E.C. 1.1.1.14; Sdh), Lattato deidrogenasi (E.C. 1.1.1.27; Ldh-1 e Ldh-2), Malato deidrogenasi (E.C. 1.1.1.37; Mdh-1 e Mdh-2), Enzima malico (E.C. 1.1.1.40; Me), Isocitrato deidrogenasi (E.C. 1.1.1.42; Idh-1 e Idh-2), Indofenolo ossidasi (E.C. 1.15.1.1; Ipo-1 e Ipo-2), Nucleoside fosforilasi (E.C. 2.4.2.1; Np), Glutammato-ossalacetato transaminasi (E.C. 2.6.1.2; Got-1 e Got-2), Esochinasi (E.C. 2.7.1.1; Hk), Creatino chinasi (E.C. 2.7.3.2; Ck), Adenilato chinasi (E.C. 2.7.4.3; Adk), Fosfoglucomutasi (E.C. 2.5.7.1; Pgm), Esterasi (E.C. 3.1.1.1; Est-2 e Est-3), Ammino peptidasi (E.C. 3.4.11; Ap-1 e Ap-2), Adenosin deaminasi (E.C. 3.5.4.4; Ada), Fumarasi (E.C. 4.2.1.2; Fum), Mannosio fosfato isomerasi (E.C. 5.3.1.8; Mpi), Glucosio fosfato isomerasi (E.C. 5.3.1.9; Gpi).

Le tecniche elettroforetiche impiegate sono quelle descritte in FILIPPUCCI et al. (1987).

I vari loci codificanti per un determinato enzima sono stati designati con la sigla dello stesso seguita da un numero progressivo che sta ad indicare le varie zone di attività enzimatica identificabili nelle singole piastre, a partire da quella più vicina all'anodo. I vari alleli a ciascun locus sono stati indicati con una numerazione che tiene conto della mobilità elettroforetica relativa, espressa in mm, rispetto all'allozima più frequente in *E. europaeus* ed indicato come 100.

I livelli di variabilità genetica sono stati stimati mediante analisi dell'eterozigosi media per locus osservata (Ho) ed attesa (He) rispetto all'equilibrio di Hardy-Weinberg, della percentuale di loci risultati polimorfici con il criterio dell'1% (P; un locus è considerato polimorfico se la frequenza dell'allele più comune è inferiore allo 0.99) e del numero medio di alleli per locus (A).

Una stima della divergenza genetica fra i due taxa analizzati viene fornita mediante gli indici di identità genetica (I) e di distanza genetica (D) proposti da NEI (1972).

3. Risultati

Sedici dei 25 loci analizzati si presentano monomorfici e fissati per lo stesso allele nei due taxa analizzati: *Sdh*, *Ldh-1*, *Ldh-2*, *Mdh-1*, *Idh-2*, *Ipo-1*, *Ipo-2*, *Hk*, *Ck*, *Adk*, *Pgm*, *Est-2*, *Ap-1*, *Ap-2*, *Fum* e *Gpi*. Le frequenze dei loci risultati polimorfici o discriminanti vengono riportate nella tabella I.

In *E. europaeus* è stato osservato polimorfismo ai loci *Mdh-2*, *Idh-1*, *Np*, *Got-2*, *Est-3* e *Mpi*. *E. concolor* presenta polimorfismo per i loci *Idh-1* e *Got-2*.

I dati relativi alla variabilità genetica sono anch'essi riportati nella tabella I. I valori di eterozigosi corrispondono a quelli generalmente osservati in altri gruppi di Mammiferi, e più precisamente di Insettivori (NEVO et al., 1984; TOLLIVER et al., 1985; FILIPPUCCI, 1987). I valori di eterozigosi e polimorfismo osservati in *E. concolor* risultano inferiori a quelli di *E. europaeus*; ciò può essere attribuito al fatto che la popolazione analizzata proviene dal margine occidentale di distribuzione di questo taxon. SELANDER (1976) osserva infatti che frequentemente le popolazioni marginali presentano riduzione nei valori di variabilità genetica dovuta ad effetto del fondatore ed a deriva genetica.

I loci α -*Gpdh*, *Me*, *Got-1* e *Est-3* sono risultati fissati per alleli alternativi nei due taxa considerati, mentre il locus *Got-2* si presenta parzialmente discriminante in quanto l'allele più comune è diverso nelle due popolazioni.

Dalle frequenze alleliche osservate ai 25 loci analizzati sono stati calcolati i valori di identità genetica e di distanza genetica mediante l'indice di NEI (1972). Nel confronto fra i due taxa il valore di D risulta essere 0.212, mentre quello di I è 0.809.

