

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.6787266>

MARCO MANGIACOTTI, ALAN J. COLADONATO, SARA POZZI,
ANDREA MELOTTO, ANDREA CONTI, GENTILE F. FICETOLA,
DANIELE SALVI, MARCO A.L. ZUFFI, STEFANO SCALI & ROBERTO SACCHI

IL PATTERN PROTEICO DELLE SECREZIONI
DELLE GHIANDOLE FEMORALI DI *PODARCIS RAFFONEI*:
CONFRONTO CON ALTRE LUCERTOLE DEL GENERE *PODARCIS*

RIASSUNTO

I lacertidi possiedono una serie di ghiandole epidermiche (femorali) lungo l'arto posteriore utilizzate nella comunicazione chimica intra- e interspecifica. Il loro secreto è costituito da due componenti, lipidi e proteine. Considerando il potenziale ruolo di barriera riproduttiva svolto dai segnali chimici, ed in particolare dalla componente proteica, il presente studio vuole caratterizzare il pattern proteico in *Podarcis raffonei*, lacertide endemico dell'arcipelago delle Eolie. I pattern elettroforetici delle proteine delle ghiandole femorali di quattro individui di *P. raffonei* sono stati confrontati con altrettanti campioni di *P. muralis* e *P. siculus*, evidenziando una differenziazione significativa del nel profilo elettroforetico. Sebbene imputabile alla distanza genetica tra le specie, questa differenziazione potrebbe ugualmente implicare un potenziale ruolo della frazione proteica come barriera riproduttiva.

Parole chiave: Comunicazione chimica, ghiandole femorali, proteine, elettroforesi.

SUMMARY

The protein pattern of femoral gland secretions of P. raffonei: comparison with other Podarcis lizards. Lacertid lizards bear a set of epidermal (femoral) glands along the inner part of the hind limb, which are used in intra- and inter-specific chemical communication. The secretion is made of two components, lipids and proteins. Considering the potential role of chemical signals as reproductive barriers, notably for the protein fraction, this study aims at characterizing the protein pattern of femoral gland secretions in *Podarcis raffonei*, a lacertid lizard endemic to the Aeolian archipelago. We compared the electrophoretic patterns of the proteins from the femoral glands of four adult male *P. raffonei* with those from *P. muralis* and *P. siculus*, highlighting the occurrence of a significant difference among the electrophoretic profiles. Though this difference can be simply due to the genetic distance among the species, it could equally imply a potential role for proteins as a reproductive barrier.

Key words: Chemical communications, femoral glands, proteins, electrophoresis.

INTRODUZIONE

Tra i sauri, i lacertidi sono stati spesso usati come gruppo modello nello studio della comunicazione chimica. In tutte le specie di questa famiglia, sono presenti delle ghiandole epidermiche lungo la parte interna del segmento prossimale dell'arto posteriore, chiamate ghiandole femorali, usate per la comunicazione sia intra- sia interspecifica (MANGIACOTTI *et al.*, 2020). Le loro secrezioni sono composte da una miscela di lipidi e proteine. La frazione proteica, poco studiata, si è dimostrata attiva nella comunicazione intraspecifica.

La lucertola delle Eolie *Podarcis raffonei* rappresenta un endemismo insulare all'interno del genere *Podarcis*. Inserita tra le specie in pericolo critico di estinzione (CORTI *et al.*, 2009), tra le cause del declino delle sue popolazioni è riportata la competizione e l'ibridazione con *P. siculus*, specie congenerica probabilmente introdotta dall'uomo in epoca storica.

Considerando che i segnali chimici possono assolvere anche il ruolo di barriera all'ibridazione, con il presente studio si vuole caratterizzare il pattern proteico dei secreti di *P. raffonei*, usando come riferimento i corrispondenti pattern di due specie congeneriche (*P. muralis* e *P. siculus*), recentemente individuate come responsabili di parte dell'introgressione nel genoma della specie.

