

Landscape genetics in *Lepus corsicanus* nel Parco Nazionale del Cilento e Vallo di Diano

Domenico Fulgione¹, Valeria Maselli¹, Giuseppe Pavarese¹ e Gabriele de Filippo²

¹ Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale, Univ. Federico II, via Cinthia MSA, 80126 Napoli, Italia, email: fulgione@unina.it

² Istituto di Gestione della Fauna, via Mezzocannone 8, 80134 Napoli, Italia, email: info@gestione fauna.com

Abstract

Understanding the processes and patterns of gene flow and local adaptation requires a detailed knowledge of how landscape characteristics structure a population.

Here we presents some results of a landscape genetic analysis for *L. corsicanus* in Cilento and Vallo di Diano National Park (Southern Italy). We found a strong dipendence of hare's popultions from landscape fragmentation.

This approaches seems to facilitate our understanding of how geographical and environmental features structure genetic variation both at inter-specific and inter-population level, and has implicatons for ecology, evolution and conservation biology.

Introduzione

La *landscape genetics* è una disciplina che solo recentemente sta trovando una sua collocazione nelle problematiche relative alla gestione e conservazione della fauna selvatica (Manel *et al.* 2003, Holderegger e Wagner 2006). Essa combina l'informazione della genetica di popolazioni a quella della *landscape ecology*, per una migliore comprensione dell'organizzazione spaziale e della dinamica delle popolazioni.

Infatti, il territorio su cui sono considerate le popolazioni è costituito da *patches* diversamente assortite in una matrice con potenziali corridoi e barriere. In questo modo, le relazioni genetiche tra gli individui vengono analizzate in considerazione della posizione spaziale di ogni singola unità e della sua collocazione nel paesaggio ecologico considerato.

Si intuisce facilmente che le relazioni genetiche fra popolazioni riferibili a diverse unità paesistiche sono particolarmente dipendenti dal tipo di intorno ambientale ed alle *patches* che si interpongono fra due unità o due popolazioni. Si tratta di un approccio particolarmente utile per le sue applicazioni nell'ambito della conservazione e gestione delle popolazioni naturali. Permette, infatti, di individuare aree di espansione e corridoi di dispersione e potenziali vie di connessione tra le popolazioni sul territorio.

Si pensi alle applicazioni nelle operazioni di immissione faunistica o alle operazioni di miglioramento ambientale tese al potenziamento della connessione fra popolazioni.

In tale contesto, la potenzialità della *landscape ecology* si evidenzia anche se si considera che la valutazione empirica della connettività del paesaggio è limitata dalla difficoltà di non poter misurare direttamente il movimento degli animali. Integrando l'informazione paesaggistica con quella genetica, è possibile creare uno strumento complementare a metodi diretti, come cattura-ricattura e *radiotracking*.

La popolazione di *Lepus corsicanus* nel Parco del Cilento e Vallo di Diano si presenta rarefatta e distribuita a macchia di leopardo (de Filippo *et al.* 2007); lo stesso ambiente ottimale è frammentato (de Filippo *et. al.* in questo volume) e può ipotizzarsi la presenza di diverse barriere ecologiche.

La struttura genetica di questa popolazione potrebbe risentire sensibilmente della struttura paesaggistica ed ipotetiche operazioni di *reinforcement*, previste dal piano d'azione di *L. corsicanus* (Milone e de Filippo 2000), dovrebbero essere basate su valutazioni di *landscape genetics*.

In questo studio esaminiamo la popolazione di *L. corsicanus* del Parco usando il modello di *isolation by distance* (IBD: Bohonak 2002). Questo modello assume una dispersione isotropica in ambiente omogeneo ed è caratterizzato da distanze genetiche crescenti tra individui separati da distanze geografiche crescenti.