4. Discussione

Il valore di distanza genetica osservato fra *E. concolor* ed *E. europaeus* rientra nell'ambito di quelli comunemente riscontrati fra specie congeneri in Mammiferi. Valori di D superiori a 0.2 sono stati spesso osservati a vari livelli di divergenza evolutiva e sono frequenti nei confronti fra specie gemelle di Vertebrati (AVISE & AQUADRO, 1982; AYALA, 1983; THORPE, 1983; NEI, 1987). THORPE (1982), analizzando la distribuzione dei valori di D e di I in popolazioni conspecifiche, in specie congeneri e tra generi (escludendo gli Uccelli da tale analisi), ha osservato che nel caso di specie congeneri l'identità genetica è compresa tra 0.98 e 0.02 e la distanza

genetica tra 0.02 e 3.9, ma più frequentemente $0.2 \leq I \leq 0.8$ e $0.2 \leq D \leq 1.6$.

Una ulteriore conferma della separazione specifica fra *E. europaeus* ed *E. concolor* deriva inoltre dal fatto che le popolazioni analizzate provengono da una fascia di ampio contatto fra gli areali di questi due taxa e che in questa zona si osservano 4 loci discriminanti e fissati per alleli alternativi. Ciò esclude la presenza di flusso genico e di fenomeni introgressivi fra queste due specie. D'altra parte, allo stato attuale delle conoscenze, non esistono evidenze di ibridazione tra i due taxa in libertà. Soltanto in cattività, PODUSCHKA & PODUSCHKA (1983) hanno potuto verificare che il maschio di *E. concolor* può fecondare la femmina di *E. europaeus* e non viceversa. Secondo questi Autori, inoltre, la prole che deriva dall'ibridazione è fertile almeno fino alla seconda generazione.

Dal valore di distanza genetica, utilizzando l'indice proposto da NEI (1975), si può inoltre risalire in modo approssimativo al tempo di divergenza fra *E. concolor* ed *E. europaeus*. La separazione di queste due specie da un progenitore comune sembra, dai risultati ottenuti, risalire a circa un milione di anni fa.

Nonostante l'esiguità del campione esaminato, inoltre, è certamente possibile riconfermare la validità dei criteri di riconoscimento morfologico proposti da WOLFF (1976); infatti le determinazioni effettuate su sole basi morfologiche (LAPINI & PERCO, 1987) si sono dimostrate notevolmente congruenti con i nostri dati biochimici.

Manoscritto pervenuto il 18.IV.1988.

Ringraziamenti

Siamo particolarmente grati al prof. P. Omodeo ed al prof. E. Capanna per la lettura critica del manoscritto.

SUMMARY — The genetic differentiation between two sympatric populations of *E. europaeus* and *E. concolor* has been analyzed by electrophoretic analysis of 25 enzymatic loci. *E. europaeus* and *E. concolor* are two genetically well differentiated and reproductively isolated species. Four loci (α -*Gpdh*, *Me*, *Got-1* and *Est-3*) displayed alternative fixation and *Got-2* was partially discriminated between the two species. The value of genetic distance between *E. europaeus* and *E. concolor* was $D=0.212$.