MATERIALI E METODI

I campioni di secreti di ghiandole femorali sono stati prelevati da otto individui maschi adulti di *P. raffonei* catturati in località Capo Grosso nel mese di aprile del 2017 (PNM.REGISTRO UFFICIALE.U.0004602.06-03-2017). Per il confronto sono stati utilizzati quattro campioni di secreti da altrettanti maschi adulti di *P. muralis* provenienti da Pavia (PNM.REGISTRO UFFICIALE.U.0002154.03-02-2016) e quattro di *P. siculus* da Calci (Pisa) (PNM.REGISTRO UFFICIALE.U.0004217.28-02-2017). Una volta isolata, la frazione proteica è stata sottoposta ad elettroforesi monodimensionale in gel di acrilamide, ottenendo un elettroforetogramma (EPG) per ciascuno dei 12 campioni (MANGIACOTTI *et al.*, 2019a). È stata usata una distance-based ANOVA (ANDERSON, 2001; ADAMS & OTÁROLA-CASTILLO, 2013) per determinare l'esistenza di pattern specie-specifici, ed un confronto grafico tra i valori predetti per individuare le regioni di peso molecolare responsabili delle differenze osservate. La dimensione campionaria non è molto grande, ma il test non parametrico utilizzato è robusto anche per piccoli campioni, essendo la distribuzione di pseudo-F costruita per permutazione (ANDERSON, 2001).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Gli EPG ottenuti per le tre specie sono risultati significativamente differenti (pseudo-F = 1.4695, $P \leq 0.036$; 9999 permutazioni), indicando come, pur nella limitatezza della dimensione campionaria, gli EPG risultino più conservati e costanti entro specie di quanto non avvenga per specie diverse. In effetti, sebbene in tutti i casi sia osservabile la medesima struttura a tre regioni osservata in *P. muralis* (MANGIACOTTI *et al.*, 2019a), la maggiore differenziazione sembra concentrarsi nelle bande a più basso peso molecolare, al di sotto dei 20 kDa (Fig. 1): in questa regione *P. raffonei* mostra una struttura decisamente più complessa (multi-banda) rispetto alle altre due specie, che risultano tra loro più simili.

L'esistenza di una differenziazione nella componente proteica dei secreti può essere la semplice conseguenza dell'accumularsi della distanza genetica tra le specie considerate. Tuttavia, considerando che le proteine dei secreti possono avere un ruolo nella comunicazione (MANGIACOTTI *et al.*, 2020) e che sono state associate al trasferimento di informazioni relative all'identità