L'effetto delle caratteristiche del paesaggio su questo pattern genetico viene utilizzato per testare lo scostamento osservato in un paesaggio non omogeneo. Le distanze effettive, calcolate utilizzando una tecnica definita *least-cost modeling*, vengono correlate alle distanze genetiche. Tale approccio permette di elaborare modelli spaziali per schematizzare le interazioni fra paesaggio e dispersione di una specie. Attraverso una *individual-based analysis* è infine possibile descrivere la struttura genetica e spaziale riferendo i dati ad un sistema del paesaggio di idoneità per la specie.

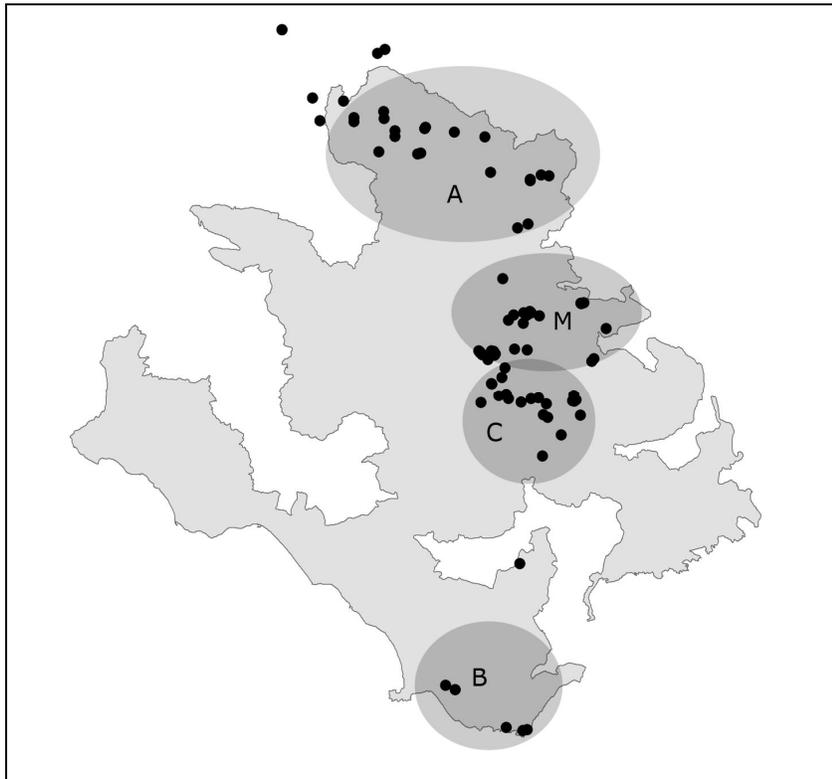
Metodi

Sono state effettuate analisi genetiche su campioni di lepre (*Lepus* sp.) ricavati da animali catturati o mediante reperimento di tessuto in campo. Sono stati analizzati complessivamente 23 campioni, di cui 16 sono risultate *Lepus europaeus* e 7 *Lepus corsicanus*. Questi campioni sono stati considerati rappresentativi delle lepri presenti sull'intero territorio del Parco, che possono essere raggruppate secondo i principali complessi montuosi: Alburni, Motola, Cervati e Bulgheria (fig. 1). Al momento della raccolta del campione la georeferenziazione del reperto mediante GPS ha consentito di attribuire successivamente ogni reperto al gruppo montuoso di provenienza.

Il DNA è stato estratto e successivamente amplificato mediante PCR al fine di identificare una regione di 282 nucleotidi del citocromo b del DNA mitocondriale ed 8 loci polimorfi del DNA microsatellite. Dalle analisi genetiche si è ricavata una matrice di distanze genetiche (Nei 1972).

L'analisi del paesaggio è stata realizzata utilizzando la carta di idoneità ambientale per *Lepus corsicanus* realizzata con il metodo ENFA per il territorio del Parco (Hirtzel *et al.* 2002, de Filippo *et al.* in questo volume). Attraverso il suo inverso è stata ricavata una carta dell'attrito, in cui la resistenza alla dispersione delle popolazioni è misurata in base alla diversa idoneità ambientale. L'analisi di questa carta mediante il software Pathmatrix (Ray 2005) consente di ricavare la distanza ecologica (*least cost distance*) tra i campioni di lepre, ottenuta unendo le *patches* che presentano un minore valore di attrito. La distanza ecologica tra due campioni può poi essere confrontata con quella geografica.

