

B. CRISTO, T. LAI, D. SANNA, G.L. DEDOLA, M. CURINI-GALLETTI, M. CASU

Dipartimento di Zoologia e Genetica Evoluzionistica, Università di Sassari,
Via F. Muroli, 25 - 07100 Sassari, Italia.
bencris@aliceposta.it

DETERMINAZIONE SPECIFICA DI INDIVIDUI GIOVANILI
DEL GENERE *PATELLA* FISSATI SU ADULTI
DI *PATELLA FERRUGINEA* (GMELIN, 1791),
TRAMITE UTILIZZO DEL DNA BARCODING

*SPECIFIC ATTRIBUTION OF JUVENILES BELONGING
TO THE GENUS PATELLA SET ON ADULTS
OF PATELLA FERRUGINEA (GMELIN, 1791)
BY MEANS OF DNA BARCODING*

Abstract - A genetic analysis was performed on two individuals belonging to the genus *Patella* recovered as epibionts on *P. ferruginea* (Gmelin, 1791). The survey was carried out by means of the Cytochrome c Oxidase (COI) Folmer's region. Results obtained evidenced the occurrence of a juveniles of *P. ferruginea* and one of *P. rustica*, and confirmed that COI is an invaluable tool for the DNA barcoding.

Key-words: *Patella ferruginea*, marine molluscs, rare species.

Introduzione - Il gasteropode proterandrico endemico del Mediterraneo, *Patella ferruginea* (Gmelin, 1791) è l'invertebrato marino a più alto rischio d'estinzione (Laborel-Deguen & Laborel, 1991). Le principali cause del declino di questa specie, oltre, alla raccolta indiscriminata per il collezionismo e l'alimentazione (Cristo *et al.*, 2008), possono essere correlate a specifiche modalità di foresi, in quanto è stato osservato che adulti di *P. ferruginea* spesso hanno come epibionti temporanei delle fasi giovanili. In seguito ad una più ampia attività di caratterizzazione genetica, in questo lavoro è stata effettuata un'analisi su due individui giovanili appartenenti al genere *Patella*, rinvenuti come epibionti su *P. ferruginea*, la cui determinazione era impossibile su basi morfologiche.

Materiali e metodi - Per l'attribuzione specifica dei due individui giovanili sono state confrontate le sequenze parziali delle Citocromo c Ossidasi (COI), con quelle ottenute da individui adulti delle quattro specie del genere *Patella* presenti sulle coste italiane: *P. caerulea*, *P. ferruginea*, *P. rustica* e *P. ulyssiponensis*. Per ogni specie sono stati analizzati almeno 6 esemplari. Sono stati utilizzati i primer universali per l'amplificazione della COI negli invertebrati marini, riportati da Folmer *et al.* (1994). Di fatto, le sequenze ottenute attraverso tali primer trovano da decenni ampia applicazione per l'attribuzione specifica di numerosi taxa "morfologicamente problematici" tramite il DNA barcoding (Folmer *et al.*, 1994).

Risultati - Il primo risultato ottenuto dalla presente analisi è stata la conferma che la COI è un ottimo marcatore per il DNA barcoding nel genere *Patella*. Le sequenze ottenute dagli adulti analizzati hanno infatti evidenziato un bassissimo grado di diversità nucleotidica (*Pi*) a livello intraspecifico, con un valore medio pari a 0.03, mentre a livello interspecifico i risultati hanno mostrato un considerevole aumento dei valori, con *Pi* media pari a 0.10. Quest'ultimo valore, benché non elevatissimo in senso assoluto, è di un ordine di grandezza superiore rispetto ai corrispondenti interspecifici. Le caratteristiche della regione mitocondriale analizzata hanno quindi consentito di attribuire la

specie di appartenenza agli individui giovani attraverso il confronto delle loro sequenze nucleotidiche con quelle degli individui la cui la specie fosse nota. La preparazione di un dataset in cui fossero comprese le sequenze degli adulti e dei giovani ha consentito l'applicazione di un test di assegnazione e il calcolo della P_i tra i due giovani ed i rappresentati di tutte le quattro specie. I risultati hanno evidenziato con certezza l'appartenenza del primo alla specie *P. ferruginea* (con $P_i = 0.002$) e del secondo alla specie *P. rustica* (con $P_i = 0.050$).

Conclusioni - Il presente lavoro ha ulteriormente confermato l'utilità dell'applicazione delle tecniche di DNA barcoding per l'attribuzione specifica di individui non distinguibili attraverso analisi tradizionali. Inoltre, è stata data nuova luce ad un fenomeno di supposta filopatria larvale degli individui di *P. ferruginea*. I nostri risultati suggeriscono che, tale filopatria, se presente, coinvolge individui appartenenti a specie diverse del genere *Patella*. Alternativamente, il fissarsi di larve o individui giovanili sulle conchiglie degli esemplari adulti, specialmente quelle di notevoli dimensioni, può essere un fenomeno semplicemente dovuto al caso.

Bibliografia

- CRISTO B., FLORIS A., CARONNI S. (2007) - Osservazioni su *Patella ferruginea* Gmelin 1791 (Mollusca, Gastropoda) nel Golfo di Olbia. *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 344-345.
- FOLMER O, BLACK M, HOEH W, LUTZ R AND VRIJENHOEK R. (1994) - DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, **3**: 294-299.
- LABOREL-DEGUEN F., LABOREL J. (1991) - Status de *Patella ferruginea* Gmelin en Méditerranée. In: Boudouresque C.F., Avon M., Gravez V. (eds), *Les espèces marines à protéger en Méditerranée*. GIS Posidonie Publishers, Marseille: 91-103.