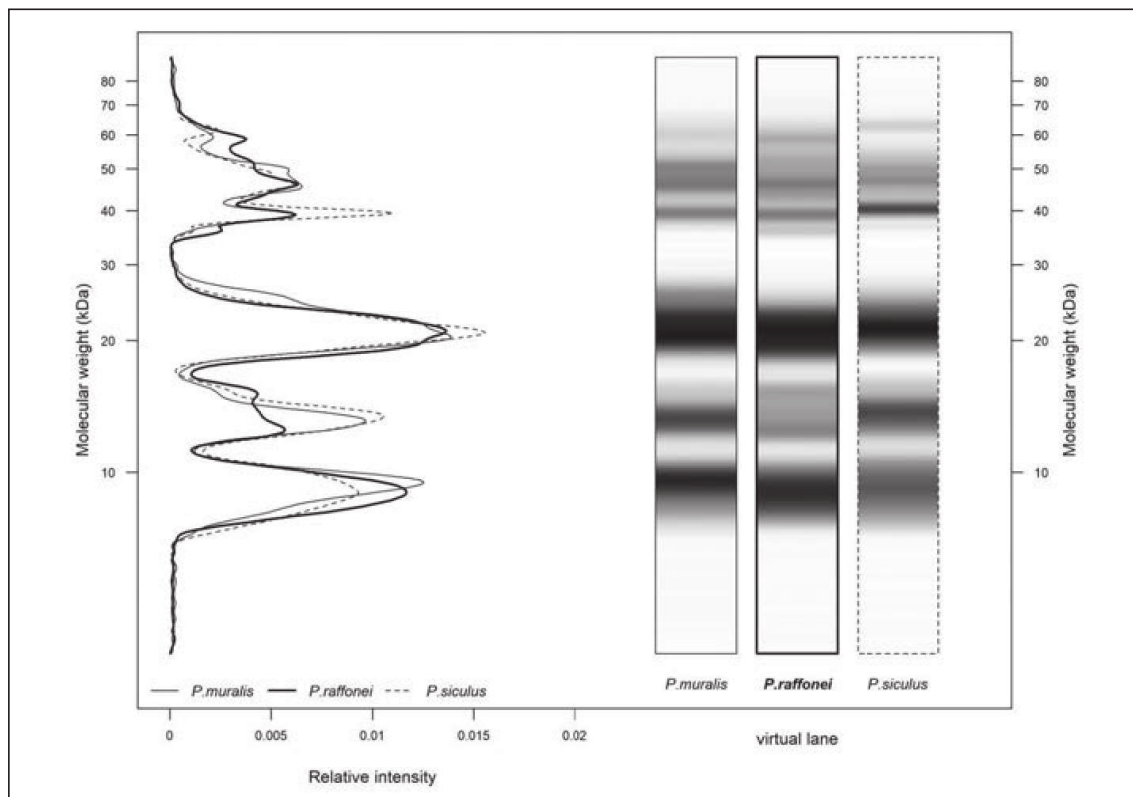


Fig. 1 — A sinistra: intensità relativa dell'EPG predetti dal modello per le tre specie; a destra: lane virtuale di gel ricostruiti in corrispondenza dei valori predetti dal modello per ciascuna specie. L'asse verticale rappresenta il peso molecolare in kDa.

individuale (familiarità, self-nonsel, morfo di colore; MANGIACOTTI *et al.*, 2019b, 2020), è legittimo ipotizzare un potenziale ruolo della frazione proteica come badge specie-specifico, utile a modulare le interazioni tra specie ed evitare l'ibridazione.

BIBLIOGRAFIA

- ADAMS D.C. & OTÁROLA-CASTILLO E., 2013. Geomorph: An r package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Methods Ecol. Evol.*, 4: 393-399.
- ANDERSON M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral. Ecol.*, 26: 32-46.
- CORTI C., PÉREZ-MELLADO V., SINDACO R. & ROMANO A., 2009. *Podarcis raffonei*. IUCN Red List Threat. Species e.T61552A12514822.
- MANGIACOTTI M., FUMAGALLI M., CAGNONE M., VIGLIO S., BARDONI A.M., SCALI S. & SACCHI R., 2019b. Morph-specific protein patterns in the femoral gland secretions of a colour polymorphic lizard. *Sci. Rep.*, 9: 8412.
- MANGIACOTTI M., MARTÍN J., LÓPEZ P., REYES-OLIVARES C.V., RODRÍGUEZ-RUIZ G., COLADONATO A.J., SCALI S., ZUFFI M.A.L. & SACCHI R., 2020. Proteins from femoral gland secretions of male rock lizards *Iberolacerta cyreni* allow self—but not individual—recognition of unfamiliar males. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 74: 68.
- MANGIACOTTI M., PEZZI S., FUMAGALLI M., COLADONATO A.J., D'ETTORRE P., LEROY C., BONNET X., ZUFFI M.A.L., SCALI S. & SACCHI R., 2019a. Seasonal variations in femoral gland secretions reveals some unexpected correlations between protein and lipid components in a lacertid lizard. *J. Chem. Ecol.*, 45: 673-683.

Indirizzo degli Autori — M. MANGIACOTTI, A.J. COLADONATO, S. POZZI, R. SACCHI, Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Pavia, Via Taramelli, 24 - 27100, Pavia (I); e-mail: marco.mangiacotti@unipv.it; A. MELOTTO, A. CONTI, G.F. FICETOLA, Department of Environmental Sciences and Policy, Università degli Studi di Milano (I); D. SALVI, Department of Health, Life and Environmental Sciences, University of L'Aquila (I); M.A.L. ZUFFI, Museo di Storia Naturale dell'Università di Pisa, Via Roma, 79 - 56011 Calci (Pisa, I); S. SCALI, Museo Civico di Storia Naturale di Milano, Corso Venezia, 55 - 20121 Milano (I).