Figura 1 - RegISTRAZIONI di lepri (*Lepus* sp.) effettuate durante le ricerche nell'ambito del progetto di ricerca su *L. corsicanus* nel Parco del Cilento e Vallo di Diano. Le aree circolari in grigio più scuro rappresentano i principali complessi montuosi: A = Alburni, M = Motola, C = Cervati, B = Bulgheria.

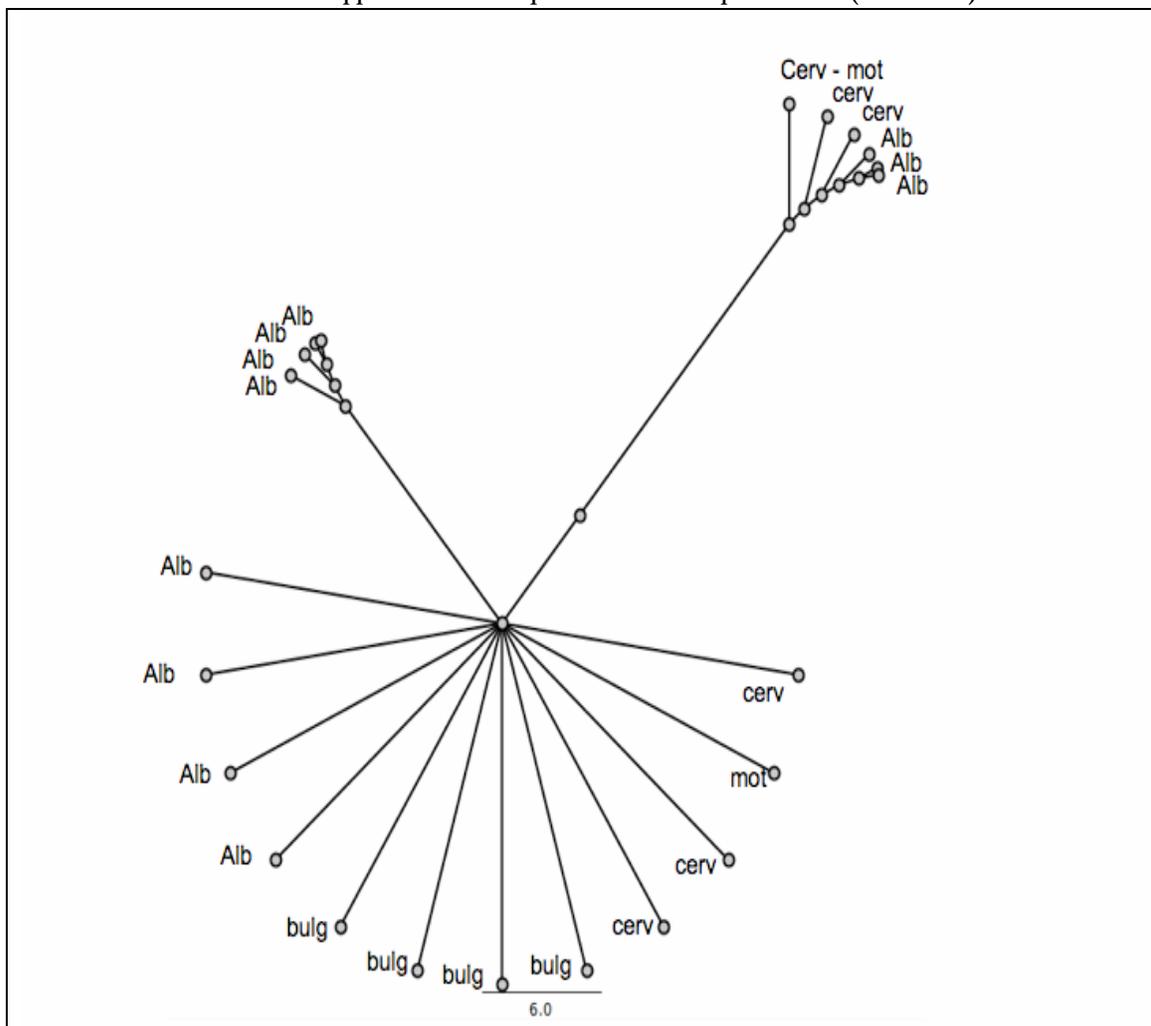


Risultati

Dall'analisi delle sequenze mitocondriali, le lepri catturate sui Monti Alburni sono risultate 8 *L. europaeus* e 3 *L. corsicanus*; quelle del complesso Motola-Cervati 4 *L. europaeus* e 4 *L. corsicanus*, infine per l'area del monte Bulgheria 4 *L. europaeus*.

L'albero degli aplotipi evidenzia una separazione in accordo con la differenza specifica, ma mette in risalto anche una chiara separazione delle lepri degli Alburni, sia in seno a *L. europaeus* che a *L. corsicanus* (fig. 2).

Figura 2 - Albero *neighbor-joining* degli aplotipi mitocondriali delle 23 lepri esaminate.
Gruppo in alto a destra: *L. corsicanus*, in basso a sinistra: *L. europaeus*.
Gli acronimi rappresentano i complessi montuosi di provenienza (cfr. metodi).