Bibliografia

- AVISE J.C. & AQUADRO C.F., 1982 - A comparative summary of genetic distances in the Vertebrates. In: HECHT, WALLACE & PRANCE, eds. - *Evolutionary Biology. Plenum Publishing Corporation*, 15: 151-185.
- AYALA F.J., 1983 - Enzymes as taxonomic characters. In: OXFORD G.S. & ROLLINSON D., eds. - *Protein polymorphism: Adaptive and taxonomic significance. Academic Press*, London & New York: 3-26.
- CORBET G.B., 1978 - The Mammals of the Palearctic Region. A taxonomic review. *Brit. Museum (N.H.), Cornell Univ. Press.*, London and Ithaca.
- CORBET G.B. & OVENDEN D., 1980 - The Mammals. *Wm Collins sons & Co Ltd*, Glasgow.
- DULIČ B. & TVRTOVIČ N., 1979 - On some mammals from the centraladriatic islands. *Acta Biol., Jug. Akad. Znan. j Umjet.*, 43: 15-35.
- FILIPPUCCI M.G., 1987 - Evoluzione cromosomica e genica in Micromammiferi dell'area mediterranea (Talpidae, Gliridae e Muridae). *Tesi di Dottorato, Università di Padova*, a.a. 1985-86, pp. 99.
- FILIPPUCCI M.G., NASCETTI G., CAPANNA E. & BULLINI L., 1987 - Allozyme variation and systematics of european moles of the genus *Talpa* (Mammalia, Insectivora). *J. Mamm.*, 68 (3): 487-499.
- GIAGIA E.B. & ONDRIAS J.C., 1980 - Karyological analysis of eastern european hedgehog *Erinaceus concolor* (Mammalia, Insectivora) in Greece. *Mammalia*, 44 (1): 59-71.
- GROMOV I.M. & BARANOVA G.S., 1981 - Katalog mlekopitayushchikh SSSR. (Catalogs of Mammals of the USSR). *Nauka*, Leningrad, pp. 456.
- GUREEV A.A., 1979 - Nasekomoyadnie (Insectivores) (Mammalia, Insectivora). Fauna SSSR, Mlekopitayushchie (Mammals). *Nauka*, Leningrad, 4 (2), pp. 502.
- HERTER K., 1938 - Die Biologie der europäischen Igel. *Monogr. d. Wildsäugetiere, Paul Schops*, 5, Leipzig.
- HONACKI J.J., KINMAN K.E. & KOEPL J.W. (Eds.), 1982 - Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference. *Allen Press Inc.*, New York, pp. 694.
- KRAL B., 1967 - Karyological analysis of two european species of the genus *Erinaceus*. *Zool. Listy*, 16 (3): 239-252.
- KRATOCHVIL J., 1966 - Zur Frage der Verbreitung des Igels (*Erinaceus*) in der CSSR. *Zool. Listy*, 15 (4): 291-304.
- KRYŠTUFEK B., 1983 - The distribution of Hedgehogs (*Erinaceus* Linnaeus, 1758, *Insectivora*, *Mammalia*) in Western Yugoslavia. *Biosistematika*, 9 (1): 71-79.
- LAPINI L. & PERCO Fa., 1987 - Primi dati su *Erinaceus concolor* MARTIN, 1838 nell'Italia nord-orientale (Mammalia, Insectivora, Erinaceidae). *Gortania*, 8 (1986): 249-262.
- MANDAHL N., 1979 - Localisation of nucleolar organizing regions in European hedgehogs (Insectivora, Mammalia). *Hereditas*, 91: 149-161.
- MARKOV G.R. & DOBRIJANOV O., 1974 - Karyologische Analyse der Weissbrust Ostigel (*Erinaceus roumanicus* Barr.-Ham.) in Bulgarien. *Zool. Anz.*, 193: 181-188.
- NEI M., 1972 - Genetic distances between populations. *Am. Nat.*, 106: 283-292.
- NEI M., 1975 - Molecular population genetics and evolution. *North-Holland Publ. Co.*, Amsterdam, pp. 288.
- NEI M., 1987 - Molecular evolutionary genetics. *Columbia University Press*, New York, pp. 512.
- NEVO E., BEILES A. & BEN SCHLOMO R., 1984 - The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic and life history correlates. In: MANI G.S., ed. - *Evolutionary dynamics of genetic diversity. Lecture notes in Biomathematics*, 53: 13-213.
- ORLOV N.V., 1969 - Chromosome complements of the hedgehogs from East Europe. *Symp. Mamm. Soc. USSR*, Novosibirsk: 6-7.
- PODUSCHKA W. & PODUSCHKA C., 1983 - Kreuzungsversuche an mitteleuropäischen Igel (*Erinaceus concolor roumanicus* B. - Ham., 1900 × *Erinaceus europaeus* L., 1758). *Säugetierk. Mitt.*, 31: 1-12.
- ŠKOUDLIN J., 1978 - Variabilität der Schädelausmasse unserer Igel (*Erinaceus europaeus* und *Erinaceus concolor*). *Acta Univ. Carol.-Biol.*: 209-245.
- SELANDER R.K., 1976 - Genetic variation in natural populations. In: AYALA F.J., ed. - *Molecular evolution. Sinauer Associates*, Sunderland, Massachusetts: 21-45.
- THORPE J.P., 1982 - The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation, and systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 13: 139-168.
- THORPE J.P., 1983 - Enzyme variation, genetic distance and evolutionary divergence in relation to levels of taxonomic separation. In: OXFORD G.S. & ROLLINSON D., eds. - *Protein polymorphism: adaptive and taxonomic significance. Academic Press Inc. (London) Ltd.*: 131-152.
- TOLLIVER D.K., SMITH M. & LEFTWICH R.H., 1985 - Genetic variability in Insectivora. *J. Mamm.*, 66 (2): 405-410.
- WOLFF P., 1976 - Unterscheidungsmerkmale am Unterkiefer von *Erinaceus europaeus* L. und *Erinaceus concolor* Martin. *Ann. Naturhistorisches Mus.*, Wien, 80: 337-341.

Indirizzi degli Autori - Authors' addresses:

- Dr. Maria Grazia FILIPPUCCI
Dipartimento di Biologia
dell'Università degli Studi
Via Loredan 10, I-35131 PADOVA
- Luca LAPINI
Museo Friulano di Storia Naturale
Via Grazzano 1, I-33100 UDINE