L'analisi delle 23 lepri utilizzando gli alleli microsatellite, elaborati mediante statistica Bayesiana con il software STRUCTURE 2.1 (Pritchard *et al.* 2000), distingue chiaramente i due gruppi specifici, ma evidenzia due esemplari degli Alburni difficilmente assegnabili in maniera certa ad una delle due specie, indicando un possibile genotipo intermedio (fig. 3).

La figura 4 mostra i risultati delle distanze ecologiche espresse come percorsi tra patches a basso attrito (bassa resistenza alla dispersione).

L'influenza dell'eterogeneità del paesaggio sulla struttura genetica è facilmente percepibile attraverso un'analisi di correlazione fra la matrice delle distanze genetiche e quelle delle distanze geografiche ed ecologiche (*least-cost distance*). Le due correlazioni (distanza genetica *vs.* distanza ecologica e distanza genetica *vs.* distanza geografica)

sono state confrontate con il Mantel test ed hanno evidenziato due differenti valori, maggiori quando le distanze genetiche erano poste in relazione alle distanze ecologiche (fig. 5).

Figura 3 - Risultati dell'assegnazione genetica attraverso statistica Bayesiana multilocus.
 Per ogni individuo si riporta in nero la probabilità di assegnazione a *L. corsicanus*,
 e in grigio la probabilità di assegnazione a *L. europaeus*.
 Le frecce indicano i due individui a determinazione incerta.
 Gli acronimi fanno riferimento al complesso montuoso di provenienza (cfr. metodi).

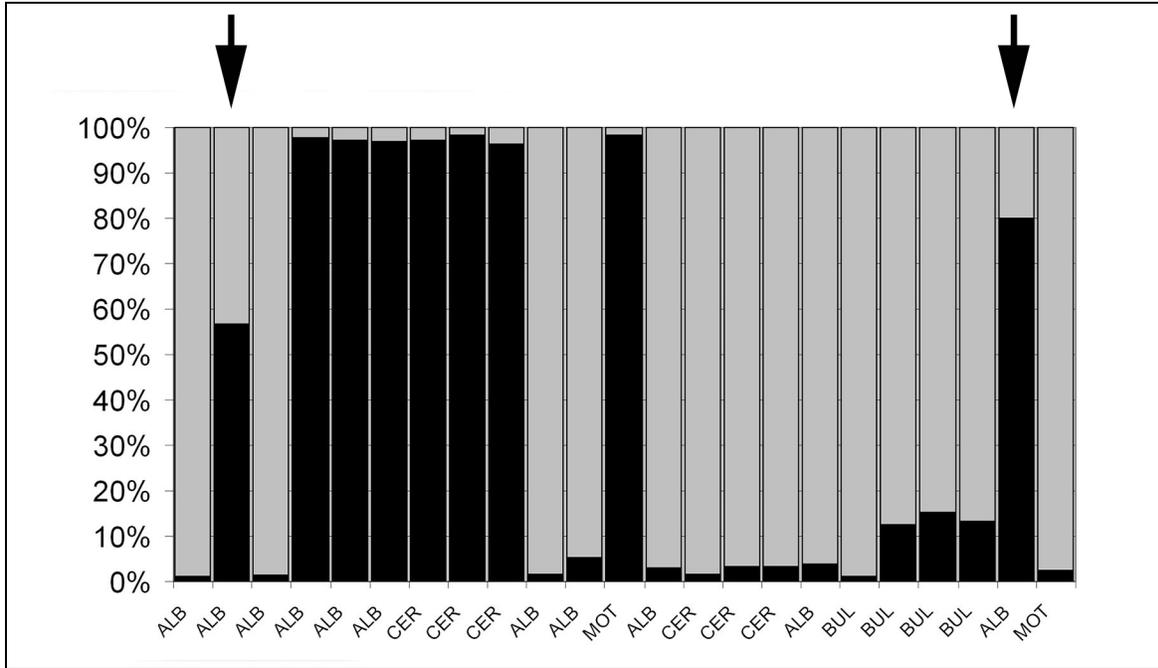


Figura 4 - Analisi del paesaggio.
 a) Carta dell'idoneità ambientale per *L. corsicanus*.
 b) Carta delle distanze ecologiche (*least-cost distance*) fra i campioni analizzati.
 Sono esclusi quelli del complesso del Bulgheria data l'assenza di *L. corsicanus*.

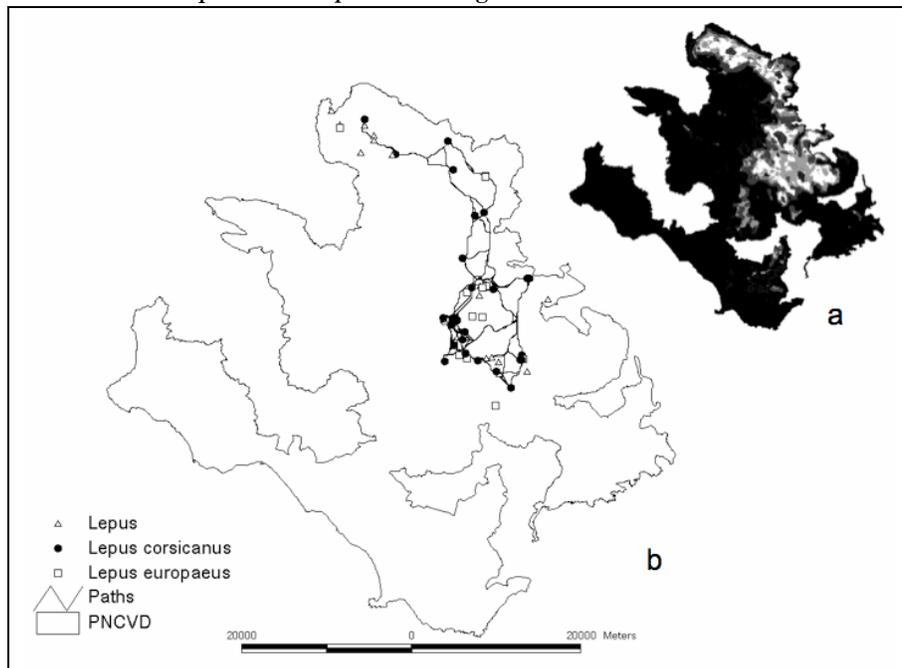
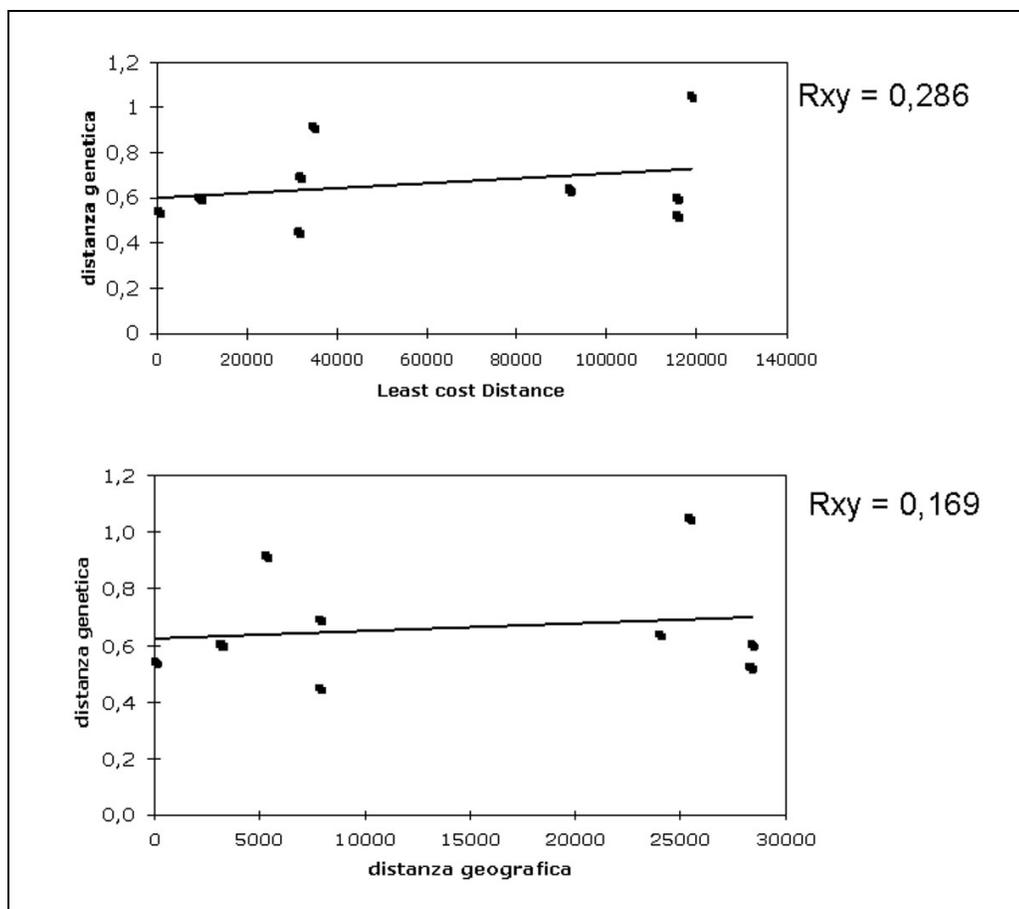


Figura 5 - Mantel test e valori di correlazioni fra le variabili.



Discussione

L'identificazione delle lepri esaminate, in considerazione della posizione sul territorio, ha confermato il grado di simpatria fra le due specie.

Interessante e degna di approfondimento la separazione degli aplotipi trovati per entrambe le specie sul complesso degli Alburni. Allo stesso modo l'identificazione, nella stessa area, di due individui di difficile assegnazione in base ai genotipi microsatellitari, probabilmente ibridi.

Fenomeni di ibridazione interspecifica possono essere amplificati da degrado ambientale e alterazione degli habitat (Mallet *et al.* 2007). Il territorio montano del Parco ha una struttura del paesaggio profondamente determinata dalle attività umane (de Filippo *et al.* 2002, Strumia *et al.* in questo volume); inoltre, le immissioni di *L. europaeus* per ripopolamento operate al di fuori dei limiti del Parco possono interferire ogni anno, in particolare sui Monti Alburni dove le lepri autoctone distano molto poco dalle aree esterne al Parco.

Le differenze tra la rete delle distanze geografiche e quelle ecologiche confermano che l'eterogeneità del paesaggio si ripercuote significativamente sulla struttura genetica delle popolazioni, alle quali le lepri esaminate fanno riferimento. A determinare la relazione tra struttura genetica e organizzazione del paesaggio è l'influenza che ha quest'ultima sulla dispersione degli individui (Cale 2003, McIntyre e Wiens 2004).

L'approccio di *landscape genetics* usato in questo lavoro permette così di mettere in luce elementi chiave da conoscere per la gestione di corretti interventi di conservazione della specie. Verificare relazioni tra paesaggio e genetica, assume maggiore importanza in popolazioni, come in *L. corsicanus*, che presentano una distribuzione frammentata. I risultati delle analisi effettuate permettono, infatti, anche di individuare la presenza di barriere ecologiche, che potrebbero essere poco visibili, e di caratterizzarle in termini ambientali.

L'acquisizione di nuovi campioni porterà in futuro ad una migliore definizione di quanto già emerso, consentendo anche di effettuare simulazioni di scenari ed orientare correttamente sia interventi di miglioramento ambientale, atti a rimuovere le barriere ecologiche, sia gli interventi di reintroduzione, dove questi sono effettivamente necessari.

Bibliografia

- Bohonak A. J. 2002. IBD (Isolation By Distance): A program for analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity* 93: 153-154.
- Cale P. G. 2003. The influence of social behaviour, dispersal and landscape fragmentation on population structure in a sedentary bird. *Biol. Conserv.* 109: 237-248.
- de Filippo G., de Luca M. e Nicoletti D. 2002. Changes in land use during last 50 years in the Cilento and Vallo di Diano National Park and management guidelines. Proc. 1st ital. IGBP Confer. "Mediterraneo e Italia nel Cambiamento Globale: un ponte tra scienza e società", Paestum (SA, Italy), 14-16 nov. 2002, pp. 85-86.
- de Filippo G., Fulgione D., Fusco L., Troisi S.R. 2007. Italian hares (*Lepus corsicanus*) in Cilento and Vallo di Diano National Park: status and conservation. V European Congress of Mammalogy, Siena, 21-26 settembre 2007, *Hystrix* (N.S.) II, Supp.: 438.
- Hirzel A.H., Hausser J., Chessel D. e Perrin N. 2002. Ecological-niche factor analysis: How to compute habitat suitability maps without absence data? *Ecology* 83: 2027-2036.
- Holderegger R. e Wagner H. H. 2006. A brief guide to Landscape Genetics. *Landscape Ecology* 21: 793-796.
- McIntyre N. E. e Wiens J. A. 2004. Interactions between landscape structure and animal behavior: the roles of heterogeneously distributed resources and food deprivation on movement patterns. *Landscape ecology* 14: 437-447.
- Mallet J., Beltrán M., Neukirchen W. e Linares M. 2007. Natural hybridization in heliconiine butterflies: the species boundary as a continuum. *BMC Evolutionary Biology* 7: 28.
- Manel S., Schwartz M. K., Luikart G. e Taberlet P. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends Ecol. Evol.* 18: 189-197.
- Mantel N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*: 27: 209-220.
- Milone M. e de Filippo G. 2000. Progetto per la conservazione della lepre appenninica *Lepus corsicanus*, Relazione finale e strategie per la conservazione. PNCVD, documenti tecnici.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106: 283-292.
- Pritchard J.K., Stephens M. e Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Ray N. 2005. A GIS tool to compute effective distances among samples. *Molecular Ecology Notes* 5: 177-180.
- Saitou N. e Nei M 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.

I dati di questa ricerca sono ricavati dal "Progetto di conservazione della lepre italiana nel Parco Nazionale del Cilento e Vallo di Diano", lavoro eseguito per conto dell'Ente Parco.